

Alt Ekstremitte Primer Varislerinde Apoptozisin Rolü

The Role of Apoptosis in Lower Extremity Primary Varicose Veins

Dr. Kadir Kaan ÖZSİN,^a
Dr. Ali RAHMAN,^a
Dr. İ. Hanifi ÖZERCAN,^b
Dr. Oktay BURMA,^c
Dr. Ayhan UYSAL^d

^aKalp Damar Cerrahisi AD,
^bPatoloji AD,
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Elazığ
^cKalp Damar Cerrahisi AD,
Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Gaziantep
^dKalp Damar Cerrahisi Kliniği,
Özel İstanbul Çamlica Ömür Hastanesi,
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 02.03.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 04.07.2008

Makale Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği'nin 01-05 Kasım 2006 tarihleri arasında Antalya/Belek'de düzenlenmiş olduğu 9. Ulusal Kongresi'nde sözlü anlatım olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Kadir Kaan ÖZSİN
Kahramanmaraş Devlet Hastanesi,
Kalp ve Damar Cerrahisi Kliniği,
46050 Kahramanmaraş
TÜRKİYE/TURKEY
kaanozsın@yahoo.com

ÖZET Amaç: Variköz ven fizyopatolojisi için son zamanlarda ileri sürülen teoriler intrinsik venöz duvar anormallikleri nedeniyle oluşan dilatasyon ve bunun sonrasında ortaya çıkan yetersizliktir. Yapılan çalışmalarda kan damarı duvarının hücresel kompozisyonunun ve morfolojisinin kontrolünde vasküler hücre apoptozisinin rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmamızda normal ve variköz venlerin proapoptotik (bax) ve antiapoptotik (bcl-2) durumlarını belirleyerek varis gelişiminde apoptotik aktivitenin rolünü araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışma koroner arter bypass greft operasyonu geçirecek sağlıklı vena safena magna (VSM)'ya sahip 15 hasta (kontrol, Grup 1) ve alt ekstremitte primer varis tanısı nedeniyle opere edilecek 15 hasta (varis, Grup 2) olmak üzere 30 hasta üzerinde gerçekleştirildi. Grup 2'de yer alan hastaların VSM trasesi boyunca primer varisleri mevcut olup tümünde venöz duplex ultrasonografide VSM'de reflü gösterildi (CEAP sınıflamasına göre C2 Ep As2-3 Pr). Alınan doku örneklerinin kesitlerine immünohistokimyasal boyama ile apoptotik mediyatörlerden bax ve bcl-2 araştırıldı. **Bulgular:** Variköz venlerin medya tabakasında kollajen fibril seviyesinde artış ile birlikte düz kas hücre azalması gözlemlendi. Elastin ağ örgüsündeki bozulma variköz venlerde daha fazlaydı. Variköz ven grubun medya tabakasında kontrol grubun medyasına oranla daha fazla bax (+) hücreler saptandı. Buna karşın bcl-2 boyamasında ise variköz venler ile sağlıklı venler arasında belirgin bir farklılık bulunmadı. **Sonuç:** Variköz ven histolojisinde medya tabakasında düz kas hücre sayısında azalma, kollajen liflerde artmayla birlikte disorganizasyon ortaya çıkmaktadır. Düz kas hücre azalmasında proapoptotik mediyatörlerin artışına rağmen antiapoptotik mediyatörlerin artmamış olması varis gelişiminde apoptozisin katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Variköz venler, apoptozis, tunika medya

ABSTRACT Objective: Most recent proposed mechanism for development of varicose vein pathophysiology is venous wall failure due to intrinsic venous wall abnormalities. The research studies were shown importance of apoptotic role on vessel wall cell composition and morphology control. In this study, we aim to investigate proapoptotic (bax) and antiapoptotic (bcl-2) changes in varicose vein and normal vein to determine impotence of apoptotic activity for development of varices. **Material and Methods:** Fifteen patients with normal vena saphena magna (VSM) underwent coronary bypass surgery (Control group, Group 1) and fifteen patients with primary varicose dilatation on lower extremity underwent surgery (Varicose vein group, Group 2) were enrolled in this study. Appearance of varicose dilatation and venous reflux on VSM were depicted by Doppler Ultrasonography in Group 2 (According CEAP classification C2(s) Ep As 2-3 Pr). Pro-apoptotic bax and anti-apoptotic bcl-2 were analyzed in tissue slices by immunohistochemical staining methods. **Results:** Increased amount of collagen fibers in tunica media and decreased smooth muscle cells were observed in varicose veins slices. Degeneration of elastin layer was prominent in varicose vein group. Bax expression in tunica media layer were significant higher in the varicose vein groups of samples than normal vein groups of samples. Instead of there were no statically difference for bcl-2 expression by immunostaining between group 1 and group 2. **Conclusion:** Dysorganisation of varicose vein histological picture appears by decreased number of smooth muscle cell and increased collagen fibers in tunica media. Decrease in smooth muscle cells although increased proapoptotic mediators with no changing of antiapoptotic mediators, may contribute apoptotic events in development of varicose varicose veins.

Key Words: Varicose veins, apoptosis, tunica media

Alt ekstremitte primer varis patogenezi halen tartışılmaktadır.^{1,2} Ven duvar anormallikleri, hormonal faktörler, yaş, konnektif doku metabolizmasındaki değişiklikler, valvüler yetmezlik ve artmış enzimatik aktivite etyolojide yer alan en önemli faktörlerdir.¹ Variköz venlere sahip pek çok hastada aile öyküsünün bulunması varis gelişiminde genetik faktörlerin de rol oynayabileceği olasılığını göstermektedir.

Son zamanlarda öne sürülen teoriler venöz duvardaki primer intrinsik anormallikler nedeniyle oluşan dilatasyon ve bunun sonucu olarak da gelişen kapakçık yetmezliğinin etyopatogeneze sorumlu olduğunu vurgulamaktadır. Variköz venlerde gözlenen dejenerasyon, düzensizleşmiş düz kas tabakası, fibröz dejenerasyona uğramış medya tabakası ve şişmiş ve helikal kırılmış kollajen fibrilleri olarak tanımlanmıştır. Duvar dejenerasyonunun bu dağılımı homojen değildir bazı segmentler kalınlaşıp fibrotikleşirken bazıları anevrizmalaşmıştır.³

Apopitozis programlanmış hücre ölümüdür ve bu ölüm şekli ilk kez 1972 yılında Kerr ve ark.⁴ tarafından iskemiye maruz kalan dokunun etrafında nekrozdan daha farklı hücre ölümü olarak gösterilmiştir. Apopitozis embriyogenesis, immün reper-tuarın gelişimi ve iltihabi olayların rezolusyonu gibi birbirinden farklı birçok süreçte istenmeyen hücrelerin eliminasyonu için gerekli bir olaydır. Ayrıca apopitozis ve hücrelerin ortadan kaldırılması arasındaki denge, organizmanın iltihabi olaylardan veya otoreaktiviteden korunması için önemlidir.⁵

Apopitozis çok sayıda ve çeşitte mediyatör tarafından düzenlenir. Bu mediyatörlerden Bcl-2 ailesi, üyelerinin bir kısmının apopitozisi indüklediği (bax), bir kısmının ise inhibe ettiği (bcl-2) geniş bir gruptur. Hücrenin yaşayabilirlik durumu bu ailenin proapopitotik ve antiapopitotik üyelerinin rölatif oranına bağlıdır. Bcl-2/Bax'ın oranının artması ya da azalması apopitozisin inhibisyonu veya aktivasyonu ile sonuçlanır.^{6,7}

Ven duvarı hücrelerinin disfonksiyone olmasının hücre siklusunun ve apopitozisin deregülasyonu sonucu ortaya çıkabilir. Çünkü apopitozis

doku hemostazında ve hücre sayısının korunmasında majör bir rol oynar, bu da ven duvarındaki hücre yenilenmesine etki eder. Deregüle apopitozis anormal bir fenotipe transforme olabilecek, işe yaramayan hücrelerin sayısında artmaya yol açabilir.

Alt ekstremitte varislerinin etyopatogenezinde apopitozisin regülasyonu son dönemlerde araştırılmaya başlanmış olup biz de bu çalışmamızda sağlıklı ve variköz venlerde proapopitotik (Bax) ve antiapopitotik (Bcl-2) seviyelerine bakarak variköz venlerde apopitotik aktivitenin azalıp azalmadığını göstermeyi amaçladık

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kalp ve Damar Cerrahisi ve Patoloji Anabilim Dalları tarafından gerçekleştirildi. Yapılacak çalışma hastalara anlatılarak Helsinki Deklerasyonunu prensiplerine uygun olarak yapıldı. Çalışmamız Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Merkezi tarafından desteklenmiştir.

Çalışmaya 2005 Eylül-2006 Ocak tarihleri arasında primer varis ve koroner bypass operasyonu planlanan hastalar dahil edildi.

HASTA SEÇİMİ

Grup 1 (Kontrol Grubu): Venöz hastalık hikayesi ve şikayeti olmayan venöz dupleks ultrasonda reflü, venöz dilatasyon saptanmayan derin venleri açık koroner arter bypass greft operasyonu geçirecek ve vena safena magna (VSM)'nin kullanılacağı 15 hasta (11 erkek, 4 kadın) kontrol grubuna alındı. Hastaların yaş ortalamaları 64,1 idi.

Grup 2 (Variköz Ven Grubu): Alt ekstremitte VSM trasesi boyunca primer varisleri olan ve klinik yakınmaları nedeniyle operasyon endikasyonu almış hastalardan (CEAP sınıflamasına göre C₂ (s) Ep As₂₋₃ Pr kriterlerine uyan) 15 hasta (8 erkek, 7 kadın) seçildi. Seçilen hastaların tümünde venöz dupleks ultrasonografide VSM'de reflü gösterildi. Hastaların yaş ortalamaları 46,4 idi.

DAMAR ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE HAZIRLANMASI

Kontrol grubunda koroner bypass için VSM çıkarılırken ve variköz ven grubunda pake eksizyonu ya-

pılırken dizaltı baldır bölgesi VSM'sından yaklaşık 2 cm örnek alındı. Alınan doku örnekleri %10'luk formolde tespit edildikten sonra parafin bloklara gömüldü.

HİSTOMORFOLOJİK İNCELEME

Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 4µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinize edilerek cam slaytlara monte edilip hematoksilin-eozin, Verhoeff'un Elastik boyası ve Masson Trichrome kollajen boyası ile boyandı. Işık mikroskopisinde ven duvar katmanlarının yapısal düzeni ve hücre dizilimleriyle birlikte kollajen ve elastin içerikteki patolojik değişiklikler değerlendirildi.

İMMUNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Hazırlanan parafin bloklardan elde edilen 4µm kalınlığındaki kesitlere avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimyasal olarak bax ve bcl-2 uygulandı. Elde edilen 4 mikron kalınlığındaki kesitler bax, bcl-2 için deparafinize ve rehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini ölçmek için 5 dk. %3 hidrojen peroksitte tutuldu. Daha sonra distile su ile yıkanıp pH 6'da 650 mw (mikrodalga)'da Sitrat buffer'da 5 dakika bekletildi. Kesitlere 10 dk Ultra V blok uygulandı. Daha sonra benmaride 37°C nemli ortamda 30 dk süreyle mouse monoclonal antibody Bax (Neomakers, Fremont, CA, USA) ve mouse monoclonal antibody Bcl-2 (Neomakers, Fremont, CA, USA) antikoları uygulandı. Ardından 0.001 M, pH 7.4 olan PBS ile yıkanarak avidin-biotin peroksidaz ile inkübe edildi. AEC kromojen ile boyandı. Bütün kesitlere Mayer Hematoksileni ile zıt boyama yapıldı ve özel kapatma maddesi (Ultra Mount Medium) ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal inceleme Ascher ve ark.nın⁸ yöntemine göre yapıldı. Işık mikroskopisinde (Olympus model U-MDOB, Japan) × 400 büyütmede her kesitten rastgele 10 saha incelendi. Her sahadaki 100 hücreden medya tabakasında sitoplazmik olarak bax (+) ve bcl-2 (+) boyanan hücreler sayıldı. Toplam boyanan hücrelerin ortalama yüzdeleri alındı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirmeler için Statistical Programme Software System (SPSS) 12.0 programı kul-

lanıldı. Elde edilen veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterildi. Gruplar arası farkın anlamlılık sınavmasında, *Student-t istatistiği* kullanıldı. Sonuçların tümünde p< 0.05 değerler anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

HİSTOMORFOLOJİK VERİLER

Işık mikroskopu incelemelerinde variköz ven örneklerinde, kontrol grubundaki sağlıklı venlere göre daha fazla yapısal düzensizlikler tespit edildi. Variköz ven grubunda intima ve medya tabakası sağlıklı venlere göre daha kalın, adventisya tabakası ise daha incedi. Variköz ven grubundaki düz kas hücrelerinin kontrol grubuna göre morfolojik olarak boylarının uzadığı görüldü.

Masson Trichrome boyası ile variköz venlerin medya tabakasında kollajen fibril seviyesinde artış ile birlikte düz kas hücre azalması gözlemlendi. Artmış fibröz doku ile birlikte ayrılmış kollajen fibrilleri medya tabakasında homojen olmayan kalınlaşma meydana getirmiştir. (Şekil 1 a,b).

Verhoeff'un elastik boyamasında da variköz ven grubunda elastin ağ örgüsündeki bozulma daha fazlaydı (Şekil 2 a,b).

Sonuç olarak variköz ven duvarının tüm katmanlarında düz kas hücre sayısında azalma, kollajen ve elastin liflerinin miktar ve yapısında değişiklik gözlemlendi.

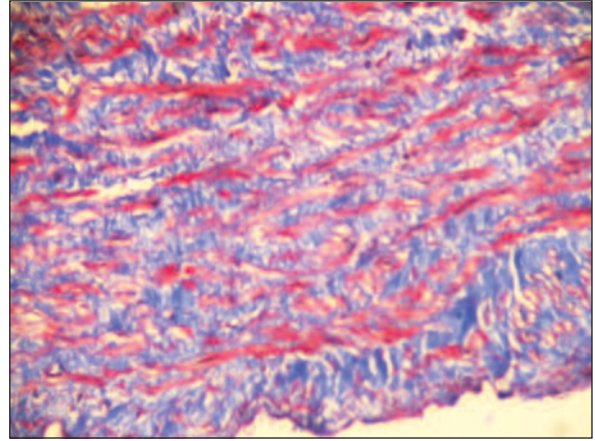
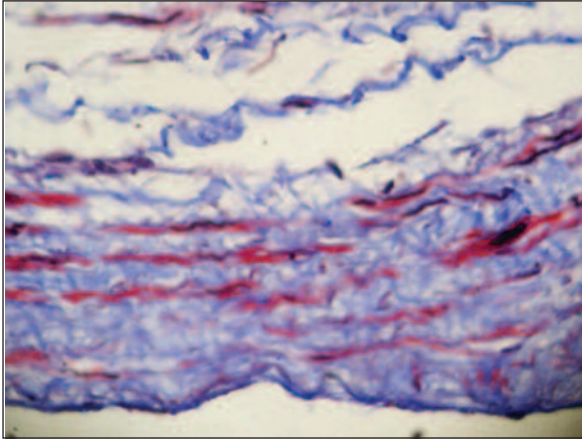
İMMUNOHİSTOKİMYASAL VERİLER

Bax Boyanması

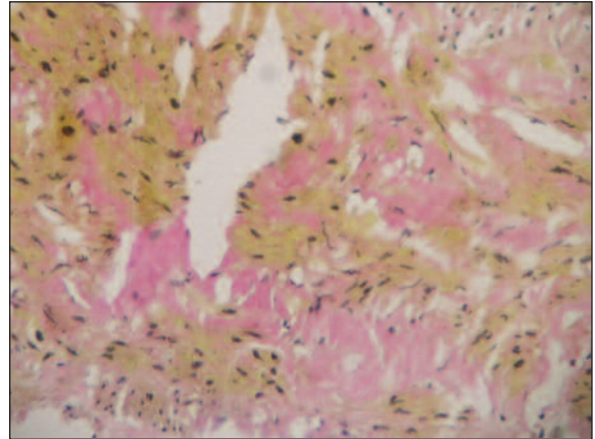
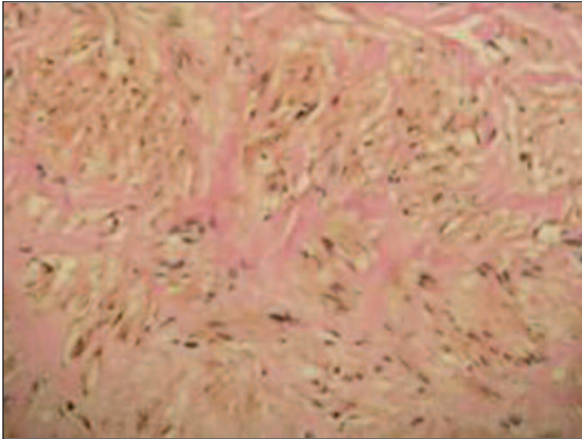
Variköz ven grubunun medya tabakasında kontrol grubuna göre daha fazla sitoplazmik boyanan bax (+) hücreler tespit edildi. Bax (+) boyanan hücrelerin ortalama yüzdeleri kontrol grubunda 7,53 ± 1,92 ; variköz ven grubunda 10,06 ± 2,21 olmak üzere, p< 0.05 için aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (Şekil 3, Tablo 1). Sitoplazmik bax (+) boyanan hücreler variköz ven grubunun medyasında bariz bir şekilde görülmektedir (Şekil 4 a,b).

Bcl-2 Boyanması

Her iki grubun medyasında bcl-2 (+) hücrelerin ortalama yüzdeleri (Kontrol grubu için 1,60 ±



ŞEKİL 1 (a,b): Masson Trichrome boyası ile kırmızı boyanmış kollajen fibriller (X 200). **a)** Kontrol ven örneği, **b)** Medya tabakasında kollajen artışı olan variköz ven örneği

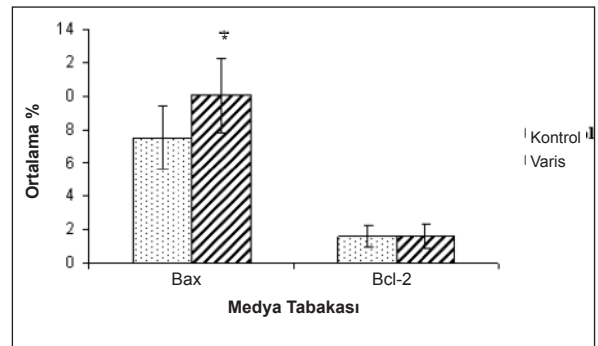


ŞEKİL 2 (a,b): Verhoeff'un elastik boyası (X 200). **a)** Kontrol ven örneği **b)** Elastin ağ örgüsünün bozulduğu variköz ven örneği.

0,63, variköz ven grubu için $1,60 \pm 0,73$) hemen hemen birbirine eşit bulundu (Şekil 3, Tablo 1). Sonuç olarak bcl-2 ile yaptığımız çalışmada variköz ven grubunda kontrol grubuna göre sayısal değer olarak çok az bir fazlalık bulsak da iki grup arasında bcl-2 immün reaktivitesi açısından istatistiksel olarak farklılık gösterilemedi ($p > 0,05$) (Şekil 5 a,b).

TARTIŞMA

Normal venlere kıyasla variköz venlerde apoptozis ve hücre siklus düzeni bozulur. Hücresel homeostazis, doku içindeki hücre proliferasyonu ve apoptozis arasındaki dengeye bağlıdır. Anevrizma formasyonu gibi ekstraselüler değişiklikleri de içine alan diğer hastalık süreçlerinde, apoptotik olay-



ŞEKİL 3: Bax (+) ve Bcl-2 (+) Hücrelerin Ortalama Yüzdeleri. * $p < 0,05$ Kontrol ile varis grubu Bax (+) hücre yüzdeleri

lar değişikliğe uğramış olarak bulunmuştur.⁹ Aynı şekilde apoptozis muhtemelen varikozitlerin patofizyolojisine de katkıda bulunabilir.

TABLO 1: Kontrol ven ve variköz ven grubunun, Bax (+) ve Bcl-2 (+) yüzdeleri arasındaki farkın anlamlılık sinaması.

Hasta Grubu	Bax (+)		Bcl-2 (+)	
	Ort.(%)	St.Sapma	Ort.(%)	St.Sapma
Kontrol ven grubu	7.53	1.92	1.60	0.63
Variköz ven grubu	10.06	2.21	1.60	0.73
	p= 0.002 < 0.05		p= 1.00 > 0.05	

Apoptozis çok çeşitli iç ve dış uyarı ile tetiklenebilmektedir. Toksinler, iyonize radyasyon, reaktif oksijen radikalleri, çeşitli kimyasallar, kemoterapik ajanlar, ısı şoku, yaşlanma veya iskemi sonucu gelişen subletal hasarlar ve DNA hasarlanmaları hücredeki apoptotik süreci aktive edebilir. Ölüm reseptörlerinin uyarılması apoptozisi indükleyen en önemli yollardan birisidir. Büyüme faktörleri azlığında, hormon ve sitokinlerin sinyalleri olmadığında hücreler apoptozise giderler. Sonuç olarak çekirdekte, hücre membranında, mitokondriyumda veya hücre içi herhangi bir bölgeden gelebilecek bir uyarı apoptozu başlatabilir.¹⁰

Venlerin yapısal proteinlerindeki değişiklikler anormal kollajen ve elastin içerik, intimal hiperplazi ve matriks kontrol enzimlerindeki değişiklikleri içermektedir.¹¹⁻¹³ Damarların tunika medyasındaki ekstraselüler matriks, elastik lameller ve kollajen fibriller variköz ven histopatolojisinde önemli role sahiptir.^{14,15} Bir çok araştırmacı variköz segmentlerde normal venlere kıyasla kollajen miktarında artış saptamışlardır.^{16,17}

Gandhi ve ark.¹⁶ variköz ven duvarında proteolitik enzim aktivitesinde değişiklik olmaksızın kollajen miktarında artış ve elastin miktarında azalma tespit etmişlerdir. Sansilvestri-Morel ve ark.¹⁷ variköz venlerde düz kas hücreleriyle kollajen subtipleri sentezinde bir dengesizlik bulmuşlardır. Bu dengesizliği kollajen tip-1' in artarken kollajen tip-3'ün azalması şeklinde tespit etmişler.

Variköz venlerde damar duvarının kalınlaştığı ve dilate olduğu ve yaygın fibrozis geliştiği gösterilmiştir. Medya tabakasının konnektif doku kısmının progresif artışı hücresel kısımdan daha önemlidir.¹⁸

Ducasse ve ark.¹⁹ variköz venlerde elastin ve kollajen fibrillerin dağılımının ve yapılarının difüzyon olarak bozulduğunu görmüşlerdir. Bu hücreler düzensizlik, medya ve adventisyal tabakada kollajen fibril seviyesinde artış ile birlikte düz kas hücre sayısında azalma ve elastin fibrillerinde parçalanmayı kapsamaktadır. Ayrıca medya tabakasında homojen olmayan kalınlaşma tespit etmişlerdir.

Urbanek ve ark.²⁰ yapmış oldukları geniş çalışmada variköz venli hastaların hem proksimal hem de distal segmentleri incelendiğinde medya tabakasında artmış fibröz doku ile birlikte kollajen fibril birikimi ve düzgün kırılmış kas yığını gösterilmiş ve medyadaki ekstraselüler matriks birikimi distal segmentlerde proksimal segmentlerden daha fazla bulunmuştur. Sonuç olarak variköz venli hastaların distal safenlerinin medyasında düz kas hücre içeriğinin azaldığı ve kollajen miktarının arttığı gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda da Ducasse ve ark.¹⁹ ile Urbanek ve ark.²⁰ tarafından yapılan çalışmalarda olduğu gibi variköz venlerde daha fazla yapısal düzensizlikler tespit edildi. Variköz ven grubunda intima ve medya tabakası daha kalın, adventisya tabakası daha incedi. Variköz venlerin medya tabakasında kollajen fibril seviyesinde artış ile birlikte düz kas hücre azalması ve homojen olmayan kalınlaşma gözlemlendi. Ayrıca variköz ven grubunda elastin ağ örtüsündeki bozulma da daha fazlaydı.

Damarların yeniden yapılanması sırasında fizyolojik ve patolojik durumların her ikisinde de apoptozis ile hücre proliferasyonu ayrılmaz ikilidirler. Bununla beraber anevrizma formasyonundaki vasküler atrofi aşırı apoptozis ile birlikte bulunur. Vasküler düz kas hücrelerindeki apoptozis aortik anevrizmalarda normal aortalara kıyasla artmıştır. Bu artışla ilişkili olarak proapoptotik moleküllerin sayısında da artış mevcuttur.²¹ Damar duvarındaki vasküler düz kas hücreleri yaşamın başından sonuna kadar bölünebilirler ve apoptozise maruz kalabilirler.²² Bu nedenle damar duvarı içindeki çok az veya çok fazla olan apoptozis zararlı olabilir.²³

Variköz venlerde apoptozisin rolü hakkında rapor edilmiş az miktarda çalışma bulunmaktadır.

Halen bu veriler tartışmaya açıktır. Bujan ve ark.²⁴ variköz venlerin medya tabakasında yüksek apoptotik aktivite bulmuşlardır. Ascher ve ark.⁸ ven duvar tabakalarında immünohistokimyasal olarak hücrelerin sitoplazmik ve nükleer boyanmalarını değerlendirdikleri çalışmalarında, karşılaştırıldığı variköz venlerin medya tabakasında bax (+) boyanan hücrelerin yüzde ortalamalarını normal venlere göre daha fazla bulmuşlardır. Biz de yaptığımız çalışmada da proapoptotik aktiviteye sahip bax' ı variköz ven medyasında daha fazla bulduk. Urbanek ve ark.²⁰ da variköz venli genç hastaların distal segmentlerin medya tabakasında proapoptotik mediyatörleri kontrol grubundan daha yüksek bulmuşlardı. Ducasse ve ark.¹⁹ ise sadece ven duvarının medya tabakasındaki yaptıkları çalışmada, immün reaktiviteyle apoptozis tespitinde variköz venlerde sağlıklı venlerden daha az apoptotik hücre bulmuşlardır.

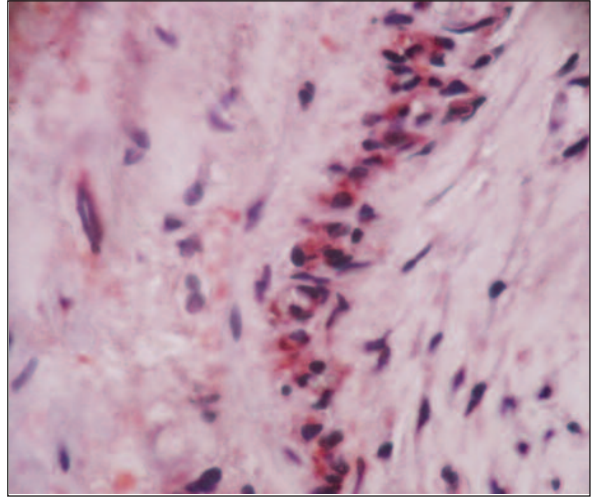
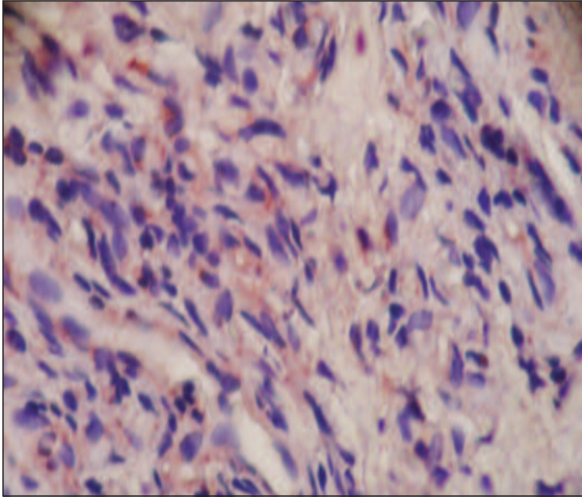
Bcl-2 başlıca mitokondriyal dış membranında lokalize bir proteindir. Bcl-2'nin regülasyonu mitokondriyal intraselüler kalsiyum seviyeleri ve birçok sistemlerde proapoptotik stimülasyonlar ile meydana gelen membran potansiyellerinin kaybına göre düzenlenir.²⁵ Bu nedenle bcl-2 apoptozis inhibisyonuyla alakalıdır. Bcl-2'nin overekspresyonu bir çok hücre tipinde apoptozise karşı koruyucudur.

Yaptığımız çalışmada bcl-2 immün reaktivitesinde kontrol grubuyla variköz venli grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptayamadık. Urbanek ve ark.²⁰ immünohistokimyasal olarak bcl-2 (+) hücreleri kontrol ve variköz venlerin medyasında ve adventisiasında olmakla beraber az miktarda intimada göstermişler. Gen ekspresyonuyla da varisli hastaların proksimal ve distal safen segmentlerinde bcl-2 seviyelerinin artışını istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır. Bizim çalışmamızla aynı şekilde Ascher ve ark.²⁶ da örnekleri arasında bcl-2' de önemli bir farklılık tespit edememişler ve bunun nedeni olarak kullandıkları antikörlerin ven dokusundaki hücrelere spesifikliğinin

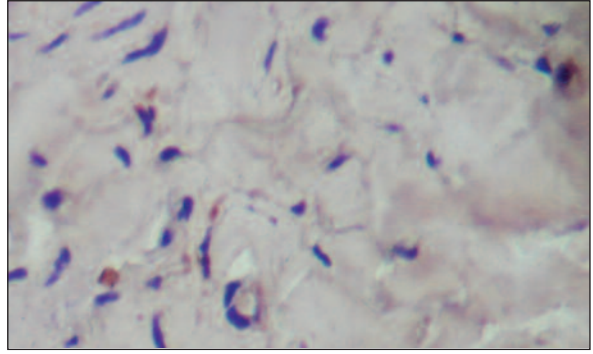
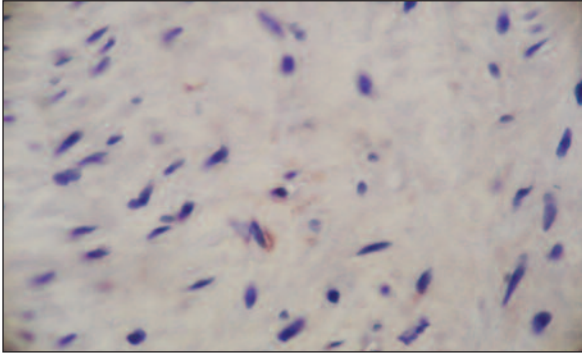
az olması olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ascher ve ark.⁸ yaptıkları başka bir çalışmada kan damarlarında bcl-x ve bcl-2 ekspresyonunun tespitinin zor olduğu belirtmişlerdir. Ducasse ve ark.¹⁹ önceki araştırmalarda bcl-2 seviyesinde anlamlı artma veya azalma tespit edilemediği için çalışmalarına bcl-2' yi dahil etmemişlerdir.

Görülüyor ki tüm bu yapılan çalışmalarda ven duvarının katmanlarında proapoptotik ve antiapoptotik mediyatörlerin seviyelerinde farklılıklar tespit edilmiştir. Bunun nedeninin apoptotik süreç içerisinde rol alan tüm maddelerin kendi aralarındaki çalışma düzeninde bilinmeyen bir etkinin olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca çalışmalarda farklı klinik evrelerdeki hastaların bulunması apoptozisin variköz venlerdeki patolojik aşamalarda etkisinin değişebileceğini akla getirmektedir. Buna göre erken evrelerde apoptozisin daha fazla olduğu ve hastalık ilerledikçe fibrotik dejenerasyon ve azalmış düz kas hücreleri nedeniyle daha az apoptotik mekanizmanın meydana geldiği akla gelebilir. Yani sebep sonuç ilişkisinde apoptozisin yeri belli değildir. Bununla ilgili somut bir bilgi bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda cinsiyet ve özellikle yaş etkininin araştırma sonuçlarından bağımsız olduğu varsayılmıştır. Bunun nedeni ise koroner bypass ameliyatı geçirecek yaş grubu ile varis operasyonu geçirecek yaş grubunun farklılığıdır. Bu etkiyi en aza indirmek için ultrasonografik olarak tamamen normal venöz sisteme sahip koroner arter hastaları seçildi. Çalışmanın amacı hasarlanmış ve normal ven duvarındaki apoptotik aktivitenin araştırılması olduğu için yaş ve cinsiyet faktöründen bağımsız olduğu kabul edildi. Bu nedenle homojen oluşturulmuş farklı klinik evrelere ait ileri klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak variköz venlerin etyopatogenezinde medya tabakasındaki fibrotik dejenerasyon ve düz kas hücre apoptozisi önemlidir. Tüm bunların yanında hormonal ve genetik faktörlerin ven duvarı üzerindeki etkilerini göz ardı etmemek gerekir.



ŞEKİL 4 (a,b): Medya tabakasında sitoplazmik bax (+) hücrelerin görünümü (X 200). Variköz venlerde daha fazla bax(+) hücre izlenmektedir. **a)** Kontrol ven örneği **b)** Variköz ven örneği



ŞEKİL 5 (a,b): Medya tabakasında sitoplazmik bcl-2 (+) hücrelerin görünümü (X 400). Gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi. **a)** Kontrol ven örneği **b)** Variköz ven örneği.

KAYNAKLAR

- Rose SS, Ahmed A. Some thoughts on the aetiology of varicose veins. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1986;27:534-43.
- Travers JP, Brookes CE, Evans J, Baker DM, Kent C, Makin GS, et al. Assessment of wall structure and composition of varicose veins with reference to collagen, elastin and smooth muscle content. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996;11:230-7.
- O'Donnell TF, lafrati MD. Varicose veins. In: Haimovici H, Ascer E, Hollier LH, Strandness DE, Towne JB, eds. *Haimovici's Vascular Surgery Principles and Techniques*. 4th ed. Cambridge Massachusetts: Blackwell Science Inc; 1996. p. 1187-98.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- Menè P, Amore A. Apoptosis: potential role in renal diseases. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1936-43.
- Reed JC. Bcl-2 family proteins. *Oncogene*. 1998;17:3225-36.
- Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 1993;74:609-19.
- Ascher E, Jacob T, Hingorani A, Tsemekhin B, Gunduz Y. Expression of molecular mediators of apoptosis and their role in the pathogenesis of lower-extremity varicose veins. *J Vasc Surg* 2001;33:1080-6.
- Henderson EL, Geng YJ, Sukhova GK, Whittemore AD, Knox J, Libby P. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 1999;99:96-104.
- van Loo G, Saelens X, van Gorp M, MacFarlane M, Martin SJ, Vandenabeele P. The role of mitochondrial factors in apoptosis: a Russian roulette with more than one bullet. *Cell Death Differ* 2002;9:1031-42.
- Andreotti L, Cammelli D. Connective tissue in varicose veins. *Angiology* 1979;30:798-805.
- Andreotti L, Cammelli D, Sampognaro S, Altori A, Baldoni D, Bussotti A, et al. Biochemical analysis of dermal connective tissue in subjects affected by primary uncomplicated varicose veins. *Angiology* 1985;36:265-70.
- Badier-Commander C, Verbeuren T, Lebard C, Michel JB, Jacob MP. Increased TIMP/MMP ratio in varicose veins: a possible explanation for extracellular matrix accumulation. *J Pathol* 2000;192:105-12.

14. Kosugi I, Urayama H, Kasashima F, Ohtake H, Watanabe Y. Matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator in varicose veins. *Ann Vasc Surg* 2003;17:234-8
15. Maurel E, Azema C, Deloly J, Bouissou H. Collagen of the normal and the varicose human saphenous vein: a biochemical study. *Clin Chim Acta* 1990;193:27-37.
16. Gandhi RH, Irizarry E, Nackman GB, Halpern VJ, Mulcare RJ, Tilson MD. Analysis of the connective tissue matrix and proteolytic activity of primary varicose veins. *J Vasc Surg* 1993;18:814-20.
17. Sansilvestri-Morel P, Rupin A, Badier-Commander C, Kern P, Fabiani JN, Verbeuren TJ, et al. Imbalance in the synthesis of collagen type I and collagen type III in smooth muscle cells derived from human varicose veins. *J Vasc Res* 2001;38:560-8.
18. Pappas PJ, Gwertzman GA, DeFouw DO, Padberg FT Jr, Silva MB Jr, Durán WN, et al. Retinoblastoma protein: a molecular regulator of chronic venous insufficiency. *J Surg Res* 1998;76:149-53.
19. Ducasse E, Giannakakis K, Chevalier J, Dasnoy D, Puppink P, Speziale F, et al. Dysregulated apoptosis in primary varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005;29:316-23.
20. Urbaneek T, Skop B, Wiaderkiewicz R, Wilczok T, Ziaja K, Lebda-Wyborny T, et al. Smooth muscle cell apoptosis in primary varicose veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004;28:600-11.
21. Thompson RW, Liao S, Curci JA. Vascular smooth muscle cell apoptosis in abdominal aortic aneurysms. *Coron Artery Dis* 1997;8:623-31.
22. Bennett MR. Apoptosis in the cardiovascular system. *Heart* 2002;87:480-7.
23. McCarthy NJ, Bennett MR. The regulation of vascular smooth muscle cell apoptosis. *Cardiovasc Res* 2000;45:747-55.
24. Buján J, Jiménez-Cossio JA, Jurado F, Gimeno MJ, Pascual G, García-Honduvilla N, et al. Evaluation of the smooth muscle cell component and apoptosis in the varicose vein wall. *Histol Histopathol* 2000;15:745-52.
25. Rowan S, Fisher DE. Mechanisms of apoptotic cell death. *Leukemia* 1997;11:457-65.
26. Ascher E, Jacob T, Hingorani A, Gunduz Y, Mazzariol F, Kallakuri S. Programmed cell death (Apoptosis) and its role in the pathogenesis of lower extremity varicose veins. *Ann Vasc Surg* 2000;14:24-30.