



Papel del tejido perivascular en la regulación del tono vascular: repercusión en el uso de puentes aorto-coronarios para revascularización miocárdica

Role of perivascular tissue in vascular tone regulation: repercussion in the use of aortocoronary bypass for myocardial revascularization

Patricio López-Jaramillo, MD., Ph.D.^(1,2); Isabel C. Bolívar, MD.⁽¹⁾; Christian F. Rueda-Clausen, MD.⁽¹⁾; Jaime Calderón, MD.⁽³⁾; Victor R. Castillo, MD.⁽⁴⁾; Ariel López, MD.⁽³⁾; Marisol Carreño, MD.⁽³⁾

Floridablanca, Santander, Colombia.

Desde hace más de treinta años, la inserción quirúrgica de puentes aorto-coronarios autólogos de vena safena y de arteria mamaria, constituye el tratamiento de elección para pacientes con enfermedad coronaria severa. La vida útil de estos injertos ha demostrado ser mayor en los colgajos de tipo arterial, aunque su uso está limitado por la restringida disponibilidad de los mismos. Por esta razón, y a pesar de que tienen mayor riesgo de presentar oclusión, los injertos de vena safena son los que más se usan en estos procedimientos de perfusión miocárdica. Aún no se han esclarecido del todo las razones por las cuales los injertos venosos se ocluyen luego de su inserción en los lechos arteriales; no obstante, se ha propuesto que podría deberse a diferentes factores como: trauma mecánico quirúrgico, aumento de la presión arterial y disminuido estrés de fricción.

En 1996 se describió la técnica "no-touch" de preparación de los injertos venosos, en la cual se implantaron los puentes venosos en los lechos coronarios junto con el tejido peri-vascular que los circunda, y demostró mejorar la vida útil de este tipo de injertos. Recientemente se ha propuesto que el tejido adiposo peri-vascular podría desempeñar un papel en la regulación del tono vascular, e incluso se ha descrito la existencia de un factor relajante derivado del adipocito (ADRF), cuya naturaleza no se ha esclarecido completamente.

El objetivo de este artículo es revisar los diferentes factores vinculados con la oclusión de los injertos aorto-coronarios, las posibles vías fisiopatológicas que configuran este fenómeno, las nuevas alternativas quirúrgicas utilizadas para la preparación de los injertos venosos y los avances en la descripción del ADRF y su papel en la regulación del tono vascular.

PALABRAS CLAVE: puentes aorto-coronarios, tejido perivascular, factor relajante derivado del adipocito.

(1) Grupo VILANO. Instituto de Investigaciones, Fundación Cardiovascular de Colombia. Floridablanca, Santander, Colombia.

(2) Departamento de Investigaciones. Facultad de Medicina, Universidad de Santander (UDES). Bucaramanga, Colombia.

(3) Grupo de Cirugía Cardiovascular QUIRON. Fundación Cardiovascular de Colombia. Bucaramanga, Colombia.

(4) Área de Investigación en Pediatría. Fundación Cardiovascular de Colombia. Bucaramanga, Colombia.

Correspondencia: Patricio López-Jaramillo, MD., Ph.D., Instituto de Investigaciones, Fundación Cardiovascular de Colombia, Calle 155ª No. 23-58. Tercer piso. Teléfono: +577-6399292. Ext.: 331-343. Fax: +577-639 2744. Floridablanca, Santander, Colombia. Correo electrónico: jplopezj@fcv.org

Since more than thirty years, surgical insertion of autologous aortocoronary bypasses from saphenous vein and mammary artery constitute the election treatment for patients with severe coronary disease. The lifespan of these grafts has shown to be longer with arterial tissue even though its use is limited by its restricted availability. This is why the saphenous vein bypasses, although having a greater risk of presenting occlusion, are the most used in these procedures of myocardial reperfusion. The reasons by which the venous grafts are occluded after its insertion in the arterial site are still not clear; nevertheless, it has been proposed that it could be due to different factors such as: surgical mechanical trauma, increment of arterial pressure and diminished friction stress.

In 1996 the «no-touch» preparation technique of venous grafts was described, in which the venous bypasses were implanted in the coronary site along with the surrounding perivascular tissue and demonstrated to improve the lifespan of this type of grafts. Recently it has been proposed that the perivascular fat tissue could play a role in the vascular tone regulation and it has been even described the existence of an adipose cell derived relaxing factor (ADRF), whose nature has not been completely cleared yet.

The objective of this article is to review the different factors related to the aortocoronary grafts' occlusion, the possible physiopathologic channels that form this phenomenon, the new surgical alternatives used for vein grafts preparation and the advances in the description of ADRF and its role in vascular tone regulation.

KEY WORDS: aortocoronary bypass, perivascular tissue, adipose cell derived relaxing factor.

(Rev.Colomb.Cardiol. 2007; 14: 100-107)

Introducción

Durante los últimos treinta años, la revascularización miocárdica con injertos autólogos ha constituido el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad coronaria severa (1-8). De los diferentes tipos de injertos autólogos utilizados, el más frecuente es el de vena safena, debido a su mayor disponibilidad y a su fácil obtención (6, 9). Sin embargo, una de las grandes dificultades propias de la utilización de este tipo de injertos, radica en el reporte de altas tasas de oclusión, que alcanzan hasta el 15% al 30% durante el primer año (8, 10, 11), y hasta el 50% a 10 años (7, 9, 10).

En comparación con los injertos venosos de miembros inferiores, aquellos realizados con colgajos de arteria mamaria interna han reportado menores tasas de oclusión a largo plazo con valores de hasta el 5% durante el primer año y el 10% diez años después de su inserción (1, 9, 12, 13). Sin embargo, su utilización tiene algunas desventajas como mayor número de complicaciones isquémicas e infección a nivel esternal (especialmente cuando se usan ambas arterias mamarias internas y en pacientes diabéticos (12)) y espasmos arteriales que pueden llevar a la pérdida de la permeabilidad del puente (6, 14, 15). Además, la utilización de este tipo de puentes arteriales se ve limitada por la poca disponibi-

lidad de tejido y por las variaciones morfológicas del mismo, que en ocasiones constituyen una dificultad para su correcta inserción en los lechos coronarios (6, 15). Una alternativa para la realización de injertos vasculares arteriales cuando no hay disponibilidad de arteria mamaria interna son los de arteria radial y arteria epigástrica; no obstante, su uso es limitado pues se asocia a la aparición de efectos adversos como isquemia del área de la cual son removidas (12-16). Por estas razones y a pesar de tener una mayor tasa de oclusión, los injertos aorto-coronarios de vena safena siguen siendo el tipo de injerto más utilizado para la revascularización miocárdica, por lo que el estudio de los mecanismos relacionados en el proceso de oclusión de los puentes y el estudio de alternativas que mejoren la viabilidad para estos puentes, constituyen un tema prioritario de investigación (10).

Efectos de la técnica de preparación convencional de los injertos sobre su funcionamiento

Los injertos de vena se obtienen de la vena safena interna, y su preparación incluye la ligadura de las comunicantes perforantes y la resección parcial o total del tejido peri-vascular adyacente al injerto. Durante la realización de esta técnica y después de retirar el tejido peri-vascular y la capa adventicia de los fragmentos venosos

que van a ser implantados, se produce un intenso venoespasma (7, 8) que normalmente se revierte mediante la canalización del mismo y la aplicación intraluminal de solución salina a altas presiones. Si bien este procedimiento revierte el vasoespasmo de los colgajos, produce daño de la pared vascular (1, 3, 7, 17).

Algunos autores atribuyen a este traumatismo mecánico la menor viabilidad y permeabilidad de estos puentes (1, 2, 5-7, 11, 17), mientras otros señalan que existen factores condicionales como la inhabilidad de la vena safena para adaptarse a la presión (7, 9) y al estrés de fricción (7-9) que resultan de la implantación de un segmento venoso en un lecho arterial (18), lo que podría explicar la mayor presentación de oclusión en este tipo de injertos.

En busca de alternativas que minimicen el trauma quirúrgico, se han utilizado diferentes agentes farmacológicos (papaverina (5, 19), verapamilo (5, 20) y trinitrato de glicerol (20)) aplicados al injerto venoso. Sin embargo, los resultados obtenidos con estos procedimientos han sido poco alentadores (20, 21).

Técnica *no-touch* para injertos de vena safena en revascularización miocárdica

En 1996 Souza y colaboradores (11) describieron la llamada técnica "no touch" para la preparación de injertos venosos, en la cual se retira la vena safena de su ubicación original sin remover el tejido peri-vascular adyacente. Las venas extraídas mediante esta técnica no presentan venoespasma, por lo que no es necesario distenderla antes de implantarla en los lechos coronarios (11, 22), con lo que se reduce la manipulación directa de la vena safena y en consecuencia se minimiza también el deterioro de las microestructuras perivasculares como la vasa vasorum y la vasa nervorum (1, 3, 7, 17).

A partir de la descripción de esta técnica se han llevado a cabo diferentes estudios que han mostrado resultados favorables. Así, en 1993 se inició un ensayo clínico en el cual se compararon tres técnicas quirúrgicas (con 52 pacientes en cada grupo): la técnica convencional (C) en la cual se retiró el tejido perivascular y posteriormente se distendió la vena con solución salina; la técnica intermedia (I) en la cual se retiró el tejido perivascular pero no se distendió la vena con solución salina, sino que se colocó en una solución con papaverina, y la técnica "no touch". Mediante seguimiento angiográfico, se demostró que 18 meses después del procedimiento, la técnica C presentó una tasa

de puentes permeables significativamente menor que los operados con técnica "no touch" (86,2% vs. 95,4%, $p=0,02$) (9). Después de ajustar por múltiples variables de confusión como características microscópicas de los injertos, diámetro de los vasos receptores, edad, nivel de colesterol, tabaquismo, hipertensión y flujos intravasculares de los injertos, el radio de Odds para tener los puentes permeables 18 meses después del procedimiento con técnica "no touch" vs. el grupo C fue de 3,9 (IC 95% 1,2-12,6, $p=0,02$) (9). Luego de 8 años de seguimiento, se evaluaron 37 pacientes del grupo C y 37 del grupo "no touch" por angiografía coronaria y se halló una tasa de permeabilidad del 76% en el grupo C y del 90% en el "no touch", (OR ajustado de 3,7 IC 95% 1,4-9,6, $p=0,007$) (6). Estos resultados demuestran que la técnica "no touch" mejora significativamente la vida útil de los puentes a corto y largo plazo.

Los mecanismos fisiopatológicos que explican estos hallazgos no han sido identificados plenamente, y se ha sugerido que existen varios factores implicados y distribuidos en los diferentes componentes de la pared vascular.

Capa íntima y endotelio

Por medio de diferentes técnicas (microscopía de luz y electrónica, inmunohistoquímica e inmunofluorescencia) se demostró que la preservación endotelial es mejor en las venas tratadas con técnicas "no touch" (1, 3, 7, 8). Así, con esta técnica se observaron uniones intercelulares conservadas, morfología normal (microvellosidades y pliegues intimaes normales) y además se demostraron niveles más altos (35%) de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (1, 3, 7, 8). Por el contrario, en los especímenes tratados con técnica convencional, se observó polimorfismo de las células endoteliales y numerosas áreas de denudación endotelial con disminución de la óxido nítrico sintasa endotelial y un aumento significativo en la activación y adherencia plaquetaria (1, 3, 5, 7, 8).

La formación de trombos en la luz de los injertos, constituye la principal causa de oclusión de los puentes durante el primer mes post-operatorio, lo cual podría explicarse por el trauma mecánico producido al endotelio de las venas tratadas con la técnica C, situación que desencadena una cascada de eventos protrombóticos y que es potenciada por el cambio abrupto en la presión y el flujo sanguíneo, la tensión de la pared y el estrés de fricción al que es sometida la vena safena (2, 5, 7). En condiciones normales, estos cambios hemodinámicos estimularían la producción de óxido nítrico a nivel de la

pared vascular (23) pero en las condiciones de la técnica C se produce una alteración de la función endotelial y se reduce de manera marcada la producción de óxido nítrico (3, 23, 24).

Capa muscular o media

En los especímenes tratados con la técnica "no touch" se observó que la morfología de las células musculares lisas se conservó de forma adecuada (1) en tanto que con la técnica convencional estas células mostraron cambios en su morfología con la aparición de núcleos polimórficos y células expuestas externamente con actividad mitótica (1). Además, se demostró que los niveles de las tres isoformas de la óxido nítrico sintasa en los injertos tratados con esta técnica, fueron mayores que los tratados con la técnica C (7, 8). Es bien conocido que estas enzimas se expresan normalmente en células endoteliales, células musculares lisas, nervios perivasculares y plaquetas (7, 24) y que son responsables de la síntesis del óxido nítrico, el mayor agente vasodilatador y antitrombótico del sistema cardiovascular (23-25).

Capa externa o adventicia

En preparaciones de injertos extraídos mediante la técnica "no touch", se observó la presencia, en el tejido perivascular, de múltiples vasos de diferentes diámetros (vénuclas, arteriolas y capilares) acompañados de fibroblastos y nervios perivasculares, además de una importante expresión de las tres isoformas de óxido nítrico sintasa; mientras que en preparaciones convencionales se observó una marcada disminución o ausencia de esta capa, con reducción de la vasa-vasorum y presencia de fibras nerviosas morfológicamente alteradas (1, 7). La vasa vasorum es la principal fuente de nutrientes y oxígeno para las arterias y venas (17). Existe evidencia anatómica de que la pared de la vena safena es suplida por ramas perforantes provenientes de la arteria femoral y que la vasa vasorum forma una trama capilar que se extiende desde la parte más externa hasta el lumen del vaso, lo que le permite perfundir las diferentes capas del mismo (17).

En estudios realizados en aorta ascendente de perros, se ha demostrado que al retirar el tejido perivascular, y por consiguiente la vasa vasorum, la pared de la arteria presenta una aguda disminución de la distensibilidad y cambios estructurales de la pared, y posteriormente deterioro de las propiedades elásticas del vaso al modificarse la proporción de fibras elásticas y colágeno en la capa media del mismo (17).

El factor causal de la oclusión de los injertos venosos a largo plazo, es la hiperplasia intimal (2, 7, 17, 26) que consiste en una acumulación de células musculares lisas y matriz extracelular en la capa íntima de los injertos, y que se presenta en respuesta al estrés causado por los factores hemodinámicos y al daño endotelial ya mencionados (2, 3, 7, 8, 18). Adicionalmente, la pérdida de la vasa vasorum propia de la técnica C, produce isquemia e hipoxia de la pared vascular, lo que lleva a un proceso acelerado de neovascularización y transformación de los fibroblastos de la adventicia a miofibroblastos que migran a la íntima e inician el proceso de hiperplasia intimal y que conduce finalmente a la formación de la placa ateromatosa que causa la oclusión del injerto (7, 17, 26, 27).

Trabajos experimentales realizados en carótidas de perros, demostraron que la integridad del tejido perivascular arterial favorece la reendotelización de segmentos arteriales a los cuales se les remueve el endotelio por medios mecánicos (17). Estos resultados indican que para que se presente una adecuada regeneración endotelial en un vaso sometido a algún tipo de traumatismo, es indispensable la presencia de una adecuada densidad y distribución de la vasa vasorum.

Tejido adiposo perivascular

Los datos publicados sobre la técnica "no touch", destacan la importancia de la preservación de la vasa vasorum, y por consiguiente del endotelio funcional, como el principal factor determinante de la integridad funcional de los injertos (17). Sin embargo, los estudios realizados no describen el papel que podría tener el tejido adiposo perivascular en este fenómeno. Actualmente, se sabe que el tejido adiposo, además de ejercer su función como reservorio energético y efector termorregulador, es un importante órgano endocrino que produce y secreta diferentes sustancias como factor de crecimiento endotelial, factor de necrosis tumoral alfa, interleukina 6, leptina, adiponectina, resistina, adiposina, factor de crecimiento similar a la insulina 1, inhibidor del activador del plasminógeno 1, hormonas esteroideas y diferentes componentes del eje renina-angiotensina entre otros (28), lo que sugiere que el tejido adiposo perivascular podría desempeñar un papel determinante en la regulación de la función vascular (28-33). En 1991, Soltis y Cassis describieron que la respuesta vasomotora a norepinefrina en preparaciones "ex vivo" se encuentra significativamente atenuada en presencia de tejido adiposo perivascular (34). Este hallazgo

fue reevaluado por Lohn y colaboradores, quienes confirmaron esta acción inhibitoria del tejido pervascular en aortas de ratas expuestas a diferentes vasoconstrictores (32, 33, 35). Desde entonces se han realizado diversos estudios, la mayoría de ellos en modelos "ex-vivo" con arterias de ratas (aorta y mesentéricas) (29, 32-34) y humanas (arteria mamaria interna) (31), para describir las características de los factores adipocitarios que se relacionan con este hallazgo.

Los resultados de estos estudios han demostrado que el tejido adiposo pervascular, desempeña un papel fisiológico importante en la modulación de la función vascular por medio de la producción de sustancias vasoactivas que tienen efectos opuestos sobre la regulación del tono vascular y que actúan de forma equilibrada para mantener el tono vascular (36). Algunos autores sugieren que el tejido adiposo pervascular sintetiza una sustancia aun no caracterizada químicamente, denominada factor relajante derivado del adipocito (ADRF) (29-33). Se ha propuesto que el ADRF podría ser un péptido (28, 32) que ejerce una acción vasodilatadora "ex vivo" en vasos que han sido pre-contraídos con sustancias como norepinefrina, serotonina, angiotensina II, endotelina I y agonista del tromboxano A2 (28, 29, 31-33). Se ha descrito también que la acción vasodilatadora del ADRF es proporcional a la cantidad de tejido adiposo contiguo al vaso estudiado y a la concentración extracelular de calcio (32, 33, 37), que su producción y liberación a nivel del adipocito involucra las vías intracelulares de la tirosín kinasa y la proteína kinasa A (29), y que su acción está mediada por canales de potasio en la membrana de las células musculares lisas (28, 30) (Figura 1).

El estímulo de estos canales en las células musculares lisas, produce hiperpolarización de la membrana celular y reducción del influjo de calcio a la sarcómera que causa vasodilatación (28, 29, 33). También se ha descrito que existen diferencias con respecto a los tipos de canales de potasio a través de los cuales actúa el ADRF según la estructura vascular estudiada, de modo tal que en la aorta de rata se encontró que actúa a través de receptores de potasio ATP dependientes (29, 32), en arterias mesentéricas de rata actúa a través de canales de potasio dependientes de voltaje (38) y en arteria mamaria interna humana, mediante el bloqueo de los canales de potasio calcio-dependientes (30-32).

De igual manera, se ha demostrado que la acción vasorrelajante del ADRF, es independiente del endotelio (28, 29, 32, 33), de la acción de los nervios perivascuales,

de la ciclooxigenasa (32), de la vía del citocromo P450 (28, 32) y de la presencia de receptores cannabinoides, vaniloides o de leptina (28-30).

Estas observaciones respaldan el concepto que el tejido adiposo pervascular es un tejido paracrino que parece interactuar con el endotelio para modular la función del músculo liso vascular. Resulta llamativo que estos dos órganos paracrinos (el endotelio y el tejido adiposo pervascular) secreten sustancias vasorrelajantes (óxido nítrico, factor hiperpolarizante derivado del endotelio, prostaciclina por parte del endotelio (24, 25, 28, 39-41) y ADRF por parte del tejido graso) y que todos estos factores estimulen diversas vías intracelulares que culminan en la activación de diferentes canales de potasio en las células musculares lisas causando hiperpolarización y vasodilatación (28). Este hallazgo da soporte, según nuestra investigación, a que el sistema cardiovascular es un sistema cerrado que mantiene un tono vasodilatador permanente que depende del correcto funcionamiento de los mecanismos vasodilatadores para lograr una regulación de las presiones y los flujos arteriales (23, 24).

En modelos animales se ha demostrado que la hipertensión arterial cursa con diferencias tanto en la masa del tejido adiposo pervascular disponible como de la función del mismo (38). Así, los animales hipertensos tienen menor masa de tejido graso pervascular y menor cantidad de contenido lipídico por célula en los lechos mesentéricos, lo que posiblemente facilita la contracción en las arterias mesentéricas que son en gran medida responsables de la resistencia vascular sistémica (33, 38). También se encontró que los animales hipertensos tenían menores niveles de insulina, lípidos séricos y leptina (38).

El hallazgo de que el tejido adiposo pervascular sintetiza y libera una sustancia vasodilatadora y que ésta es proporcional a la cantidad de adipocitos perivascuales, es contradictoria con la relación que existe entre obesidad e hipertensión arterial (42, 43). Esta aparente contradicción podría relacionarse con cambios en las características del tejido adiposo, que en pacientes obesos está alterado (42, 44-46). De esta forma, se ha encontrado que en sujetos obesos las células adipositarias subcutáneas producen radicales libres de oxígeno en cantidades mayores a las normales, llevando a un mayor estrés oxidativo y por consiguiente a daño vascular (36, 44-47). A modo experimental en animales se encontró que en las arterias mesentéricas con tejido adiposo pervascular, la contracción inducida por estimulación eléctrica es mayor

que en arterias a las que se les ha removido este tejido (36). Este hallazgo sugiere que el tejido adiposo perivascular, al ser estimulado eléctricamente, produce ión superóxido (36), el cual potencia la acción de sustancias vasoconstrictoras por dos mecanismos: el incremento de la actividad de los plexos simpáticos perivascuales (36) y la inactivación de sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico (36, 48). Estos hallazgos sugieren que el tejido adiposo perivascular como el endotelio vascular, es un órgano que ejerce una acción dual sobre la regulación del tono vascular, y que es la pérdida de este equilibrio entre los factores relajantes y constrictores, lo que induce

el daño tisular y por lo tanto el desarrollo de diferentes patologías (Figura 1).

Conclusiones

Lo expuesto sugiere que el estudio del tejido perivascular es de gran importancia dado que su papel fisiológico en la regulación del tono vascular, puede ser fundamental en la comprensión de la enfermedad aterosclerótica y podría llevar a cambios en las técnicas quirúrgicas actualmente utilizadas en procedimientos cada día más comunes como la revascularización mio-

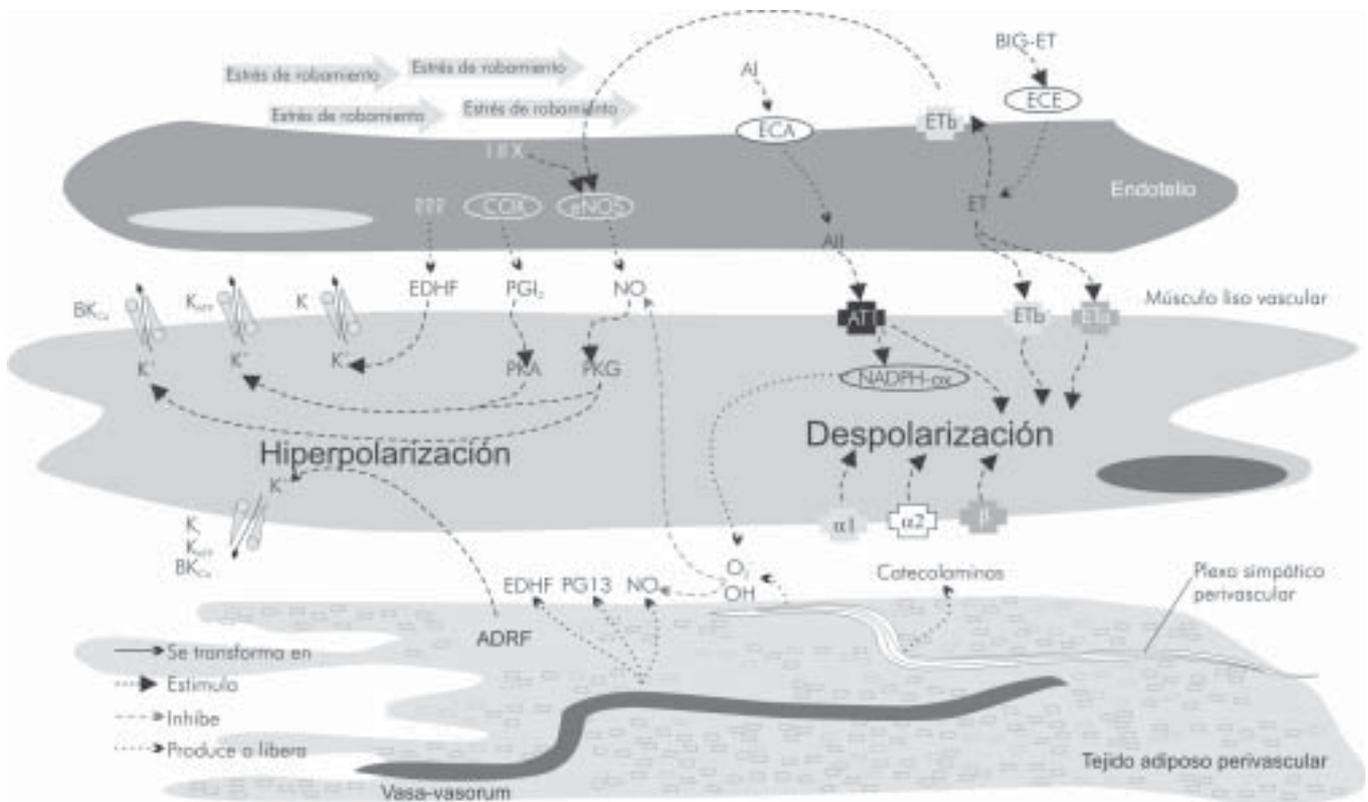


Figura 1. Principales mecanismos paracrinos vinculados en la regulación del tono vascular.

Los factores relajantes derivados del endotelio: óxido nítrico (NO), factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF) y prostaciclina (PGI_2), así como el factor relajante derivado del adipocito (ADRF) actúan abriendo canales de potasio en la membrana de la célula muscular lisa (CML), causando hiperpolarización, disminución del influjo de calcio a la sarcómera y en consecuencia vasodilatación. La célula endotelial produce PGI_2 por medio de la enzima ciclooxygenasa (COX) y NO por medio de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), la PGI_2 activa la adenilato ciclasa soluble y la protein quinasa A (PKA) la cual abre canales de potasio ATP dependientes (KATP), mientras que el NO activa la guanilato ciclasa soluble y la protein quinasa G (PKG) la cual abre canales de potasio ATP dependientes y dependientes de calcio (BKCa). La naturaleza y acción del EDHF aún es desconocida. El tipo de canales estimulados por el ADRF depende del tipo de vaso; en arterias pequeñas actúa sobre canales de potasio dependientes de voltaje (Kv) y en arterias de mayor tamaño o arterias de conductancia a través de KATP o BKCa. La endotelina (ET) es sintetizada por acción de la enzima convertidora de endotelina (ECE) a partir del precursor de la endotelina (BIG-ET) y actúa a nivel de los receptores tipo a y b de endotelina a nivel muscular despolarizando la célula y a nivel endotelial estimulando la síntesis de NO. La angiotensina I (AI), por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se convierte en AII que actúa a nivel muscular en sus receptores AT1 estimulando la despolarización de la célula y estimulando la actividad de la NADPH oxidasa que sintetiza radicales libres de oxígeno como el ión superóxido (O_2^-) y el ión hidroxilo (OH).

cárdica. Por otro lado, la epidemia de enfermedades cardiovasculares que están experimentando los países del tercer mundo, se asocia con mayor presencia de inflamación de bajo grado y alteraciones de la función de la pared vascular con menores niveles de obesidad a los descritos para la población de países desarrollados (49). Esto significa que estas poblaciones podrían beneficiarse en mayor medida con el esclarecimiento del papel del tejido adiposo pervascular en la regulación de la función vascular.

Bibliografía

- Ahmed SR, Johansson BL, Karlsson MG, Souza DS, Dashwood MR, Loesch A. Human saphenous vein and coronary bypass surgery: ultrastructural aspects of conventional and "no-touch" vein graft preparations. *Histol Histopathol* 2004; 19: 421-433.
- Dashwood M, Anand R, Loesch A, Souza D. Surgical trauma and vein graft failure: further evidence for a role of ET-1 in graft occlusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44: S16-S19.
- Dashwood MR, Savage K, Dooley A, Shi-Wen X, Abraham DJ, Souza DS. Effect of vein graft harvesting on endothelial nitric oxide synthase and nitric oxide production. *Ann Thorac Surg* 2005; 80: 939-944.
- de Araujo JD, Braille DM, Rossi MA, Suzigan S, Souza DR, Martins MI. Experimental study of a biograft as aorto-aortic "bypass". *Int Angiol* 1991; 10: 117-121.
- Souza DS, Christofferson RH, Bomfim V, Filbey D. "No-touch" technique using saphenous vein harvested with its surrounding tissue for coronary artery bypass grafting maintains an intact endothelium. *Scand Cardiovasc J* 1999; 33: 323-329.
- Souza DS, Johansson B, Bojo L, Karlsson R, Geijer H, Filbey D, et al. Harvesting the saphenous vein with surrounding tissue for CABG provides long-term graft patency comparable to the left internal thoracic artery: results of a randomized longitudinal trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132: 373-378.
- Tsui JC, Souza DS, Filbey D, Karlsson MG, Dashwood MR. Localization of nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested with a novel "no-touch" technique: potential role of nitric oxide contribution to improved early graft patency rates. *J Vasc Surg* 2002; 35: 356-362.
- Tsui JC, Souza DS, Filbey D, Bomfim V, Dashwood MR. Preserved endothelial integrity and nitric oxide synthase in saphenous vein grafts harvested by a 'no-touch' technique. *Br J Surg* 2001; 88: 1209-1215.
- Souza DS, Dashwood MR, Tsui JC, Filbey D, Bodin L, Johansson B, et al. Improved patency in vein grafts harvested with surrounding tissue: results of a randomized study using three harvesting techniques. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 1189-1195.
- Shah PJ, Gordon I, Fuller J, Seevanayagam S, Rosalind A, Tatoulis J, et al. Factors affecting saphenous vein graft patency: clinical and angiographic study in 1402 symptomatic patients operated on between 1977 and 1999. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126: 1972-1977.
- Souza D. A new no-touch preparation technique. Technical notes. *Scand J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 30: 41-44.
- De Paulis R, de Notaris S, Scaffa R, Nardella S, Zeitani J, Del Giudice C, et al. The effect of bilateral internal thoracic artery harvesting on superficial and deep sternal infection: The role of skeletonization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 129: 536-543.
- Parish MA, Asai T, Grossi EA, Esposito R, Galloway AC, Colvin SB, et al. The effects of different techniques of internal mammary artery harvesting on sternal blood flow. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104: 1303-1307.
- Massa G, Johansson S, Kimblad PO, Sjöberg T, Steen S. Might free arterial grafts fail due to spasm? *Ann Thorac Surg* 1991; 51: 94-101.
- Myers MG, Fremes SE. Prevention of radial artery graft spasm: a survey of Canadian surgical centres. *Can J Cardiol* 2003; 19: 677-681.
- Buxton B, Tatoulis J, Fuller J. Arterial conduits update. *Heart Lung Circ* 2005; 14 (Suppl 2): S14-S17.
- Dashwood MR, Anand R, Loesch A, Souza DS. Hypothesis: a potential role for the vasa vasorum in the maintenance of vein graft patency. *Angiology* 2004; 55: 385-395.
- Cox JL, Chiasson DA, Gotlieb AI. Stranger in a strange land: the pathogenesis of saphenous vein graft stenosis with emphasis on structural and functional differences between veins and arteries. *Prog Cardiovasc Dis* 1991; 34: 45-68.
- LoGerfo FW, Haudenschild CC, Quist WC. A clinical technique for prevention of spasm and preservation of endothelium in saphenous vein grafts. *Arch Surg* 1984; 119: 1212-1214.
- Roubos N, Rosenfeldt FL, Richards SM, Conyers RA, Davis BB. Improved preservation of saphenous vein grafts by the use of glyceryl trinitrate-verapamil solution during harvesting. *Circulation* 1995; 92 (9 Suppl): II31-II36.
- He GW, Rosenfeldt FL, Angus JA. Pharmacological relaxation of the saphenous vein during harvesting for coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 1993; 55: 1210-1217.
- Souza DS, Bomfim V, Skoglund H, Dashwood MR, Borowiec JW, Bodin L, et al. High early patency of saphenous vein graft for coronary artery bypass harvested with surrounding tissue. *Ann Thorac Surg* 2001; 71: 797-800.
- Lopez-Jaramillo P, Gonzalez MC, Palmer RM, Moncada S. The crucial role of physiological Ca²⁺ concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 489-493.
- Moncada S, Higgs EA, Hodson HF, et al. The L-arginine: nitric oxide pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 17 (Suppl 3): S1-S9.
- Berrazueta JR, Lopez-Jaramillo P, Moncada S. Nitric oxide: from endogenous vasodilator to biologic mediator. *Rev Esp Cardiol* 1990; 43: 421-431.
- Allaire E, Clowes AW. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the intimal hyperplastic response. *Ann Thorac Surg* 1997; 63: 582-591.
- Gonzalez MC, Arribas SM, Molero F, Fernandez-Alfonso MS. Effect of removal of adventitia on vascular smooth muscle contraction and relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H2876-H2881.
- Gollasch M, Dubrovskaja G. Paracrine role for periadventitial adipose tissue in the regulation of arterial tone. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25: 647-653.
- Dubrovskaja G, Verlohren S, Luft FC, Gollasch M. Mechanisms of ADRF release from rat aortic adventitial adipose tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 286: H1107-H1113.
- Fernandez-Alfonso MS. Regulation of vascular tone: the fat connection. *Hypertension* 2004; 44: 255-256.
- Gao YJ, Zeng ZH, Teoh K, Sharma AM, Abouzahr L, Cybulsky I, et al. Perivascular adipose tissue modulates vascular function in the human internal thoracic artery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 130: 1130-1136.
- Lohn M, Dubrovskaja G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J* 2002; 16: 1057-1063.
- Verlohren S, Dubrovskaja G, Tsang SY, Essin K, Luft FC, Huang Y, et al. Visceral periadventitial adipose tissue regulates arterial tone of mesenteric arteries. *Hypertension* 2004; 44: 271-276.
- Soltis EE, Cassis LA. Influence of perivascular adipose tissue on rat aortic smooth muscle responsiveness. *Clin Exp Hypertens A* 1991; 13: 277-296.
- Lohn M, Kampf D, Gui-Xuan C, Haller H, Luft FC, Gollasch M. Regulation of arterial tone by smooth muscle myosin type II. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002; 283: C1383-C1389.
- Gao YJ, Takemori K, Su LY, An WS, Lu C, Sharma AM, et al. Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. *Cardiovasc Res* 2006; 71: 363-373.
- Bukoski RD, Bian K, Wang Y, Mupanomunda M. Perivascular sensory nerve Ca²⁺ receptor and Ca²⁺-induced relaxation of isolated arteries. *Hypertension* 1997; 30: 1431-1439.
- Galvez B, de Castro J, Herold D, Dubrovskaja G, Arribas S, Gonzalez MC, et al. Perivascular adipose tissue and mesenteric vascular function in spontaneously hypertensive rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1297-1302.
- Burnstock G. Local mechanisms of blood flow control by perivascular nerves and endothelium. *J Hypertens* 1990; 8: S95-106.
- Drummond GR, Cocks TM. Evidence for mediation by endothelium-derived hyperpolarizing factor of relaxation to bradykinin in the bovine isolated coronary artery: independently of voltage-operated Ca²⁺ channels. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 1035-1040.
- Fujioka H, Ayajiki K, Shinozaki K, Toda N, Okamura T. Mechanisms underlying endothelium-dependent, nitric oxide- and prostanoid-independent relaxation in monkey and dog coronary arteries. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2002; 366: 488-495.

42. Abate N. Obesity and cardiovascular disease. Pathogenetic role of the metabolic syndrome and therapeutic implications. *J Diabetes Complications* 2000; 14: 154-174.
43. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 968-976.
44. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114: 1752-1761.
45. Gao YJ, Holloway AC, Zeng ZH, Lim GE, Petrik JJ, Foster WG, et al. Prenatal exposure to nicotine causes postnatal obesity and altered perivascular adipose tissue function. *Obes Res* 2005; 13: 687-692.
46. Khan NI, Naz L, Yasmeen G. Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci* 2006; 19: 62-65.
47. Misra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition* 2003; 19: 457-466.
48. Wang HD, Pagano PJ, Du Y, Cayatte AJ, Quinn MT, Brecher P, et al. Superoxide anion from the adventitia of the rat thoracic aorta inactivates nitric oxide. *Circ Res* 1998; 82: 810-818.
49. Lopez-Jaramillo P, Casas JP, Bautista L, Serrano NC, Morillo CA. An integrated proposal to explain the epidemic of cardiovascular disease in a developing country. From socioeconomic factors to free radicals. *Cardiology* 2001; 96: 1-6.