



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT KAROTİS ANASTOMOZLARINDA
PENTOKSİFİLİN VE ADENOZİN' İN RESTENÖZ ÜZERİNE
ETKİNLİĞİ**

**Dr. Adil YILMAZ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DİYARBAKIR 2015



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL RAT KAROTİS ANASTOMOZLARINDA
PENTOKSİFİLİN VE ADENOZİN' İN RESTENÖZ ÜZERİNE
ETKİNLİĞİ**

**Dr. Adil YILMAZ
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

Yrd. Doç. Dr.Yahya TURAN

DİYARBAKIR 2015

İTHAF

*Annem, babam, kardeşlerim, oğlum
ve sevgili eşim Sibel'e...*



ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyuncaengin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin gerçekleşmesi sırasında bana her aşamada yardımcı olan, desteğini, sabrını ve hoşgörüsünü esirgemeyen hocam ve Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Adnan CEVİZ'e; başta sayın Prof. Dr. M. Serdar KEMALOĞLU olmak üzere sayın hocalarım Doç. Dr. Cüneyt GÖÇMEZ, Doç. Dr. Tevfik YILMAZ, Yrd. Doç. Dr. Kağan Kamaşak, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ÖZEVREN'e ve özellikle tez danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Yahya TURAN' a;

Uzun yıllardır birlikte çalıştığım, çalışma arkadaşlığının yanı sıra dostluk ve kardeşliği paylaştığım, aynı ekipte olmaktan onur duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Ömer SANRI, Dr. Pınar AYDIN, Dr. Abdurrahman ARPA, Dr. Barış GÜNGÖRMEZ ve Dr. Mesut KASIMOĞLU'na; bütün hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma;

Çok değerli zamanını ayırarak tezimin histolojik inceleme ve değerlendirmelerini yapan sayın Prof. Dr. Engin DEVECİ' ye, verilerin analizi ve istatistiksel değerlendirmeleri konusunda emeğini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Ömer SATICI 'ya ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Bu uzun ve yorucu süreçte hayatımın hiçbir döneminde maddi-manevi desteklerini esirgemeyen annem, kardeşlerim, onurlu bir hayatı miras bırakan ve her an yanımda olduğunu hissettiğim babama; hayatımda olmasından onur duyduğum, dar günlerimin dostu sevgili Dr. Ferhat ÖZYURTLU' ya; hiçbir konuda desteğini esirgemeyen hayat arkadaşım sevgili eşim Sibel'e ve gelişiyile hayatımıza anlam katan, canımdan çok sevdiğim biricik yavrum İzzet'e tüm kalbimle teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Dr. Adil YILMAZ , Diyarbakır 2015

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo 1.	Adenozin reseptörlerinin dağılımı
Tablo 2.	Adenozin reseptör agonist ve antagonistleri
Tablo 3.	Çalışma özeti
Tablo 4.	Ölçümler
Tablo 5.	Homojenite tablosu
Tablo 6.	Varyans analiz tablosu
Tablo 7.	Ortalama lümen çapları
Tablo 8.	Lümen çapı posthoc-LSD test sonuçları
Tablo 9.	Lümen çapı posthoc-LSD test sonuçları
Tablo 10.	Ortalama lümen alanları
Tablo 11.	Lümen alanı posthoc-LSD test sonuçları
Tablo 12.	Lümen alanı posthoc-LSD test sonuçları
Tablo 13.	Ortalama media alanları

Şekil 1.	Damarın genel histolojik yapısı.
Şekil 2.	Damar duvarının histolojik kesitinin mikroskopik görünümü
Şekil 3.	Damar duvarından alınan histolojik kesitte tabakaların gösterilmesi
Şekil 4a,b.	Üstteki damar duvarından alınan histolojik kesitin daha büyük büyütmelelerdeki görünümü
Şekil 5.	Damar endotelyum hücre iskeleti
Şekil 6.	Endotel hücre hasarına damarın yanıtı
Şekil 7.	Pentoksifilin kimyasal yapısı
Şekil 8.	Adenozinin kimyasal yapısı
Şekil 9.	Adenozin ve G proteini ilişkisi
Şekil 10.	Arteriyel ve venöz vaskülarizasyon

RESİM VE GRAFİK LİSTESİ

- Resim 1.** Ratların deney süresince barındırıldıkları standart kafesler
- Resim 2.** Cerrahi alanın hazırlanması
- Resim 3.** Horizontal sağ taraf boyun insizyonu
- Resim 5.** Karotid arter klemplenmesi
- Resim 6.** Karotid arter transeksiyonu
- Resim 7.** Kasların ekartasyonu
- Resim 8.** Klemp yerleştirilmesi
- Resim 9.** Klemp yerleştirilmesi (yakın görünüm)
- Resim 10.** Klemp yerleştirilmesi (daha yakın görünüm)
- Resim 11.** Karotid arter transeksiyonu ve lümeninin yıkanması
- Resim 12.** Ön yüzde 0 ve 180 derecelere tespit sütürleri
- Resim 13.** Toplam sekiz sütür ile tamamlanmış anastomoz
- Resim 14.** İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü
- Resim 15.** İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü (yakın görünüm)
- Resim 16.** İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü (daha yakın görünüm)
- Resim 17.** Cerrahi alanın kapatılması
- Resim 18.** Yedi günlük takipten sonra anastomoz
- Resim 19.** Lümen çapı, lümen alanı ve media alanının ölçülmesi
- Resim 20.** Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40)
- Resim 21.** Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100)
- Resim 22.** Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100)
- Resim 23.** Grup 2 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40)
- Resim 24.** Grup 2 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100)
- Resim 25.** Grup 3 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40)
- Resim 26.** Grup 4 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100)
- Grafik 1.** Deney grupları ortalama lümen çapları
- Grafik 2.** Deney grupları ortalama lümen çapları
- Grafik 3.** Kontrol grupları ortalama lümen çapları

- Grafik 4.** Deney gruplarının kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması
- Grafik 5.** Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması
- Grafik 6.** Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması
- Grafik 7.** Deney grupları ortalama lümen alanları
- Grafik 8.** Deney grupları ortalama lümen alanları
- Grafik 9.** Kontrol grupları ortalama lümen alanları
- Grafik 10.** Deney gruplarının kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması
- Grafik 11.** Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması
- Grafik 12.** Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması
- Grafik 13.** Deney grupları ortalama media alanları



KISALTMALAR VE SİMGELER

H-E	: Hematoksilen-Eozin boyası
NO	: Nitrik Oksit
NE	: Norepinefrin
PTFE	: Politetrafloroetilen
AT3	: Antitrombin 3
ADP	: Adenozin di fosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
cAMP	: siklik AMP
bFGF	: basic Fibroblast Growth Factor
PDGF	: Platelet Derived Growth Factor
PAS	: Periyodik Asit Shift
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
NO	: Nitrik Oksit
PGI2	: Prostosiklin
PAF	: Platelet aktive edici faktör
PAI	: Plazminojen Aktivatör İnhibitörü
TTPAI	: Ekstrinsik sistem inhibitörü
IL	: İnterlökin
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
µm	: Mikrometre
µm²	: Mikrometre kare

ÖZET

Rat karotid arterlerinde yapılan anastomozlarda pentoksifilin ve adenozin maddelerinin restenoz, neointima oluşumu ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkilerinin karşılaştırılması

Adil YILMAZ, Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı, Diyarbakır.

Amaç: Serebral iskemi ve enfarkt, günümüzde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu nedenle enfarkt gelişmeden önce yapılacak revaskülarizasyon, morbiditenin derecesini etkileyebilmektedir. Ancak vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi beyinde de yapılan damar anastomozları ve bypass greftlerinin uzun dönem açıklığı, damar hasarının olduğu bölgede intimal hiperplazinin gelişmesiyle azalmaktadır.

Vasküler girişimler sonrası gelişebilen restenoz üzerinde intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır. Pentoksifilin, bazı sitokinleri inhibe ederek damar hasarı ile ilişkili kollajen birikimini azaltırken adenozin de düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir. Bu yüzden biz de rat karotid arterinde yapılan anastomozda adenozin ve pentoksifilin maddelerinin restenoz, neointima oluşumu ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkilerini araştırarak karşılaştırdık.

Materyal ve Metod: Çalışmadaki tüm anastomozlar aynı cerrah tarafından yapıldı. Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ortalama 250-300 gram ağırlığında 24 adet Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler aynı yerde (20 ± 2 °C sıcaklıkta, havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen bir odada) bakıldı. Deney günü ratlara anestezi olarak 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin verildi. Anesteziden 45 dakika sonra ikinci doz olarak 40 mg/kg ketamin + 5 mg/kg ksilazin uygulandı. Enfeksiyondan korunmak için intramüsküler yol ile profilaktik amaçlı preoperatif olarak ratlara 50mg/kg dozunda sefazolin uygulandı. Cerrahi alan antiseptik solüsyon ile silindi.

Deneklerde anastomoz için sağ taraf karotid arteri, kontrol için ise sol taraf karotid arteri kullanıldı. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve horizontal sağ taraf boyun insizyonu yapılarak common karotid arter explore edildi.

Daha sonra karotid arter disseke edilerek proksimal ve distalinden mikroklemple klemlendi. Aynı arter mikro makas ile transekte edilip daha sonra 10/0 polipropilen suture ile anastomoz yapıldı ve dokular anatomik planda kapatıldı.

Ratlar 4 gruba ayrıldı. Grup 1 ratlar kontrol grubu, Grup 2 ratlar pentoksifilin 100 mg/kg/gün dozunda subkutan 7 gün verilen grup, Grup 3 ratlar adenozin 1 mg/kg/gün dozunda subkutan 7 gün verilen grup ve son olarak Grup 4 ratlar her iki ilacın anılan dozlarda birlikte 7 gün uygulandığı grup olarak belirlendi. Yedinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter, anastomoz hattını ortaya alacak şekilde 1 cm' lik segment halinde çıkarılarak incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. Alınan biopsi materyelleri formol solüsyonunda korunarak hemotoksilen-eozin ile boyanıp ışık mikroskobu altında aynı histolog tarafından incelendi ve anastomoz iyileşmesi değerlendirildi. Değerlendirme parametreleri **lümen çapı, lümen alanı, tunika media alanı, ödem, inflamasyon, damar duvar hasarı, intimal hiperplazi, medial atrofi, trombüs ve endotelizasyon** olarak belirlendi. Daha sonra deney hayvanları eksanguinasyon ile sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı.

Bulgular: Vasküler girişimlerden sonra kullanılan pentoksifilin ve adenozin maddeleri, restenoz, neointima oluşumu ve düz kas hücre proliferasyonu üzerine ayrı ayrı inhibitör etkide bulunmalarına rağmen, bu iki ilacın birlikte kullanılması aditif değil sinerjistik bir etki yaratmaktadır.

Sonuç: Pentoksifilin ve adenozinin, vasküler girişimlerden sonra meydana gelen restenoz, intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesinde yararlı birer ajan olarak birlikte kullanılması daha etkili olabilmektedir.

Anahtar kelimeler: Pentoksifilin, Adenozin, Restenoz, İntimal hiperplazi, Düz kas hücre proliferasyonu, Anastomoz, Rat.

SUMMARY

The comparison of inhibitor effects of pentoxifylline and adenosine substances in anastomoses performed on rat carotid arteries on restenosis, development of neointima and smooth muscle cell proliferation.

Adil YILMAZ, Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Neurosurgery, Diyarbakır.

Objective: Cerebral ischemia and infarct are significant morbidity and mortality reasons at the present time. Therefore the revascularization to be done before development of infarct may be able to affect the degree of morbidity. However, as in other parts of the body, also in the brain, the long-term openness of vascular anastomoses and bypass grafts performed decreases with the development of intimal hyperplasia in the region that vascular injury occurs.

Intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation have a great impact on restenosis may be developed after vascular interventions. While pentoxifylline reduces collagen accumulation associated with vascular injury by inhibiting some cytokines, adenosine inhibits smooth muscle cell proliferation. Hence, we have searched and compared the inhibitor effects of pentoxifylline and adenosine substances on restenosis, development of neointima and smooth muscle cell proliferation in the anastomoses performed on rat carotid arteries.

Material and Method: All anastomoses in the work have been performed by the same surgeon. In our work, randomly chosen, Sprague Dawley type, weighing in average 250-300 grams, male or female 24 rats were used. During the work, all rats were kept in the same place and under the same conditions ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ temperature, in a room which has air conditioning system and sun light). On the day of experiment, 80 mg/kg ketamine + 10 mg/kg xylazine was given as anesthesia. 45 minutes after the first dose, 40 mg/kg ketamine + 5 mg/kg xylazine was applied as the second dose of anesthesia. 50 mg/kg dose of cefazoline was preoperatively applied by intramuscular way as prophylactic to prevent infection. The operation field was cleaned with antiseptic solution.

The subjects' right side carotid artery was used for anastomosis, and the left side carotid artery was used for controlling. After sterilization, the proper position

was provided and the common carotid artery was explored by making a horizontal right side neck incision. Then the carotid artery was dissected, proximally and distally clamped with a microclamp. The same artery was transacted with a micro scissors, then, anastomosis was applied with 10/0 polypropylene suture and lastly, tissues were closed anatomically.

The rats were separated into 4 groups. Group 1 rats were control group, the group of rats which 100 mg/kg/day dose of pentoxifylline were given subcutaneously through 7 days as Group 2, the group of rats which 1 mg/kg/day dose of adenosine was given subcutaneously through 7 days as Group 3, and finally, the group of rats which both substances were given through 7 days were determined as Group 4. At the end of 7th day, both carotid arteries (the right side which anastomosis performed on and the left side which anastomosis wasn't performed on) were removed, each in the form of 1 cm segment and had equal distant to anastomosis line. The segments were sent to histopathology laboratory for examination. The biopsies obtained were preserved in formalin solution, stained with hematoxylin-eosin and examined by the same histologist. After all examination, anastomosis progress was evaluated. Evaluation parameters were determined as **lumen diameter, lumen area, tunica media area, edema, inflammation, vessel wall injury, intimal hyperplasia, medial atrophy, thrombus, and endothelization**. Then, the experiment was terminated by sacrificing the subjects with exsanguinations.

Results: Although pentoxifylline and adenosine substances used after vascular interventions separately have inhibitor effects on restenosis, development of neointima and smooth muscle cell proliferation, together use of these two substances created a synergic effect, not an additive effect.

Conclusion: Concurrent use of pentoxifylline and adenosine as useful agents for prevention of restenosis, intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation occurred after vascular interventions can be more effective.

Keywords: Pentoxifylline, Adenosine, Restenosis, Intimal hyperplasia, Smooth muscle cell proliferation, Anastomosis, Rat.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

<i>İTHAF</i>	<i>ii</i>
<i>ÖNSÖZ</i>	<i>iii</i>
<i>TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ</i>	<i>iv</i>
<i>RESİM VE GRAFİK LİSTESİ</i>	<i>v</i>
<i>KISALTMALAR VE SİMGELER</i>	<i>vii</i>
<i>ÖZET</i>	<i>viii</i>
<i>SUMMARY</i>	<i>x</i>

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mikrovasküler Anastomozun Tarihçesi	3
2.2. Arter Tipleri ve Histolojisi	6
2.2.1. Elastik tip arterler (Büyük boy arterler)	7
2.2.1.1. <i>Tunika interna (Tunika intima)</i>	8
2.2.1.2. <i>Tunika media</i>	8
2.2.1.3. <i>Tunika eksterna (Tunika adventisya)</i>	9
2.2.2. Müsküler tip arterler (Orta boy arterler)	11
2.2.3. Küçük çaplı arterler ve arteriyoller	11
2.3. Vasküler Endotel	12
2.3.1. Endotel hücresinin fonksiyonları	14
2.4. Endotel Hücre Hasarına Damarın Yanıtı	15
2.4.1. Damar duvarının yapısı ve anastomoz hattının iyileşmesi.....	18
2.4.2. Arteriyel akıma ven duvarı adaptasyonu.....	19
2.5. Pentoksifilin	19
2.5.1. Pentoksifilin'in hemoreolojik etkileri	20
2.5.2. Pentoksifilin'in kardiovasküler sistem üzerine etkileri.....	21
2.5.3. Pentoksifilinin etki mekanizması	21
2.5.4. Pentoksifilinin klinik kullanımı	22
2.5.5. Pentoksifilin'in vasküler endotelyal sistem üzerine etkileri	23
2.6. Adenozin	24

2.6.1. Adenozinin sentezi, salınımı ve metabolizması	25
2.6.2. Adenozin reseptörlerinin sınıflandırılması.....	26
2.6.3. Adenozin reseptörlerinin dağılımı.....	26
2.6.4. Adenozinin etki mekanizması	27
2.6.5. Adenozinin kardiyovasküler sistemdeki rolü.....	28
2.6.6. Adenozin reseptör agonistleri ve antagonistleri.....	29
2.6.7. Adenozinin vasküler endotelial sistem üzerine etkileri.....	29
2.6.7.1. <i>Adenozinin antivazookluzif etkileri</i>	30
2.6.8. Adenozinin klinik kullanımı	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Anastomoz Tekniği	35
3.2. Histopatolojik Değerlendirme	44
3.3. İstatistiksel Yöntem.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları.....	46
4.2. İstatistiksel İnceleme Sonuçları.....	54
4.2.1. Lümen çaplarının karşılaştırılması.....	54
4.2.2. Lümen alanlarının karşılaştırılması.....	60
4.2.3. Media alanlarının karşılaştırılması.....	64
4.2.4. Kontrol grupları.....	66
5. TARTIŞMA	67
6. SONUÇLAR	73
7. KAYNAKÇA	74

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serebral iskemi ve enfarkt, günümüzde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Genel olarak tüm dünyada ortalama yaşam süresinin artmış olması nedeniyle serebral enfarkt gelişen ve sonrasında yaşama devam eden hastalar, ülke ekonomilerine ağır yük getirmektedir. Bu nedenle erken tanı konan iskemik serebrovasküler hadiselerde enfarkt gelişmeden önce yapılacak revaskülarizasyon, morbiditenin derecesini etkileyebilmektedir.

Serebral vasküler anastomoz, serebrovasküler tıkalıcı hastalıklar, tümörler ve anevrizmaların tedavisinde kullanılan bir revaskülarizasyon yöntemidir. Bu amaçla sıklıkla süperfisiyal temporal arter (STA) ve oksipital arter (OA) gibi ekstrakranial arterler donör damar olarak kullanılmaktadır (1). Ayrıca Moyamoya Hastalığı tedavisinde de revaskülarizasyon teknikleri kullanılmaktadır. Bu hastalık, Willis poligonunu oluşturan ana serebral arterlerin genellikle iki taraflı ve nadiren tek taraflı ilerleyici darlığı veya tıkanması ve kompensatuvar kollateral damarların gelişmesi ile kendini gösteren kronik serebrovasküler bir hastalıktır (2).

Beyinde de vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi, yapılan damar anastomozları ve bypass greftlerinin uzun dönem açıklığı, anastomoz yapılan bölgede intimal hiperplazinin gelişmesiyle azalmaktadır. Vasküler girişimler sonrası gelişebilen restenoz üzerinde intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır (3). Sonuç olarak bu tarz girişimlerin başarısı spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır (4).

Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonra akut trombüs oluşumunun önemli bir rol oynadığı ani tıkanmanın aksine, geç dönemdeki daralma veya restenozda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır (5). Endotel hasarına intimalın yanıtı, subendotelial fibroproliferasyon ve neointima oluşması şeklindedir. Hiperplazik intimal kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar, arteriyel

injürilerin iyileşmesinin de karakteristik bir özelliğidir ve bazı durumlarda gereğinden şiddetli olabilmektedir (6).

Pentoksifilin, bazı sitokinleri inhibe ederek damar hasarı ile ilişkili kollajen birikimini azaltırken (7) adenozin de düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmektedir (8).

Pentoksifilin ksantin türevi (teofilin benzeri) fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır. Fosfodiesterazı inhibe ederek siklik AMP (cAMP) düzeyini artırır. cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. Pentoksifilinin vasküler düz kas hücresinde temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü–beta (TGF-beta)'nın stimüle ettiği ve kollajen sentezini azalttığı tespit edilmiştir. Bunlara bağlı olarak damar hasarlanması sonrasında görülebilen neointimal hiperplazi oranını azalttığı gözlemlenmiştir (9).

Adenozin de çeşitli kimyasal olayların düzenlenmesinde rolü olan endojen bir nükleoziddir. Adenozin, etkilerini dört tip reseptörü aracılığı ile gösterir (A1,A2a,A2b,A3). Adenozin reseptörleri birçok dokuda yaygın olarak bulunmakla beraber özellikle kardiyovasküler sistemde etkilerini A1, A2a ve A3 reseptörleri aracılığı ile yapmaktadır. Adenozin A1 reseptörlerinin aktivasyonunun kardiyovasküler sistemde, negatif inotrop, negatif kronotrop ve negatif dromotrop etkiye neden olduğu bildirilmektedir (10). İnsanlarda A1, A2a ve A2b reseptörleri vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde gösterilmiştir (11). Adenozin A2 reseptörleri adenilat siklazı aktive ederek cAMP'yi artırır. Bu etki ile vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir (12).

Pentoksifilin ve adenozinin bu bilinen özelliklerini dikkate alarak, rat karotid arterinde yapılan anastomozda bu maddelerin neointima oluşumu ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki etkilerini deneysel olarak belirlemeye çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikrovasküler Anastomozun Tarihçesi

Vasküler cerrahi tarihin eski dönemlerinden beri pek çok bilim adamının üzerinde çalıştığı bir alandır. Efesli Ruphus ve Galen'in daha 1. yüzyılda damarları bağlayarak kanamaları durdurdukları bilinmektedir (13). Damar üzerinde yapılan girişimlere ait en eski belgeler 1564 yılına aittir. Ambroise Paré' nin kanamayı durdurmak amacıyla yaptığı ligasyon uygulamalarını içerir. Damar üzerindeki bu ilk girişimlerden sonra, damar onarımı amacıyla yapılan ilk uygulamalar için 18. yüzyılın ikinci yarısına kadar beklenmiştir. Hallowell 1759 yılında kısmi brakial arter yaralanmasını, damar kenarlarından bir iğneyi içten dışa, dıştan içe geçtikten sonra iğnenin etrafına sekiz şeklinde iplik sararak onarmış, iyileşme tamamlandıktan sonra iğneyi yerinden çıkartmıştır. Tek tek süturler koyarak damar onarımı işlemini ilk defa Rus cerrah Nikolay Vladimirovic Eck 1877 yılında gerçekleştirmiştir. Eck köpeklerde portal veni, inferior vena kavaya uç-yan anastomoze etmiştir. Bu aynı zamanda tanımlanan ilk porto-kaval şant modelidir (14).

Tam arter kesinin tek tek dikişlerle onarımı ilk defa 1896 yılında Briau tarafından köpek karotidinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Murphy (1897) ve Dörfler (1899)' in benzer başarılı çalışmaları olmuştur. Matas 1888-1940 yılları arasında major damarlar üzerinde 620 girişim gerçekleştirmiştir. Bunların çoğu ligasyon ile neticelenen anastomoz girişimleridir. Matas ayrıca üç farklı endanevrizmorafi tekniği tanımlamıştır (15).

“Erwin Payr damar anastomozlarında ilk stent uygulamalarını gerçekleştirmiştir. 1901 yılında yayınlanan çalışmasında Payr magnezyum tüpleri damar lümenine yerleştirdikten sonra tek tek süturlerle anastomozu gerçekleştirmiştir.

Alexis Carrel'in Claude Guthrié ile birlikte yaptığı çalışmalar vasküler anastomoz ve organ transplantasyonu sahalarında çığır açmıştır. Carrel çalışmalarına Payr'ın tekniğinden yola çıkarak başlamıştır. Carrel kullanılan magnezyum tüplere karşı ileri derecede yabancı cisim reaksiyonu oluştuğunu ve bu durumun tromboz riskini arttırdığını belirtmiştir. Bu durumun önüne geçmek amacıyla başlangıçta farklı stentler deneyen Carrel daha sonra stent kullanımı yerine 0, 120 ve 240

derecelere konulan üç askı dikişini kullanmış ve kendine ait triangulasyon tekniğini tarif etmiştir. Bu işlem için Carrel kendi üretimi olan ağız lastik kılıf ile kaplı damar klempleri, pamuk ipliği ve ince iğnelerden dikiş materyalleri kullanmıştır. 1908 yılında Carrel ve CC Guthrie hayvan modelinde ilk başarılı alt ekstremité replantasyonunu gerçekleştirmişler, bu çalışmadan yola çıkarak transplantasyon cerrahisi ve immunolojisi ile ilgili ilk fikirleri öne sürmüşlerdir. Carrel damar anastomozu ve organ transplantasyonu ile ilgili bu çalışmalarıyla 1912 yılında Nobel Tıp Ödülü'nü kazanmıştır.

Mikroskobu cerrahide kullanan ilk hekim Carl-Olaf Nylen'dir. Nylen 1921 yılında monoküler mikroskobu önce tavşanda daha sonra kulak operasyonlarında kullanmıştır. Holmgren binoküler mikroskobu geliştirerek 1922 yılından itibaren kulak operasyonlarında kullanmaya başlamıştır. 1942 yılında Shanbaugh ışık huzmesinin objektifin içinden geçerek ameliyat sahasını direkt aydınlatığı sistemi geliştirmiştir. Littman'ın tasarladığı odak mesafesi değiştirilebilen portatif operasyon mikroskobu Zeiss firması tarafından 1953 yılından itibaren seri üretilmeye başlanmış ve özellikle kulak ve göz operasyonlarında yoğun olarak kullanılmıştır.

Özellikle 2. Dünya ve Kore Savaşlarında 3 mm' ye kadar olan damarlarda pek çok anastomoz deneyimi elde edilmiştir. Schumaker ve Lowenberg'in 1948 yılındaki çalışmalarında 3 mm çapındaki damarlarda başarı %53 olarak bildirilmiştir. Shumacker 1948 yılında aortik anevrizmada ilk başarılı eksizyon ve uç uca anastomoz girişimini yayınlamıştır. Swann 1950 yılında yine aort anevrizmasında eksizyon ve otolog damar greftini başarıyla kullanmıştır. DeBakey ve ekibi 1954 yılından sonra dacron damar greftlerini kullanmaya başlamışlar ve geniş olgu serilerini yayınlamışlardır.

Mikrovasküler cerrahinin gelişiminde dönüm noktası 1961 yılında operasyon mikroskobunun Jacobson ve Suarez tarafından damar anastomozunda kullanılmasıdır. Çalışmacılar 1,5 mm' ye inen çaplardaki tavşan damarlarında 7/0 ipek dikiş ile %100 anastomoz başarıları elde etmişlerdir. Mikrovasküler anastomoz terimi ilk defa Jacobson tarafından kullanılmıştır. Mikroskobun kullanımının getirdiği bu büyük başarı dikkatleri bu konuya yöneltmiştir. Lee ve Fischer 1961' de mikroskop yardımıyla 7/0 ipek kullanarak ratta porto-kaval anastomozlarda %100 patens sağlamışlardır.

Mikrovasküler anastomozun deneysel çalışmalardaki bu başarısı, kısa sürede klinik kullanıma girmesine neden olmuştur. 1962 yılında Malt ve McKhan, 1963 yılında Chen ve Chien ilk başarılı ön kol replantasyonu olgularını yayınlamışlardır. 1964 yılında Nakayama, 1965 yılında Jurkiewicz ve Saidenberg serbest jejunum flebi ile özofagus onarımı olgularını bildirmişlerdir. Bunlar tarihteki ilk başarılı serbest flep uygulamaları olarak kabul edilir. 1963 yılında Kleinert ve Kasdan subtotal ampute bir başparmakta revaskülarizasyon olgularını yayınlamışlardır. Aynı yıllarda Fisher'in deneysel organ transplantasyonlarında ve Yaşargil'in beyin cerrahisinde ameliyat mikroskobunu kullandığını görmekteyiz. Yaşargil ve arkadaşları ilk yüzeysel temporal arter-orta serebral arter anastomozunu uygulayan, ilk otogrefti kullanan ve ilk mikrocerrahi kursu düzenleyen kişilerdir (16).

İlk mikrocerrahi sempozyumunu 1968'de Yaşargil ve Donaghy düzenlediler. Bu sempozyumu da daha sonra Microvascular Surgery: Report of the First Congress, October 6-7, 1966 adı altında yayınladılar. Bu yayında mikrovasküler cerrahiye beş temel başlık altında topladılar: 1. İpek, nylon, metalik malzemeler kullanılan suture teknikleri, 2. Yapışkan maddeler kullanılması, 3. Mikrostopler kullanılması 4. Laser kullanılması 5. Elektrokoaptasyon (17).

1964 yılında Buncke tavşan kulağında 1 mm çaplı damar anastomozu yaparak replantasyonlar gerçekleştirmiştir. Buncke aynı zamanda mikrovasküler anastomozda nylon dikiş kullanan ilk çalışmacı olmuştur. Buncke bu dikişleri garajında ipliğin ucunda çelik eriterek üretmiştir. Daha sonra Buncke'nin yardımlarıyla Ethicon firması, bugün mikrocerrahi anastomozda yaygın olarak kullanılan 130, 100, 75 ve 50 mikron çapındaki iğneye sahip dikiş materyallerinin seri üretimini gerçekleştirmeye başlamıştır.

Susumi ve Tamai 1965 yılında ilk başarılı parmak replantasyonu olgularını yayınlamışlardır. Daha sonraki yıllarda pek çok serbest doku aktarımı tanımlanmış ve klinik seriler literatürde yer almıştır (14,15,18,19,20,21,22).

1988 yılında Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Dr.İsmail Hakkı AYDIN, end-to-side mikrovasküler anastomozda arka duvarın daha iyi ortaya konabilmesi amacıyla yeni bir teknik tarif etmiştir (23).

Mikrovasküler anastomozlar damarların birbirleriyle olan ilişkisine göre sınıflandırılabilirler (24):

- I. Uç-uca anastomoz
- II. Uç-yan anastomoz
- III. Uç-yan dal anastomozu
- IV. Uç içinde uç anastomoz
- V. “Cuffing” teknikleri

Uç-uca anastomoz, ilk kullanılan ve halen en sık uygulanan yöntemdir. İdeal olarak iki kesik damar ucu yaklaşıtııcı bir mikrovasküler klemp aracılığı ile bir araya getirilir, ardından önce ön duvar dikilir sonra klemp döndürölerek arka duvarın dikilmesi sağlanır.

Uç-yan anastomoz, verici damarın bütünlüğü korunarak alıcı damarın kesik ucunun verici damarda hazırlanan tam kat açıklığa anastomozudur. Uç yan tekniğın yüksek başarı oranları, ana damarların korunmasına olanak sağlaması, cerrahi planlamada kolaylık sağlaması, alıcı damarlara ulaşmada kolaylık sağlaması gibi avantajları vardır.

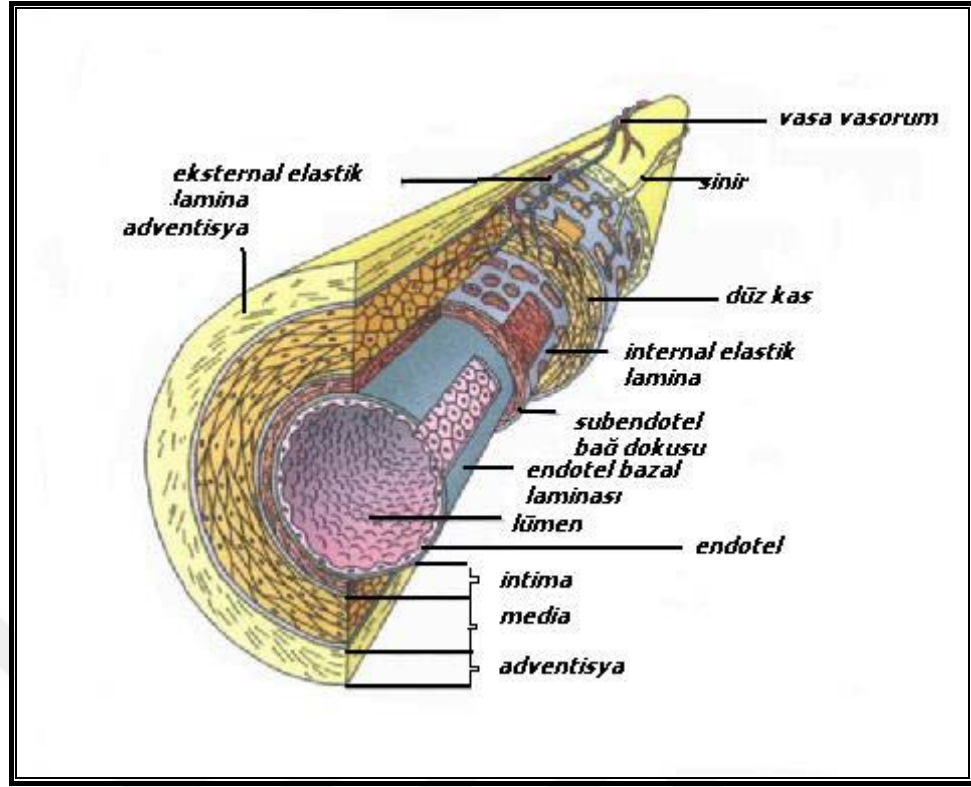
Uç-yan dal anastomozu, uç-yan anastomoz tekniğının bir modifikasyonudur. Ana arter ya da vendeki yan dal alıcı damar görevi görür. Anastomoz uç-uca anastomoz tekniğine uygun olarak yapılır. Klinikte uç-yan tekniğe tercih edilmektedir.

Uç-içinde-uç anastomoz, Lauritzen tarafından tanıtılan ve Sleeve anastomoz olarak da bilinen bu teknikte distaldeki damar proksimal damarın içinde olacak şekilde boru şeklinde yerleştirilir (25). Bu yöntemin daha hızlı, minimal intima disseksiyonu, anevrizmaya neden olmadığı, radyasyon direncinin daha fazla olduğu gibi avantajları olduğu savunulmaktadır.

“Cuffing” (manşet) teknikleri, eskiden kaçakları önlemek için kullanılan bir metottu, ama artık kullanılmamaktadır.

2.2. Arter Tipleri ve Histolojisi

Sistemik damar ağı, fonksiyonel olarak arterler, arterioller, kapillerler ve venler olarak ayrılabilir. Arterler, çeşitli organların kanlanması sağlayan yüksek basınçlı damarlardır. Arterioller; kapiller yatağı doğrudan besleyen ve kan akımını kontrol eden ufak damarlardır. Kapillerler, ince duvarlı damarlar olup kan ve dokular arasında nutrientlerin değişimine izin verirler (5).



Şekil 1. Damarın genel histolojik yapısı (5)

2.2.1. Elastik tip arterler (Büyük boy arterler)

Çapları en büyük olan bu arterlerde elastik doku çoğunlukta olup aorta, a.pulmonalis ve a.carotis communis gibi 7mm'nin üstünde olan arterleri kapsar. Damarların genel histolojik yapısına uygun olarak duvarları 3 tabakadan yapılmıştır.

Endotel, tek katlı yassı epiteldir. Endotel hücreleri 10-15  m genişliğinde 25-50  m uzunluğundadır. Hücreler birbirlerine sıkı bağlantılarla ve gap-junctionlarla ba lanır ve bariyer oluşturur. Bol pinositotik vezikülleri vardır. Endotel hücrelerinde 0,1  m çapında ve 3  m uzunluğunda Weibel-Palade Cisimcikleri (von Willebrand Faktörü) olarak bilinen membranla çevrili elektron-dens cisimcikler vardır. Bunlar çoğu endotel hücrelerince sentezlenirler, ancak sadece arterlerde depolanırlar. Kana verilen faktör VIII içeren yapılardır. Subendotelyal tabaka kalındır. Ritmik kasılma ve gev emelere yardımcı olan lifler uzunlamasına dizilirler. Düz kas hücreleri de bu tabakada yer alır. Hem kasılır hem de ekstraselüler ara madde ve fibrilleri sentezler. T.Media'ya yakla tı ka elastik lif miktarı artar. Media sınırında yo unla an elastik

lifler membrana elastica interna'yı oluşturur. Ancak mediaya benzediğinden ayırt etmek zordur.

Lümeniden dışa doğru tabakalar aşağıdaki tarzda sıralanır (Şekil 1,2,3,4):

- a)Tunika interna (Tunika intima)
- b)Tunika media
- c)Tunika eksterna (Tunika adventisya)

2.2.1.1. Tunika interna (Tunika intima)

Yaşla birlikte sayısı artan konsantrik yerleşimli 40–70 elastik lamina bulunur. Laminalar arasında pencere adı verilen açıklıklar bulunur. Elastik membranlar arasında düz kas, retiküler lifler, vazo vazorumlar ve kondroitin sülfat (metakromazi +) bulunur. Belirgin bir membrana elastica eksterna yoktur.

Tek katlı yassı hücrelerden oluşan endothelium ile bunun altında açık renkli ince bir subendotelial tabakadan (Stratum subendoteliale) oluşmuştur. Söz konusu tabaka longitudinal yönde ince elastik ağlardan zengindir. Bunların arasında az miktarda kollajen lifler, fibrositler ve düz kas hücreleri yer alırlar. Çapı çok geniş olmayan elastik tip arterlerde subendotelial tabakanın elastik lifleri, tunica media sınırında yoğunlaşarak ince pencereli elastik bir membran oluştururlar. Bu yapıya membrana elastica interna-fenestrata adı verilir. Aorta ve a.pulmonalis'te bu membran her zaman net bir şekilde ayırt edilemez (5,26).

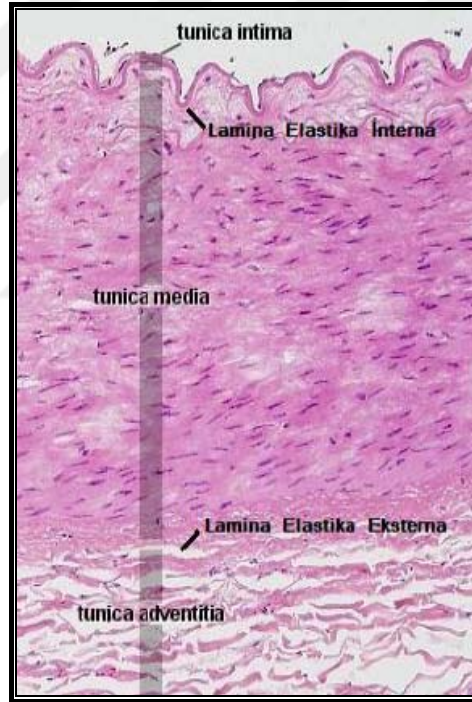
2.2.1.2. Tunika media

En geniş tabakayı oluşturur. Esas yapı, sayıları 50–60 arasında değişen konsantrik elastik lamellerden oluşmuştur. Bu nedenle bu tip arterlere elastik tip arter adı verilir. Bağ dokusunun elastik liflerini gösterebilmek için elastik lif boyası ile boyanmış preparatlardan faydalanılır. Bu tip özel boya ile boyanmış preparatlarda elastik lifler gerginliklerini kaybettiklerinden ondüle tarzda bir görünüş verirler. Bu elastik liflerin sayıları kalbe yaklaştıkça artar. Tunika medianın dış sınırında membrana elastica eksterna görülmez. Elastik liflerin aralarını kollajen lifler ve bağ

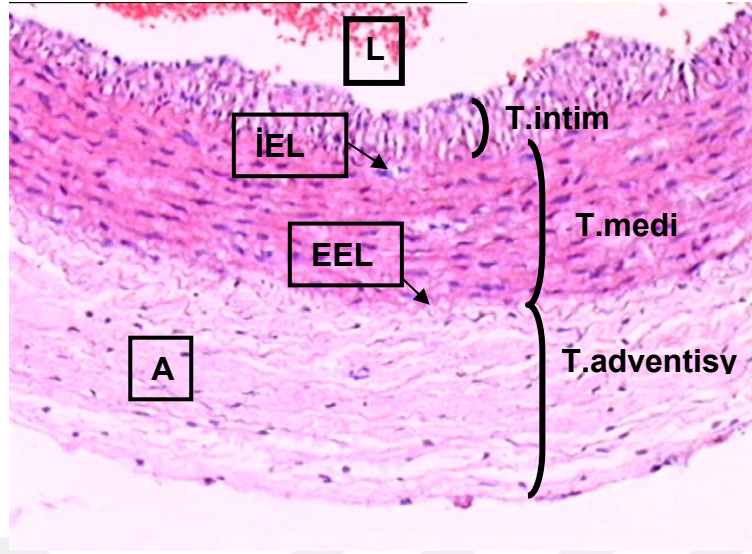
dokusu elemanları doldurur. Az sayıda düz kas hücrelerine de rastlanır. Elastik tip özel boyamada elastik lifler ve bağ dokusu hücrelerinin çekirdekleri, açık veya koyu siyah renkte boyanırlar. Az sayıdaki kollajen lifler ise pembe-kırmızı renkte, diğer doku elemanları sarı renkte bir görünüm verirler (27) .

2.2.1.3. Tunika eksterna (Tunika adventisya)

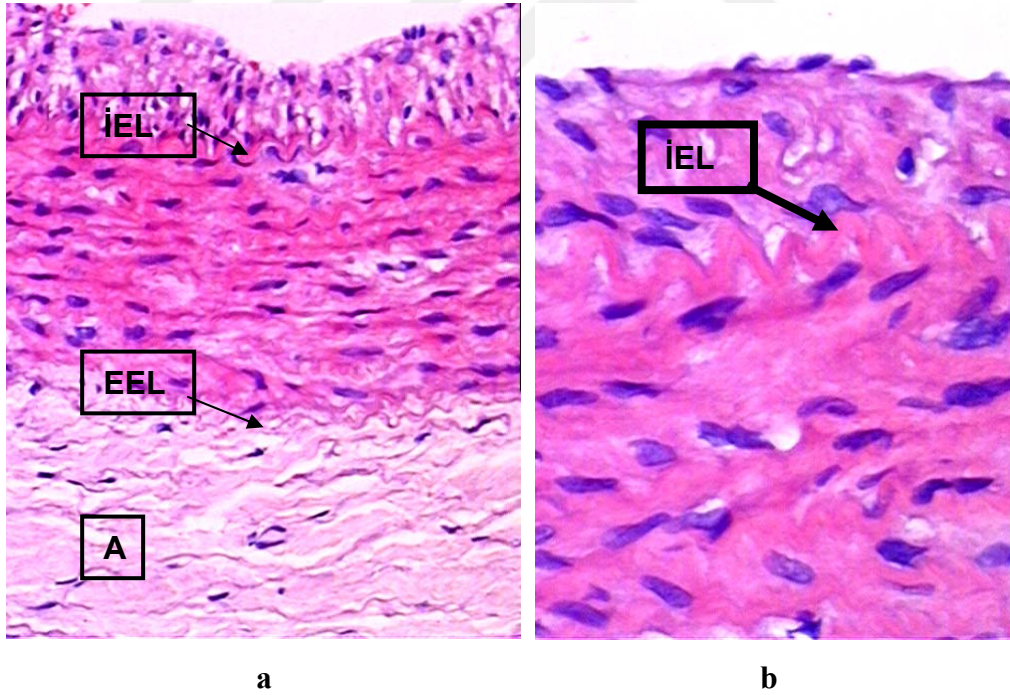
Oldukça ince olup gevşek bağ dokusundan yapılmıştır. Kesin bir sınır yapmaksızın çevre bağ dokusu ile karışır. Kollajen lifler arasında az miktarda elastik lifler, düz kas hücreleri bulunur. Ayrıca vazo vazorum ve vasomotor sinirlere de rastlanır (26).



Şekil 2. Damar duvarının histolojik kesitinin mikroskopik görünümü (H+E x 20) (27)



Şekil 3. Damar duvarından alınan histolojik kesitte tabakaların gösterilmesi (H+E x10) L: Lümen, İEL: İnternal elastik lamina, EEL: Eksternal elastik lamina A: Adventisya



Şekil 4a,b. Üstteki damar duvarından alınan histolojik kesittin daha büyük büyütmelerdeki görünümü (H+E x 20, x40) (27)

2.2.2. Müsküler tip arterler (Orta boy arterler)

Çapları 2,5-7 mm arasındaki arterlerdir. Bir arter yapısında olduğu gibi tunika intima, endotel ve subendotelial tabakalardan oluşmuştur. Müsküler tip arterlerde tunika media ile tunika interna arasında, bir ayırıcı tanı özelliği olarak H+E ile boyanmış preparatlara ondüleli parlak pembe renkli belirgin membrana elastica interna seçilir. Yer yer oval açıklıklar içeren söz konusu tabaka membrana fenestra olarak da adlandırılır.

Tunika media, müsküler arterlerin en kalın tabakası olup birçok sirküler seyreden düz kas hücre tabakalarından oluşmuştur. Tunika mediadaki düz kas hücreleri arasında kollajen ve ince elastik lifler bulunur. Düz kas hücreleri iç organ duvarındaki düz kaslardan daha küçüktür. İntimaya bakan yüzdeki bira düz kas bandı longitudnal seyirlidir. Küçük müsküler arterlerde 3-4 tabaka düz kas varken büyük müsküler arterlerde 40 tabaka konsantrik yerleşimli düz kas tabakası bulunur. Damar dallandıka tabaka sayısı azalır. Her düz kas hücresi bazal laminaya benzer bir eksternal lamina ile çevrilidir. Matriks, PAS (Periyodik asit shift) + reaksiyon gösterir. Proteoglikan tabiatındaki matrikste düz kaslar arasında elastik, retiküler lifler ve az miktarda kollajen, fibriller ve kondroitin sülfat yer alır. Düz kaslar, matriks ve liflerin üretilmesinde de fonksiyon grrlere. Kas hücreleri arasında vazo vazorumlar yer alır. Bira ince elastik tabakadan oluşan belirgin bir membrana elastica internaları vardır; ancak i elastik membrandan daha incedir. Tabakalar arasında pencereler de yer alır (27).

Tunika eksterna, gevşek bağ dokusu içerir, oldukça kalındır. Bu yapı içinde vazo vazorum ile vazomotor sinirlere rastlanır. Tunika eksternanın belirli bir sınırı olmayıp komşu yapıların bağ dokusu ile karışırlar. Tunika media ile tunika eksterna arasında, bazı preparatlarda çok güzel seçilebilen membrana elastica eksterna bulunur (27).

2.2.3. Küçük çaplı arterler ve arteriyoller

Çapları 100 mikrometreden az olan arterlerin tunika intiması endotel ve membrana elastica internadan oluşur. Bu membran endotel altında ince parlak bir

izgi olarak gözlenir. Tunika media küçük çaplı arterlerde en çok sekiz sıralı, arteriyollerde ise bir-iki sıralı düz kas tabakasıdır. Membrana elastika interna görülmeyebilir. Tunika adventisya longitudinal seyirli kollajen ve elastik lifler içeren gevşek bir bağ dokusu tabakasıdır. Membrana elastika eksterna bulunmaz. apı genellikle 0,5mm'den dar olan arteriyoller, kapiller ağdaki kan akımını kontrol eden önemli damarlardır. Arteriyolden kapillerin ayrıldığı yerde arteriyol duvarındaki düz kaslarda hafif bir kalınlaşma prekapiller sfinkteri oluşturur. Bu sfinkterin kasılması kapillere kan geçişini engeller (27,28).

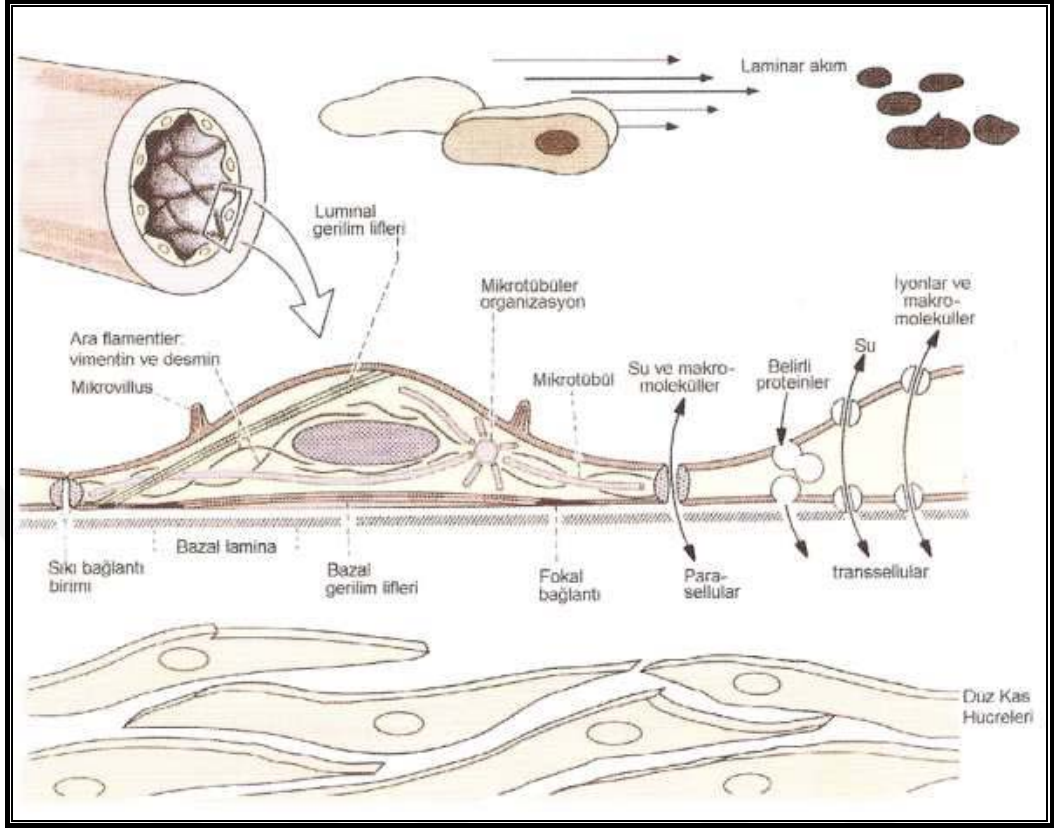
2.3. Vasküler Endotel

Normal endotel bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir skuamoz epitel tabakasıdır. Kan ve interstisyel dokular arasındaki stratejik yerleşiminden dolayı endotelin intravasküler ve ekstrasvasküler olayları düzenleyici bir rolü vardır. Vasküler endotel hücre zarı geçirgenliğini, lipid transportunu, vazomotor tonusu, koagülasyonu, fibrinolizi ve inflamasyonu etkileyerek normal kardiyovasküler hemostazın korunmasında aktif olarak rol alır. Normal endotel kan akımına karşı hem trombozeistans bir yüzey görevi görürken hem de kan ve damar duvarı arasında makromoleküler bir bariyer vazifesi yapar (29).

Endotel hücreleri morfolojik yapıları ve stratejik-anatomik pozisyonları dolayısı ile vasküler düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında (trombosit, monosit, enzimler, hormonlar v.s.) “selektif geçirgen” bir bariyer oluşturur. Bunun için endotel hücreleri luminal yüzeyde dolaşım için nonadheziv bir yapıda bulunmalıdır. Bu görevi yanında endotel hücrelerinin damar tonusunun düzenlemesi, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü, lksit migrasyonu gibi çeşitli olaylarda rolü vardır (30).

Endoteliumun altında iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahip düz kas hücrelerinden oluşan bir neointimanın varlığı saptanmıştır. Neointimanın hücreler arası boşluklarının proteoglikan ve bazal lamina benzeri maddeler içerdiği gözlemlenmiştir. F-aktin için yapılan boyama intimal düz kas hücrelerinin, mediadaki sirküler düz kas hücrelerine dik ve endotel hücreleri ile aynı yönde uzandığını ortaya koymuştur (31).

Hücresel iskelet (cytoskeleton) endotel hücrelerinin biçimlerini korumada önemli rol oynar (Şekil 5).



Şekil 5. Damar endotelyum hücre iskeleti (26)

Ultrastrüktürel incelemeler endotel hücre iskeletinin üç farklı tipte sitoplazmik liflerden oluştuğunu göstermiştir. Bunlar:

- Gerilim Lifleri (Stres Fibre)
- Mikroborucuklar (Mikrotubules)
- Ara Filamentler (İntermediate Filamentler) dir.

Bütün bu lifler hücreye biçim veren dinamik bir çatıyı oluşturmakla beraber hücrenin üç boyutlu yapısında hızlı değişmelere de olanak vermektedir. Endotelyumu oluşturan hücrelerin yapısı ve dış etkilere karşı reorganize olma yeteneği, onun endotel bütünlüğünün devam ettilmesinde kritik ve önemli görevlere sahip olduğunu göstermektedir (32).

Vasküler endotelin antikoagulan yüzey oluşturmada birçok mekanizma rol alır;

- 1- PGE2 ve adenosin gibi vazodilatör maddelerin salgılanması ve trombosit agregasyonunun engellenmesi
- 2- Endotel yüzeyinin heparin gibi maddelerle etkileşmesi sonucu AT3 (Antitrombin 3)'ün aktive edilmesi ile fibrin formasyonunu engellemesi
- 3- Pıhtı lizisinde rol alması
- 4- Trombomodulin salgılayarak protein C'yi bağlaması ve böylece Faktör beş ve sekizin inhibe edilmesi (29).

Vasküler endotel, kan basıncının ve akımının kontrolünde önemli rol oynayan maddelerin salınmasında veya modifiye edilmesinde metabolik olarak aktif bir rol oynar. Bu tip maddeler arasında vazodilatörler (nitrik oksit-NO), prostasiklin(PGI₂), vazokonstriktörler, antikoagulanlar (trombomodulin, protein-C), fibrinolitikler (doku plazminojen aktivatörü) ve trombosit agregasyonunu inhibe eden faktörler (NO ve PGI₂) yer alır. Nitrik oksit, nitrik oksit sentetaz ile argininden sentez edilir. Bu maddenin pek çok fonksiyonu bulunmaktadır. Dolaşımda guanilat siklazı bağlar ve cGMP düzeyini artırarak vazodilatasyona neden olur. Endotel kaynaklı vazokonstriktörler ve endotelin de trombin ve epinefrine cevaben salgılanırlar (33).

2.3.1. Endotel hücrelerinin fonksiyonları

1. Dolaşım ve damar duvarı arasında selektif geçirgen bir bariyer oluştururlar.
2. Dolaşımda nontrombojenik bir yüzey vazifesi görürler.
3. Çeşitli vazodilatör maddeler yaparlar.
4. Damar düz kas hücresi proliferasyon ve migrasyonunu düzenlerler.
5. Koagülasyon ve fibrinolitik olaylarda modülatör rol oynar.
6. İnflamatuar ve immünolojik olaylarda rol oynar.
7. Biyomoleküllerin metabolizmasında görev alırlar (lipid oksidasyonundaki rolü) (30).

Endotel hücresinde sentezlenen ve salgılanan biyoaktif maddeler

1-Vazoaktif Proteinler

- Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör [(EDRF (NO))]
- Endotelin
- Proktasiklin (PGI₂)

2-Büyüme Faktörleri ve Stokinler

- Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)
- Granülosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör
- Platelet Aktive Edici Faktör (PAF)
- İnterlökin 1, 6, 8
- Trombosit Büyüme Faktörü (TGF)

3-Prokoagülanlar

- Plasminojen Aktivatör İnhibitörü (PAI) (PAI, PAI₂, PAI₃ ve Proteaz Neksin)
- Fibronektin
- F IX Bağlayıcı Protein
- F V ve F XII Aktivatörü

4-Antitombotik ve Antikoagülan Faktörler

- Doku Plasminojen Aktivatörü (t-PA)
- Trombomodulin
- Protein – S
- EDRF (NO)
- Ekstrinsik Sistem İnhibitörü (TTPAI)
- Antitrombin III
- PGI-2

2.4. Endotel Hücre Hasarına Damarın Yanıtı

Arter duvarında iki tip hasar meydana gelir. Birincisi mekanik hasardır. Arterin diseksiyonu, sutureasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi

sonrası meydana gelir. İkicisi ise arteriyel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülür (sentetik greftler, stentler, otolog ven greftleri)(34).

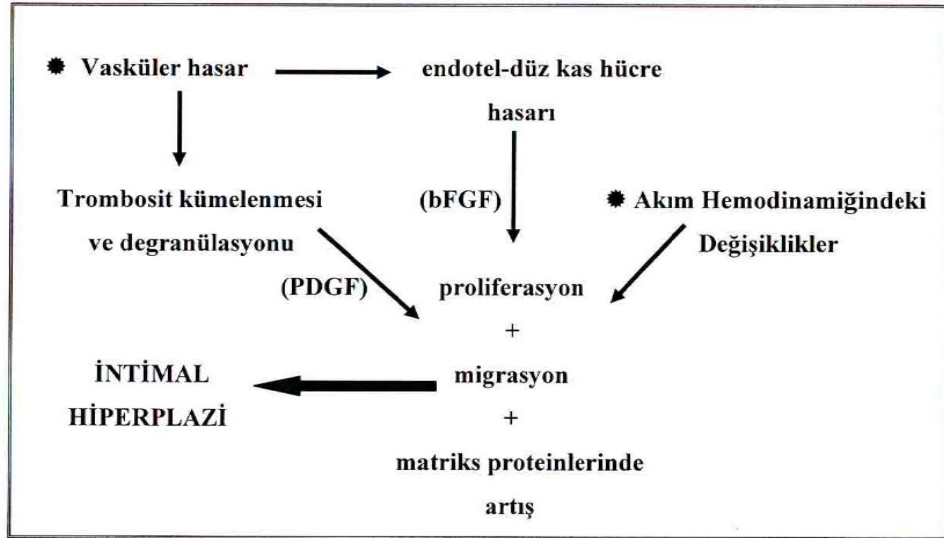
Damar endotel hasarından sonra hasar bölgesinde trombosit adezyonu ve agregasyonu meydana gelir. Trombosit, makrofaj ve aktive endotel hücreleri tarafından salınan büyüme faktörleri ve sitokinlerin etkisi ile medial düz kas hücreleri proliferasyon olurlar. Prolifere olan düz kas hücreleri intima'ya göç ederler. İntimal bölgede düz kas hücre proliferasyonu, ekstrasellüler matriks sentezi ve depolanması sonucunda intimal hiperplazi meydana gelir. Kısacası intimal hiperplazinin birinci basamağı düz kas hücre proliferasyonu, ikinci basamağı ise proliferasyon olan düz kas hücrelerinin intima'ya göçüdür (12,35).

Media tabakasında düz kas hücre proliferasyonu ve intima'ya migrasyonunun iki farklı büyüme faktörü tarafından tetiklendiği gösterilmiştir. Bunlar basic fibroblast growth factor (bFGF) ve platelet derived growth factor (PDGF)'dir. bFGF hasarlanmış düz kas hücrelerinden ve endotel hücrelerinden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonunu regüle eder. PDGF (Platelet Derived Growth Factor) ise trombosit ve vasküler hücrelerden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu sağlar (36).

İntima'ya ulaşabilen hücrelerin sayısı, hasar sonrası mediada sağ kalabilen hücre sayısı ile ilişkilidir. Normalde hücreler, arteriyel ekstrasellüler matriks ile sıkı ilişki halindedirler. Bu ilişki integrinler gibi sellüler membran reseptörleri ile sağlanır. Bu kontakt hücre reseptörlerinden nükleusa sinyali iletir ve hücre sağkalımını sağlar. Kontakt durunca sinyal durur ve hücre ölümü olur. Bu olay sonunda büyüme faktörleri intimal kalınlaşmayı uyarır. Endotelde oluşan hasar bölgesi 3 cm'den büyük ise kenarlardan başlayan endotel repopulasyonu hiçbir zaman hasarlı arteriyel segmentin orta bölgesine ulaşamamaktadır. Bu alanda düz kas hücre proliferasyonu devam etmektedir. Bu sonuçlar, endotelin tekrar sağlanması ve korunmasının intimal hiperplazi kontrolünde önemli olduğunu göstermektedir (29).

Düz kas hücrelerinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimule eder. Normal damarlarda NO, Adenozin, Pi' ler gibi büyüme inhibitörleri ile PDGF, FGF, EGF, insülin benzeri büyüme faktörü, TGF-beta, anjiyotensin-2, NE ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması düz kas hücre

proliferasiyonuna neden olur. Düz kas hücrelerinin anormal büyümesinin, büyüme faktörleri üretiminde artma veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir (8).



Şekil 6. Endotel hücre hasarına damarın yanıtı (8)

Buraya kadar anlaşıldığı üzere intimal hiperplazinin oluşumunda düz kas hücrelerinin proliferasyonu, migrasyonu ve ekstrasellüler matriksin artması intimal hiperplazi oluşumunda önemli rol alır. İntimal hiperplazinin patofizyolojisini anlamak için daha çok intima ve media üzerinde durulmuştur. Fakat damarın adventisiasının olaya katkısının ne olduğu üzerine çok fazla çalışma yapılmamıştır (37).

Karotid arter cerrahisinden sonra lezyonlarda düz kas hücresi ve fibroblast akümülayonu erken dönemde görülür. Arteriyel media hasarından hemen sonra damar duvarına trombositler yapışır. Degranülasyon olur. Hasardan 24 saat sonra düz kas hücreleri media tabakasında prolifer olmaya başlarlar. Dört gün sonra düz kas hücreleri intimaya göç eder ve prolifer olmaya devam ederler. Daha sonra intimal hücreler etrafında ekstrasellüler matriksin depolanması ile intimal kalınlaşma artar. Üçüncü ay sonunda sabit bir durum elde edilir. Bu durumda intimanın %20'si hücreler, %80'i ekstrasellüler matriksten oluşur (38,39).

2.4.1. Damar duvarının yapısı ve anastomoz hattının iyileşmesi

Normal damar yapısı temel olarak intima, media ve adventisya olmak üzere 3 ana katmandan oluşur. İntima tek katlı yassı endotel hücrelerinden oluşur ve tüm damar boyunca uzanır. İntimal yüzey, kan ve doku arasındaki alışverişi sağlayacak geçiş noktalarına sahiptir. Endotel tabakası aynı zamanda damar duvarının diğer katmanları ile kan arasında bir bariyer görevi de üstlenir. İntimanın altında ince bir subendotelyal tabaka yer alır. Subendotelyal tabaka ile media arasında da damarın elastik yapısını sağlayan internal elastik lamina bulunur. Media tabakasında ise çepeçevre düz kas hücreleri yer alır. Adventisya, fibroelastik konnektif dokudan oluşur ve içinde mediaya ulaşan vazo- vazorumu, sinirleri ve lenfatikleri barındırır. Endotel bütünlüğünün bozulmasıyla kan akımındaki trombositler derin tabakalardaki kollajen ile temas ederek agregasyona uğrarlar (40). Uygun bir anastomoz neticesinde bazal membran ve internal elastik laminanın devamlılığının sağlanması ile trombositlerin derin yapılarla olan teması azaltılır; bu şekilde trombositler anastomoz hattı üzerinde sadece ince bir örtü oluştururlar. Bu ince örtü eğer belirgin bir staz ya da media ekspozisyonu yoksa çok az miktarda fibrin ve eritrosit içerir. İnternal elastik tabaka venlerde belirgin olmadığı için oluşan örtü arterlere oranla daha kalındır ve lümenin tıkanma eğilimi daha fazladır. Trombosit birikimi ilk 4–6 saat boyunca devam eder ve daha sonra trombosit sayısı azalmaya başlar. 3.–7. günlerde trombositler belirgin olarak azalır ve duvar yapısında görülemezler. Yine bu dönemde fibrinoliz belirgin olarak gözlenir. Nötrofiller onarımı takip eden saatlerde anastomoz bölgesinde çoğalmaya başlarlar ve 3. günden sonra yerlerini makrofajlara bırakırlar. Makrofajlar 3.–7.günler arasında belirgin olarak gözlenirler ve daha sonra giderek sayıca azalırlar. 5. günde anostomoz hattı trombosit, fibrin ve lökositlerden oluşan psödointima ile kaplıdır. 3. günden sonra endotelizasyon belirgin hale gelir. Endotelizasyon psödointima tabakasının altında ilerler ve 14. günde tamamlanır. Bu dönemde fibrin ve trombüs artıklarının tamamına yakını uzaklaştırılmıştır. Başlangıçta endotel tabakası düzensiz yapıda olup 8. haftada remodelasyonunu tamamlayarak düz hale gelir.

İyi yapılmış mikrocerrahi anastomozda trombüs gelişmesi olasılığı çok azdır (41). Endotel iyileşmesi tamamlana kadar kullanılan antikoagulan ilaçlar sayesinde trombüs oluşumu baskılanabilmektedir. Endotel bütünlüğündeki bozulma dışında

trombozu artıran nedenler de ortamda mevcut ise daha fazla trombüs oluşabilmekte ve bunun da antikoagülanlarla önlenmesi mümkün olamamaktadır.

2.4.2. Arteriyel akıma ven duvarı adaptasyonu

Arteriyel akıma implante edilen damarlar yeni hemodinamik duruma adapte olmak için yapısal değişiklik gösterirler. Venöz sisteme implante edilen vende ise değişiklik gözlenmemektedir. Arterdeki hemodinamik duruma bağlı olarak ven duvarında kalınlık artmakta, intimal hiperplazi oluşmakta, düz kas hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks depolanması sonucunda medial hipertrofi görülmektedir (42).

Arteriyel sisteme implante edilen tüm venler implantasyon sonrası dört–altı hafta içinde intimal kalınlaşma göstererek lümeni yaklaşık %25 daraltırlar. Bu nadiren belirgin stenoza neden olur. Fakat intimal hiperplazi ileride greftte aterom oluşmasına neden olur (38).

Ven greftlerinde intimal düz kas hücre proliferasyonu, greftteki duvar kalınlığı ve yarıçap oranı arterlerdeki orana ulaştığı zaman durmaktadır. İlginç olarak ven greftlerde endotel sağlam olmasına rağmen hiperplazi, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonu gözlenmektedir. Arteriyelize olmuş bir ven tekrar venöz sisteme implante edilirse duvarı büzüşmekte ve tekrar bir ven görünümü almaktadır. Bu remodeling sırasında TGF-alfa salınımı artmaktadır.

Venöz sisteme implante edilen vende greftleme sonrasında geçici iskemi meydana gelir. Bu iskemi-reperfüzyon siklusu hem prostasiklin, NO ve adenosin gibi antiproliferatif mediatörlerin salınımını azaltır hem de düz kas hücrelerinin proliferasyonunu doğrudan redükleyen süperoksit radikallerin formatlarını arttırır. Vazovazorumdan beslenmenin kaybı iskemi ve fibroziste rol alır (38).

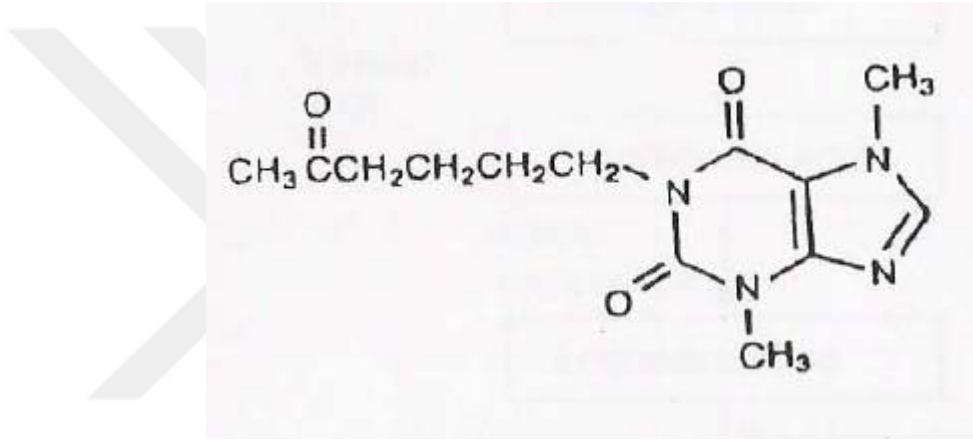
2.5. Pentoksifilin

Pentoksifilin periferik damar hastalığında kullanılan eritrosit fleksibilitesini arttıran bir ajandır. Kronen ve ark. rat femoral arterinde oluşturdukları arteriyel inversiyon greft ve ezme hasar modellerinde yaptıkları çift kör çalışma sonucunda 7. günde kontrol grubunda arteriyel inversiyon greft modelinde patensi % 0, ezme hasar

modelinde % 31, pentoksifilin (20 mg/kg/gün) ile tedavi edilen grupta % 37'ye % 84 olarak bulmuşlardır (43).

Pentoksifilin, 20 yıldan daha uzun süreden beri kullanılan, hücre membran akışkanlığının sağlanması, immün modülasyon, fibrinolizisin uyarılması, antikoagülan etkiler ve fibroblast fizyolojisi üzerinde değişik etkiler gibi çeşitli farmakolojik özellikleri bulunan, metil ksantin türevi ve fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır (44).

Pentoksifilin kimyasal ismi 1-(5'-oxohexyl)-3,7-dimetilksantin'dir (Şekil 7).



Şekil 7. Pentoksifilin kimyasal yapısı.

2.5.1. Pentoksifilin'in hemoreolojik etkileri

Pentoksifilin güçlü bir periferik vazodilatatördür (45). Diğer periferik vazodilatatör ilaçların çoğundan farklı olarak kanda reojenik etkiler de gösterir. Periferik ve beyin damarlarına ait hastalıkların ve mikrosirkülasyon bozukluğu içeren hastalıkların tedavisinde kullanılan hemoreolojik bir ajandır. Kronik okluzif hastalığı olanlarda kladikasyonun süresini belirgin şekilde arttırdığı gösterilmiştir (46). Asıl teröpatik etkinliği, hemoreolojik etkileriyle kan akımı ve dokuların oksijenizasyonunun artırılmasına bağlıdır. Bu hemoreolojik etkileri sonucu;

1. Eritrositlerin esnekliğini (deformabilitesini) artırır.
2. Fibrinojen derişimini azaltır.
3. Trombosit agregasyonunu ve trombüs oluşumunu azaltır.

4. Kan viskozitesini düşürür, kan akışkanlığını artırır.
5. Lökositlerin endotele adezyonunu azaltır, lökosit aktivasyonu ve bunun neden olduğu endotel hasarını azaltır.

Böylece pentoksifilin, kanın akışkanlığını artırarak ve antitrombotik etki göstererek mikrodolaşım perfüzyonunu artırır. Yani kan dolaşımı ve dokuların oksijenlenmesi artar.

2.5.2. Pentoksifilin'in kardiovasküler sistem üzerine etkileri

1. Pentoksifilin sistemik arter basıncında belirgin değişikliğe neden olmaz.
2. Pentoksifilin primer kardiyak output artışına neden olur ve sonuçta da refleksojenik sistemik vazodilatasyon ve total sistemik vasküler rezistansta azalma yapar.

Pentoksifilin plazma seviyeleri ile dozu arasında direkt ilişki vardır. Pentoksifilin ilk olarak oluşan metaboliti olan Metabolit I ile ilacın değişmeyen formu aynı anda kanda bulunur. Bu major metabolit potansiyel olarak ana ilaç gibi etkilir; bu yüzden pentoksifilin etkinliği her ikisinin plazma seviyelerine bağlıdır. Pentoksifilin ana metaboliti olan Metabolit I kanda saptanırken diğer 6 metabolit idrarda görülür. İlk 5 metabolit (I-V) ksantin nükleusunun 1. pozisyonundaki oxohexyl'in oksidasyon ve redüksiyonu ile oluşur. Pentoksifilin ve Metabolit demetilasyonu ile Metabolit VI ve VII oluşur. İn vitro son çalışmalarda pentoksifilin major metabolitlerinin hemoreolojik etki yaptığı görülmüştür. Bu infleksibl olan eritrositlerde fleksibilitenin ölçümü ile gösterilmiştir. Eritrositlerde ATP oranı artmış ve ATP/ADP oranı yükselmiştir. Bu da pentoksifilin ile başlayan sürecin metabolitlerin böbrekten atılımına kadar sürdüğünü göstermiştir. Değişime uğramamış pentoksifilin idrara ancak eser miktarda çıkmakta, bu da hemen hemen tümünün metabolize edildiğini göstermektedir (47).

2.5.3. Pentoksifilin etki mekanizması

Pentoksifilin bir metilksantin analogudur. Önceleri periferik damar hastalığı ve intermitan klodikasyon tedavisinde kan viskozitesini azaltıp kapiller kan akımını arttıran etkili hemoreolojik bir ajan olarak tanımlanmıştır. Daha sonra pentoksifilin nötrofil ve monositler üzerinde proinflamatuvar aktiviteyi inhibe edici etkisi

gösterilmiştir (48). Hücre içi fosfodiesteraz enzimini inhibe ederek cAMP konsantrasyonunu arttırdığı ve etki mekanizmasının bu yol ile olduğu düşünülmektedir (49). Pentoksifilin TNF- α üzerindeki inhibe edici etkisinin de yine artmış hücre içi cAMP üzerinden olduğu kabul edilmektedir (50,51). Çünkü hücre içine yüksek miktarda bir cAMP analogu olan dibutyryl cAMP verilmesinin TNF- α gen transkripsiyonunu baskıladığı gösterilmiştir (52). Buna rağmen; sadece fosfodiesteraz inhibisyonunun, pentoksifilin etkisini açıklayamayacağı da açıktır. Çünkü tıpkı pentoksifilin gibi diğer bir fosfodiesteraz inhibitörü olan teofilinin, hücre içinde cAMP düzeyini benzer şekilde yükseltmesine karşın, polimorfonükleer lökositler ve natural killer hücrelerin metabolik aktivitelerinde pentoksifiline kıyasla çok daha az inhibisyon yaptığı gösterilmiştir. Bu nedenle pentoksifilin etki mekanizmasının bilinenden çok daha karmaşık ve belki de birkaç farklı yoldan olduğu düşünülmektedir. Bu konuda pentoksifilin endojen prostasiklin üretimini uyarması ve onun da siklooksijenazı stimüle ederek hücre-içi cAMP'yi artırmasının veya direkt olarak "dönüştürücü büyüme faktör-P"yı (TGF-P) artırarak TNF- α 'ı "down-regüle" etmesinin diğer etki mekanizmaları olabileceği iddia edilmiştir (48).

2.5.4. Pentoksifilin klinik kullanımı

Hemoreolojik ajan olan pentoksifilin, intermitten kladikasyon tedavisi için geliştirilmiş ve dolaşım şokunda da yararı olabileceği kanıtlanmış ve hemoreolojik ajanların ekstremitte iskemisinin tedavisinde kullanılmasının yararlı olduğu bildirilmiştir. Başlangıçta intermitten kladikasyonlu olan hastaların tedavisinde kullanılmak üzere pazarlanmıştır. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalar pentoksifilin (PTX) ve onun metabolitlerinin, nötrofillerin göçünü arttırdığını ve hayvan modellerinde oluşturulan gram (-) sepsis, peritonit ve menenjit gibi enfeksiyonlarda koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir (45,53). İlacın immün sistem üzerinde, lökosit deformabilitesinde ve kemotaksisinde artış, endotel lökosit adezyonunda, nötrofil degranülasyonu ve süperoksidad salınımında azalma, monosit kaynaklı tümör nekrozis faktör üretiminde azalma, IL-1 ve TNF'ye karşı azalmış lökosit cevabı, doğal öldürücü hücre aktivitesinde azalma ve T ve B lenfosit aktivasyonunda inhibisyon gibi etkileri bulunmaktadır (44). Ayrıca PTX' in trombosit agregasyonunu engellediği, kan viskozitesini ve eritrositlerin fleksibilitesini artırdığı ve periferik

dolaşımı düzelttiği kaydedilmiştir (54). PTX' in eritrosit fizyolojisi üzerinde yaptığı değişikliklerin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber eritrosit membranında ATP miktarını artırarak membran elastikiyetini düzelttiği, diğer taraftan yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda PTX alan kişilerin eritrositlerinin artmış ve restore edilmiş elastikiyete sahip olduğu gösterilmiştir (53). Hipoksi, asidoz, hiperosmolarite ve üremi gibi durumlarda eritrosit ATP seviyesi azalmakta, hücre içi kalsiyum iyon konsantrasyonu artmakta ve sonuçta hücre membranı sertleşmektedir (55). Periferik vasküler hastalıklar, diyabet, üremi, serebrovasküler hastalıklar, Raynaud Sendromu, hemoglobinopati ve miyeloid metaplazi gibi birçok hastalıklarda da eritrosit elastikiyeti bozulmuştur. İmmün kompetan hücreler ile vasküler endotel arasındaki ilişkinin sepsise bağlı multipl organ yetersizliği gelişiminde primer önemi bulunmaktadır. PTX' in hücre kaynaklı endojen regülatörlerin artması ile inflamatuvar reaksiyonların yayılmasını sınırladığına ilişkin in-vitro şartlarda yapılmış çalışmalar mevcuttur (56). **PTX, intrasellüler cAMP üzerinde sinerjistik etki gösterdiğinden dolayı adenozin, prostasiklin ve prostaglandin E serisinin antiinflamatuvar etkilerini artırmaktadır.** Bu mekanizmayla polimorfonükleer lökositlerin oksijen radikali üretimini, trombositlerin agregasyonunu, yaygın damar içi pıhtılaşmasını ve sitokinlerin üretimini inhibe etmektedir. Sonuçta PTX hem mikrosirkülasyonda hem de doku oksijenizasyonunda perfüzyonu düzeltmektedir (56). PTX, sitokin salınımının farmakolojik modifikasyonu yoluyla çeşitli hastalıkların tedavisinde etkili olabilmektedir (57).

2.5.5. Pentoksifilin'in vasküler endotelial sistem üzerine etkileri

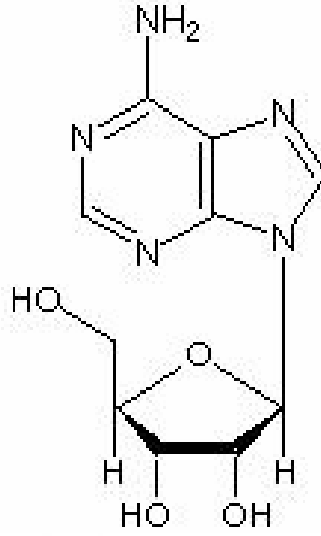
Pentoksifilin ksantin türevi (teofilin benzeri) fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır. Fosfodiesterazı inhibe ederek c-AMP düzeyini artırır. cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada tavşan iliak arterlerine uygulanan balon anjioplasti sonrası subkutan yolla uygulanan pentoksifilin 28. gün sonunda neoadventisyal hiperplaziyi, damar duvarında sitokin ve kollajen birikimini kontrol grubuna oranla azalttığı görülmüştür. Kontrol grubuna oranla çalışma grubunda neointimal hiperplazi daha az oranda bulunmuştur (7).

Media tabakasında düz kas hücre proliferasyonu ve intima migrasyonunun iki farklı büyüme faktörü tarafından tetiklendiği gösterilmiştir. Bunlar temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)'dir. bFGF hasarlanmış düz kas hücrelerinden ve endotel hücrelerinden salgılanır ve düz kas hücre proliferasyonunu regüle eder. PDGF ise trombosit ve vasküler hücrelerden salgılanır ve düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu sağlar (36). Yung Ming Chen ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada pentoksifilin damar hasarı sonrası PDGF'nin neden olduğu ve TGF-beta'nın stimüle ettiği kollajen sentezini vasküler düz kas hücresinde azalttığını ve bunun sonucunda da damar hasarından (balon anjioplastisi) sonra pentoksifilin damar çapının kontrol grubuna oranla daha geniş olduğunu tespit etmişlerdir (9).

Martin B. ve arkadaşlarının 2008'de yaptıkları bir çalışmada (58) pentoksifilin bazı sitokinlerin etkilerini inhibe ettiği, hasarla ilişkili kollajen birikimini ve adventisyada miyofibroblast toplanmasını ve böylece neoadventisya oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Çalışmada pentoksifilin her üç arteriyel tabakada da kollajen dansitesini azalttığı, erken dönemde damar duvarında düz kas proliferasyonunu azalttığı ve geç dönemde de remodelling üzerindeki pozitif etkileri sonucu damar lümen çapının artışına neden olduğu sonucuna varılmıştır.

2.6. Adenozin

Adenozin birçok fizyolojik ve patofizyolojik olayda önemli rol oynayan bir pürin nükleozitidir. Adenozin bilinen farmakolojik etkilerini membranda bağlı bulunan ve üç ana gruba ayrılan adenozin A₁, A₂ (A_{2a}, A_{2b}) ve A₃ reseptörleri üzerinden gösterir (10,59).



Şekil 8. Adenozinin kimyasal yapısı

2.6.1. Adenozinin sentezi, salınımı ve metabolizması

Adenozin dört farklı yoldan üretilir:

- İntersellüler ATP yolu
- Ekstrasellüler ATP yolu
- Transmetilasyon yolu
- cAMP – adenozin yolu (59)

Bir pürin nükleotidi olan ATP (adenozin trifosfat) hücrenin ana enerji kaynağı olarak bilinir. Bu madde adrenerjik sinirlerin ucundan noradrenalinin ve kolinerjik sinirlerin ucundan asetilkolinin ko-transmitteri olarak da salıverilir. ATP salıverildikten sonra Mg^{++} -a-bağımlı ATPaz veya 5'-nükleotidaz (5'-adenilat deaminaz) enzimleri tarafından hidroliz edilir ve en sonunda adenozine dönüştürülür (60).

Dokulardan adenozinin temizlenmesi ve/veya inaktivasyonu için iki ana sistem bulunur; bunlardan birincisi adenozin deaminaz ve adenozin kinaz tarafından inaktif ürünlere dönüştürülmesidir. Adenozin, deaminasyonla inozin ve hipoksantin adlı inaktif ürünlere parçalanır. Adenozinin metabolize edilmesinde rol oynayan ikinci

mekanizma ise; pürinerjik sinir ucu tarafından geri alınarak tekrar ATP sentezinde kullanılmasıdır (60).

2.6.2. Adenozin reseptörlerinin sınıflandırılması

Pürinerjik reseptörler, P_1 ve P_2 reseptörler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Bunlardan P_1 reseptörler adenozine, P_2 reseptörler ise ATP'ye yüksek afinite gösterirler. Pürinerjik reseptörlerden P_1 reseptörlere giren adenozin reseptörleri A_1 , A_{2a} , A_{2b} ve A_3 reseptörler olmak üzere dört gruba ayrılırlar. Bu sınıflandırma, reseptörlerin protein dizilimleri ve ligandlara afiniteleri göz önüne alınarak yapılmıştır (61). Son zamanlarda rat beyininde A_4 tipi adenozin reseptörü olduğu varsayılan bir reseptör de gösterilmiştir.

2.6.3. Adenozin reseptörlerinin dağılımı

Adenozin reseptörleri geniş bir dağılım gösterir:

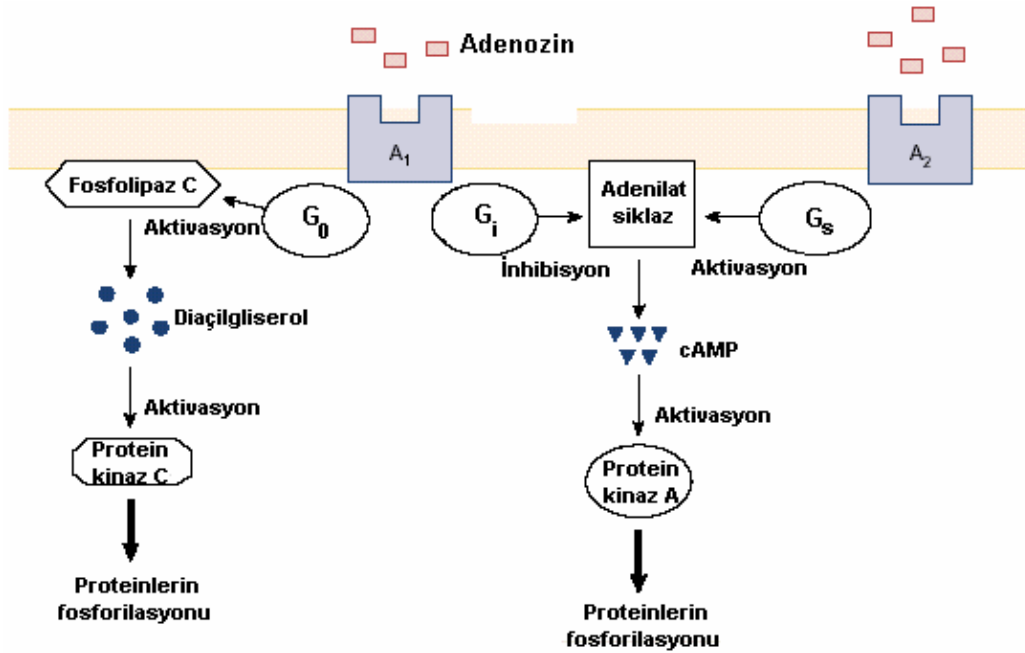
Tablo 1. Adenozin reseptörlerinin dağılımı (10)

Reseptör Tipi	Dağılımı
A_1	Vasküler düz kas, beyin (korteks, serebellum, n.caudatus, putamen), omurilik, epididimis, vas deferens, testis, yağ dokusu, mide, dalak, hipofiz, böbrek üstü bezi, atriyum, kalp, aort, böbrek, karaciğer, göz, mesane.
A_{2a}	Vasküler düz kas, striatum, n.accumbens, olfaktör tüberkül, globus pallidum, hipokampus, serebral korteks, kalp, aort, dalak, akciğer,
A_2	karaciğer, retina, uterus, deri, mesane, iskelet kası, timus, vas deferens, özefagus, trakea.
A_{2b}	Vasküler düz kas, beyin, omurilik, kalp, akciğer, dalak, karaciğer, böbrek, uterus, çekum, kalın barsak, mesane, hipofiz, göz, deri.
A_3	Striatum, n.accumbens, hipokampus, serebral korteks, serebellum, amigdala, hipotalamus, talamus, kalp, aort, dalak, akciğer, karaciğer, uterus, mesane, mide, jejunum, proksimal kolon, böbrek, göz, testis.

2.6.4. Adenozinin etki mekanizması

Adenozin etkilerini hücre yüzeylerinde bulunan dört tip (A_1 , A_{2a} , A_{2b} , A_3) reseptörü aracılığı ile gösterir (10,59).

Adenozinin farmakolojik etkileri, adenozin reseptörlerine bağlanan spesifik G proteinleri ile ilişkilidir. Adenozin A_1 reseptörleri G_i ve G_0 (62), A_2 reseptörleri G_s (63,64) ve A_3 reseptörleri G_i ve G_q proteinleri aracılığı ile efektör makromolekülleri etkilerler (65). Adenozin A_1 reseptörlerinin aktivasyonu, adenilat siklaz inhibisyonu, Fosfolipaz C aktivasyonu (64), K^+ -ATP kanallarının açılması (66) ve N-, P- ve Q- tipi Ca^{+2} kanallarının inhibisyonu ile sonuçlanır (67). Adenozin A_2 tipi reseptörlerin aktivasyonu ise adenilat siklaz stimülasyonu (68) ve N-tipi Ca^{+2} kanallarının aktivasyonuna yol açar (69). Adenozin A_3 tipi reseptörlerin aktivasyonu Fosfolipaz C/D stimülasyonu (70) ve adenilat siklaz inhibisyonuna neden olur (71). G_0 proteinleri üzerinden fosfolipaz C aktivasyonu sonucu membranda fosfoinozitid veya diğer adıyla fosfatidilinozitol 4,5-bifosfat (PIP_2) hidrolizi artar ve sonuçta inozitol trifosfat (IP_3) ve diasilgliserol (DAG) adlı iki ikinci ulak oluşur. IP_3 , endoplazmik retikulumdan Ca^{++} salıverilmesini artırarak, DAG ise protein kinaz C' yi stimüle ederek biyolojik cevabın oluşmasını sağlar (Şekil 9) (72).



Şekil 9. Adenozin ve G proteini ilişkisi (72)

2.6.5. Adenozinin kardiyovasküler sistemdeki rolü

Adenozin kardiyovasküler sistemde, negatif inotrop, negatif kronotrop ve negatif dromotrop etkiye neden olan bir ajandır. Adenozin A₁ reseptörlerinin aktivasyonu negatif inotrop, negatif kronotrop ve negatif dromotrop etkiye neden olurken, A₂ reseptörlerinin aktivasyonu koroner ve periferel vazodilatasyonla sonuçlanır. Adenozin A₁ reseptörleri kardiyomiyositlerde adenilat siklazı inhibe ederek antiadrenerjik (β -adrenerjik reseptör stimölasyonunun inhibisyonu) etki ile kardiyak etkilerini oluşturmaktadır. Adenozin A₂ reseptörleri ise, kalpte A₁ reseptörlerinin antiadrenerjik etkisine zıt yönde etki oluşturmaktadır. Aynı zamanda adenozinin güçlü bir vazodilatör olduğu da bilinmektedir (73). Vazodilatör etkisini özellikle periferdeki A_{2a} reseptörleri aracılığı ile yapmaktadır (10). Adenozin A_{2a} reseptörlerinin insan ve domuz arteriyel endotelyal hücrelerinden NO salınımını arttırdığı, A₁ reseptörlerinin ise NO salınımını azalttığı gösterilmiştir (74).

Adenozin kalpteki depresan etkisine karşın ventriküler otomatisiteyi artırmaktadır. Adenozinin kardiyak ventriküler otomatisiteyi uyarıcı etkisi adenozin tedavisi yapılan insanlarda ve hayvan çalışmalarında spontan atan izole ventriküllerde gösterilmiştir. Adenozinin ventriküler otomatisiteye etkilerinin, A₂ reseptörleri ile ilişkili olduğu ve endojen katekolaminlerin varlığına bağılı olduğu gösterilmiştir. Çünkü rezerpin verilen ratlarda veya α_1 , β_1 adrenoreseptör antagonistlerinin varlığında adenozinin ventriküler otomatisiteyi uyarıcı etkisi gözlenememiştir (75).

2.6.6. Adenozin reseptör agonistleri ve antagonistleri

Tablo 2. Adenozin reseptör agonist ve antagonistleri (61)

Adenozin Reseptörleri	Reseptör Agonistleri	Reseptör Antagonistleri
A₁	ADAC	1-Allyl-3,7-dimethyl-8-phenylxanthine
	CCPA	CPT
	CHA	DPCPX
	ENBA S(-)-	N-0840
	1.Methylsoguanosine	PACPX
	PIA R (-)	8-Phenyltheophylline
	2-CADO	1,3-Dipropyl-8-p-Sülfophenylxanthine
	N6 -Benzyladenosine	IBMX
	N6 -Phenyladenosine	XAC
	N6-Penylethyladenosine	PAPA-XAC
	GR 79236	Paraxanthine
	CPA	CGS-15943
		[3H]-8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine
		DMPX
A₂ (A_{2a} , A_{2b})	CGS-21680 HCl	1-Allyl-3,7-dimethyl-8-sulfophenylxanthine
	CPCA	1,3-Dipropyl-7-methylxanthine
	DPMA	CSC
	CV-1808	
	MECA	
	Metrifudil	
	2HE-NECA	
A₃	APNEA	

2.6.7. Adenozinin vasküler endotelial sistem üzerine etkileri

Adenozin önemli damar koruyucu (vazoprotektif) faktördür. Damar duvarından sentezlenir ve çok sayıda antivazooklüzif etkisi mevcuttur. Vasküler düz kas hücreleri, fibroblastlar, kardiomyositler, hem vasküler hem de kardiyak endotel hücreleri büyük oranda adenozin üretecek metabolik yola sahiptirler. Endotel hücreleri adenozin üretirler ve kardiomyosit ve hepatositlerden iki üç kat daha büyük adenozin nükleotit havuzuna sahiptirler. Son zamanlarda vasküler düz kas hücrelerinin cAMP'yi metabolize ederek adenozin ürettiği gösterilmiştir. Sonuçta

damar duvarından yerel olarak adenozinin bol miktarda salgılandığı ve önemlisi bu salgının endotel ve düz kas hücrelerinin birleştiği yerde daha çok olduğudur (8).

İnsan aortik düz kas hücrelerinin adenzin ile stimölasyonu sonucu A2 reseptörü üzerinden adenilat siklaz aktive olur, cAMP seviyesi artar ve düz kas hücre proliferasyonu inhibe olur (8). Bu yüzden cAMP'yi arttıran ya da salınımını stimüle eden ajanlar vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilirler (12).

Adenzin, rat vasküler düz kas hücrelerinin büyümesini inhibe eder. Adenzinin insan vasküler düz kas hücre büyümesi ve kollajen sentezlenmesi üzerine etkileri bilinmektedir. Düz kas hücreleri proliferasyon göstermesi, intimaya göç etmesi ve kollajen gibi ekstrasellüler matriks proteinlerini depolaması nedeni ile vasküler patofizyolojide önemli rol alırlar. Endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve fibroblastlar tarafından salgılanan endojen faktörler, düz kas hücre büyümesini, göçünü ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimini engelleyecek önemli vazoprotektif role sahiptirler. Bu bağlamda adenzin önemli bir faktör olabilir (8).

2.6.7.1. Adenzinin antivazooklüzif etkileri

- vazodilatasyonu indükler
- trombosit agregasyonunu inhibe eder
- trombosit adezyonunu engeller
- nötrofile bağı endotel hasarını engeller
- renin salınımı ve norepinefrin(NE) nörotransmisyonunu inhibe ederek anjiotensin 2 ve NE gibi potent vazooklüzif maddelerin sentezini durdurur (8).

Kısacası adenzin; trombosit agregasyonunu inhibe ederek, vasküler hücreler ve nötrofil adezyonunu engelleyerek, renin anjiotensin sistemini inhibe ederek, NO salınımını arttırarak, sempatik sinir sistemine etkisi ile cAMP düzeyini arttırarak, nötrofile bağı endotel hücre hasarını engelleyerek vasküler düz kas hücre proliferasyonunu engeller.

2.6.8. Adenozinin klinik kullanımı

Sinüs ve atriyoventriküler (AV) düğümler fizyolojik dozlarda adenozine çok duyarlıdır. Adenozin özellikle AV-düğümünden kaynaklanan paroksizmal supraventriküler taşikardinin akut epizotlarının önlenmesinde etkilidir. Bu nedenle verapamil ve diğer ajanlara dirençli taşikardinin tedavisinde kullanılır. Ancak adenozin taşikardinin sonlanmasına yetecek dozdan daha fazla verildiğinde, atriyal fibrilasyon veya fluttere yol açabilir (75). Aynı zamanda adenozin güçlü bir vazodilatatör olduğu için cerrahi girişimlerde kontrollü hipotansiyon oluşturmak amacıyla kullanılabilir (76).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Randomize kontrollü deneysel bir araştırma olan çalışmamıza Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan izin alındıktan sonra başlandı ve çalışma Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ağırlıkları 250-300 gram arasında değişen, 24 adet Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler aynı yerde (20 ± 2 °C sıcaklıkta, havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen bir oda) bakıldı. Ratlar 12 saat süreyle ışık gören ve 12 saat süreyle karanlık olan, ratlar için özel standart kafeslerde, her kafeste bir rat kalacak şekilde tutuldu (Resim 1).



Resim 1. Ratların deney süresince barındırıldıkları standart kafesler

Ratların sabit oda sıcaklığında (21 °C) standart yem ve sınırsız suya serbestçe ulaşabilmeleri sağlandı. Deney günü ratlara anestezi olarak 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi verildi. Anesteziden 45 dakika sonra ikinci doz olarak 40 mg/kg ketamin + 5 mg/kg ksilazin uygulandı. Enfeksiyondan korunmak için preoperatif olarak ratlara 50mg/kg dozunda sefazolin ile intramüsküler antibiyoterapi uygulandı. Cerrahi alan batikon solüsyon ile silindi (Resim 2).



Resim 2. Cerrahi alanın hazırlanması

Çalışmadaki tüm anastomozlar aynı cerrah tarafından yapıldı. Bütün deneklerde anastomoz için sağ taraf karotid arteri, kontrol için ise sol taraf karotid arteri kullanıldı. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve tüm grup ratlara horizontal sağ taraf boyun insizyonu yapılarak (Resim 3) karotid arter eksplore edildi (Resim 4).

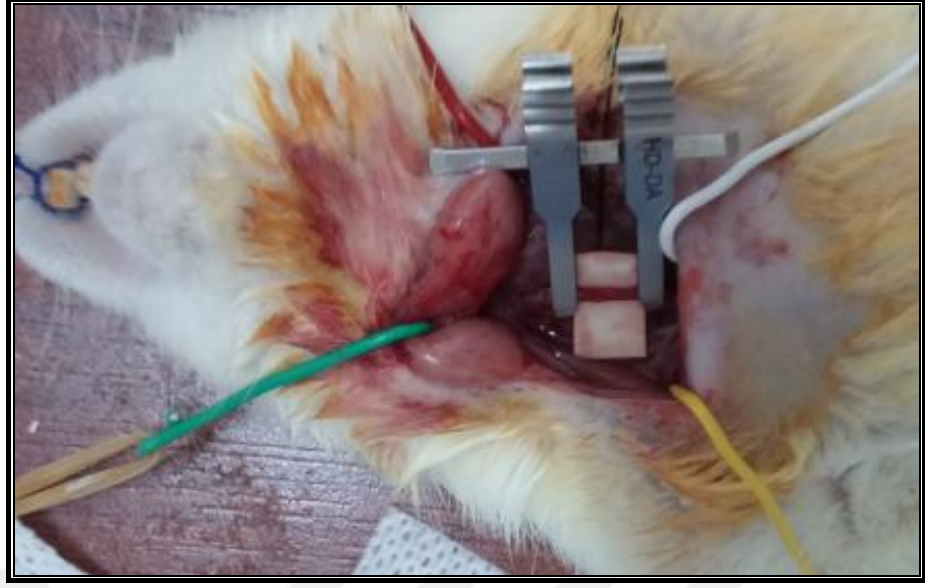


Resim 3. Horizontal sağ taraf boyun insizyonu



Resim 4. Karotid arter eksplorasyonu

Daha sonra karotid arter disseke edilerek proksimal ve distalinden mikro klemple klemplendi (Resim 5) ve aynı arter cerrahi mikro makas ile transekte edildi (Resim 6).



Resim 5. Karotid arter klemplenmesi

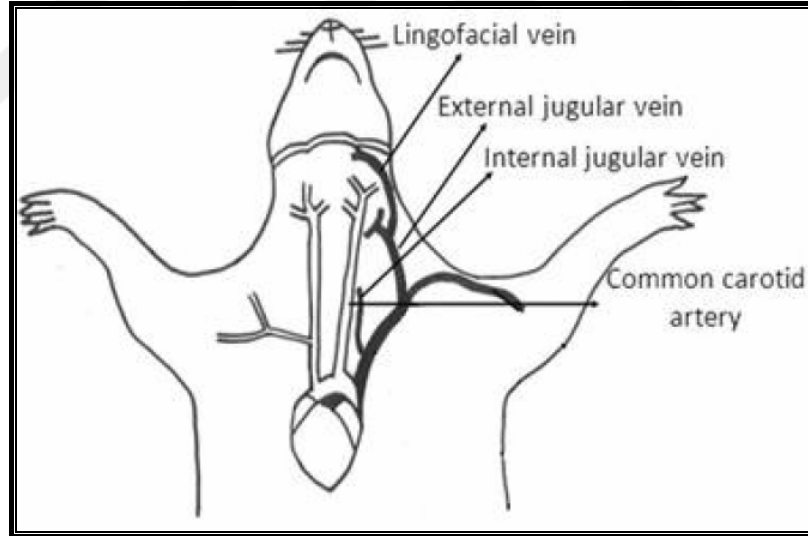


Resim 6. Karotid arter transeksiyonu

Daha sonra 10/0 polipropilen suture ile anastomoz yapıldı ve dokular anatomik planda kapatıldı. Ratlar 4 gruba ayrıldı. Grup 1 ratlar anastomoz yapılan ancak herhangi bir ilaç verilmeyen kontrol grubu, Grup 2 ratlar anastomoz yapılan ve pentoksifilin 100 mg/kg/gün dozunda subkutan olarak 7 gün verilen grup, Grup 3 ratlar anastomoz yapılan ve adenozin 1 mg/kg/gün dozunda subkutan olarak 7 gün verilen grup ve son olarak Grup 4 ratlar anastomoz yapılan

ve her iki ilacın anılan dozlarda birlikte 7 gün uygulandığı grup olarak belirlendi. Yedinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter, anastomoz hattını ortaya alacak şekilde 1 cm'lik segmenti çıkarılarak incelenmek üzere histopatolojoloji laboratuvarına gönderildi. Alınan materyeller formol solüsyonunda korunarak hemotoksilen eozin ile boyanıp ışık mikroskobu altında aynı histolog tarafından incelendi ve anastomoz iyileşmesi histopatolojik olarak değerlendirildi. Değerlendirme parametreleri lümen çapı, lümen alanı, tunika media alanı, ödem, inflamasyon, damar duvar hasarı, intimal hiperplazi, medial atrofi, trombüs ve endotelizasyon olarak belirlendi. Daha sonra deney hayvanları eksanguinasyon ile sakrifiye edilerek deney sonlandırıldı.

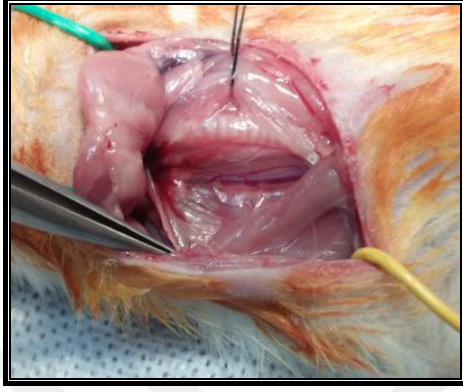
3.1. Anastomoz Tekniği



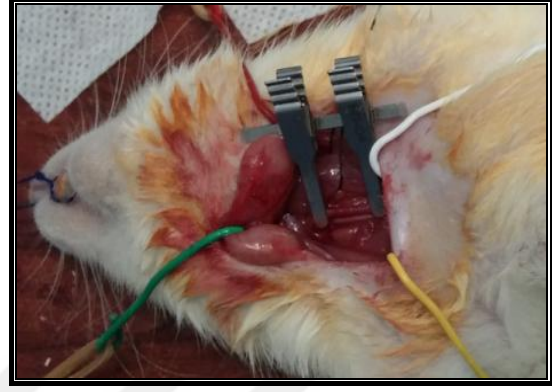
Şekil 10. Arteriyel ve venöz vaskülarizasyon

Çalışmamızda uç-uca anastomoz tekniği kullanıldı. Deney günü ratlara anestezi olarak 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi verildi. Anesteziden 45 dakika sonra ikinci doz olarak 40 mg/kg ketamin + 5 mg/kg ksilazin uygulandı. Disseksiyonlar X16, anastomozlar X25 ve X40 büyütme altında gerçekleştirildi.

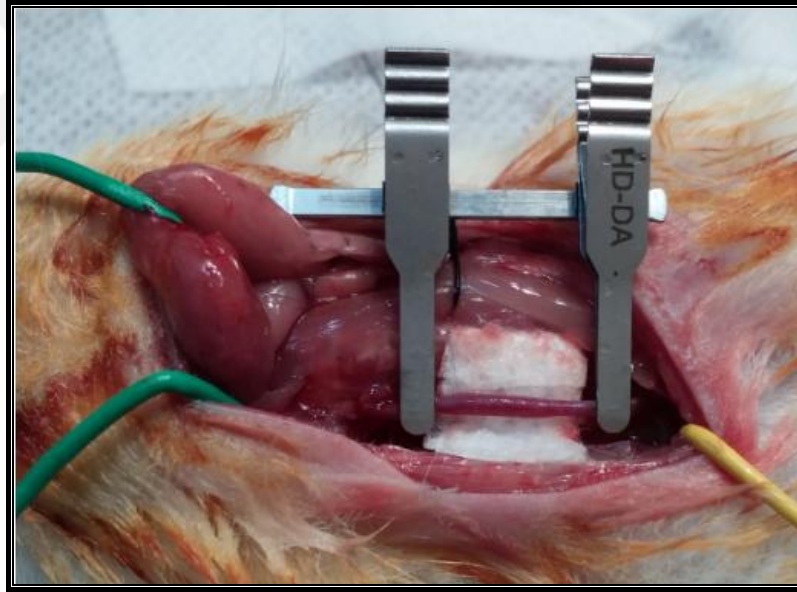
Boyunda horizontal cilt insizyonu uygulandı. Yağlı dokular kraniyal pediküllü flep olarak kaldırıldı. Sternohyoid kas laterale ekarte edilerek paratrakeal kas komşuluğunda damar sinir paketine ulaşıldı (Resim 7, 8, 9).



Resim 7. Kasların ekartasyonu



Resim 8. Klemp yerleştirilmesi



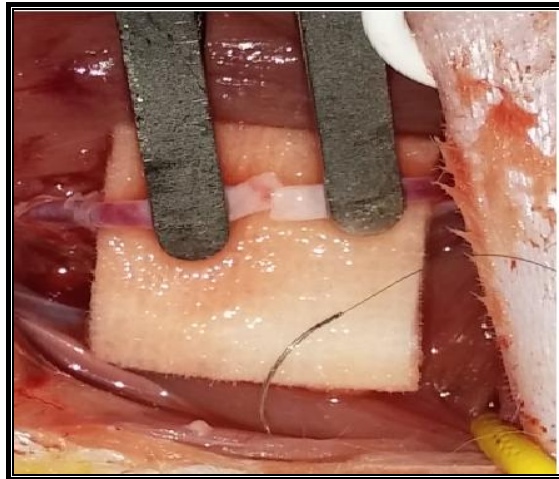
Resim 9. Klemp yerleştirilmesi (yakın görünüm)

Omohyoid kas, damar sinir paketi üzerinden disseke edildi. Kılıf longitudinal olarak insize edildi; karotid arter, nervus vagus üzerinden disseksiyonla ayrıldı. Yaklaşımcı damar klemp yerleştirildi (Resim 10).



Resim 10. Klemp yerleştirilmesi (daha yakın görünüm)

Karotid arter, bifurkasyonun 1 cm altından kesildi ve yaklaşıtrıcı damar klempi vasıtasıyla uçlar yaklaştırıldı. Alan laktatlı ringer solüsyonu ile yıkanarak pıhtılar temizlendi. Adventisya tabakası, cerrahi mikro makas ve mikro penset ile sıyrılarak uzaklaştırıldı. Dilatatör penset yardımıyla damar uçlarına dilatasyon uygulandı. Lümen içerisine 24 numara silikon kanül ile girilerek laktatlı ringer solüsyonu ile yıkama yapıldı (Resim 11).



Resim 11. Karotid arter transeksiyonu ve lümeninin yıkanması

Sütürasyon için 75 mikron iğneye sahip 10/0 propilen suture kullanıldı. Dikişler media tabakasından lümen ve karşı tarafta lümen media tabakasına olacak şekilde yapılarak düğümler aynı tarafta tutuldu. Ön yüzde 0 ve 180 derecelere tespit sutureleri konuldu (Resim 12).



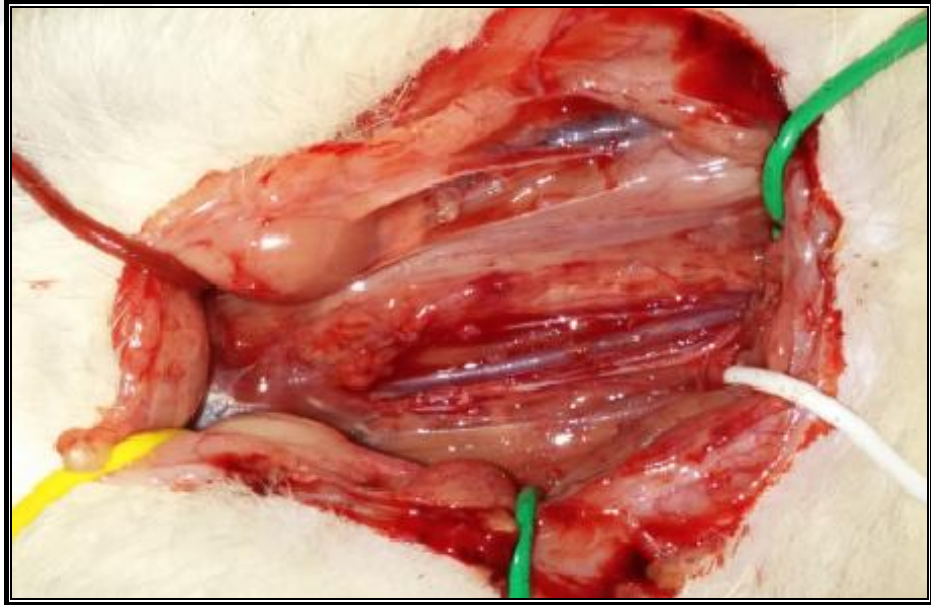
Resim 12. Ön yüzde 0 ve 180 derecelere tespit sutureleri

Bu iki tespit suturelerinden sonra lümen ikiye açılı kesilmiş 3 mm uzunluğunda 24 gauge silikon tüp yerleştirildi. Damarın bize bakan yüzünde 0 ve 180 derece sutureler arasına eşit aralıklarla üç adet daha suture konulduktan sonra arka yüze geçildi. Arka yüzde ilk suture 45 dereceye atıldı. Daha sonra 90 ve 135 derecelere bileşik iki adet suture geçildikten sonra ipleri kesilmeden silikon tüp milking yöntemiyle çıkarıldı. Bileşik suturenin ipleri kesilip ayrıldıktan sonra düğümleri ayrı ayrı atıldı ve toplam sekiz suture ile anastomoz tamamlandı (Resim 13).



Resim 13. Toplam sekiz suture ile tamamlanmış anastomoz

Son suturenden önce 24 numara kanül ile lümen içine girilip yıkama yapılarak, arka duvardan suture geçilip geçirmediği kontrol edildi. Ekartörler gevşetildikten sonra yaklaşımcı damar klempini açıldı (Resim 14, 15, 16). Nemli tampon ile hafif baskı uygulandı.



Resim 14. İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü



Resim 15. İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü (yakın görünüm)



Resim 16. İşlem sonrası damar açıklığı kontrolü (daha yakın görünüm)

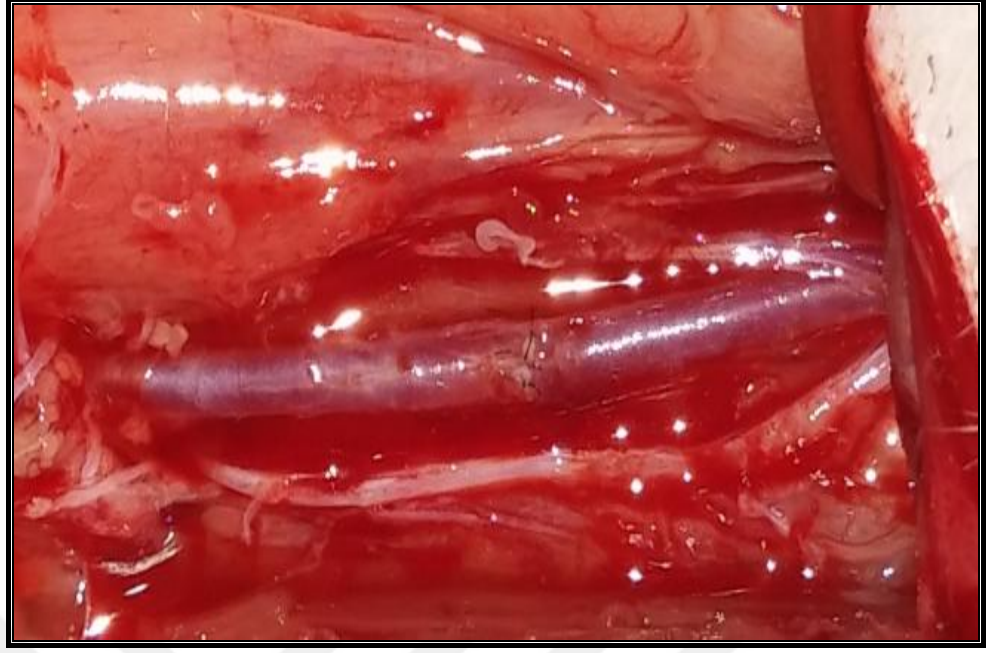
Grup 1d

Altı tane Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Deney günü ratlara anestezi olarak 80 mg/kg ketamin + 10 mg/kg ksilazin ile anestezi verildi. Anesteziden 45 dakika sonra ikinci doz olarak 40 mg/kg ketamin + 5 mg/kg ksilazin uygulandı. Enfeksiyondan korunmak için preoperatif olarak ratlara 50mg/kg dozunda sefazolin ile intramüsküler antibiyoterapi uygulandı. Cerrahi alan batikon solüsyon ile silindi. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve tüm grup ratlara horizontal sağ taraf boyun insizyonu yapılarak karotid arter eksplore edildi. Daha sonra karotid arter disseke edilerek proksimal ve distalinden mikro klempkle klemplendi. Aynı arter transekte edildi. Daha sonra 10/0 propilen sütur ile anastomoz yapıldı ve dokular anatomik planda kapatıldı (Resim 17).



Resim 17. Cerrahi alanın kapatılması

Grup 1 ratlara herhangi bir ilaç uygulanmadı. Yedinci gün sonunda cerrahi alan eksplore edilerek (Resim 18) anastomoz yapılan taraf (1d) ve karşı taraf karotid segmenti(1k) çıkarıldı ve histopatoloji laboratuvarına gönderildi.



Resim 18. Yedi günlük takipten sonra anastomoz

Grup 2d

Altı tane Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Grup 1 ile aynı protokol uygulandı. Farklı olarak ratlara yedi gün süre ile **pentoksifilin 100 mg/kg/gün** dozunda subkutan olarak verildi. Yedinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf (2d) ve karşı taraf karotid segmenti (2k) çıkarılarak histopatoloji laboratuvarına gönderildi.

Grup 3d

Altı tane Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Grup 1 ile aynı protokol uygulandı. Farklı olarak ratlara yedi gün süre ile **adenozin 1 mg/kg/gün** dozunda subkutan olarak verildi. Yedinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf (3d) ve karşı taraf karotid segmenti (3k) çıkarılarak histopatoloji laboratuvarına gönderildi.

Grup 4d

Altı tane Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanıldı. Grup 1 ile aynı protokol uygulandı. Farklı olarak ratlara yedi gün süre ile hem **pentoksifilin 100 mg/kg/gün** dozunda ve hem de **adenozin 1 mg/kg/gün** dozunda subkutan eş zamanlı olarak verildi. Yedinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf (4d) ve karşı taraf karotid segmenti (4k) çıkarılarak histopatoloji laboratuvarına gönderildi.

Grup 1k

Grup 1'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

Grup 2k

Grup 2'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

Grup 3k

Grup 3'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

Grup 4k

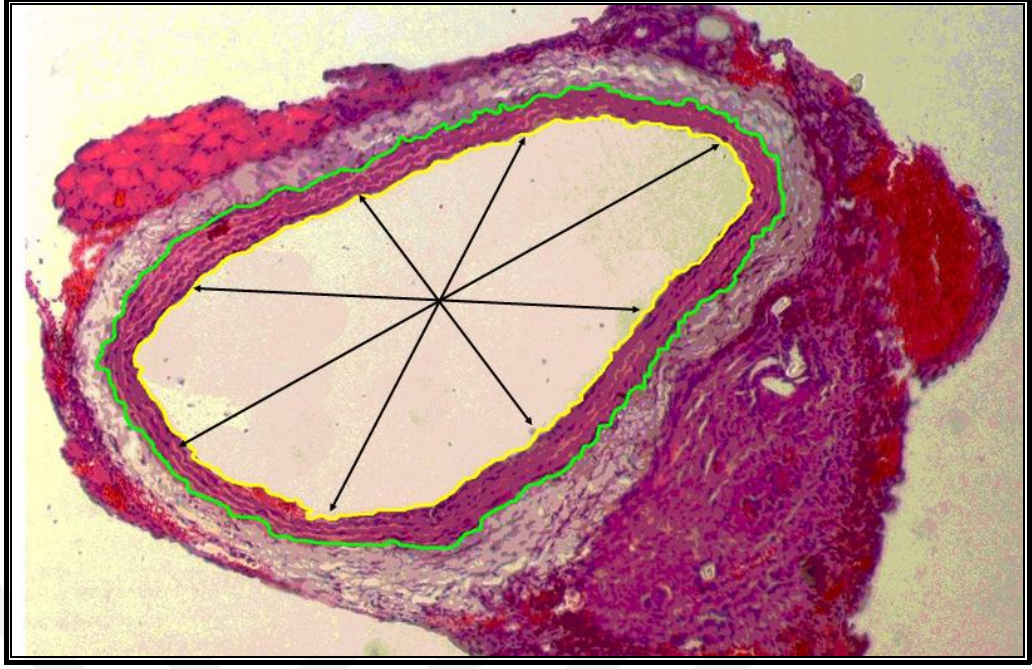
Grup 4'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

Tablo 3. Çalışma özeti (d: deney, k: kontrol)

Grup	Uygulama	Rat sayısı	Süre
Grup 1d	Anastomoz	6	7 gün
Grup 1k	Anastomoz yapılmayan sol karotid		
Grup 2d	Anastomoz + Pentoksifilin	6	7 gün
Grup 2k	Anastomoz yapılmayan sol karotid		
Grup 3d	Anastomoz + Adenozin	6	7 gün
Grup 3k	Anastomoz yapılmayan sol karotid		
Grup 4d	Anastomoz + Pentoksifilin + Adenozin	6	7 gün
Grup 4k	Anastomoz yapılmayan sol karotid		

3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için ratlardan elde edilen damar dokuları %10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip parafine gömüldükten sonra hazırlanan parafin bloklardan 5µ kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Hazırlanan preparatlar Nikon ECLİPSE TS100 (Netherlands) ışık mikroskopunda incelendi. Anastomoz yapılan ve karşı taraf sağlam damar dokusu kesitleri ışık mikroskopik düzeyinde karşılaştırmalı olarak incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler NIS D-400 digital görüntü analiz programı ile değerlendirildi. Çalışma sırasında damar dokusu incelenirken, lümen çapları, lümen alanları ve tunika medianın kalınlıkları gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki lümen çapı, lümen alanı, tunika media alanı, ödem, inflamasyon, damar duvar hasarı, intimal hiperplazi, medial atrofi, trombüs ve endotelizasyon arasındaki farklar değerlendirildi (Resim 19).



Resim 19. Lümen çapı, lümen alanı ve media alanının ölçülmesi

3.3. İstatistiksel Yöntem

Elde edilen sonuçlar, çoklu gruplarda veriler one-way ANOVA, posthoc-LSD ve Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi ile, ikili grupların verilerinin karşılaştırmaları ise Wilcoxon Eşleştirilmiş İki Örnek Testi ile değerlendirilerek istatistiksel anlamlılığı araştırıldı (SPSS 20.0).

4. BULGULAR

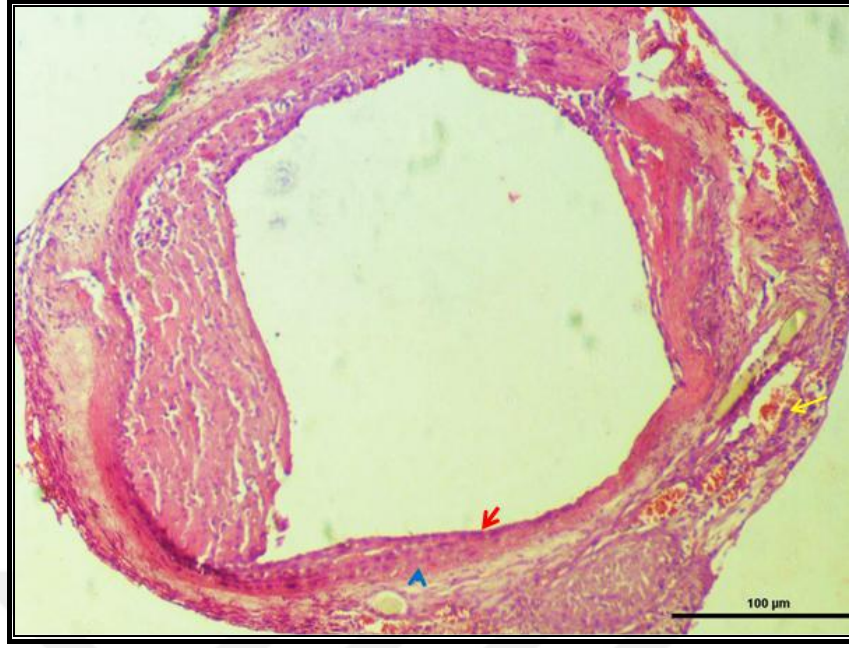
Çalışmamızda 24 adet Sprague Dawley tipi erkek veya dişi rat kullanılmıştır. Tüm denekler çalışma süresi boyunca yaşamışlardır. 7. gün sonunda hiçbir denekte yara yeri enfeksiyonu ve nörolojik problem gelişmemiştir. Çalışma süresi bitiminde tüm deneklerin anastomoz yapılan sağ taraf karotid arteri ve anastomoz yapılmayan sol taraf karotid arteri çıkarılarak incelenmek üzere histopatoloji laboratuvarına gönderildi. . Gruplar arasındaki lümen çapı, lümen alanı, tunika media alanı, ödem, inflamasyon, damar duvar hasarı, intimal hiperplazi, medial atrofi, trombüs ve endotelizasyon arasındaki farklar değerlendirildi (Resim 19).

4.1. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

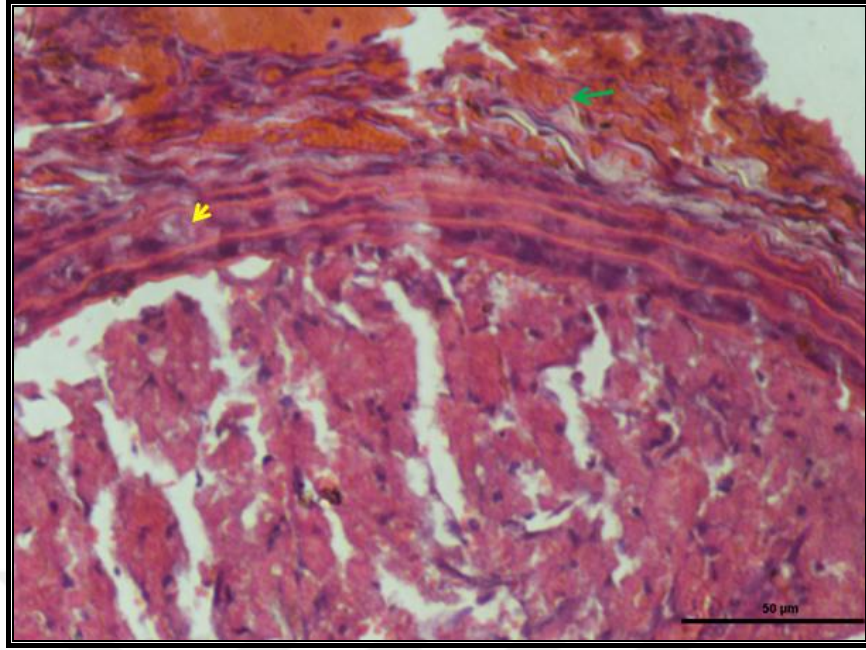
Grup 1 (Yalnız anastomoz, ilaç uygulaması yok):

Bu grupta çalışmaya alınan ratların anastomoz yapılan sağ karotid arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında damar lümeninde daralma, endotel hücrelerinde dejenerasyon ve nükleuslarda piknosis görüldü. İntima tabakası subendoteliyal bağ dokusundaki fibrotik dokunun lümene doğru yığıldığı, fibriler yapının bozulduğu ve hyalinizasyonun arttığı gözlemlendi. Damar lümenini tıkayan tromboz yapısının belirgin, media tabakasındaki düz kas hücrelerinin sirküler yapısında bozulmalar, hücre çekirdeklerinin hiperplazik durumda olduğu izlendi. Seri kesitlere bakıldığında lümenin oldukça girintili çıkıntılı ve düzgün olmadığı, çapının oldukça dar olduğu, yer yer yapışıklıkların bulunduğu görülmüştür.

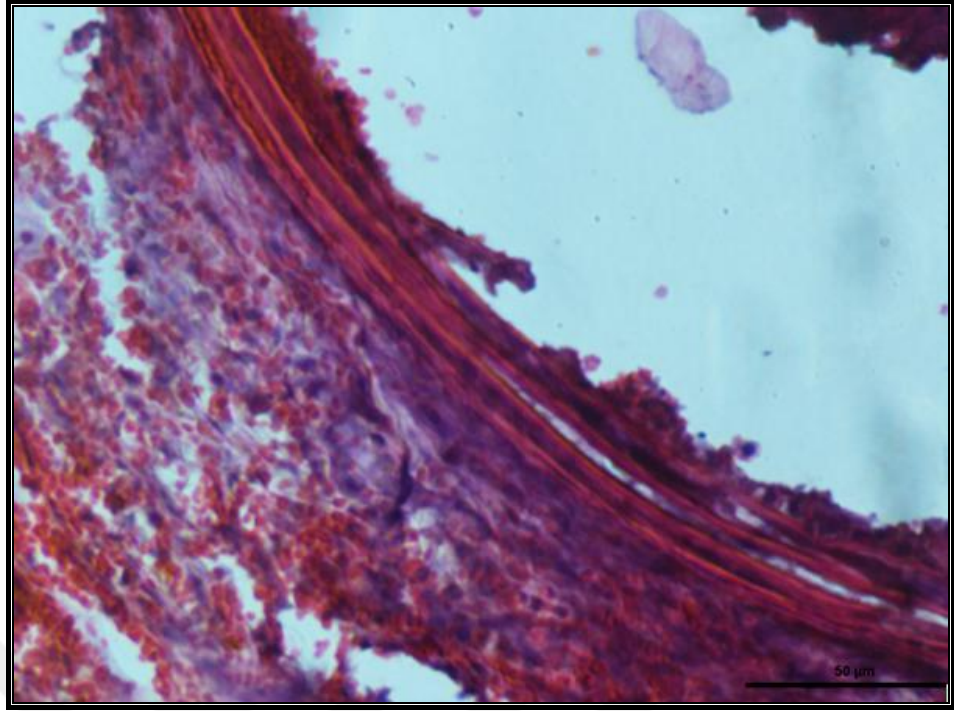
Media alanında deney süresinin sonunda ilaç verilmeyen grup 1’de, karşı taraf kontrol grubu ile kıyaslandığında minimal düzeyde bir artma saptanmakla birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca adventisyanın dışında damarı çevreleyen yoğun bir fibröz doku artışı da görülmüştür (Resim 20, 21, 22).



Resim 20. Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40). Damar lümeninin bir tarafında subentoteliyal tabakadaki fibrotik doku artışı ve tromboz belirgindi. Bu bölgede endotel hücrelerinde hasar ve dejenerasyon görüldü. Tunika media tabakasındaki kas hücrelerinde hiperplazi, adventisial alana doğru inflamatuvar hücrelerde artış ve damarlarda dilatasyon ve konjesyon (sarı ok) gözlemlendi. Trombüs bölgesinin karşı tarafındaki damar lümeninin endotel hücreleri yassı (kırmızı ok) ve subendotel tabakada bağdokusu hücre ve fibriler yapısının düzenli, intimal tabakanın belirgin olduğu gözlemlendi. Kas hücrelerinde hiperplazinin azaldığı çekirdeklerin ovalimsi (mavi ok) olduğu görüldü (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 100µm).



Resim 21. Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100). Damar lümeninde fibröz doku artışı ile birlikte yoğun tromboz artışı, endotel tabakasında hasar ile birlikte endotel hücrelerinde kayıp, elastik lamellerde bozulma, kas hücreleri arasındaki stromal alanda yer yer ödem gözlemlendi. Tunika adventisya ve çevre bağdoku alanlarında inflamatuvar hücre infiltrasyonundaki artış ile birlikte damarlarda yoğun hemoraji ve serbest halde dağılmış eritrositler (yeşil ok) gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 50µm).



Resim 22. Grup 1 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100). Damar endotel hücrelerinin lümene doğru çıkıntı yaptığı ve nükleusun oval görünümde olduğu belirgin olarak gözlendi. Subendoteliyal bağ doku hücreleri liflerinin lümenin bazı alanlarında küçük yığılmalar gösterdiği, tunika media tabakasındaki kas hücrelerinin fuziform şekilde olduğu görüldü. Anastomoz bölgesinden uzaklaştıkça intimal tabakanın, kas tabakası ve elastik liflerin daha belirginleştiği görüldü. Adventisyal tabakada yer alan küçük damarlarda hemoraji ve stromal alana diffüz olarak dağılmış eritrositler görüldü (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 50µm).

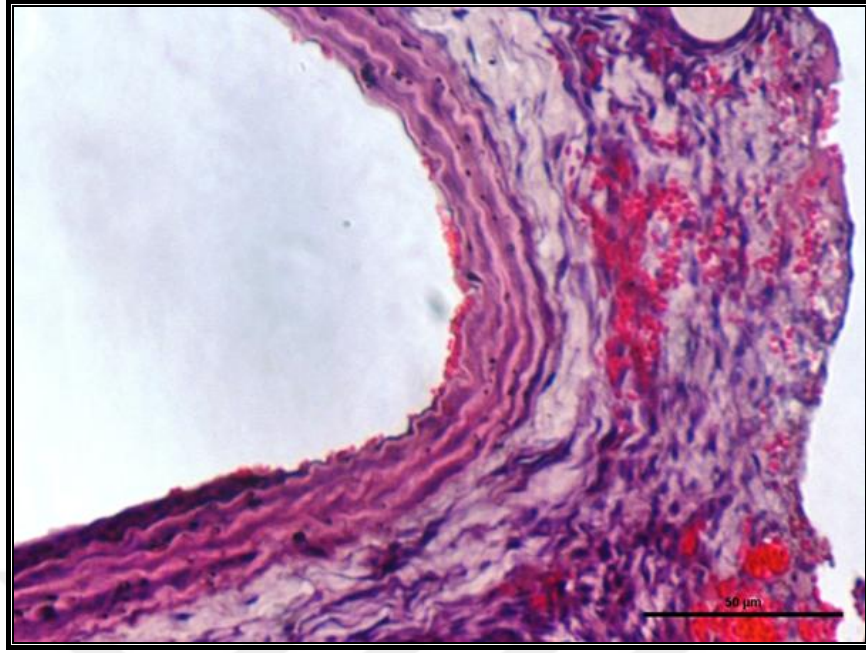
Grup 2 (Anastomoz + Pentoksifilin):

Bu grupta çalışmaya alınan ratların anastomoz yapılan sağ karotid arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede; damar lümeninin düzgün olduğu ama yine de kontrol grubuna göre ve grup 4'e göre çapının daha dar olduğu gözlendi. Ancak lümen çapı ve lümen alanı açısından grup 1 ve 3 ile aralarında belirgin fark olduğu görüldü. Ayrıca lümeninde yer yer rekanalize alanlar ve yapışıklıklar olduğu görüldü. Grup 1'e göre düz kas hücre proliferasyonu ve bağ dokusu artışı daha az göze çarpmıştır. Media tabakasında deney süresinin sonunda pentoksifilin verilen grup 2'de, kontrol grubu ile kıyaslandığında minimal düzeyde

bir artış saptanmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca adventisyanın dışında damarı çevreleyen fibröz doku artışı da görülmüştür (Resim 23, 24).



Resim 23. Grup 2 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40). Lümen genişliği düzenli, endotel hücreleri lümene doğru yönelmiş yassı çekirdeklerden oluşmuş, subendotelyal tabakadaki bağ doku hücre ve lifleri düzenli tertiplenmiş, tunika media tabakasında elastik lifler lamelli membranlar ile fenestrata yapısı oluşturmuş ve kaslar arasında dağılmıştır. Kas hücre nükleusları fuziform biçimde sirküler dizilim gösterirken, adventisyal tabakada gevşek bağ doku elemanları ve küçük vazo vazorumlar görüldü (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 100µm).

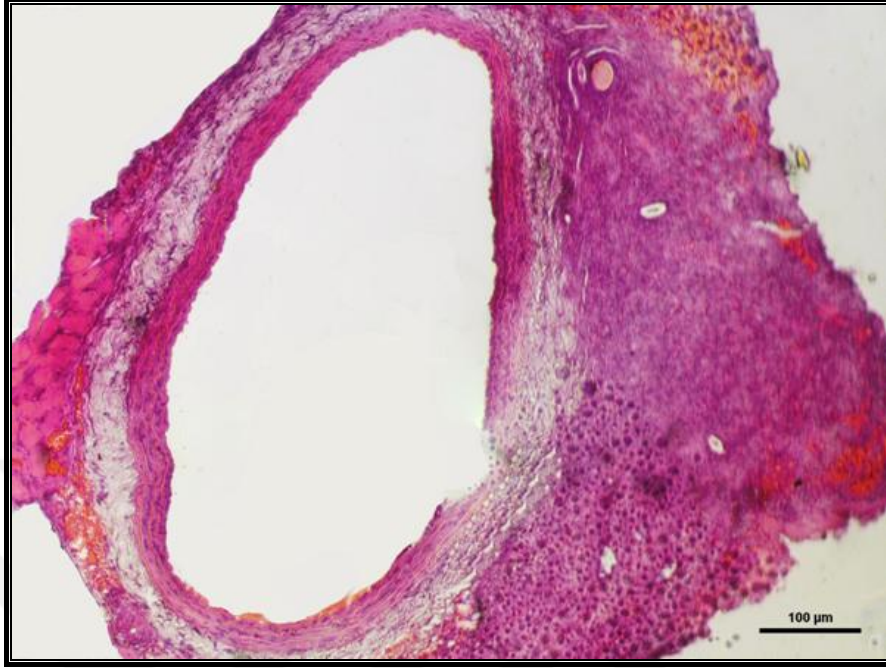


Resim 24. Grup 2 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 100). Damar lümeninde tromboz gözlenmez iken intimal tabakanın endotel hücreleri lümene doğru düzenli yerleşim gösterdiği, subendotel tabakada bazı bölümlerde hücre infiltrasyonları olduğu görüldü. Tunika media tabakasında düz kas hücre çekirdekleri oval ve santral yerleşimli, aralarında elastik lamellerin düzenli yerleşim gösterdiği gözlemlendi (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 50µm).

Grup 3 (Anastomoz + Adenozin):

Bu grupta çalışmaya alınan ratların anastomoz yapılan sağ karotid arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede, endotel hücreleri lümene paralel yassı dizilim gösterirken, subendotel alanda bağ doku elemanları düzenli olarak tertiplendiği gözlemlendi. İntimal tabakada endotel ve subendotel tabakada dejenerasyon, lümeninde tromboz, media tabakasının lamelli yapısında bozulma ile birlikte hücre çekirdeklerinde hiperplazi gözlemlendi. Tunika media tabakasındaki kaslar da hafif hiperplazik olarak izlendi. Lümen çapı ve alanının grup 1' e benzerlik gösterdiği, ancak grup 2 ve 4'e göre belirgin şekilde azalmış olduğu gözlemlendi. Media tabakasında, kontrol grubu ile kıyaslandığında minimal düzeyde bir artma saptanmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca

adventisyanın dışında damarı çevreleyen fibröz doku artışı dikkat çekmiştir (Resim 25).



Resim 25. Grup 3 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X 40). Endotel hücreleri lümene paralel yassı dizilim gösterirken subendotel alanda bağ doku elemanlarının düzenli olarak tertiplendiği gözlemlendi. Media tabakasındaki kaslar da hafif hiperplazik olarak izlendi (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 100µm).

Grup 4 (Anastomoz + Pentoksifilin + Adenozin):

Bu grupta çalışmaya alınan ratların anastomoz yapılan sağ karotid arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede; kontrol grubuna yakın görünümde intimal tabakada endotel ve bağ doku elemanları düzenli yerleşim gösterirken, tunika media tabakasında kas hücre dizilimi ve fenestra tipi elastik lameller düzenli tertiplenme gösterdi. Lümenin oldukça düzgün ve tromboz düzeyinde azalma olduğu, intimal hiperplazinin daha az olduğu görülmüştür. Lümen çapı ve lümen alanı olarak grup 4'ün diğer 3 gruptan daha geniş bir lümene sahip olduğu ve bu farkın da istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. Media tabakasında, kontrol grubu ile kıyaslandığında minimal düzeyde bir artma saptanmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunamıştır. Ayrıca

adventisyanın dışında damarı çevreleyen fibröz doku artışı çok az miktarda görülmüştür (Resim 26).



Resim 26. Grup 4 anastomoz bölgesi histolojik kesiti (X100). Kontrol grubuna yakın görünümde intimal tabakada endotel ve bağ doku elemanları düzenli yerleşim gösterirken, tunika media tabakasında kas hücre dizilimi ve fenestra tipi elastik lameller düzenli tertiplenme gösterdi (Hematoksilen-Eozin boyama, Bar 100m).

4.2. İstatistiksel İnceleme Sonuçları

Deney gruplarımızın lümen çapı, lümen alanı ve tunika media alan ölçümleri tablolarda gösterilmiştir (Tablo 3 ve 4).

Tablo 4. Ölçümler

Grup	Lümen çapı (μm)		Lümen alanı (μm^2)		Media alanı (μm^2)	
	d	k	d	k	d	k
1	352.62	496.82	97607.57	193761.63	70111.38	55675.09
1	381.65	485.16	114340.52	184773.47	86500.02	61391.84
1	362.04	502.79	102892.27	198442.31	62910.25	70162.16
1	382.66	463.58	114946.50	168701.53	61391.13	53940.63
1	375.61	498.80	110750.05	195309.13	60769.74	61482.33
1	384.83	476.54	116253.89	178265.93	34452.73	62581.56
2	394.57	513.18	122213.10	206732.66	89609.01	61870.21
2	429.21	504.54	144613.66	199830.07	60891.23	64531.78
2	411.51	492.65	132932.27	190522.65	54664.68	58339.81
2	408.09	479.18	130731.89	180246.57	50609.35	60227.86
2	415.34	480.46	135418.23	181210.81	73468.44	63195.32
2	413.97	463.41	134526.36	168577.82	61556.81	71845.66
3	366.50	475.68	105442.96	177623.09	76242.89	73117.26
3	370.81	520.12	107937.54	212361.97	70773.32	64156.09
3	397.49	460.28	124028.66	166308.27	54841.23	70209.55
3	376.49	491.15	111269.60	189364.23	60519.54	65502.77
3	384.53	476.87	116072.70	178512.92	72813.97	59043.18
3	394.86	482.34	122392.81	182631.71	65637.29	57539.11
4	451.72	501.18	160180.02	197177.39	80745.43	71344.18
4	458.33	472.56	164904.11	175300.66	48039.65	57832.99
4	492.22	461.98	190190.21	167539.03	76823.22	59350.67
4	478.28	480.15	179570.12	180977.05	57818.27	61990.23
4	498.19	482.63	194831.72	182851.39	62265.93	57011.83
4	478.26	491.44	179555.10	189587.91	53250.93	60401.22

4.2.1. Lümen çaplarının karşılaştırılması

Gruplar one-way ANOVA ve Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi ile incelenerek grupların homojen olduğu (Tablo 5), deney grubunda lümen

çapları bakımından anlamlı fark bulunduğu (sırasıyla $F=66,019$; $p=0,000$) görülmüştür (Tablo 6).

Tablo 5. Homojenite tablosu

Test of Homogeneity of Variances				
Gruplar	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Lümen Çapı deney	,820	3	20	,498
Lümen Çapı kontrol	,276	3	20	,842
Lümen Alanı deney	1,411	3	20	,269
Lümen Alanı kontrol	,304	3	20	,822
Medya Alanı deney	,388	3	20	,763
Medya Alanı kontrol	,207	3	20	,890

Tablo 6. Varyans analiz tablosu

ANOVA						
Gruplar		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lümen çapı deney	Between Groups	39166,906	3	13055,635	66,019	0,000
	Within Groups	3955,136	20	197,757		
Lümen çapı kontrol	Between Groups	184,249	3	61,416	0,212	0,887
	Within Groups	5799,707	20	289,985		
Lümen alanı deney	Between Groups	17614118318,168	3	5871372772,723	66,508	0,000
	Within Groups	1765615601,988	20	88280780,099		
Lümen alanı kontrol	Between Groups	108750719,981	3	36250239,994	0,213	0,886
	Within Groups	3401903576,413	20	170095178,821		
Medya alanı deney	Between Groups	64698227,015	3	21566075,672	0,119	0,948
	Within Groups	3621629198,452	20	181081459,923		
Medya alanı kontrol	Between Groups	63467480,990	3	21155826,997	0,709	0,558
	Within Groups	597052047,675	20	29852602,384		

Lümen çapı ve lümen alanları bakımından hangi grupların birbirinden farklı oldukları posthoc-LSD test ile gösterilmiştir. Buna göre gruplar arası ortalama lümen çapı karşılaştırılmasında (Tablo 7), grup 1d ve 3d'nin ortalama lümen çaplarının benzer olduğu, grup 2d ve 4d'nin ise birbirlerinden farklı ve diğer gruplara göre belirgin artmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,05$) (Tablo 8, Grafik 1, 2).

Grup 2d'nin grup 1d ve 3d'den daha büyük ($p=0,05$), grup 4d'den ($p=0,05$) daha küçük bir lümen sahip olduğu görüldü (Tablo 8, Grafik 1, 2).

Grup 3d'nin grup 1d'den daha geniş bir lümen sahip olduğu, ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığı görüldü ($p>0,05$) (Tablo 8, Grafik 1, 2).

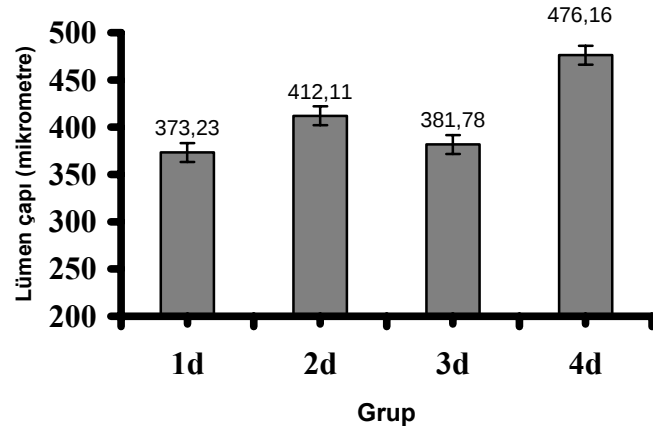
Grup 4d'nin diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı daha geniş bir lümen sahip olduğu ($p=0,05$) , grup 4k ile istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p=0,753$) görüldü (Tablo 8, Grafik 1, 2).

Tablo 7. Ortalama lümen çapları (d: deney, k: kontrol)

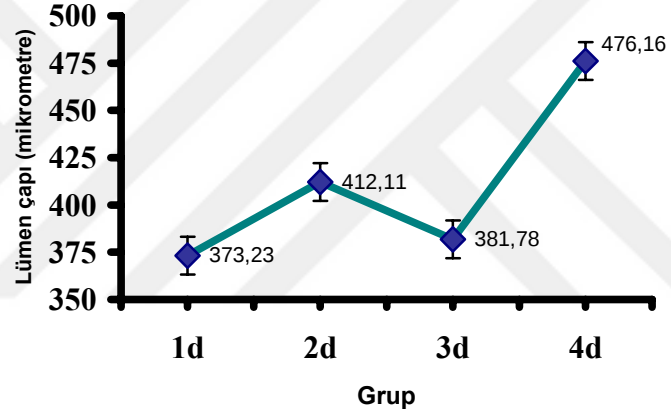
Grup	Lümen çapı (μm) $\pm$ SD	
	d	k
1	373,23 $\pm$ 13,03	487,28 $\pm$ 15,13
2	412,11 $\pm$ 11,22	488,90 $\pm$ 18,24
3	381,78 $\pm$ 12,70	484,40 $\pm$ 20,20
4	476,16 $\pm$ 18,26	481,65 $\pm$ 13,78

Tablo 8. Lümen çapı posthoc-LSD test sonuçları

Gruplar	Subset for alpha = 0.05		
	1	2	3
1d	373,23		
2d		412,11	
3d	381,78		
4d			476,16

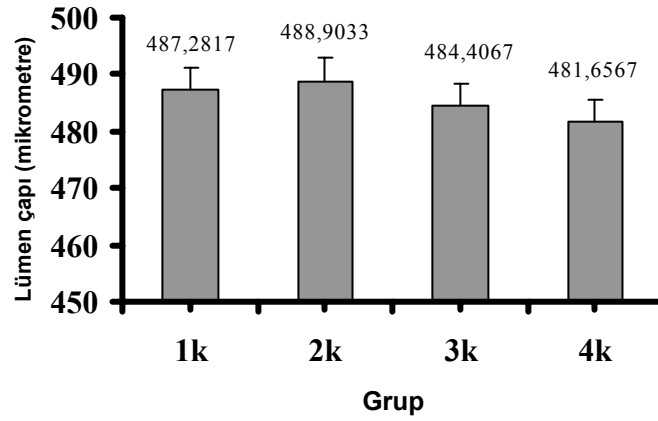


Grafik 1. Deney grupları ortalama lümen çapları



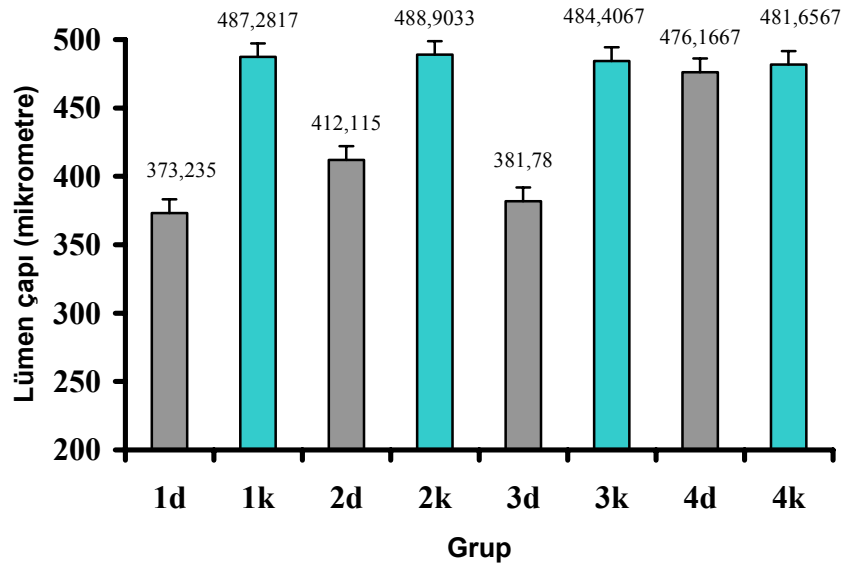
Grafik 2. Deney grupları ortalama lümen çapları

Kontrol grupları arasında lümen çapları bakımından istatistiksek olarak fark bulunmadı ($F=0,212$; $p=0,887$) (Grafik 3).



Grafik 3. Kontrol grupları ortalama lümen çapları

Ayrıca Wilcoxon Signed Ranks Test ile her grup kendi kontrol grubu ile karşılaştırılmış (Grafik 4) ; grup 1, 2 ve 3'te anastomoz yapılan damar çapının kontrol sol karotide göre belirgin derecede azalmış olduğu, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0,028$) görülmüştür. Grup 4' te ise yine kontrol grubuna göre çapta minimal bir azalma görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,753$).

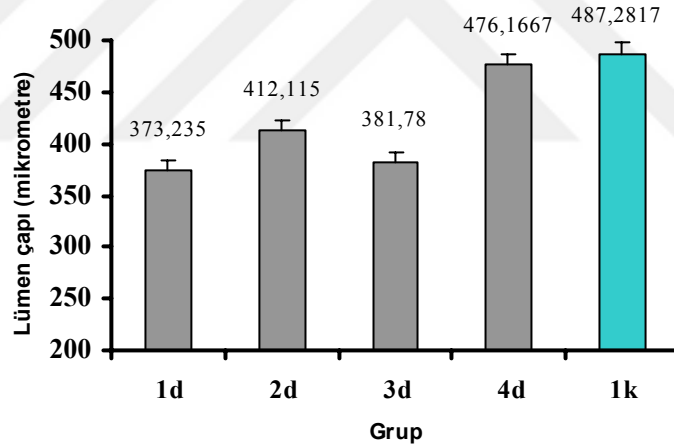


Grafik 4. Deney gruplarının kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması

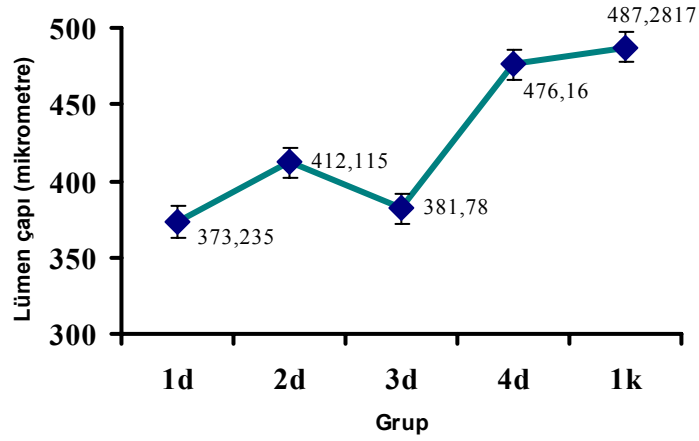
Yine her 4 grup lümen çaplarının anastomoz yapılmamış ve herhangi bir ilaç verilmemiş grup 1k ile olan karşılaştırılmasında (Grafik 5,6) gruplar arasında fark olduğu ($F=82,370$; $p=0,000$) ; grup 4d'nin grup 1k ile benzer olduğu ve aralarında istatistiksel bir fark bulunmadığı, diğer grupların ise grup 1k' den farklı olduğu ($p=0,05$) görüldü (Tablo 9).

Tablo 9. Lümen çapı posthoc-LSD test sonuçları

Gruplar	Subset for alpha = 0.05		
	1	2	3
1d	373,2350		
2d		412,1150	
3d	381,7800		
4d			476,1667
1k			487,2817



Grafik 5. Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması



Grafik 6. Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.2.2. Lümen alanlarının karşılaştırılması

Gruplar one-way ANOVA ve Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi ile incelenerek grupların homojen olduğu (Tablo 5), deney grubunda lümen alanları bakımından anlamlı fark bulunduğu ($F=66,508$; $p=0,000$) görülmüştür (Tablo 6).

Gruplar arası lümen alanı karşılaştırmasında (Tablo 10), grup 1d ve 3d'nin ortalama lümen alanlarının benzer olduğu, grup 2d ve 4d'nin ise birbirlerinden farklı ve diğer gruplara göre belirgin artmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,05$) (Tablo 10, 11 ; Grafik 7,8).

Grup 2d'nin grup 1d ve 3d'den daha büyük ($p=0,05$), grup 4d'den ($p=0,05$) daha küçük bir lümen alanına sahip olduğu görüldü. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,05$) (Tablo 10, 11 ; Grafik 7,8).

Grup 3d'nin grup 1d'den daha geniş bir lümen alanına sahip olduğu, ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığı görüldü ($p>0,05$) (Tablo 10, 11 ; Grafik 7,8).

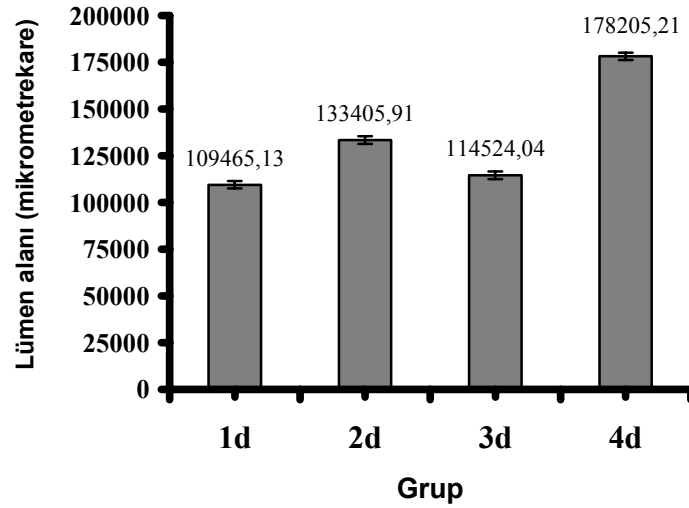
Grup 4d'nin diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı daha geniş bir lümen alanına sahip olduğu ($p=0,05$) , grup 4k ile istatistiksel olarak bir fark olmadığı ($p=0,753$) görüldü (Tablo 10, 11 ; Grafik 7,8).

Tablo 10. Ortalama lümen alanları (d: deney, k: kontrol)

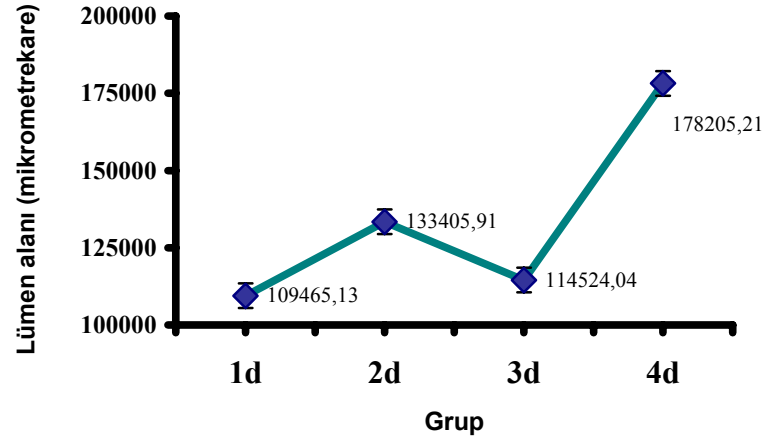
Grup	Lümen alanı (μm^2) $\pm$ SD	
	d	k
1	109465,13 $\pm$ 7554,56	186542,33 $\pm$ 11493,53
2	133405,91 $\pm$ 7260,47	187853,43 $\pm$ 14003,76
3	114524,04 $\pm$ 7630,11	184467,03 $\pm$ 15604,55
4	178205,21 $\pm$ 13605,82	182238,90 $\pm$ 10424,57

Tablo 11. Lümen alanı posthoc-LSD test sonuçları

Gruplar	Subset for alpha = 0.05		
	1	2	3
1d	109465,13		
2d		133405,91	
3d	114524,04		
4d			178205,21

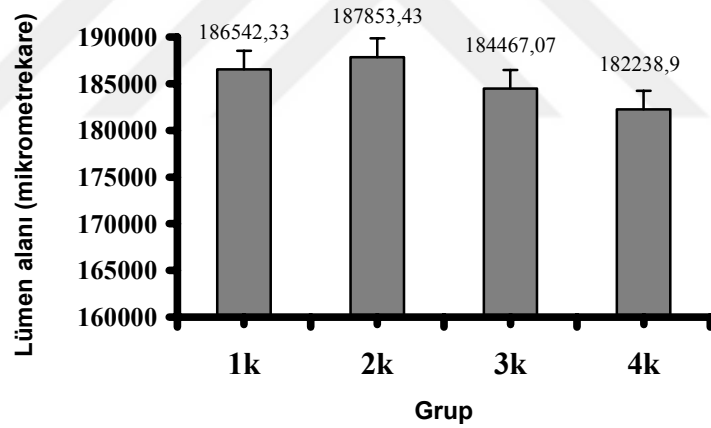


Grafik 7. Deney grupları ortalama lümen alanları



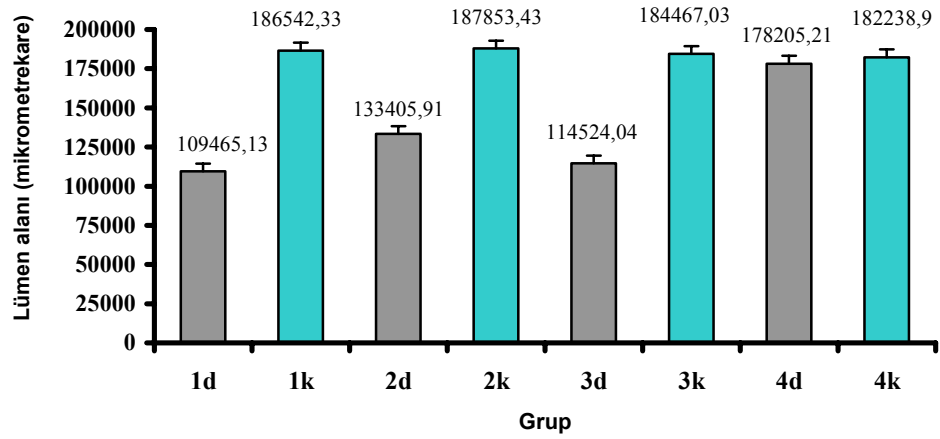
Grafik 8. Deney grupları ortalama lümen alanları

Kontrol grupları arasında lümen alanları bakımından istatistiksek olarak fark bulunmadı ($F=0,213$; $p=0,886$) (Grafik 9).



Grafik 9. Kontrol grupları ortalama lümen alanları

Ayrıca Wilcoxon Signed Ranks Test ile her grup kendi kontrol grubu ile karşılaştırılmış (Grafik 10) ; grup 1, 2 ve 3'te anastomoz yapılan damarın lümen alanın kontrol sol karotide göre belirgin derecede azalmış olduğu, bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p=0,028$) görülmüştür. Grup 4' te ise yine kontrol grubuna göre lümen alanında minimal bir azalma görülmekle birlikte, bu fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,753$).

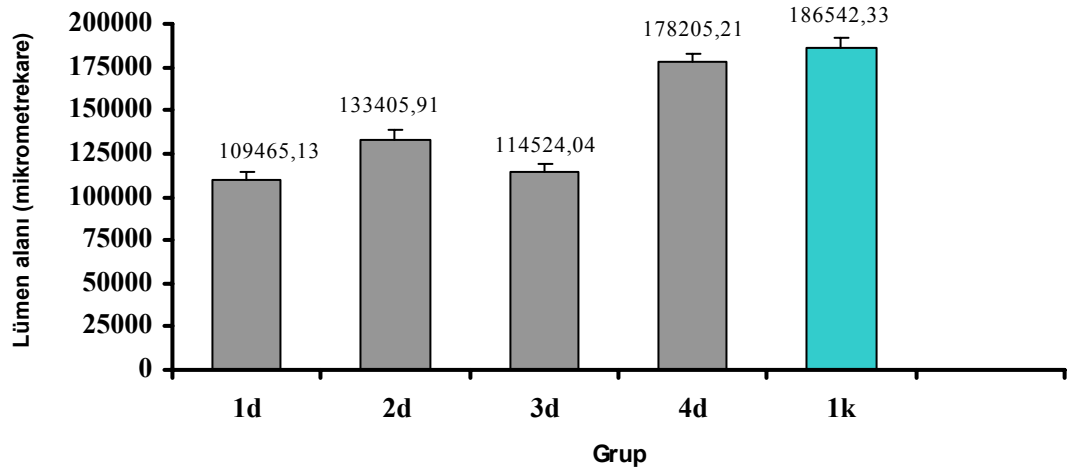


Grafik 10. Deney gruplarının kendi kontrol grupları ile karşılaştırılması

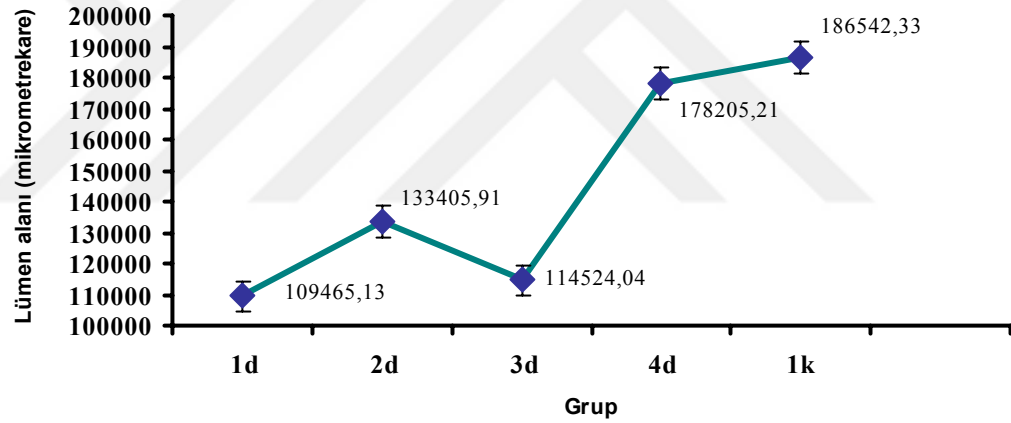
Yine her 4 grup lümen alanlarının anastomoz yapılmamış ve herhangi bir ilaç verilmemiş grup 1k ile olan karşılaştırılmasında (Grafik 11,12) gruplar arasında fark olduğu ($F=79,643$; $p=0,000$) ; grup 4d'nin grup 1k ile benzer olduğu ve aralarında istatistiksel bir fark bulunmadığı, diğer grupların ise grup 1k' den farklı olduğu ($p=0,05$) görüldü (Tablon12).

Tablo 12. Lümen alanı posthoc-LSD test sonuçları

Gruplar	Subset for alpha = 0.05		
	1	2	3
1d	109465,13		
2d		133405,91	
3d	114524,04		
4d			178205,21
1k			186542,33



Grafik 11. Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması



Grafik 12. Deney gruplarının 1k kontrol grubu ile karşılaştırılması

4.2.3. Media alanlarının karşılaştırılması

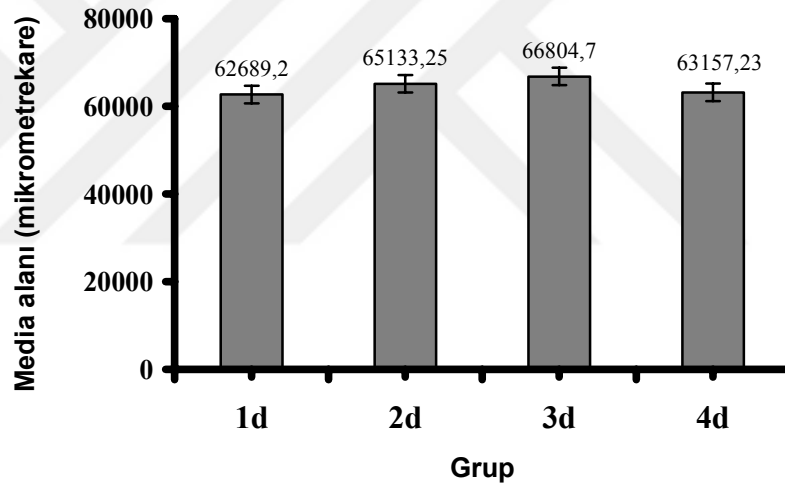
Gruplar one-way ANOVA ve Kruskal-Wallis sıralamalı tek yönlü varyans analizi ile incelenerek grupların homojen olduğu (Tablo 5), deney grubunda media alanları bakımından fark bulunmadığı ($F=0,119$; $p=0,948$) görülmüştür(Tablo 6).

Gruplar arası lümen alanı karşılaştırmasında (Tablo 13), her 4 grubun ortalama media alanlarının benzer olduğu, grup 2d ve 3d media alanlarında minimal bir artış

olmakla beraber bu farkın istatistiksel olarak anlamsız ($p>0,05$) olduğu saptanmıştır (Grafik 13).

Tablo 13. Ortalama media alanları (d: deney, k: kontrol)

Grup	Lümen alanı (μm^2) $\pm$ SD	
	d	k
1	62689,20 $\pm$ 16880,52	60872,26 $\pm$ 5743,24
2	65133,25 $\pm$ 14281,86	63335,16 $\pm$ 4704,05
3	66804,70 $\pm$ 8061,40	64927,99 $\pm$ 6084,59
4	63157,23 $\pm$ 13054,34	61321,85 $\pm$ 5222,55



Grafik 13. Deney grupları ortalama media alanları

Kontrol grupları arasında media alanları bakımından istatistiksek olarak fark bulunmadı ($F=0,709$; $p=0,558$).

Ayrıca Wilcoxon Signed Ranks Test ile her grup kendi kontrol grubu ile karşılaştırılmış bütün deney gruplarında kendi kendi kontrol gruplarına göre media alanlarında minimal bir artış olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,753$).

Yine her 4 grup media alanlarının anastomoz yapılmamış ve herhangi bir ilaç verilmemiş grup 1k ile olan karşılaştırılmasında gruplar arasında fark bulunmadığı ($F=0,208$; $p=0,932$) ; her bir deney grubunda media alanının kendi kontrol grubuna göre bir miktar artmış olduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($p>0,05$) görülmüştür.

4.2.4. Kontrol grupları

Yaptığımız çalışma sonucunda ilaç alan gruplar ile almayan grupların kontrol amaçlı olarak alınan sol taraf karotid arterleri incelendiğinde lümen çapı, lümen alanı ve media alanları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır (Grafik 3,9).

5. TARTIŞMA

Serebral iskemi ve enfarkt, günümüzde önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Genel olarak tüm dünyada ortalama yaşam süresinin artmış olması nedeniyle serebral enfarkt gelişen ve sonrasında yaşama devam eden hastalar, ülke ekonomilerine ağır yük getirmektedir. Bu nedenle iskemi varlığında, henüz enfarkt gelişmeden önce yapılacak revaskülarizasyon, morbiditenin derecesini olumlu etkileyebilmektedir.

Serebral vasküler anastomoz, serebrovasküler tıkalıcı hastalıklar, tümörler ve anevrizmaların tedavisinde kullanılan bir revaskülarizasyon yöntemidir. Bu amaçla sıklıkla süperfisiyal temporal arter (STA) ve oksipital arter (OA) gibi ekstrakranial arterler donör damar olarak kullanılmaktadır (1). Ayrıca Moyamoya Hastalığı tedavisinde de revaskülarizasyon teknikleri kullanılmaktadır. Bu hastalık, Willis poligonunu oluşturan ana serebral arterlerin genellikle iki taraflı ve nadiren tek taraflı ilerleyici darlığı veya tıkanması ve kompanzatuvar kollateral damarların gelişmesi ile kendini gösteren kronik serebrovasküler bir hastalıktır (2).

Beyinde de vücudun diğer bölgelerinde olduğu gibi, yapılan damar anastomozları ve bypass greftlerinin uzun dönem açıklığı, anastomoz yapılan bölgede intimal hiperplazinin gelişmesiyle azalmaktadır. Çünkü damarlara yapılan bütün cerrahi girişimler, damar duvarında hasara neden olur ve arterlerde yapılan onarımların başarısızlığındaki en önemli nedenlerden biri de intimal hiperplaziye bağlı olarak gelişen restenozdur. Vasküler girişimler sonrası gelişebilen restenoz üzerinde intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır (3). Sonuç olarak bu tarz girişimlerin başarısı spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır (4).

Hasar sonrası damarın media tabakasındaki düz kas hücrelerinin çoğalması ve intimaya göçü, intimada ekstrasellüler matriks proteinlerinin sentezi ve depolanması, anastomoza bağlı intimal hiperplazi oluşumundaki en önemli olaydır (77) .

Düz kas hücresinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimüle eder. Normal damarda NO ve Adenozin gibi büyüme inhibitörleri ile PDGF, FGF, IGF, TGF-beta, anjiyotensin 2 ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge halindedir. Bu dengenin NO ve Adenozin aleyhine bozulması, düz kas hücre proliferasyonunda

düzensizliğe neden olur. Düz kas hücrelerinin anormal büyümesinin, büyüme faktörleri üretiminde artma veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir (8).

Günümüze kadar intimal hiperplazinin ve düz kas hücre proliferasyonunun engellemesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu amaçla büyüme faktörü inhibitörleri, selektif A2a adenosin reseptör agonistleri, immünsüpresif ilaçlar, kalsiyum kanal blokerleri, statinler, aspirin, iloprost, heparinler, ACE inhibitörleri gibi çeşitli ilaçlar denenmiştir (78).

Pentoksifilin ksantin türevi (teofilin benzeri) fosfodiesteraz inhibitörü bir ilaçtır. Fosfodiesterazı inhibe ederek c-AMP düzeyini artırır. cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. Busk ve arkadaşlarının pentoksifilin vasküler travmaya cevabını değerlendirmek amacı ile yaptığı bir çalışmada tavşan iliak arterine balon anjioplasti uygulanmış ve oluşturulan vasküler travma sonrası pentoksifilin'in etkileri araştırılmıştır. Bir grup tavşana iliak balon anjioplastisinden 2 gün önce başlayıp girişimden sonra 28 gün boyunca subkutan serum fizyolojik verilmiş, bir gruba girişimden 2 gün önce başlayıp girişim sonrası 7 gün, diğer gruba da girişimden 2 gün önce başlayıp girişim sonrası 28 gün boyunca 100 mg/kg/gün pentoksifilin subkutan yol ile verilmiş olup tavşanlar 28 günün sonunda sakrifiye edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda 7 gün ve 28 gün pentoksifilin alan grubun lümen alanı plasebonun lümen alanına oranla daha geniş bulunmuştur. Plaseboya oranla pentoksifilin alan gruplarda, 28. günün sonunda pentoksifilin vasküler remodelling üzerine olumlu etkilerinin olduğu, kollajen birikimini azalttığı tespit edilmiştir (7).

Pentoksifilin hasarlanmış damar duvarında intimal hiperplaziyi engellemesi üzerine Hansen ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada, tavşan karotidine uygulanan balon anjioplasti sonrası intraperitoneal 75 mg/kg/gün pentoksifilin uygulanmış olup balon hasarından 14 gün sonra kontrol grubuna oranla intima kalınlığının daha az olduğu, ortalama lümen alanının da daha geniş olduğu tespit edilmiştir. Pentoksifilin grubunda damar düz kas hücresinde kollajen tip 1 üretiminde de azalma olduğu tespit edilmiştir (79).

Yung Ming Chen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada pentoksifilin, damar hasarı sonrası vasküler düz kas hücresinde PDGF'nin neden olduğu ve TGF-beta'nın

stimüle ettiği kollajen sentezini azalttığı ve bunun sonucunda da damar hasarından sonra pentoksifilin damar çapının kontrol grubuna oranla daha geniş olduğu tespit edilmiştir (9).

Adenozin, akut damar dilatasyonundan sorumlu NO sentezini ve adenilat siklazı aktive ederek cAMP seviyesini arttırır. cAMP ve NO artışına bağlı olarak damar düz kas hücre proliferasyonu inhibe olur (8,12, 35 ,59 , 80).

Adenozin A2 reseptörlerinin uyarılması sonucunda adenilat siklaz aktive olur. Adenilat siklazın aktive olması cAMP'yi arttırır ve cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. Bu etkisinden dolayı Takiguchi ve arkadaşları rat femoral arterinde fotokimyasal reaksiyonla hasar oluşturduktan sonra 3, 7 ve 28 günlük subkutan selektif adenozin A2a reseptör agonisti (YT-146e) tedavisinden sonra intima/media alanını ölçmüşlerdir. Çalışmada adenozinin 28. gün sonunda anlamlı olarak neointimal alandaki hiperplaziye azalttığı fakat 3, 7 ve 28 günlük tedaviler arasında fark olmadığı bulunmuştur. Adenozinin bu etkisini erken dönemde hücrelerin G1 fazından S fazına geçmeyi inhibe etmesine bağlamışlardır (12).

Pentoksifilin ve adenozinin bu etkilerinden dolayı biz de, yaptığımız bu çalışmada rat karotid arterinde anastomoz sonrası görülen restenoz, intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu, lümen çapı, lümen alanı ve media tabakası alanı üzerine inhibitör etkilerini araştırdık.

Balon anjioplasti sonrası damarda soyulmaya bağlı yalnız intima tabakasında hasar meydana gelmektedir. Anastomoz sonrası damarın intima, media ve intimal hiperplaziye olan katkısı genellikle göz ardı edilen adventisya tabakası dahil damarın tüm katları etkilenmektedir. Bizim alışma modelimizin, hem vasküler rekonstrüksiyon sonrası görülen intimal hiperplaziye benzerliği hem de anastomoz sonrası damarın tüm katlarının etkileniyor olmasından dolayı balon ile oluşturulan hasar modeline göre daha üstün olduğu kanısındayız.

Biz alışmamızda pentoksifilin ve adenozini anastomoz sonrası yedi gün boyunca subkutan olarak uyguladık. Çalışmamızın sonucunda gruplar arası ortalama lümen çapı ve lümen alanı karşılaştırılmasında, grup 1d ve 3d' nin ortalama lümen apıları ve lümen alanlarının benzer olduğu, grup 2d ve 4d' nin ise birbirlerinden

farklı ve diğer gruplara göre belirgin artmış olduğunu gördük. Bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık ($p=0,05$).

Grup 2d' nin grup 1d ve 3d'den daha büyük ($p=0,05$) ve grup 4d' den ($p=0,05$) daha küçük bir lümen çapına ve alanına sahip olduğunu gördük.

Grup 3d' nin grup 1d' den daha geniş bir çapa ve alana sahip olduğunu, ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunmadığını saptadık ($p>0,05$).

Grup 4d' nin diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı daha geniş bir lümen çapına ve alanına sahip olduğunu ($p=0,05$) ve grup 4k ile istatistiksel olarak bir fark olmadığını tespit ettik ($p=0,753$).

Ayrıca grup 1, 2 ve 3' te anastomoz yapılan damar çapı ve alanının, anastomoz yapılmayan sol karotide göre belirgin derecede azalmış olduğunu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük ($p=0,028$). Grup 4' te ise yine kontrol grubuna göre çapta ve alanda minimal bir azalma görülmekle birlikte bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğunu saptadık ($p=0,753$).

Yine her 4 grup lümen çaplarının anastomoz yapılmamış ve herhangi bir ilaç verilmemiş grup 1k ile olan karşılaştırılmasında gruplar arasında fark olduğunu ($F=82,370$; $p=0,000$) ; grup 4d' nin grup 1k ile benzer olduğunu ve aralarında istatistiksel bir fark bulunmadığını, diğer grupların ise grup 1k' den farklı olduğunu tespit ettik ($p=0,05$).

Pentoksifilin ve adenozinin birlikte uygulandığı grup olan grup 4' te lümen çapı ve alanının, diğer deney grupları ile istatistiksel olarak farklı, kendi kontrol grubu olan grup 4k ve hiç ilaç verilmemiş ve girişim de yapılmamış grup olan grup 1k' den istatistiksel olarak farksız, hemen hemen normal damar lümen çapı ve alanına yakın olduğunu saptadık. Her iki ilacın lümen çapı ve alanı üzerine ayrı ayrı etkileri olmakla birlikte beraber kullanıldıklarında görülen etki, her iki ilacın etkilerinin toplamından fazla olmuştur. Yani aditif ($1+1=2$) değil, sinerjistik ($1+1>2$) bir etki oluşturduklarını saptadık.

Çalışmamızın sonucunda gruplar arası media alanı karşılaştırılmasında, her 4 grubun ortalama media alanlarının benzer olduğunu, grup 2d ve 3d media alanlarında minimal bir artış olmakla beraber bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğunu saptadık ($p>0,05$).

Ayrıca her grubu kendi kontrol grubu ile karşılaştırdık ve bütün deney gruplarında kendi kontrol gruplarına göre media alanlarında minimal bir artış olmakla birlikte bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gördük ($p=0,753$).

Yine her 4 grup media alanlarının anastomoz yapılmamış ve herhangi bir ilaç da verilmemiş grup 1k ile olan karşılaştırılmasında gruplar arasında fark bulunmadığını ($F=0,208$; $p=0,932$), her bir deney grubunda media alanının kendi kontrol grubuna göre bir miktar artmış olduğunu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğunu gördük ($p>0,05$).

Çalışmamızın sonunda pentoksifilin ve adenozinin birlikte kullanılmasının intimal hiperplaziyi de anlamlı olarak azalttığını saptadık. Selektif A2a adenozin reseptörü agonisti kullanılarak yapılan çalışmadaki 3, 7 ve 28 günlük tedavi sonuçlarının eşit çıkması belki de fotokimyasal olarak oluşturulan damar hasarının anastomoz yapılarına göre daha az intimal hasar oluşturmasıyla açıklanabilir. Bizim yaptığımız anastomoz çalışması balonla hasara göre daha major bir işlemdir. Balonla hasar yerine anastomoz tekniği kullanılarak yapıldığı için intimal zedelenmenin daha fazla olduğu düşüncesindeyiz. Çünkü balon ile hasarda sadece intimal zedelenme olduğu halde; anastomoz yapılanlarda intima, media ve hatta intimal hiperplazinin etiyolojinde üzerinde fazla durulmayan bir konu olan adventisyanın bile zedelenmesinin katkısı olduğunu düşünmekteyiz.

Her iki ilacın birlikte kullanılmasının daha etkin sonuçlar doğurması, pentoksifilin fosfodiesterazı inhibe ederek, adenozinin de A2a reseptörü aracılığı adenilat siklazı stimüle ederek hücre içi c-AMP düzeyini arttırmaları ve etkilerini bu yol ile göstermelerine bağlanmıştır.

Adenozin A2a reseptörlerinin uyarılmasının arteriyel endotel hücrelerinden NO salınımını arttırdığı gösterilmiştir (80). NO artışına bağlı olarak düz kas hücre proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks sentezi ve depolanması azalır. Mattsson ve arkadaşlarının babunlar üzerinde yaptığı bir çalışmada kan akımı artışına bağlı olarak PTFE (politetrafloroetilen) greftlerde intimal kalınlaşmanın azaldığını görmüşler. Bunu da kan akımı artmasına bağlı olarak NO'nin artması ve NO' in de düz kas hücre proliferasyonu ve matriks azalmasına neden olarak intimal hiperplaziyi azaltmasına bağlamışlar (81). Yaptığımız çalışma sonucunda intimal hiperplazinin anlamlı olarak azalmasının nedenlerinden birinin de NO artışı olduğunu düşünmekteyiz.

Bütün bu sebeplerden dolayı, vasküler girişimlerden sonra kullanılan pentoksifilin ve adenozin maddelerinin, restenoz, neointima oluşumu ve düz kas hücre proliferasyonu üzerine ayrı ayrı inhibitör etkileri bulunmasına rağmen, bu iki ilacın birlikte kullanılmasının daha etkili olacağı kanaatindeyiz.



6. SONUÇLAR

Pentoksifilin ve adenozinin, vasküler girişimlerden sonra meydana gelen restenoz, intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesinde yararlı birer ajan olarak birlikte kullanılması aditif değil sinerjistik bir etki oluşturarak daha yararlı olabilmektedir.



7. KAYNAKÇA

- 1- Egemen N, Deda H, Başkaya MK, Aydın V. Saphenous Vein Bypass Graft For Cerebral Revascularization. *Türk Noroşirürji Dergisi* 1992; 3 : 219-223.
- 2- Bıkmaz K, Coşar M, Başocak K, Bek S. The use of multiple burr-hole operation for cerebral revascularization in a seven-year-old child with moyamoya disease. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 2004; 14(1): 59-63.
- 3- Clowes A. Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. Rutherford RB, ed. *Vascular Surgery* 1995; 285-93.
- 4- Pauleto P, Sartore S, Pessina AC. Smooth muscle proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis. *Clin Sci.* 1994; 87: 467–479.
- 5- Gartner L, Hiatt James L. Circulatory system. *Color Textbook of Histology* 2001; second edition: 251-270.
- 6- Donohoe S. Myointimal thickening in experimental vein grafts is dependent on wall tension. *J Vasc Surg* 1992; 15(1): 176-186.
- 7- Busk M, Mertz H, Espersen GT, Rasmussen K, Maeng M. Effects of pentoxifylline on the vascular response to injury after angioplasty in rabbit iliac arteries. *Basic Res Cardiol.* 2008 May; 103(3): 257-64.
- 8- Raghvendra K. Dubey, Delbert G. Gillespie, Zalchuan Ml, Edwin K Jackson. Adenosine Inhibits Growth of Human Aortic Smooth Muscle Cells Via A2B Receptors. *Hypertension.* 1998 Jan; 31(1 Pt 2): 516-21.
- 9- Chen YM et al. Pentoxifylline inhibits PDGF-induced proliferation of and TGFbeta stimulated collagen synthesis by vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31(4): 773-83.
- 10- Fredholm BB, Arslan G, Kull B, Wasserman W, Schulte G. Structure and function of adenosine receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2000; 276(3): H1113.
- 11- Lynge J, Hellsten Y. Distribution of adenosine A1, A2a and A2b receptors in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2000; 169(4): 283–290.
- 12- Takiguchi. Y, Nagano. M, Ikeda. Y, Nakashima. M. Early administration of YT-146, an adenosine A2 receptor agonist, inhibits neointimal thickening after rat femoral artery endothelium injury. *Eur J Pharm* 1995; 205–207.
- 13- Haimovici H. *Vascular Surgery, Principles and Techniques.* in: Haimovici H. Ed. ,Blackwell Science Inc. Cambridge 1996.

-
- 14- Hartrampf CR, Schefflan M, Black PW. Breast reconstruction with a transverse abdominal island flap. *Plast Reconstr Surg* 1982 Feb; 69(2): 216-25.
- 15- O'Brien CJ, Wilson EA, Velkou D, Harris JP, May J. Experimental microvascular polytetrafluoroethylene grafts: 6-month patency. *Plast Reconstr Surg* 1985 Nov; 76(5): 748-53.
- 16- Yasargil G. Anastomosis between the superficial temporal artery and a branch of the middle cerebral artery. In: Yasargil G (ed) *Microsurgery applied to neurosurgery*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969; 105–115.
- 17- Donaghy RMP, Yasargil MG, eds. *Microvascular Surgery: Report of the First Micro-ANGEIONAL Conference*. 1966 October 6–7; 1st ed. St. Louis, MO: CV Mosby; 1967.
- 18- Baudet J, Guimberteau JC, Nascimento E. Successful clinical transfer of two free thoraco-dorsal axillary flaps. *Plast Reconstr Surg*, 1976 Dec; 58(6): 680-8.
- 19- Chang DS. Radial artery fascial flap. Presented at: Annual Meeting of the American Society of Plastic Reconstructive Surgery 1982 October; Honolulu, HI.
- 20- Dos Santos LF. The vascular anatomy and dissection of the free scapular flap. *Plast Reconstr Surg* 1984 Apr; 73(4.): 599-604.
- 21- Harii K, Ohmori K, Torii S. Free gracilis muscle transplantation, with microneurovascular anastomoses for the treatment of facial paralysis: A preliminary report. *Plast Reconstr Surg* 1976 Feb; 57(2): 133-43.
- 22- Taylor GI, Miller GD, Ham FJ. The free vascularized bone graft: A clinical extension of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg* 1975 May; 55(5): 533-44.
- 23- Aydın İH. A new technique for a better exposure of the posterior wall of the end-to-side microvascular anastomosis technical note. *Zentralbl Neurochir* 1988; 49(4): 324-5.
- 24- Santoni-Rugiu P, Sykes PJ. *A history of plastic surgery*, Berlin, Springer 2007.
- 25- Lauritzen C. A new and easier way to anastomose microvessels. An experimental study in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1978; 12 4-291.
- 26- Paker Ş. Dolaşım sistemi, In; Paker Ş. *Histoloji*, Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi 1990; 516–525.
- 27- Ross MH. Circulatuar system In; Ross MH. *Histology A Text and Atlas*. Third edition. Williams & Wilkins Maryland 1995; 302–314.

-
- 28- Cones ML. Connective Tissue and stains. In; Bancroft J.D, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques. Fifth edition. Churchill Livingstone Toronto 2002; 125–163.
- 29- Verrier E, Morgan E. Endothelial response to cardiopulmonary bypass surgery. *Ann Thorac Surg* 1998; 66: 17–9.
- 30- Torun E, Bayram F. Endokrin bir organ olarak endotel ve endotelinin hipertansiyondaki rolü. *Erciyes Medikal Journal* 2004; 26(3): 126–131.
- 31- Michiels C. Endothelial cell functions. *J Cell Physiol* 2003; 196(3): 430-43.
- 32- Shirk RA, Church FC, Wagner WD. Arterial smooth muscle cell heparan sulfate proteoglycans accelerate thrombin inhibition by heparin cofactor II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16(9): 1138-46.
- 33- Zoghi M, Nalbantgil İ. Hipertansiyon ve endotel fonksiyon bozukluğu. *Ana Kar Der* 2002; 2: 142–7.
- 34- Zubilewicz T, Wronski J, Bourriez A, Terlecki P. Injury in vascular surgery-the intimal hyperplastic response. *Med Sci Monit.* 2001; 7(2): 316–3.
- 35- Peyot ML, Gadeau AP, Dandre F, Belloc I et al. Extracellular adenosine induces apoptosis of human arterial smooth muscle cells via A2b-purinoceptor. *Circ Res* 2000; 86: 76–85.
- 36- Takahashi A, Taniguchi T, Ishikawa Y, Yokoyama M. Tranilast inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia by induction of p21waf1/cip1/sdi1 and p53, *Circ Res* 1999; 84: 543–550.
- 37- Fogelstrand P, Risberg B, Mattsson E. External collar inhibits balloon-induced intimal hyperplasia in rabbits. *J Vasc Res* 2002; 39: 361–367.
- 38- Motwani J, Topol E. Aortocoronary saphenous vein graft disease. *Circulation.* 1998; 97: 916–931.
- 39- Nikkari ST, Jarvelainem HT, Wight TN. Smooth muscle cell expression of extracellular matrix genes after arterial injury. *Am J Pathol* 1994; 144: 1348–56.
- 40- Lidman D, Daniel R K. The normal healing of microvascular anastomosis. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1981; 15: 103.
- 41- Esclamado RM, Carroll WR. The pathogenesis of vascular thrombosis and its impact in microvascular surgery. *Head Neck* 1999 Jul; 21(4): 355–62.

-
- 42- Zou Y, Dietrich H, Hu Y, Metzler B. Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1998;153: 1301–1310.
- 43- Kronen G, Ferder M, Hunzicker K, Strauch B. The use of pentoxifylline in microvascular surgery. *J Reconstr Microsurg* 1994; 10: 17–20.
- 44- Samlaska CP, Winfield EA. Pentoxifylline. *J Am Acad Dermatol* 1994; 30(4): 603-21.
- 45- Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs* 1987; 34(1): 50-97.
- 46- Kayaalp, O. *Tıbbi Farmakoloji* 1992; Cilt 2(Feryal Matbaacılık, Ankara): 1200-1201.
- 47- Hinze H, Grigoleit HG, Rethy, B. Bioavailability and pharmacokinetics of pentoxifylline from Trental 400 in man *Pharmatherapeutica* 1976; 1: 160-171.
- 48- WindmeierC, Gressner AM. Pharmacological aspects of pentoxifylline with emphasis on its inhibitory actions on hepatic fibrogenesis. *GenPharmac* 1997; 29: 181-196.
- 49- Endres S, Fulle HJ, Sinha B, Stoll D, Dinarello CA, Gerzer R et al. Cyclic nucleotides differentially regulate the synthesis of tumour necrosis factor- α and interleukin-1 by human mononuclear cells. *Immunology* 1991; 72: 56-60.
- 50- Mandell GL. Cytokines, phagocytes and pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 Suppl 2: 20-2.
- 51- Bienvenu J et al. Production of proinflammatory cytokines and cytokines involved in the TH1/TH2 balance is modulated by pentoxifylline. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 Suppl 2: 80-4.
- 52- Strieter R, Remick DG, Ward PA, Spengler RN, Lynch JP, Larrick J, Kunkel SL. Cellular and molecular regulation of tumor necrosis factor- α production by pentoxifylline 1988; 155(*Biochem Biophys Res Commun*): 1230-1236.
- 53- Ely H. Pentoxifylline therapy in dermatology: A review of localized hyperviscosity and its effects on the skin 1988; 6(*Dermatol Clin*):585-608.
- 54- Sulkowski S, Ejsmont-Pietrow G, Musiatowicz B et al. Role of pentoxifylline in prevention and treatment of adult respiratory distress syndrome. *Pneumonol Alergol Pols* 1993; 61: 574-8.
- 55- Ehrly AM. Improvement of the flow properties of blood: a new therapeutical approach in occlusive arterial disease. *Angiology* 1976; 27(3): 188-96.

-
- 56- Thiel M, Bardenheuer HJ. Drug therapy of sepsis. An indication for pentoxifylline? *Anaesthesist* 1994; 43(4): 249-56.
- 57- Eugene-Jolchine I, Milpied N. Prevention studies with pentoxifylline: new clinical projects. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995; 25 Suppl 2: 143-6.
- 58- Martin B, Henrik M et al. Effects of pentoxifylline on the vascular response to injury after angioplasty in rabbit iliac arteries. *Basic Res Cardiol* 2008; 103: 257–264.
- 59- Dubey. R, Gillespie. D, Mi. Z, Suzuki. F et al. Smooth muscle cell-derived adenosine inhibits cell growth. *Hypertension*, 1996; 27: 766–773
- 60- Dixon AK, Gubitz AK, Dalip JS, Richardson PJ, Freeman TC. Tissue distribution of adenosine receptor mRNA's in the rat. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 1461–1468.
- 61- Fredholm BB, Abbracchio MP, Burnstock G, Daly JW, Harden TK. Nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacol Rev* 1994; 46: 143–156.
- 62- Munshi R, Pang IH, Sternweis PC, Uden J. A1 adenosine receptors of bovine brain couple to guanine nucleotide-binding protein Gi1, Gi2 and Go-. *J Biol Chem* 1991; 266: 22285–22289.
- 63- Marala RB, Mustafa SJ. Immunological characterization of adenosine A2a receptors in human and porcine cardiovascular tissue. *J Pharm Exp Ther* 1998; 286: 1051–1057.
- 64- Parsons M, Young L, Lee JE, Jacobson KA, Liang BT. Distinct cardioprotective effects of adenosine mediated by differential coupling of receptor subtypes to phospholipases C and D. *FASEB J* 2000; 14: 1423-1431.
- 65- Palmer TM, Gettys TW, Stiles GL. Differential interaction with and regulation of multiple G-proteins by the rat A3 adenosine receptor. *J Biol Chem* 1995; 270: 16895–16902.
- 66- Liang BT. Direct preconditioning of cardiac ventricular myocytes via adenosine A1 receptor and KATP channel. *Am J Physiol* 1996; 271: H1769-H1777.
- 67- Ambrosio AF, Malva JO, Carvalho AP, Carvalho CM. Inhibition of N-, P/Q- and other types of Ca²⁺ channels in rat hippocampal nerve terminals by the adenosine A1 receptor. *Eur J Pharmacol* 1997; 340: 301- 310.
- 68- Stefanovic V, Vlahovic P, Savic V, Ardaillou N, Ardaillou R. Adenosine stimulates 50-nucleotidase activity in rat mesangial cells via A2 receptors. *FEBS Lett* 1993; 331: 96–100.

-
- 69- Li SN, Wong PT. The adenosine receptor agonist, APNEA, increases Ca^{++} influx into rat cortical synaptosomes through N-type channels associated with A2a receptors. *Neurochem Res* 2000; 25: 457–459.
- 70- Abbracchio MP, Brambilla R, Ceruti S, Kim HO et al. G protein-dependent activation of phospholipase C by adenosine A3 receptors in rat brain. *Mol Pharmacol* 1995; 48:1 038–1045.
- 71- Zhao Z, Francis CE, Ravid K. An A3-subtype adenosine receptor is highly expressed in rat vascular smooth muscle cells: its role in attenuating adenosine-induced increase in cAMP. *Microvasc Res* 1997; 54: 243-252.
- 72- Dohrman DP, Diamond I, Gordon AS. The role of the neuromodulator adenosine in alcohol's actions. *Alcohol Health&Research World* 1997; 21(2): 136–143.
- 73- Olsson RA, Pearson JD. Cardiovascular purinoceptors. *Physiol Rev* 1990; 70: 761–845.
- 74- Li J-M, Fenton RA, Wheeler HB, Powell CC et al. Adenosine A2a receptors increase arterial endothelial cell nitric oxide. *J Surg Res* 1998; 80(2): 357–364,
- 75- Hernandez J, Ribeiro JA. Excitatory actions of adenosine on ventricular automaticity. *TIPS* 1996; 17: 141–144.
- 76- Sollevi A, Lagerkranser M, Irestedt L. Controlled hypotension with adenosine in cerebral aneurysm surgery. *Anesthesiology* 1984; 61: 400- 405.
- 77- Stone DH, Sivamurthy N, Contreras MA, Fitzgerald L. Altered ubiquitin/proteasome expression in anastomotic intimal hyperplasia. *J Vasc Surg* 2001; 34: 1016-22.
- 78- Doğan N. İntimal hiperplazi nedenleri, önleme ve tedavi yöntemleri, In; Duran E, editörs. *Kalp ve damar cerrahisi*, I.baskı, İstanbul, Çapa tıp kitapevi 2004; 639-647.
- 79- Hansen PR et al. Pentoxifylline inhibits neointimal formation and stimulates constrictive vascular remodeling after arterial injury. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 34(5): 683-9.
- 80- Li J, Fenton RA, Wheeler HB, Powell CC. Adenosine A2a receptors increase arterial endothelial cell nitric oxide. *J Surg Res* 1998; 80(2): 357–64.
- 81- Mattsson E, Kohler T, Vergel S, Clowes A. Increased blood flow induces regression of intimal hyperplasia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 1997; 17: 2245–2249.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı Uzmanlık Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşğıdaki jüri tarafından
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : .../.../20...

BAŞKAN
imza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Dicle Üniversitesi

ÜYE
imza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
imza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
imza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi

ÜYE
imza
Ünvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi