

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KALP VE DAMAR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI

**TAVŞAN KAROTİD ARTERLERİNDE YAPILAN
ANASTOMOZLARDA N-ASETİLSİSTEİN'İN
İNTİMAL HİPERPLAZİ VE ENDOTELYAL
PROLİFERASYON ÜZERİNDEKİ İNHİBİTÖR
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. YUSUF KUSERLİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

PROF. DR. ŞEVKET BARAN UĞURLU

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve kişilikleriyle bana yol gösteren ve katkıda bulunan hocalarıma; başta tez danışmanım Prof. Dr. Ş. Baran Uğurlu başta olmak üzere Prof. Dr. Öztekin Oto, Prof. Dr. Eyüp Hazan, Prof. Dr. O. Nejat Sariosmanoğlu, Prof. Dr. H. Hüdai Çatalyürek, Doç. Dr. Erdem E. Silistreli Doç. Dr. D. Özalp Karabay, Doç. Dr. A. Cenk Erdal'a, ayrıca bana geçen emeğini yadsıyamayacağım emekli öğretim üyemiz Prof. Dr. Ünal Açıkel'e,

Tezimin başından sonuna dek özverili çalışmalarını, yardımlarını ve arkadaşlığını esirgemeyen Doç. Dr. Bekir Uğur Ergür'e, istatistiklerin yorumlanmasında katkıda bulunan Dr. Serap Cilaker Mıcılı'ya,

Bu zorlu yolda yürürken, dostluğu ve ağabeyliğiyle yanımda olup bana yol gösteren Uzm. Dr. Ali Aycan Kavala ve Murat Akduman'a,

Eskişehir'den bu yana tanıdığım, dönüm noktalarımnda hep yanımda olan ve yine tezimin yazımında da büyük katkıları olan Uzm. Dr. Emrah Şişli'ye,

Tanıdığım günden bu yana değerlerini her geçen gün daha çok anladığım, arkadaşlığı, dostluğu ve neşeleriyle bana hep destek olan Dr. Ali Kıvanç Kırıl, Gülseren Kırıl, Dr. Melih ve Fatma Bal'a,

Asistanlık günlerimin zorluğunu, çilesini ve güzelliğini birlikte yaşadığım, omuz omuza durduğum, birlikte güldüğüm, bilgi, görgü ve tecrübeleriyle bana çok şey katan, birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım asistan arkadaşlarıma,

Emek, destek ve hoşgörülerıyla bana katkısı olan poliklinikte, serviste, ameliyathanede ve yoğun bakımda birlikte çalıştığım tüm hemşire ve personel arkadaşlarıma,

Son olarak, var olmamı ve bugünlere gelip 'ben' olmamı sağlayan her zaman hayatımın en ön sırasında gördüğüm aileme; Annem ve Babam'a, ağabeylerim Mehmet ve Ali'ye, kardeşlerim Onur ve Samet'e, yengem Firdevs ve beni hep mutluluğa sevk eden, ilham kaynağım yeğenim Halil Deniz'e,

Teşekkürü borç bilir, saygı ve sevgilerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Önsöz	i
İçindekiler	ii
Tablo Dizini	iii
Grafik Dizini	iv
Şekil Dizini	v
Kısaltmalar	vi
Özet	1
Abstract	4
1 GENEL BİLGİLER	7
1.1 Arter Tipleri ve Histolojisi	7
1.1.1 Elastik (Büyük Boy - İletici) Arterler	7
1.1.2 Musküler (Orta Boy- Dağıtıcı) Tip Arterler	8
1.1.3 Küçük Çaplı Arterler ve Arterioller	9
1.2 Vasküler Endotel	11
1.2.1 Endotelyum Hücre Fonksiyonları	13
1.2.2 Endotel Hücre Hasarına Damar Yanıtı	14
1.2.3 Balon Hasarına Arteriyel Cevap	16
1.2.4 Arteriyel Akıma Ven Duvarı Adaptasyonu	17
1.2.5 Sentetik Greftlerde İntimal Hiperplazi	18
1.2.6 İntimal Hiperplazi Etiyolojisi	18
1.3 N-Asetilsistein	24
2 MATERYAL VE METOD	26
2.1 Çalışma Planı	26
2.2 Deney Protokolü	30
2.3 Histomorfolojik Değerlendirme	31
2.4 İstatistiksel Yöntem	32
3 BULGULAR	33
3.1 Lümen Çaplarının Karşılaştırılması	37
3.2 Lümen Alanlarının Karşılaştırılması	38
3.3 İntima Alanlarının Karşılaştırılması	39
3.4 Media Alanlarının Karşılaştırılması	40
3.5 İntima-Media Alan Oranlarının Karşılaştırılması	41
4 TARTIŞMA	42
5 KAYNAKLAR	48

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Endotel hücre fonksiyonları	14
Tablo 2. İntimal hiperplazi'yi etkinleştiren faktörler	19
Tablo 3. Nitrik oksit'in artışı ile gelişen olaylar	22
Tablo 4. İntimal hiperplazi'yi önlemede farmakolojik yaklaşımın	23
etkilediği temel mekanizmalar	
Tablo 5. Çalışma gruplarının sınıanan değişkenler açısından ortanca $\pm$	33
standart sapma ve minimum-maksimum değerleri	

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. Grupların lümen çapı açısından karşılaştırılması	37
Grafik 2. Grupların lümen alanı açısından karşılaştırılması	38
Grafik 3. Grupların intima alanı açısından karşılaştırılması	39
Grafik 4. Grupların media alanı açısından karşılaştırılması.....	40
Grafik 5. Grupların intima-media alan ortancaları açısından karşılaştırılması	41

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Damarın genel histolojik yapısı	10
Şekil 2. Damar endotelyum hücre iskeleti	13
Şekil 3. N-Asetilsistein'in moleküler yapısı	24
Şekil 4. Preoperatif intravenöz damar yolu açılması.....	27
Şekil 5. Sağ vertikal boyun insizyonu ile karotid arterin eksplorasyonu	27
Şekil 6. Karotid arterin klempajı ve transeksiyonu	28
Şekil 7. Transekte edilen karotid arterin uç-uca anastomozu	28
Şekil 8. İşlemin sonlandırılması ve katların anatomik olarak kapatılması	29
Şekil 9. Lümen çapı ve alanının ölçülmesi	31
Şekil 10. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotis arter	34
kesitlerinin histolojik görüntüsü	
Şekil 11. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotid arter	35
kesitlerinin histolojik görüntüsü	
Şekil 12. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotis arter	36
kesitlerinin histolojik görüntüsü	

KISALTMALAR

IH: İntimal Hiperplazi

ADP: Adenozin Monofosfat

NAC: N-Asetilsistein

PAS: Periodic Acid Schiff

vWF: von Willebrand Factor

bFGF: basic Fibroblast Growth Factor

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

NO: Nitrik Oksit

FGF: Fibroblast Growth Factor

TGF: Transforming Growth Factor

PTFE: Politetrafloretillen

MMP: Matrix Metalloproteinaz

AV: Arteriovenöz

tPA: Doku plazminojen aktivatörü

IGF: İnsülin like Growth Factor

IF: İnterferon

cGMP: Cyclic Guanozin Monofosfat

EDRF: Endotelium Derived Relaxing Factor

TxA2: Tromboxan A2

GSH: Glutasyon

IV: İntravenöz

IM: İntramusküler

HE: Hematoksilen-Eozin

SS: Standart Sapma

IA: İntima Alanı

MA: Media Alanı

IMO: İntima Media alan Oranı

LA: Lümen Alanı

LÇ: Lümen Çapı

PTCA: Perkutan Transluminal Koroner Anjioplasti

VEGF: Vascular Endotelial Growth Factor

eNOS: endoteliyal Nitrik Oksit Sentaz

iNOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

ACE: Angiotensin Converting Enzyme

ÖZET

Giriş

Rekonstrüktif vasküler girişimlerden sonra ani tıkanmaya yol açan akut trombüs oluşumundan farklı olarak, geç dönemdeki daralma ve tekrar eden tıkanıklıklarda düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu ile birlikte ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır. Hayvan ve insanlarda yapılan arteriyel hasar modellerinde lümen daralmasının temel nedeni intima tabakasındaki düz kas hücre proliferasyonu ve konnektif doku birikiminin olduğu gösterilmiştir.

N-Asetilsistein, sahip olduğu nükleofilik serbest tiyol (-SH) grubu aracılığıyla, oksidan radikallerin elektrofilik grubuyla etkileşime girerek direkt antioksidan özellik göstermektedir. N-Asetilsistein, glutatyon sentezini tetiklemekte, glutatyon ise ekzojen veya endojen sitotoksik maddelerin ve oksidan radikallerin hücreye zarar vermesini önleyen, hücre bütünlüğünün ve işlevlerinin devamı için çok önemli bir endosellüler mekanizmada temel rolü olan, yüksek reaktivlikte bir tripeptittir. N-Asetilsistein, sülfidril grupları için kaynak teşkil etmektedir. Sülfidril gruplarının ise, serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi ile birlikte Nitrik Oksit'in yarılanma ömrünün düzenlenmesini sağlaması gibi birçok biyolojik fonksiyonu vardır. N-Asetilsistein aynı zamanda nitrogliserin aracılı koroner arter vazodilatasyonunu ve trombosit agregasyonunu önlemeye yönelik etkisini potansiyelize etmektedir. N-Asetilsisteinin vasküler düz kas hücrelerinin hücre döngüsünü ve proliferasyonunu regüle ettiği gösterilmiştir. Nükleer Faktör Kappa-Beta aktivasyonu yoluyla endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinin spesifik adezyon moleküllerinin upregulasyonu hasar sonrası vasküler hücre aktivasyonunu destekler. Yapılan güncel çalışmalar N-Asetilsisteinin endotel ve düz kas hücresinde NF-kB aktivitesinin önemli bir regülatörü olduğunu göstermiştir. N-Asetilsistein düz kas hücrelerinin hücre siklus progresyon ve proliferasyonunu düzenler ve endotel hücrelerinde antitrombotik ve antiplatelet aktivasyonunu potansiyelize eder. Tüm bu etkileri nedeniyle, N-Asetilsistein'in tavşan karotid arterlerinde yapılan anastomozlarda intimal hiperplazi ve endotelyal proliferasyon üzerine inhibitör etkisini araştırmayı amaçladık.

Materyal – Metod

Randomize olarak seçilen 14 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Anestezi olarak 50 mg/kg intramuskuler Ketamin ve 5 mg/kg intramuskuler Ksilazin kullanıldı. Anastomoz için sağ taraf, kontrol için ise sol taraf karotid arteri kullanıldı. Tüm grup tavşanlara sağ vertikal boyun insizyonu yapılarak karotid arter eksplore edildi. 100 IU/kg dozda IV Heparin uygulandı. Karotid arter proksimal ve distalinden bulldog klemple klemlendikten sonra transekte edildi ve 8/0 polipropilen suture ile tek tek dikilerek anastomoz tamamlandı. Grup 1'deki tavşanlar kontrol grubunu oluşturdu. Grup 2'deki deneklere operasyondan hemen sonra ilk doz IV sonraki tüm dozlar IM olmak üzere toplam 21 gün 150 mg/kg/gün N-Asetilsistein uygulandı. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter segmenti çıkarılarak incelenmek üzere histoloji laboratuvarına gönderildi. Mikroskopik örnekler parafin bloklar halinde 5 µm kalınlığında kesildi ve Hematoxylen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular

Grup 1 ile Grup 2'nin lümen alanının karşılaştırılmasında Grup 2'de anlamlı olarak daha fazla [$z=-3,13$, $p=0,002$], kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında ise anlamlı fark olmadığı saptandı [$z=-0,57$, $p=0,56$]. Grup 1 ile Grup 2'nin intima alanının karşılaştırılmasında, Grup 2'de anlamlı olarak daha az olduğu [$z=-2,49$, $p=0,013$], kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında ise anlamlı fark olmadığı saptandı [$z=-0,96$, $p=0,34$]. Grup 1 ile Grup 2'nin intima-media alan oranının karşılaştırılmasında ise Grup 2'de anlamlı olarak daha düşük olduğu [$z=-2,236$, $p=0,025$] saptanmıştır.

Tartışma

İntimal hiperplazi, tüm arteriyel girişimlerin %15-30'unu etkilemekle birlikte, hasara karşı oluşan bu cevabın kontrolüne yönelik geliştirilen yaklaşımlar, klinik olarak büyük öneme sahiptir. Bugüne kadar ister anastomoz sonrası ister PTCA veya stent sonrası olsun intimal hiperplazinin ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır.

Çalışmamızda, N-Asetilsistein verilen anastomoz gruplarında lümen alanı, intima alanı ve intima/media alan oranında anlamlı bir düzelme sağlanmıştır. N-Asetilsisteinin bu etkiyi

direkt antioksidan etkisi, glutatyon sentezini indüklemesi, Nitrik oksitin yarılanma ömrünü düzenlemesi, kemoatraktanların aktivitesini düzenleme yeteneği, NF-kB aktivitesinin regulasyonu, vasküler düz kas hücrelerinin çoğalma ve migrasyonunu regüle etme özelliği sayesinde yarattığını düşünmekteyiz. Bu doğrultuda vasküler girişimler ve anastomoz sonrası N-Asetilsistein kullanımının intimal hiperplaziyi azaltarak ve vasküler remodellingi sağlayarak damarın açık kalma süresini arttıracakı düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: N-Asetilsistein, intimal hiperplazi, düz kas hücre proliferasyonu, anastomoz, tavşan.

ABSTRACT

Introduction

Other than occurrence of acute thrombosis leading to sudden occlusion after reconstructive vascular procedures, neointimal hyperplasia, which is accounted for the recurrence of occlusion at late period and which is the result of proliferation and migration of smooth muscle cells together with accumulation of extracellular matrix, plays an important role. It was shown in arterial injury models of animal and human studies that the principal reason for luminal narrowing was smooth muscle cell proliferation and connective tissue accumulation in the intimal layer.

N-Acetylcysteine, shows a direct antioxidant characteristic with its free thiol (-SH) group through an interaction with the electrophilic groups of oxidant radicals. It triggers the synthesis of glutathione. As for glutathione, which is a high reactive tripeptide, while it protects cells from the harmful effects of endogenous or exogenous cytotoxic substances and oxidant radicals, it also has an important role in endocellular mechanisms for the continuity of the structure and the functionality of cells. N-Acetylcysteine constitutes as a resource for sulphhydryl groups. The sulphhydryl groups has many biologic functions, such as clearance of free oxygen radicals and regulation of the half life of nitric oxide. N-Acetylcysteine also potentialize the vasodilatory effects of nitroglycerine on coronary arteries and inhibitory effects of it to the aggregation of thrombocytes. It was shown that N-Acetylcysteine regulates the cell cycle and proliferation of smooth muscle cells. Through the activation of nuclear factor Kappa-Beta (NF- κ B), the upregulation of specific adhesion molecules on endothelium and smooth muscle cells support the activation of vascular cells after injury. Recently performed studies of N-Acetylcysteine showed that it has been an important regulator of the activity of NF- κ B in endothelium and smooth muscle cells. N-Acetylcysteine regulates the progression and proliferation of smooth muscle cells and potentializes the antithrombotic and antiplatelet activation in endothelial cells. Due to the all abovementioned effects of N-Acetylcysteine, we aimed to investigate the inhibitory effects of N-Acetylcysteine on intimal hyperplasia and endothelial proliferation in the anastomosis models of rabbit carotid arteries.

Material and Method

In this study, randomly selected fourteen New Zealand type male rabbits were used. As for anesthesia, 50 mg/kg intramuscular ketamine and 5 mg/kg intramuscular Ksilazine were used. Right common carotid artery for anastomosis and left common carotid artery for control was used. Common carotid artery was explored with vertical neck incision in all rabbits. 100 IU/kg intravenous heparin were used. After the proximal and distal carotid arterial segments were clamped, it was transected and anastomosed end-to-end with 8/0 polipropylene sutures. Group 1 pertained the control group. First dose of N-Acetylcysteine was given intravenously initially after the surgical procedure, and the remaining doses intramuscularly with total of 150 mg/kg/day. At the end of twentyeighth day, carotid artery segments of both sides (anastomosis side and opposing control side) were removed and transferred to the histology laboratory. Specimens were cut as paraffine blocks of 5 µm and painted with Hematoxyline-Eosine in order to be evaluated under microscope.

Results

The comparison of luminal area in group 1 and 2 revealed that, the luminal area was significantly higher in group 2 [$z=3,13$, $p=0,002$]. This comparison between contralateral control groups (Group 1K and 2K) was not significantly different [$z=-0,57$, $p=0,56$]. While the intimal area was significantly lower in group 2 [$z=-2,49$, $p=0,013$], no significant difference was found on the comparison of control groups [$z=0,96$, $p=0,34$]. The comparison of the ratio of intimal to medial area showed that it was significantly lower in group 2 [$z=-2,236$, $p=0,025$].

Conclusion

Intimal hyperplasia has an influence on 15-30% of all arterial revascularizations. Improvements in management strategies in order to control the healing process to injury have a great clinical importance. Until today, either after anastomosis or after PTCA or stenting, many articles have been published regarding the inhibition of intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation.

In our study, significant improvements in parameters of luminal area, intimal area and ratio of intimal-to-media were achieved in groups which were given N-Acetylcysteine. This favorable

influence of N-Acetylcesteine was thought to be achieved with the direct antioxydant effect, induction of synthesis of glutation, regulation of the half life of nitric oxide, regulation of the activities of chemoattractants and regulation of the proliferation and migration of smooth muscle cells. With this manner, in our opinion, the usage of N-Acetylcysteine after surgical and interventional revascularizations lessen the load of intimal hyperplasia, improve the remodelling process and finally increase the patency period of revascularizations procedures.

Key words: N-Acetylcysteine, intimal hyperplasia, smooth muscle cell proliferation, anastomosis, rabbit.

1 GENEL BİLGİLER

1.1 ARTER TİPLERİ ve HİSTOLOJİSİ:

Vücudumuzun damar yapısını; arterler, arterioller, kapillerler ve venler olarak inceleyebiliriz. Arterler, organlarımızı kanlandıran yüksek basınçlı damarlardır. Arterioller, kapiller ağı direkt olarak besleyen ve kan akımının kontrolünü elinde tutan küçük çaplı damarlardır. Kapillerler, ince duvarlı damarlar olup; kan ve dokular arasındaki besin maddelerinin değişimi görevini üstlenirler.

1.1.1 Elastik (Büyük Boy-İletici) Arterler

Çapları en büyük olan bu arterlerde elastik doku çoğunlukta olup aorta, pulmoner arter gibi 7 mm üzerinde olan arterleri ve büyük dallarını kapsar. Elastinden dolayı taze yapılarda sarı renkte izlenirler. Çaplarına göre duvarları incedir. Arterlerde en gelişmiş tabaka tunika mediadır. Kanın kalpten uzaklaştırılmasını ve kalp atımı sonucu basınç dalgalanmalarını yumuşatır. Sistolde elastik lamina gerilir ve basınç değişimini azaltır. Diastolde, elastik sıkışma arteriyel basıncı düzenler. Kalpten uzaklaştıkça arter basıncı akım hızı, basınç değişkenlikleri azalır.

Tunika İntima: Tek katlı yassı hücrelerden oluşan endotelyum ile bunun altında açık renkli ince bir subendotelial tabakadan oluşmuştur. Söz konusu tabaka, longitudinal yönde ince elastik ağlardan zengindir. Bunların arasında az miktarda kollajen lifler, fibrositler ve düz kas hücreleri yer alırlar. Endotel hücreleri 10-15 µm genişliğinde 25-50 µm uzunluğundadır. Hücreler birbirlerine sıkı bağlantılarla ve gap-junctionlarla bağlanır ve bariyer oluşturur. Bol pinositotik vezikülleri vardır. Endotel hücrelerinde 0,1 µm çapında ve 3 µm 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. Subendotelial tabaka kalındır. Ritmik kasılma ve gevşemelere yardımcı olan lifler uzunlamasına dizilirler. Düz kas hücreleri de bu tabakada yer alır. Hem kasılır hem de ekstraselüler ara madde ve fibrilleri sentezler. Tunica Media'ya yaklaştıkça elastik lif miktarı artar. Media sınırında yoğunlaşan elastik lifler membrana elastica interna'yı oluşturur, ancak mediaya benzediğinden ayırt etmek zordur.

Tunika Media: En geniş tabakayı oluşturur. Esas yapı, yaşla birlikte sayısı artan konsantrik yerleşimli 40-70 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 tarzında bir görünüş verirler. Bu elastik liflerin sayıları kalbe yaklaştıkça artar. Tunika media'nın dış sınırında membrana elastica eksterna görülmez. Elastik liflerin aralarını kollajen lifler, bağ dokusu elemanları doldurur. Elastik membranlar arasında düz kas, retiküler lifler, vaso vasorumlar ve kondroitin sülfat (metakromazi +) bulunur. Laminalar arasında pencere adı verilen açıklıklar bulunur. 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.

Tunika Adventisya: Oldukça ince ve media kalınlığının yaklaşık yarısı kadardır. Kesin bir sınır yapmaksızın çevre bağ dokusu ile karışır. Elastik, kollajen lifler, vaso vasorumlar ve sinirleri içeren fibroelastik bağ dokusudur.

1.1.2 Muskuler (Orta Boy-Dağıtıcı) Tip Arterler

Çapları 2,5-7mm arasında olan, kanı organlara dağıtan ve en çok görülen arter tipidir. Tunika mediadaki düz kaslara bağlı olarak kan akışı lokal hormon ve nörojenik uyarılarla ayarlanabilir. Elastik arterlerden muskuler arterlere geçerken, elastik materyel azalır, düz kas artar. Çok belirgin membrana elastica interna ve eksternaları vardır.

Damarların genel histolojik yapısına uygun olarak, duvarları 3 tabakadan yapılmıştır. Lümeniden dışı doğru tabakalar aşağıdaki tarzda sıralanır;

Tunika İntima: Elastik arterlere göre daha incedir fakat subendotelyal tabaka az sayıda düz kas hücresi bulunurken membrana elastica interna çok belirgindir. Pencereci elastik membran özelliğindedir. Bu ve mediadaki düz kasların ölüm sonrası kasılması nedeni ile endotel yüzeyi kıvrımlı izlenir. Nadiren 2 membrana elastica interna bulunur (bifid internal elastik lamina). Elastik arterlerde olduğu gibi endotel, internal elastik membranları geçen uzantılara sahiptir. Bu uzantılar intimaya yakın yerleşik mediadaki düz kaslarla gap-junctionlarla bağlanır. Bu gap-junctionların endotel ve düz kas hücreleri ile metabolik olarak çift olduklarına inanılır¹.

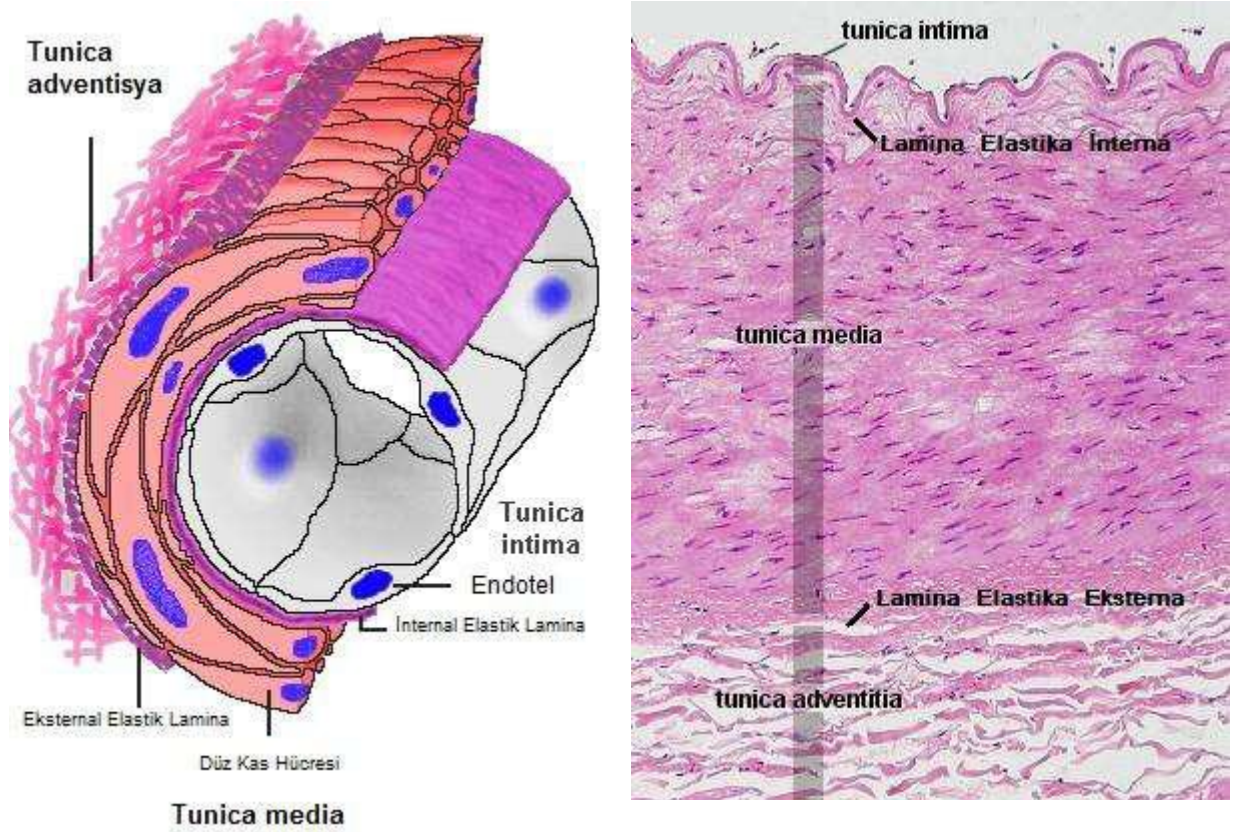
Tunika Media: Başlıca düz kas hücrelerinden oluşur. Düz kas hücreleri iç organ duvarındaki düz kaslardan daha küçüktür. İntimaya bakan yüzdeki birkaç düz kas bantı longitudinal seyirlidir. Küçük muskuler arterlerde 3-4 tabaka düz kas varken büyük muskuler arterlerde 40 tabaka konsantrik yerleşimli düz kas tabakası bulunur. Damar dallandıkça tabaka sayısı azalır. Her düz kas hücresi bazal laminaya benzer bir eksternal lamina ile çevrilidir. Matriks, PAS+ 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 görürler. Kas hücreleri arasında vaso vasorumlar yer alır. Birkaç ince elastik tabakadan oluşan belirgin bir membrana elastica internaları vardır ancak iç elastik membrandan daha incedir. Tabakalar arasında pencereler de yer alır².

Tunika Adventisya: Bağ dokusu fibrilleri, fibroblastlar, yağ hücreleri, vaso vasorumlar, lenfatik damarlar, miyelinsiz sinir sonlanmaları yer alır. Sinir sonlanmalarından salınan nörotransmitterler dış elastik membranın pencerelerinden geçerek mediaya gelerek üstteki bazı düz kas hücrelerini depolarize ederler. Uyarı diğer düz kas hücrelerine gap-junctionlarla aktarılır. Vasomotor sinirler yer alır. Ara madde çoğunlukla dermatan sülfat ve heparan sülfattan oluşur. Kollajen ve elastik lifler, kesilen arterin büzülmesini kolaylaştıracak şekilde longitudinal seyirlidir³.

1.1.3 Küçük Çaplı Arterler ve Arterioller

Çapları 100 mikrometreden az olan arterlerin tunika intiması, endotel ve membrana elastika interna'dan oluşur. Bu membran endotel altında ince parlak bir çizgi 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 kollojen ve elastik lifler içeren gevşek bir bağ dokusu tabakasıdır. Membrana elastika eksterna bulunmamaktadır. Çapı genellikle 0,5 mm'den az, lümenlerinin çapı kadar duvar genişliği olan arteriyoller, kapiller ağdaki kan akımını kontrol eden önemli damarsal yapılardır. Düz kasları kesintilidir. Arteriyolden kapillerin ayrıldığı yerde arteriyol duvarındaki düz kaslarda hafif bir kalınlaşma, prekapiller sfinkteri oluşturmaktadır. Bu sfinkterin kasılması kapillere kan geçişini engellemektedir.

Arterioller kapillerlere kan akışını düzenleyen terminal arteriyal damar yapılarıdır. Endotel, tip III kollajen ve birkaç elastik lif içeren subendotelyal bağ dokusu ile desteklenmektedir. Büyük arteriyollerde ince ve pencereci internal elastik membran yer alırken daha küçük ve terminal arteriyollerde bu yapı bulunmamaktadır. Küçük arteriyollerde tek kat düz kas tabakası bulunurken büyük arteriyollerde 2-3 kat düz kas tabakası bulunmaktadır. Adventisya tabakası, az sayıda fibroblast içeren ince bir fibroelastik bağ dokusudur^{2, 4}.



Şekil 1. Damarın genel histolojik yapısı ve HE ile boyanmış kesitin x20 mikroskopik görünümü.

1.2 VASKÜLER ENDOTEL

Normal endotel tabakası, bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir skuamoz epitel tabakasıdır. Kan ve interstisyel dokular arasındaki stratejik yerleşiminden dolayı endotel tabakasının intravasküler ve ekstrasvasküler olayları düzenleyici bir rolü vardır. Vasküler endotel hücre zarı geçirgenliğini, lipid transportunu, vazomotor tonusu, koagülasyonu, fibrinolizisi ve inflamasyonu düzenleyerek normal kardiyovasküler hemostazın korunmasında aktif olarak rol almaktadır. Normal endotel tabakası, kan akımına karşı hem tromboerezistan yüzey görevi görürken hem de kan ve damar duvarı arasında makromoleküler bir bariyer görevi görmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı endotel, salgıladığı mediatörlerle vasküler tonusu, kan pıhtılaşmasını, hücre proliferasyonunu, inflamasyonu, damar geçirgenliğini düzenleyen ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ olarak kabul edilmektedir.

Endotel hücreleri 10-15 μm^2 genişliğinde, 20-25 μm uzunluğunda olup, uzamış nükleus'lara sahip hücrelerdir. Endotel, damar uzun ekseni boyunca bir bazal lamina üzerinde yan yana dizilerek tek sıra tabaka oluşturan, poligonal hücrelerden oluşmaktadır. Yüzeyindeki mikrovillus ve kıvrımlar sayesinde fonksiyonel yüzey alanı artmaktadır. Endotel hücreleri birbirlerine sıkı bağlantı birimleri (tight junction) ve aralıklı bağlantı birimleri (gap junction) olmak üzere iki tipte bağlantı yapmaktadır⁵⁻⁶.

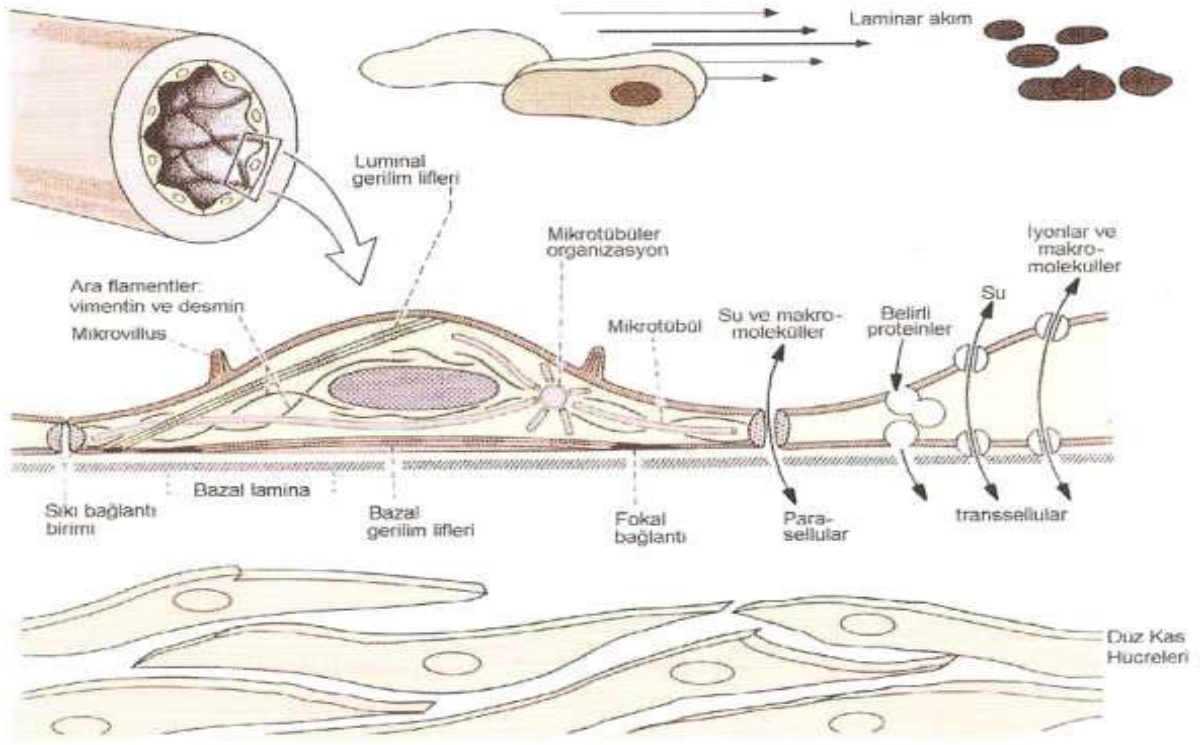
Sıkı bağlantı birimleri intrasellüler aralık boyunca permabilite kontrolünü sağlarken, aralıklı bağlantı birimleri hücreler arası etkileşmeyi gerçekleştirmektedir. Bu bağlantılar her damarın işlevine göre farklı oranda bulunmaktadır. Örneğin; arteriollerde kuvvetli bağlantılar, venüllerde ise daha gevşek bağlantılar bulunmaktadır. Endotel hücrelerinin birbirine aralıklı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde subendotel alana geçirgenlik fazladır. Sıkı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde ise geçirgenlik, endotel hücre membranı tarafından kontrol edilmektedir. Endotel hücrelerinin farklı vasküler yataklarda farklı özellikler göstermesi, bazı işlevsel birimlerin oluşmasına neden olmaktadır. Örneğin; serebral damarlarda sıkı bağlantı birimleri kan beyin bariyerini oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra endotel hücre katmanı, kan ile dokular arasında seçici bir bariyer oluşturmaktadır^{5,7}.

Büyük arterleri, venleri, kapillerleri ve lenf yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinde önemli yapısal ve işlevsel farklılıklar olmasına karşın temel fonksiyonları benzerlik

göstermektedir. Bu hücrelerin vasküler lümene ve media tabakasına bakan yüzeyleri de birbirinden farklıdır. Lümene bakan yüzeyi, ince bir proteoglikan (Dermatansülfat, Heparansülfat, Heparin) tabaka oluşturmaktadır. Endotel hücreleri tarafından sentezlenen bu proteoglikanlar, yüzeyin antitrombotik özelliğini oluşturmaktadır⁵.

Endotel tabakasının altında iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahip düz kas hücrelerinden oluşan bir neointima'nın varlığı saptanmıştır. Neointima'nın hücreler arası boşluklarının proteoglikan ve bazal lamina benzeri maddeler içerdiği gözlemlenmiştir. F-aktin için yapılan boyama işlemleri, intimal düz kas hücrelerinin media tabakasındaki sirküler düz kas hücrelerine dik ve endotel hücreleri ile aynı yönde uzandığını ortaya koymuştur^{6,8}.

Hücrel iskelet, endotel hücrelerinin biçimlerini korumada önemli rol oynamaktadır. Ultrastrüktürel incelemeler endotel hücre iskeletinin; gerilim lifleri, mikrotübüller ve ara filamentler olmak üzere üç farklı tipte sitoplazmik liflerden oluştuğunu göstermektedir. Bütün bu lifler hücreye biçim veren dinamik bir çatıyı oluşturmakla beraber hücrenin üç boyutlu yapısında hızlı değişmelere de olanak vermektedir. Endotel tabakasını oluşturan hücrelerin yapısı ve dış etkilere karşı düzen değiştirme yeteneği, onun endotel bütünlüğünün devam ettirilmesinde kritik ve önemli görevlere sahip olduğunu göstermektedir⁹⁻¹⁰.



Şekil 2. Damar endotelyum hücre iskeleti.

1.2.1 Endotelyum Hücre Fonksiyonları

Endotel hücrelerinin, salgıladıkları medyatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi ve damar tonusunu, dolayısıyla kan akışı ile birlikte kan basıncını etkileyerek çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan aktif hücreler olduğu bilinmektedir¹¹. Endotel hücre fonksiyonları **Tablo 1**'deki gibi özetlenebilir⁸.

Eskiden sanıldığı gibi endotelyum'un, dokularla kan arasında bulunan basit bir bariyer değil, tam aksine sentezlediği ve salgıladığı medyatörlerle vasküler hemostaziste çok önemli rol oynayan ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ niteliğinde olduğu artık bilinmektedir.

Gaz geçirgenliği oldukça fazla olan endotel tabakasının sıvı geçirgenliği ise oldukça azdır. Fizyolojik koşullarda solunum gazları, su, glikoz, yağ asitleri, aminoasitler ve aterojenik olmayan küçük lipoprotein molekülleri arter endotelinden geçebilirken makromoleküller, intrasellüler taşıyıcı veziküller ile geçebilmektedir. Bunun için endotel membranında transendotelyal kanallar bulunmaktadır.

Tablo 1. Endotel hücre fonksiyonları.

- Kontrol edilemeyen makromolekül yapıda protein ve lipoproteinlerin çevre dokuya infiltrasyonuna karşı seçici bariyer görevi görmesi,
- Dolaşımda bulunan lipoproteinlerin metabolizmasına katılarak, subendotelyal bölgeye geçecek olan lipoproteinlerin tipine karar vermesi,
- Trombosit agregasyonu ve trombolizisin önlenmesi,
- Gevşetici ve kastırıcı maddeler salarak vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunmak,
- İmmünkompetan hücrelerle birlikte savunma mekanizmalarına katılmak.

Endotel hücresi bulunduğu yere göre değişik yapı ve etki ile hemostaz, vazoaktivite, immun etkileşim ve iltihabi olaylarda görev almaktadır. Bu görevleri ile ilgili çok sayıda medyatör salgılamakta ve sentezlemekte, adeta çok fonksiyonlu bir salgı hücresi olarak iş yapmaktadır. Endotel hücresi, salgıladığını bildiğimiz birçok biyoaktif madde ile vasküler tonus, hücre proliferasyonu, kan pıhtılaşması, inflamasyon ve damar geçirgenliğini düzenlemektedir ¹²⁻¹³.

1.2.2 Endotel Hücre Hasarına Damar Yanıtı

Endotel hücreleri vasküler tonusu kontrol eden pek çok vazoaktif madde salgılamaktadır. Bu hücreler, gerek lümen içi basınç ve sürtünmedeki değişikliklerden, gerekse kanın şekilli elemanlarından kaynaklanan uyarılar ile vazokonstrüksiyon veya vasodilatasyon şeklinde dengeli bir cevabı sağlam endotel tabakasında oluştururken aterosklerotik bir damarda, bir dizi fizyopatolojik olayın gelişmesine yol açmaktadır. Arter duvarında iki tip hasar meydana gelmektedir; birincisi mekanik hasar'dır. Arterin diseksiyonu, sütürasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi sonrası meydana gelmektedir. İkicisi ise arteriyel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülmektedir (Sentetik greftler, stentler, otolog ven greftleri gibi)¹⁴.

Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Endotel hasarına intima'nın yanıtı subendotelyal fibroproliferasyon ve neointima oluşması şeklindedir. Bu intimal neoplastik yanıt travma sonrası damar onarımının bir parçası

olmakla beraber, bazı durumlarda gereğinden şiddetli olabilmektedir. Aşırı neointima proliferasyonu, endotel'in antikoagulan özelliğinde bozulma ve lümende daralma sonucu kan akımında azalma ve bazı olgularda tromboz gelişmesine sebep olabilmektedir¹⁴.

Arteriyel hasara intimal yanıt üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk 24 saat içindeki etkileşim, mediada düz kas hücre proliferasyonu şeklindedir. Endotel hasarı ile birlikte trombositler damar duvarına yapışmakta ve giderek çoğalmaktadır. Damar duvarına yapışan etkin trombositlerden büyüme faktörleri gibi mitojenler salgılanmakta, bu da düz kas hücrelerinin intima tabakasına migrasyonuna neden olmaktadır. İkinci aşama ise 3. günde başlamakta ve 14. günde sonlanmaktadır. Bu dönemde neointima şekillenmektedir. Neointima'nın oluşması ile birlikte 3. aşamada düz kas hücreleri, hızla lümeni daraltacak bir tabaka oluşumuna sebep olmaktadır¹⁵⁻¹⁶.

Endotel bariyerinin kalkması sonucu büyüme faktörlerinin düz kas hücrelerine ulaşmasının önündeki engel kalkmaktadır. Öte yandan endotel hücrelerinin düz kas hücreleri üzerindeki proliferasyonu inhibe edici etkisi ortadan kaybolmaktadır. Sonuçta düz kas hücreleri, endotel tabakasının olmadığı bölgeye göç etmekte ve neointima tabakası içerisinde çoğalmaya devam etmektedir.

Media tabakasındaki düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve intimaya migrasyonu iki farklı büyüme faktörü tarafından tetiklenmektedir. Bunlar, temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor; bFGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor; PDGF)'dür. bFGF, hasara uğramış düz kas hücrelerinden ve endotel hücrelerinden salgılanarak düz kas hücre proliferasyonunu düzenlemektedir. PDGF ise trombosit ve vasküler hücrelerden salgılanmakta ve düz kas hücre proliferasyonu ile birlikte bu hücrelerin migrasyonunu sağlamaktadır¹⁵.

Düz kas hücrelerinin proliferasyonu, damar duvarında ve dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ile birlikte basınç gibi fiziksel kuvvetler tetiklemektedir. Normal yapıdaki bir damarda Nitrik oksit ve Adenozin, gibi büyümeyi baskılayan ajanlar ile PDGF, FGF, insülin benzeri büyüme faktörü, TGF-beta, anjiyotensin II ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge içerisinde bulunmaktadır. Bu dengenin bozulması düz kas hücre proliferasyonuna neden olmaktadır. Düz kas hücrelerindeki be anormal proliferasyonun,

büyüme faktörlerinin üretimindeki artış veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir¹⁷.

İntima'ya ulaşan hücre sayısı, hasar sonrası media tabakasında sağ kalan hücre sayısı ile ilişkilidir. Normalde hücreler, arteriel ekstraselüler matriks ile sıkı ilişki halindedir. Bu sıkı ilişki integrin'ler gibi hücresel membran reseptörleri ile sağlanmaktadır. Bu temas, hücre reseptörlerinden nukleus'a sinyal iletimi ile hücrenin sağ kalımını sağlamaktadır. Hücre kaybı sonucu temas kaybolunca sinyal iletimi durmakta ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. Bu olay sonunda büyüme faktörleri intimal kalınlaşmayı uyarmaktadır. Endotel'de oluşan hasar bölgesi 3 cm'den uzun ise hasara uğramamış komşu kenarlarda başlayan endotel çoğalması hiçbir zaman hasarlı arteriel segmentin orta bölgesine ulaşamamaktadır. Bu alanda düz kas hücre proliferasyonu devam etmektedir. Bu bulgular göstermektedir ki; endotel'in tekrar sağlanması ve korunması, intimal hiperplazi'nin kontrolünde önemli bir adımdır¹⁷.

Kronik endotel hasarlarında endotel hasarı, özellikle damarların dallanma bölgelerinde gerçekleşmektedir. Dallanma yerlerinde ya da hemen ötesinde oluşan mekanik stres, endotel ve damar düz kas davranışlarını belirleyen en önemli uyaranlardır. Kanın damar duvarına uyguladığı basınç ve shear stres tetikleyici karakter taşımaktadır. Shear stres, ateroskleroz oluşumuna yol açması yanında endotel'de Prostatiklin ve Nitrik oksit (NO) tüketimini de azaltmaktadır.

1.2.3 Balon Hasarına Arteriyel Cevap

İnsanlarda balon hasarı sonrası endotel ile ilişkili patofizyolojik cevapların incelenmesi otopsi uygulamaları dışında mümkün olmadığı için in vivo araştırmaların hepsi hayvan modellerinde yapılmaktadır. Vasküler duvarın yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin sürdürülmesinde düz kas hücreleri ile birlikte endotel hücrelerin bütünlüğü kritik rol oynamaktadır. Hasar sonrası gelişen histopatolojik olaylar incelendiğinde 3 evre görülmektedir: inisial (hasar-24 saat), migratuar (3-7 gün) ve proliferatif (7 gün-3, 4 hafta). Balon kateterizasyonu ile oluşturulan arteriyel hasarlanma, kaslı arterlerin intima tabakasında trombosit adezyonunu ve progresif düz kas hücre proliferasyonunu uyarmaktadır¹⁸. Vasküler yüzey deendotelize edildiğinde bir dizi olay birbirini takip etmektedir. Deendotelize edilmiş bölgeler hemen trombosit kümesi ile kaplanmakta, oluşan trombüsler rezorbe olmakta ve inflamatuvar hücreler tarafından erken dönemde infiltre olmaktadır. Trombositler, daha sonraki günler içerisinde damar lümenine doğru ilerleyen

rejenere endotelyum ile yer değiştirmektedir. Aynı zamanda media içinde yer alan düz kas hücreleri proliferere olmaya başlamaktadır. Bu olaylar trombosit kaynaklı faktörlere değil, direkt olarak endotelin deendotelizasyonuna bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu hücreler, bir yandan intima'ya göç etmekte ve proliferasyona devam etmekteyken diğer yandan büyük miktarlarda ekstrasellüler matriks sentezleyip sekrete etmektedir¹⁸⁻¹⁹. Bu süreçte neointima 2-3 hafta içinde hasarlı bölgeyi kaplamaktadır. *More ve ark'ları* yaptıkları bir çalışmada, tavşanlarda balon ile oluşan hasardan 3 gün sonra reendotelizasyonun başladığını ve 14. günde bu sürecin tamamlanarak olağan dışı intimal kalınlaşma oluştuğunu rapor etmiştir. Ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak 1. ay sonunda intimal kalınlaşmanın maksimum seviyeye ulaştığı ve 3 ay içinde azalma olduğu tespit edilmiştir²⁰. Vasküler hasara cevap olarak endotel tabakası iki önemli noktada hayati rol oynamaktadır: (1) endotelin ortadan kalkması mitojenik cevabın oluşmasına sebep olmakta, (2) normal endotel tabakasının tekrar oluşması daha ileri proliferasyonu inhibe etmektedir.

1.2.4 Arteriyel Akıma Ven Duvarı Adaptasyonu

Arteriel sisteme rekonstrükte edilen tüm venlerde, implantasyon sonrası 4-6 hafta içinde intimal hiperplazi görülmekte ve lümen yaklaşık %25 oranında daralmaktadır. Bu durum, nadiren belirgin darlığa neden olurken ileri dönemlerde, venöz greftte ateroma oluşmasına neden olmaktadır. Venöz bypass operasyonlarında intimal hiperplazi'nin esas nedeni hemodinamik strestir. Greftin, shear stres ve basınç değişimine bağlı olarak venöz yapıdan arteriyel yapıya dönüşümünde (arteriyelizasyon), adaptasyon mekanizmasına bağlı olarak intimal hiperplazi gelişmektedir. Basınç ve shear stres parametrelerinde, tekrar venöz özelliklere dönüşün olması durumunda venöz greftteki değişikliklerin geri döndüğü gösterilmiştir. Bu redomelling sırasında TGF- α salınımı artmaktadır²¹.

Venöz greftle yapılan bypass operasyonlarından hemen sonra venöz greft endotel'ine (çoğunlukla anastomoz hattında ve venöz greft endotel tabakasının mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombosit ve lökositlerin yapışmasıyla mikrotrombüsler oluşmaktadır. İki hafta içinde ven greftlerindeki ve anastomoz hattındaki endotel tabakasının döküldüğü yerler tamamen reendotelizasyonla yenilenmektedir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma başlamakta ve 4. haftada en yüksek düzeye ulaşmaktadır. İlk 4 haftadan sonra düz kas hücre proliferasyonu durmakta ve ekstrasellüler matriks üretimi ile birlikte intima tabakasında birikimi artmaya başlamaktadır. Onikinci haftada duvar kalınlığı en fazla

olmaktadır. İntima hücrelerinin proliferasyonu, ven lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durmaktadır²¹.

1.2.5 Sentetik Greftlerde İntimal Hiperplazi

60 mm porları olan poröz sentetik protezlerin (PTFE v.b) luminal yüzlerinde intimal kalınlaşma gözlenmektedir. Damar duvarını yatay olarak etkileyen shear stres, arteriyel akıma poröz protezlerin adaptasyonunda belirleyici rol oynamaktadır. İntimal hiperplazi geliştiği zaman grefte uygulanan shear stres'in artırılması durumunda intimal hiperplazi'nin olduğu doku kalınlığı azalmaktadır²¹. Artmış shear strese yanıt olarak endotel hücreleri artmış düzeyde NO sentezlemektedir. Nitrik oksit akut damar dilatasyonundan sorumludur. Düz kas hücresi ölümünü indüklemekte ve MMP (Matriksmetalloproteinaz) gibi proteolitik enzimleri aktive etmektedir. Sonuç olarak intimal kitle, düz kas hücrelerinin ortadan kalkması ve ekstrasellüler matriksin lizise uğraması nedeniyle azalmaktadır.

Yapılan çalışmalarda prostetik greft kullanılan olgularda, otolog ven kullanılanlara göre intimal hiperplazi gelişme oranı daha yüksek bulunmuştur. Arter duvarının ve kullanılan greftin mekanik özellikleri arasındaki farkın, anastomozdaki intimal hiperplaziyi artırdığı düşünülmektedir. İntimal kalınlaşma en sık sütür hattında ve ayrılma yüzeyinde meydana gelmektedir. Bunun nedeni olarak laminar akımın bu bölgede durağanlaşması ve bu bölgenin hiperkomplians alanı oluşturduğu gösterilmiştir. Anastomoz modellerinde egzersizi stimüle etmek için akım oranları ve pulsatil frekanslar artırılmıştır. Bu sayede intimal hiperplazi oluşum oranının azaldığı gösterilmiştir²²⁻²³.

1.2.6 İntimal Hiperplazi Etiyolojisi

İntimal hiperplazinin gelişimi için 2 teori vardır; *Hasara yanıt teorisi* ve *Reaktif-adaptif remodeling teorisi*.

Kan akımında veya kan basıncındaki değişikliklere arterlerin adaptif cevapları; genişleme, arter duvarının yapısal ve kompozisyon değişiklikleri şeklinde olmaktadır.

Duvar shear stress: Endotelial yüzeye shear stress kan akımı ile direkt, lümen çapının üçüncü kuvveti ile ters orantılıdır [*Shear stress (Tw) = viskozite x akım / çap³*]. Böylelikle görülmektedir ki; çaptaki küçük azalmalar ile duvar shear stresinde büyük artışlar görülmektedir. Shear stres'deki artış ile endotel'den akut cevap olarak nitrik oksit salgılanır.

Shear stresin normal değeri 15 dyne/cm²'dir. Kan akımındaki artışın neden olduğu Tw artışına engel olmak için damar çapı artar. Deneysel AV fistüllerde; kan akımı 10 kat artarken, shear stres 3 kat artmakta ve adaptif cevap olarak 24 saat içerisinde damar çapı genişlemektedir. Dördüncü haftanın sonunda damardaki genişleme iki katına ulaşmakta ve böylece shear stres normale dönmektedir. Buna karşılık; kan akımı ve shear stres'te kronik azalmaya cevap olarak da lümen çapı azalmakta ve Tw değeri normale dönmektedir. Damar çapındaki bu azalma intimal hiperplazi ile olmaktadır. İntimal hiperplazi'yi etkinleştiren faktörler **Tablo 2**'de görülmektedir.

Tablo 2. İntimal hiperplazi'yi etkinleştiren faktörler.

- Tw değerinde azalma,
- Akımın dallanması,
- Ossilasyon (kardiak dp/dt, nabız basıncı).

Duvar tensile stress: Damar duvar kalınlaşması duvar tensile stres (Ts) ile ters orantılıdır. Duvar tensile stres ise kan basıncı ve çap ile direkt orantılıdır [$Ts = P \times r / d$ (duvar kalınlığı)]. Arteriyel kan basıncındaki artış Ts değerinde artışa sebep olmaktadır. Adaptif cevap olarak (Ts'nin artması sonucu) duvar kalınlığında artış ortaya çıkmakta ve damar duvarının yapı ve kompozisyonunda değişiklikler gözlenmektedir. Basıncın değişmesi sonucu Ts değerinde oluşacak değişikliklerin, adaptasyon olarak oluşan duvar kalınlaşmasındaki değişikliğe en iyi örnek; postpartum pulmoner ve aort değişiklikleridir. Doğumdan sonra aort basıncı yükselir ve aort duvarı kalınlaşır. Pulmoner basınç düşer ve pulmoner arter duvar çapı değişikliğe uğramadan ince kalır. Arteriyel yatağa konan ven greftlerde de; hem basınç artışına cevap olarak tensile stress arttığından duvar kalınlığı artmakta, hem de shear stresin düşmesine (çünkü safen çapı artere göre büyüktür) ikincil cevap olarak çap azalmaktadır. Bu iki mekanizma da intimal hiperplazi'yi başlatmaktadır. Sonuç olarak; arterlerin adaptif cevapları:

- Lümen çapının shear stres regülasyonu.
 - Shear stres azalır ise intimal hiperplazi,
 - Shear stres artar ise dilatasyon olur.
- Tensile stres regülasyonu.

Basınç artışı (ven greftin arteriyel yatağa konması) ve lümen çapı artışı (küçük artere büyük ven) durumlarında intimal hiperplazi olur²²⁻²³.

İntimal hiperplazi'nin gelişmesindeki adaptif mekanizmanın amaçları;

1. Shear stresi artırmak ($T_w = \text{akım} / w_t$, akımı arttırmalı)
2. Duvar tensile stresi azaltmak ($T_s = P \times r / W_t$, basıncı ve greft çapını azaltmalı).

Sonuç olarak; arteriyel sisteme konan venöz greftlerde akımın iyi, çapın ise arter çapına yakın olması gerekmektedir.

İntimal hiperplastik cevap: Kan ve damar duvarının etkileşiminde endotel tabakası ile birlikte arter duvarı, homeostazın sağlanmasında potansiyel düzenleyici olarak görev yapmaktadır. Endotel'den; vasküler tonusu, antikoagülasyonu ve inflamatuvar cevabı düzenleyen faktörler salgılanmaktadır. Endotelyal hücreler; düz kas hücrelerinin proliferasyonu, büyümesi, migrasyonu ve ölümünü kontrol eden faktörler salgılamakla birlikte aynı zamanda intima ve ekstrasellüler matriks'in kontrolünü de yapmaktadır. İntimal kalınlaşmayı oluşturan etmenler düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks (kollajen, elastin, proteoglikan)'tir. İntrauterin kan damarlarının oluşumunda düz kas hücrelerinin oluşumu ve organizasyonunu endotel tabakasının oluşması takip etmektedir. Eğer endotel oluşumu engellenirse damar gelişimi de olmamaktadır.

Endotel hücrelerinin yokluğunda damar duvarı adaptasyonu: Hasardan sonra trombositler hasarlı bölgeye yapışmakta ve granül içeriklerini salgılamaktadır. Yirmidört saat sonra media tabakasındaki düz kas hücrelerinde proliferasyon başlamaktadır. Düz kas hücre sayısındaki artış günde, normalde %0.06 oranından %10-30'a çıkmaktadır. Dört gün sonra media tabakasından intimaya göç başlar. Bazı hücrelerin proliferasyon intima'ya geldikten sonra da devam eder. Ekstrasellüler matriks'te (kollajen, elastin, proteoglikan) artış başlar ve 3 ay sonumda intima tabakasının %20'si hücrelerden, %80'i ise ekstrasellüler matriks'ten oluşur. İntimal hiperplazi'nin endotel ile örtülmesi düz kas hücrelerindeki proliferasyonu inhibe eder. Eğer hasarlı bölge 3 cm'den fazla ise; tümüyle neointima gelişemeyeceği için hasarın santral bölgesinde düz kas hücreleri kanla direkt olarak temas eder ve düz kas hücrelerinin proliferasyonu uyarılır. İntimal hiperplazi'nin ilk basamağı düz kas hücre proliferasyonu iken ikinci basamağı, çoğalan bu düz kas hücrelerinin migrasyonudur. Bu basamakları uyaran

faktörler; fibroblast büyüme faktörü (FGF) (hasarlı endotel'den ve düz kas hücrelerinden salgılanır ve esas olarak düz kas hücrelerinin proliferasyonunu sağlar), platelet kaynaklı büyüme faktör (PDGF) (trombosit α granüllerinden ve endotel'den salgılanır), PDGF-BB (düz kas hücresi migrasyonu) ve PDGF-AA (düz kas hücre proliferasyonu)'dır. Transforming büyüme faktör (TGF) ve angiotensin-II, migrasyona etkisi olan mediatörlerdir. Proteazların da proliferasyon ve migrasyon üzerine etkisi bulunmaktadır. İki tip proteaz bildirilmiş olup Plasminojen aktivatörü olan doku plazminojen aktivatör (tPA) ve ürokinaz, düz kas hücrelerini proliferere ederken, PDGF ve FGF de plasminojen aktivatörlerini etkinleştirerek intimal kalınlaşmayı artırır. tPA üretimindeki azalma intimal kalınlaşmayı geriletmektedir. Metalloproteinazlar ise düz kas hücrelerinin migrasyonunu artırmaktadır. Böylece proteolitik ve antiproteolitik dengenin endotel tarafından kontrolünün intimal hiperplazi'de önemli rol oynadığı görülmektedir. İnsülin benzeri büyüme faktör (IGF) ve TGF de düz kas hücre migrasyona etkilidir. T lenfositlerinden salgılanan interferon- γ ise proliferasyonu inhibe etmektedir. Endotel rejenerasyonu da proliferasyonu inhibe etmektedir. Endotel hücreleri, büyüme faktörlerinin düz kaslara ulaşımına karşı bariyer oluşturmaktadır. Endotel, ayrıca düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eden maddeleri (heparan sulfat, NO vs. gibi) sentez ederek salgılamaktadır.

Endotel hücrelerinin varlığında damar duvarı adaptasyonu: Venöz greftlerin kullanıldığı bypass operasyonlarında intimal hiperplazi'nin esas nedeni hemodinamik stres'tir. Graftin arteriyalizasyonunda adaptasyon mekanizması ile intimal kalınlaşma gelişmektedir. Ven greftleri maruziyet açısından tekrar venöz parametrelere dönerse oluşan değişikliklerde gerileme meydana gelmektedir. Venöz greftlerin kullanıldığı bypass operasyonlarından hemen sonra endotel tabakasına (çoğunlukla anastomoz hattında ve greft olarak kullanılan ven endotelinin mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombositler ve lökositlerin yapışmasıyla mikrotrombüsler oluşmaktadır. İki hafta içerisinde venöz greftlerdeki ve anastomoz hattındaki endotelin döküldüğü bölgeler tamamen tekrar endotelizasyon ile yenilenmektedir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma da başlamakta ve 4 haftada en yüksek düzeye ulaşmaktadır. Dördüncü haftadan sonra düz kas hücrelerinin proliferasyonu durmakta ve ekstrasellüler matriks miktarı artmaya başlamaktadır. Onikinci haftada duvar kalınlığı en fazla olur ve intimal düz kas hücrelerinin proliferasyonu, venöz greft lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durur.

Diğer taraftan intimal hiperplazi'yi kompanse eden hemodinamik faktörler ise:

- Damar tensile stres (tanjansiyal stres); arter duvarına transvers gelen basınç yükü
- Damar shear stres; arter duvarına longitudinal gelen stresdir.

Tanjansiyal (tensile) stres; damarın çevresinde artışa neden olan basınç yüklenmesidir. Bu stres'i oluşturan komponentler: $[Basınç \times \text{çap} / \text{duvar kalınlığı}]$ 'dır. Tanjansiyal (tensile) stresi azaltmaya yönelik vasküler adaptasyon, damar duvar kalınlığının artmasıdır; yani intimal hiperplazi'dir. Tanjansiyal stresi azaltmak için venöz yapıdaki greftler eksternal olarak rijid sentetik greftlerle desteklenirse intimal hiperplastik cevap azalır. Shear stres'i oluşturan komponentler: $[Akım \times \text{vizkozite} / \text{çap}]$ 'tır. Kan akımının artması shear stressi arttırmakta, duvar kalınlığını ise azaltmaktadır. Shear stresin azalması (çapın artması ve akımın azalması gibi geniş çaplı safenin run-off'u iyi olmayan arter yatağa konması) intimal kalınlaşmayı uyarmaktadır. Shear stresdeki artış, endotel tabakasında NO sentaz enziminin uyarılması ile arter duvarında siklik guanosine monofosfatı (cGMP) artırarak NO oluşumunu arttırmaktadır. Sonuç olarak NO'nun artması ile **Tablo 3**'te verilen olaylar gelişir²²⁻²³.

Tablo 3. Nitrik oksit'in artışı ile gelişen olaylar.

- İntimal kalınlaşma azalır,
- İntimadaki hücre sayısı azalır,
- Düz kas hücre proliferasyonu inhibe olur,
- Hücre ölümüne yol açar,
- Endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin salınması ve inflamasyon azalır,
- Fibroblastlardan kollajen salınımı azalır.

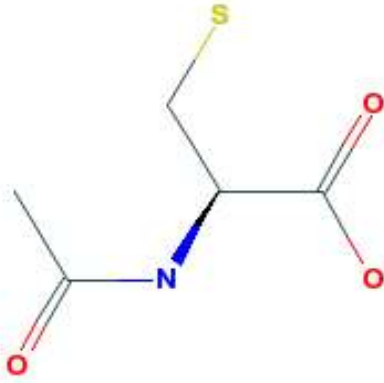
Venöz greftteki endotel tabakası asla arter endoteli gibi fonksiyon görmez. Bu endotelin prostasiklin, EDRF ve NO salınımı daha az iken TxA2 üretimi daha çoktur. PTFE protezler 3 hafta içinde tamamen endotelize olur²²⁻²³. Sonuç olarak neointimal hiperplazi'yi önlemede kullanılan farmakolojik yaklaşımları yukarıdaki bilgiler ışığında **Tablo 4**'te sıralanan temel mekanizmalar üzerinden özetleyebiliriz²²⁻²³:

Tablo 4. İntimal hiperplazi'yi önlemede farmakolojik yaklaşımın etkilediği temel mekanizmalar.

- Reaktif oksijen ürünleri
- Nitrik oksit ve prostasiklin
- Endotelin
- Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
- Angiotensin
- Matriks metallaproteinazlar
- Kalsiyum
- G proteinleri
- Mitojen aktive eden proteinkinazlar

1.3 N-ASETİLSİSTEİN

N-Asetilsistein (NAC), **Şekil 1**'de görüldüğü üzere bir aminoasit olan Sistein'in N-Asetil türevidir. NAC sülfidril grubu içeren bir moleküldür. Oral alım sonrası %97 oranında hızla emilir. Karaciğer ve barsaklarda ileri derecede ilk geçiş eliminasyonuna uğrar. Deasetillenerek protein peptid zinciri yapılarına katılır ve bir dizi NAC metaboliti oluşur. Oral alınan NAC'ın yalnızca az miktarı değişmeden plazma ve dokulara ulaşır. Plazma tepe değerlerine oral dozdan sonra 1 saatten önce ulaşılır. Yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir. Oral dozdan yaklaşık 12 saat sonra plazmada tespit edilemez. Alınan dozun %13-38'i 24 saat içerisinde idrarla atılır²⁴.



Şekil 3. N-Asetilsistein'in moleküler yapısı.

Akciğer hastalıklarında bronşial sekresyonların viskozitesini arttırmak amacıyla mukolitik ajan olarak kullanılır²⁵⁻²⁶. N-Asetilsistein akciğer sekresyonu kıvamını azaltır, miktarını artırır ve ekspektorasyonu sağlar. Bronşial mukusun %95'den fazlası sudan oluşmakla beraber mukusa fiziksel karakteristiğini, içerdiği glikoprotein verir. Bu glikoprotein'lerin her biri birbirlerine sülfid bağlarıyla bağlıdır ve viskoziteyi oluşturur. N-Asetilsistein bu sülfid bağlarını kopardığı için mukusun viskozitesinde hızlı bir azalmaya ve polimerizasyonuna neden olur. Bronş mukozası irritasyonu ve mukosiliyer temizlemeyi uyaran etkileri nedeniyle bronkospazma neden olabilir. Bu nedenle astımda kullanımı önerilmez²⁷.

N-Asetilsistein'in etkisi konsantrasyonuna ve pH değerine bağlıdır. %5'in altındaki konsantrasyonlarda su ve tuzdan çok daha az etkili olduğu gösterilmiştir. pH bağımlılığı ilk

uygulamada önemlidir fakat 1 saat içinde pH 5-8 arasındaki etkinliğinde büyük bir fark saptanmamıştır. Genel düşünce yüksek pH değerlerinin daha etkili olduğu yönündedir. NAC görünüşe göre normal konsantrasyonlarda akciğer yüzey aktivitesine veya sekretuar bezlere etkili değildir²⁸.

NAC'ın bir glutatyon substitisyonu (yedeği) gibi davrandığına inanılır ve toksik Asetaminofen metaboliti ile direkt bağlanır. *Harrison ve ark'larının* yaptığı bir çalışmada NAC'ın oksijenizasyonu arttırdığı saptanmıştır. Bu da, Asetaminofen tarafından oluşan fulminant hepatik yetmezlikteki hastalardaki yararını açıklar niteliktedir²⁹.

N-Asetilsistein, Glutatyon (GSH) seviyelerini karaciğerde, plazmada ve özellikle broşioalveolar sıvıda artırır. N-Asetilsistein'in patogenezinde GSH azalması olan farklı bir seri hastalıklar için bağımsız tedavi şekli olabileceği ümit ediliyor³⁰.

N-Asetilsistein'in önemli sitoprotektif etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Sepsis, travma, yanık, pankreatit, hepatik yetmezlik, hemoraji ve akut miyokardiyal infarktüsü takiben doku reperfüzyonu ile ilgili hücrel hasarlarda endojen antioksidanların (Glutatyon gibi) tükenmesi ve etkilenmesi çok sayıda serbest radikal oluşmasına aracılık etmiş olabilir. N-Asetilsistein bir serbest oksidan radikal süpürücüsüdür. Ayrıca NAC ek antioksidan savunma teorisinde ve tükenen intrasellüler Glutatyon'u yerin koyma yeteneğinde bir Glutatyon prekürsörüdür³¹⁻⁴¹.

Nefropati oluşturulmuş modeller üzerinde yapılan çalışmalarda NAC'ın bu etkiyi önlemede başarılı olduğunu destekleyen çalışmalar mevcuttur⁴²⁻⁴⁷.

2 MATERYAL VE METOD

2.1 ÇALIŞMA PLANI

Randomize, kontrollü, deneysel bir araştırma olan çalışmamıza; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 18/2009 protokol numarası ile 5/6/2009 tarihinde izin alındıktan sonra başlanmış ve çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ortalama 2-3 kg ağırlığında 14 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler aynı ortamda ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, havalandırma tertibatı olan ve güneş ışığı alabilen bir oda) bakıldılar ve tavşan yemi ile beslendiler. Tavşanlara preoperatif kulak arkasında bulunan marginal venden branül takıldı (**Şekil 2**). Deney öncesinde tavşanlara anestezi olarak 50 mg/kg intramuskuler Ketamin (Ketalar, Pfizer, Türkiye) ve 5 mg/kg intramuskuler Ksilazin (Alfazyne, Alfasan, Hollanda) uygulandı. Cerrahi sırasında daha iyi görüş sağlamak amacıyla deneklerin insizyon yapılacak bölgeleri tıraş edildi ve batikonla dezenfeksiyon sağlandı. Çalışmadaki tüm anastomozlar aynı araştırmacı tarafından yapıldı. Bütün deneklerin anastomoz için sağ taraf karotis arteri, kontrol için ise sol taraf karotis arteri kullanıldı. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve tüm grup tavşanlara sağ vertikal boyun insizyonu yapılarak karotid arter eksplore edildi (**Şekil 3**). 100 IU/kg dozda IV Heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat, Türkiye) uygulandı. Karotid arter proksimal ve distalinden buldog klemple klemlendikten sonra transekte edildi (**Şekil 4**). Daha sonra 8/0 polipropilen sütür ile tek tek dikilerek anastomoz tamamlandı (**Şekil 5**) ve sonrasında dokular anatomik planda kapatıldı (**Şekil 6**). İşlem esnasında 3,5 kat büyütmeli loupe kullanıldı.

Şekil 4



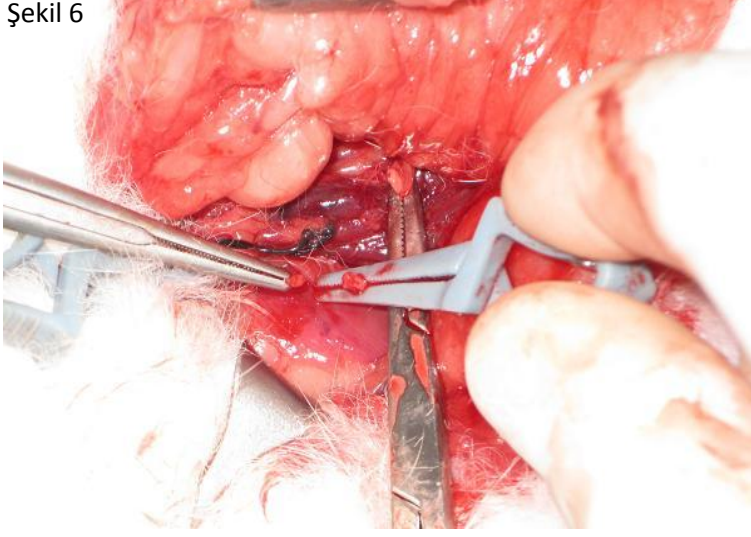
Şekil 4. Preoperatif intravenöz damar yolu açılması. Bunun için tavşanın kulak marginal veni kullanılmıştır.

Şekil 5



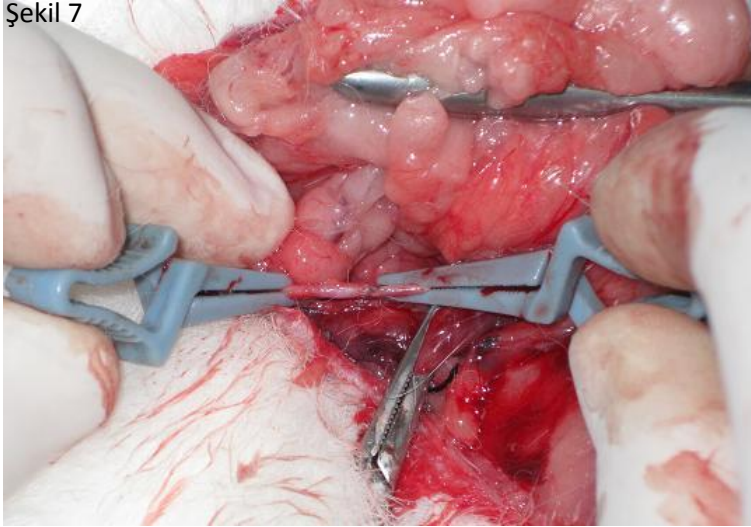
Şekil 5. Sağ vertikal boyun insizyonu ile karotid arterin eksplorasyonu.

Şekil 6



Şekil 6. Karotid arterin klempajı ve transeksiyonu. Karotid arter proksimal ve distal uçtan buldog klemp ile klemlendikten sonra tam kat transekte edilmiştir.

Şekil 7



Şekil 7. Transekte edilen karotid arterin uç-uca anastomozu. Bunun için 8/0 prolen kullanılmış ve sutureler tek tek atılmıştır.

Şekil 8



Şekil 8. İşlemin sonlandırılması ve katların anatomik olarak kapatılması.

Araştırmada tavşanlar 2 gruba ayrıldı. Grup 1'deki tavşanlar kontrol grubunu oluşturmaktadır. Grup 2'deki deneklere operasyondan hemen sonra ilk doz IV sonraki tüm dozlar IM olmak üzere toplam 21 gün 150 mg/kg/gün NAC (ACT, ADEKA, Türkiye) uygulandı. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter segmenti çıkarılarak incelenmek üzere histoloji laboratuvarına gönderildi. Yüksek doz pentobarbital ile hayvanların yaşamına son verildi. Örnek dokular 0,1 mol/lit fosfat tamponlu %4'lük paraformaldehit solüsyonuna konuldu ve +4C°'de saklandı. Mikroskopik örnekler parafin bloklar halinde 5 µm kalınlığında kesildi ve Hematoxylen-Eosin ile boyandı.

2.2 DENEY PROTOKOLÜ

Grup 1: Bu gruptaki tavşanlar kontrol grubunu oluşturmaktadır. Herhangi bir ilaç uygulanmamıştır. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf karotid arter segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

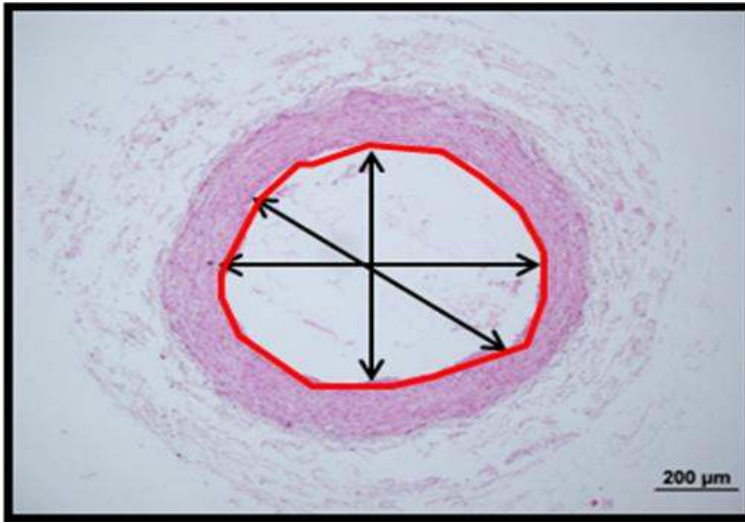
Grup 2: Bu gruba, grup 1 ile aynı protokol uygulanmıştır. Farklı olarak tavşanlara yirmi bir gün süre ile 150mg/kg/gün dozunda IM NAC verilmiştir. Yirmisekizinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ karotid arter segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderilmiştir.

Grup 1K: Grup 1'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histolojik incelemesinin yapıldığı grubu oluşturmaktadır.

Grup 2K: Grup 2'deki anastomoz yapılmayan sol karotid arterin histolojik incelemesinin yapıldığı grubu oluşturmaktadır.

2.3 HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME

Tavşanlardan elde edilen damar dokuları, %10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip parafine gömüldükten sonra hazırlanan parafin bloklardan rotary microtome (Leica RM 2135, Leica Instruments, Nussloch, Germany) ile 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitler, Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda (Olympus BX-50, Tokyo, Japan) incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler yüksek rezolusyonlu kamera (Olympus DP-70, Japan) yardımıyla bilgisayar ortamına aktarıldıktan sonra digital görüntü analiz programı (Image Tool, UTHSC Image software for Windows 3.0, Texas University, USA) ile değerlendirildi. Çalışma sırasında damar dokusu incelenirken, tunica intima ile tunica media'nın kalınlıkları, tunica intima ile tunica media'nın alanları, damar çapları ve damar lümen alanları stereolojik yöntemlerle gruplar arasında karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki damar lümen çapı, lümen alanı, intima-media kalınlığı ve alanı arasındaki farklar değerlendirildi (Şekil 7).



Şekil 9. Lümen çapı (→) ve alanının (—) ölçülmesi.

2.4 İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Veriler Statistical Package for the Social Sciences for Windows Evaluation v. 15.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, ortanca $\pm$ standart sapma (minimum - maksimum değer) değeri olarak verilmiştir. Grupların 7'şer denekten oluşması dolayısıyla sınamalarda parametrik olmayan testler kullanılmıştır. Çoklu grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U sınama yöntemi kullanılmıştır. Sınamalarda %95 güven aralığı ile p değeri 0.05'in altında olan değerler istatistiksel olara anlamlı kabul edilmiştir.

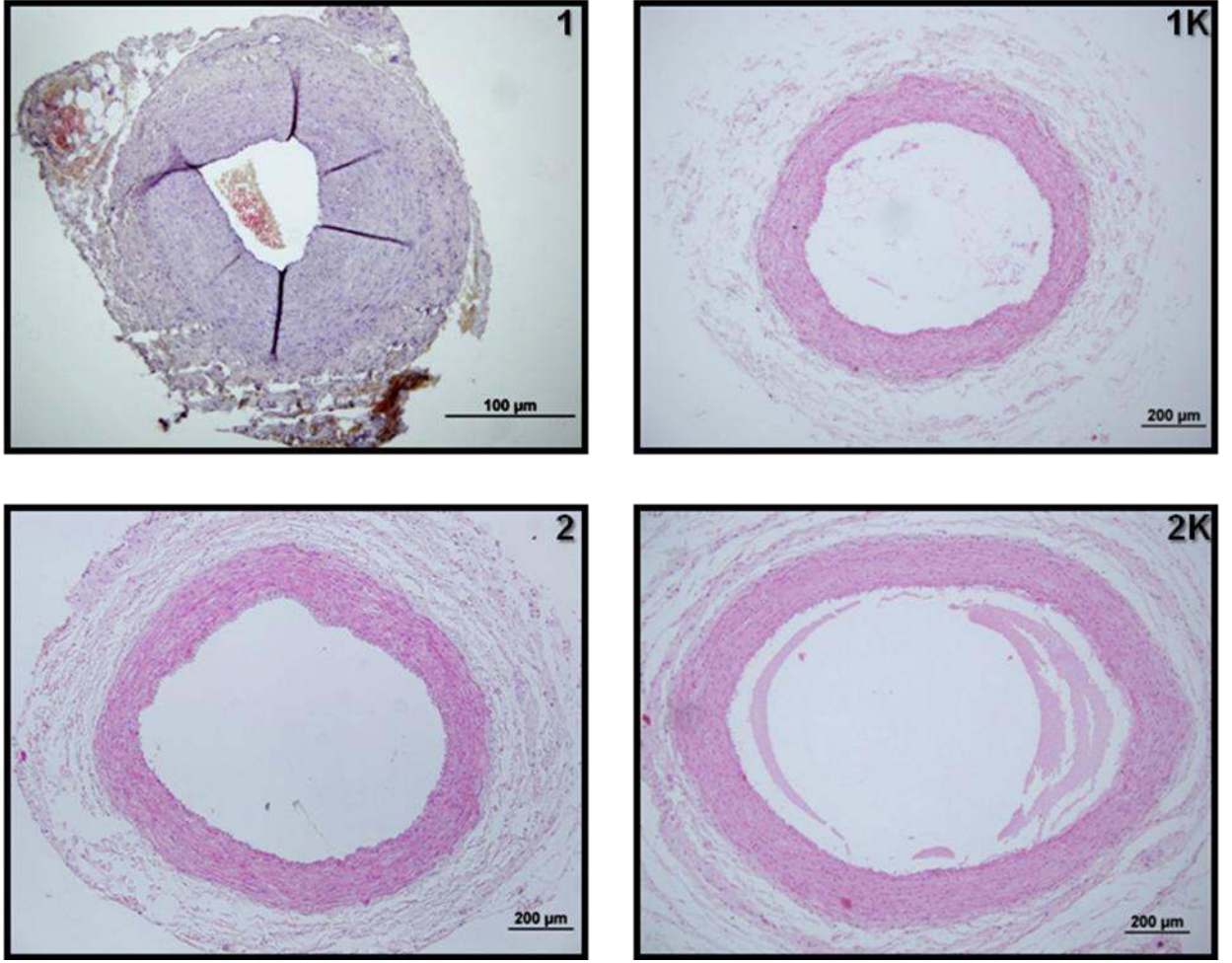
3 BULGULAR

Çalışmamızda Yeni Zelanda tipi 14 adet erkek tavşan kullanılmıştır. Tüm denekler çalışma süresi boyunca yaşamışlardır. 28. gün sonunda tavşanların hiç birinde yara yeri enfeksiyonu veya nörolojik komplikasyon gelişmemiştir. Alınan dokulardan yapılan kesitlerde lümen çapı, lümen alanı, intima alanı, media alanı ve intima-media alanlarının oranı değerlendirilmiştir (**Şekil 8-10**). Ölçülen parametrelerin ortalanca $\pm$ standart sapma değerleri ile birlikte minimum ve maksimum değerleri **Tablo 5**'te özetlenmiştir.

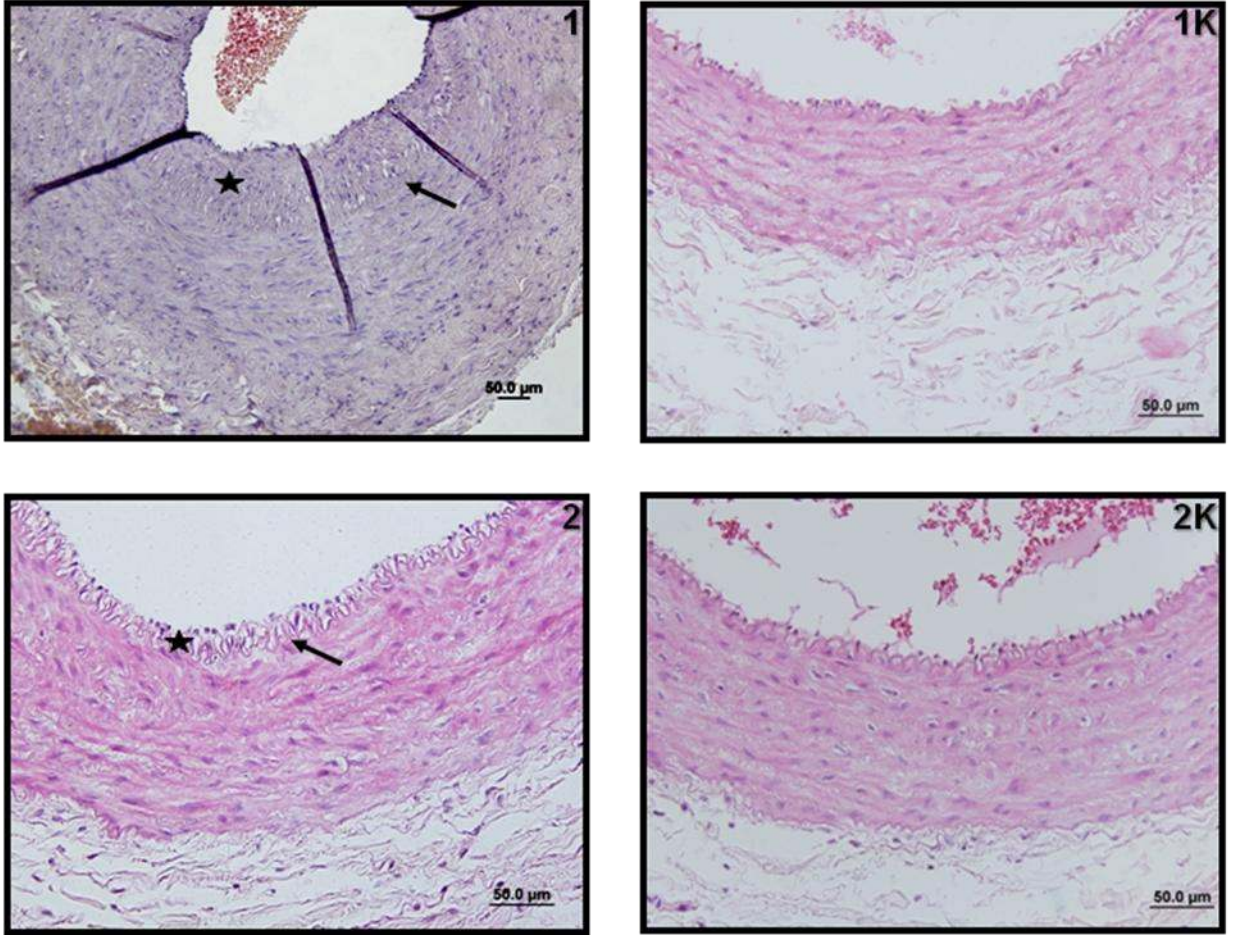
Tablo 5. Çalışma gruplarının sınanan değişkenler açısından ortalanca $\pm$ standart sapma ve minimum-maksimum değerleri.

Grup	Değişken	Ortanca $\pm$ SS (minimum-maksimum)
Kontrol grubu	Grup 1	IA (μm^2) 103086,3 $\pm$ 22827,8308 (62258,28 – 134603,6)
		MA (μm^2) 476242,4 $\pm$ 91112,1901 (334794,20 – 573785,57)
		IMO 0,21645 $\pm$ 0,02660 (0,19 – 0,26)
		LA (μm^2) 176086,42 $\pm$ 50279,17 (65034,87 – 217163,38)
		LÇ (μm) 533,6 $\pm$ 73,26 (451,01 – 667,11)
	Grup 1K	IA (μm^2) 11104,35 $\pm$ 1496,58 (9745,96 – 13641,67)
		MA (μm^2) 385149,78 $\pm$ 40308,65 (319114,48 – 428742,97)
		IMO 0,03063 $\pm$ 0,00476 (0,02 – 0,04)
		LA (μm^2) 414788,36 $\pm$ 62460,92 (381667,09 – 524359,47)
		LÇ (μm) 814,64 $\pm$ 43,37 (775,77 – 912,38)
N-Asetilsistein grubu	Grup 2	IA (μm^2) 39609,49 $\pm$ 35605,21 (15935,42 – 103145,05)
		MA (μm^2) 427934,75 $\pm$ 47598,48 (369186,93 – 520640,10)
		IMO 0,09797 $\pm$ 0,07270 (0,04 – 0,23)
		LA (μm^2) 419100,63 $\pm$ 40958,93 (371123,48 – 476936,54)
		LÇ (μm) 839,59 $\pm$ 41,05 (765,66-885,37)
	Grup 2K	IA (μm^2) 10451,6 $\pm$ 3242,67 (4454,22 – 13941,76)
		MA (μm^2) 357240,53 $\pm$ 114100,58 (323356,06 – 572869,61)
		IMO 0,02437 $\pm$ 0,00896 (0,01 – 0,04)
		LA (μm^2) 410808,02 $\pm$ 217288,52 (368840,62 – 843698,85)
		LÇ (μm) 1037,28 $\pm$ 139,31 (818,08 – 1237,53)

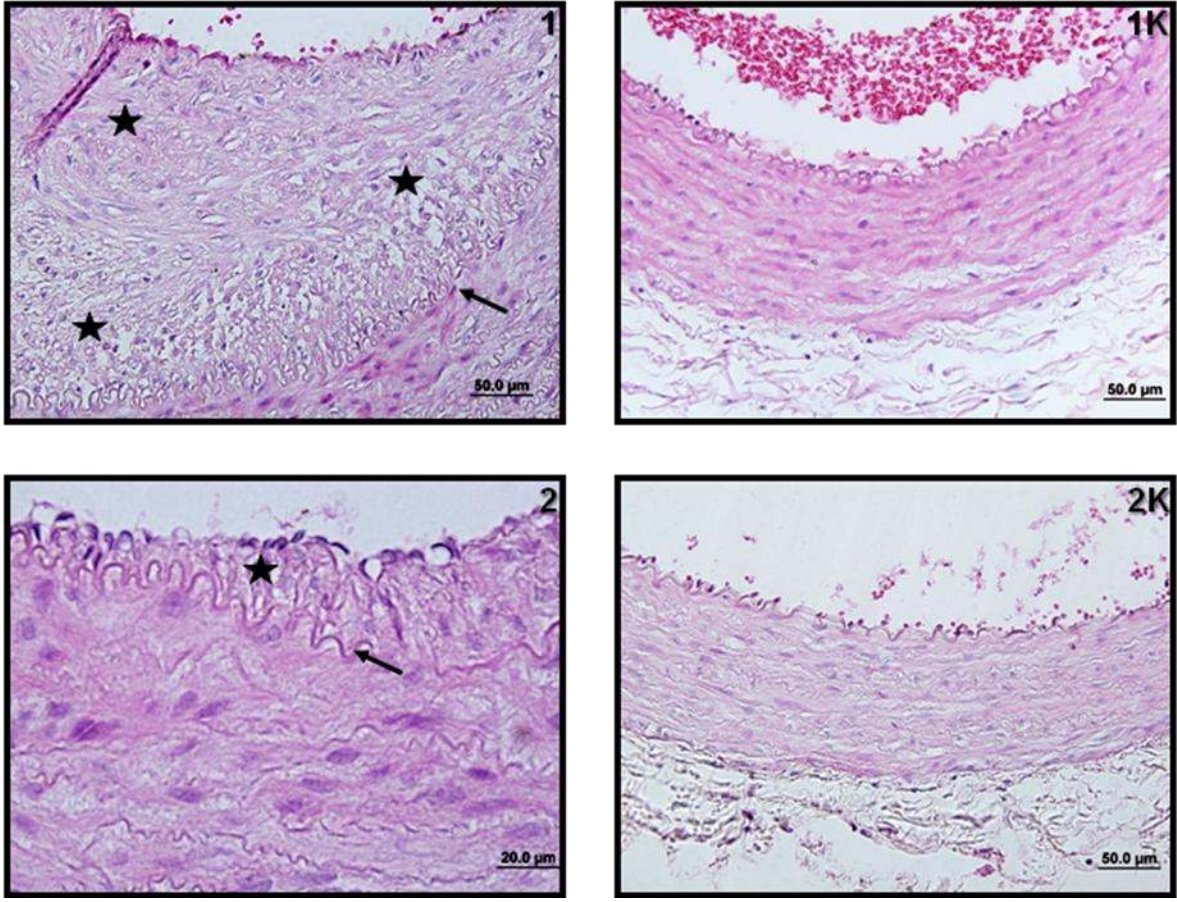
Kısaltmalar: IA: intima alanı, MA: media alanı, NAC: N-asetilsistein, IMO: intima-media oranı, LA: lümen alanı, LÇ: lümen çapı, SS: Standart sapma.



Şekil 10. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotis arter kesitlerinin histolojik görüntüsü. (1) Anastomoz yapılan ve NAC almayan gruba ait bir damar kesiti, (1K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf A.Carotis Communis grubuna ait damar kesiti. (2) Anastomoz yapılan ve NAC alan gruba ait bir damar kesiti, (2K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf karotid arter grubuna ait bir damar kesiti. (HE, x4)



Şekil 11. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotid arter kesitlerinin histolojik görüntüsü. (1) Anastomoz yapılan ve NAC almayan gruba ait bir damar kesiti, (1K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf karotid arter grubuna ait bir damar kesiti. (2) Anastomoz yapılan ve NAC alan gruba ait bir damar kesiti, (2K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf karotid arter grubuna ait bir damar kesiti. (→) İnternal Elastik Lamina, (★) İntimal Hiperplaziyi belirtmektedir. (HE, x10)

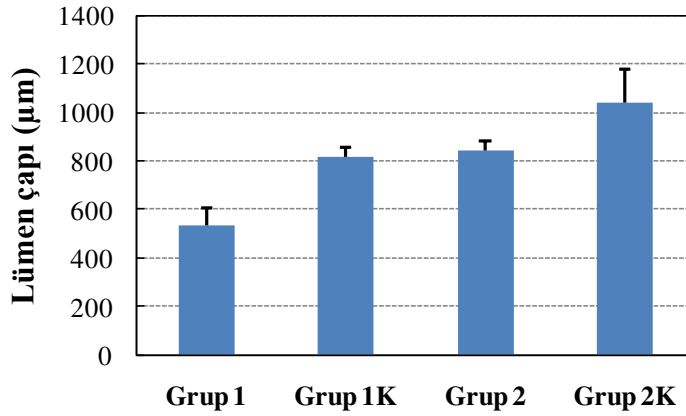


Şekil 12. Her iki grubun anastomoz yapılan ve yapılmayan karotis arter kesitlerinin histolojik görüntüsü. (1) Anastomoz yapılan ve NAC almayan gruba ait bir damar kesiti, (1K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf karotid arter grubuna ait bir damar kesiti. (2) Anastomoz yapılan ve NAC alan gruba ait bir damar kesiti, (2K) Cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf karotid arter grubuna ait bir damar kesiti. (→) İnternal Elastik Lamina, (★) İntimal Hiperplaziyi belirtmektedir. (HE, x40)

3.1 LÜMEN ÇAPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen çapı karşılaştırmasında (**Grafik 1**); Grup 1'in lümen çapı ortalama değeri $556,1029 \pm 73,26 \mu\text{m}$ (451,01-667,11), Grup 2'nin lümen çapı ortalama değeri $836,8329 \pm 41,05 \mu\text{m}$ (765,66-885,37) olarak tespit edilmiştir. Grup 1K'nın lümen çapı ortalama değeri $821,9529 \pm 43,37 \mu\text{m}$ (775,77-912,38) iken Grup 2K'nın lümen çapı ortalama değeri $1021,1543 \pm 139,31 \mu\text{m}$ (818,08-1237,53) olarak tespit edilmiştir.

Grafik 1. Grupların lümen çapı açısından karşılaştırılması.

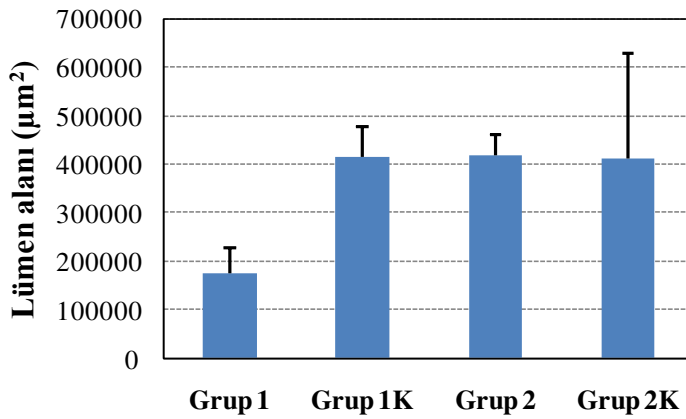


Grupların lümen çapı ortalama değerlerinin karşılaştırılması sonucu anlamlı fark saptanmıştır [$\chi^2=20,835$, $df=3$, $p<0,001$]. Alt grup analizinde; Grup 1 ile Grup 1K'nın karşılaştırılmasında lümen çapının Grup 1'de anlamlı olarak daha düşük olduğu [$z=-3,13$, $p=0,002$]; Grup 2 ile Grup 2K'nın karşılaştırılmasında lümen çapının Grup 2'de anlamlı olarak daha düşük olduğu [$z=-2,49$, $p=0,013$]; Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılmasında lümen çapının Grup 2'de anlamlı olarak daha fazla olduğu [$z=-3,13$, $p=0,002$] saptanmıştır. Kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında lümen çapının Grup 1K'da anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır [$z=-2,75$, $p=0,006$].

3.2 LÜMEN ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen alanı ortanca değerlerinin karşılaştırmasında (**Grafik 2**); Grup 1'in $176086,42 \pm 50279,17$ ($65034,87 - 217163,38$) μm^2 , Grup 1K'nın $414788,36 \pm 62460,92$ ($381667,09 - 524359,47$) μm^2 , Grup 2'nin $419100,63 \pm 40958,93$ ($371123,48 - 476936,54$) μm^2 ve Grup 2K'nın $410808,02 \pm 217288,52$ ($368840,62 - 843698,85$) μm^2 olarak hesaplanmıştır.

Grafik 2. Grupların lümen alanı açısından karşılaştırılması.

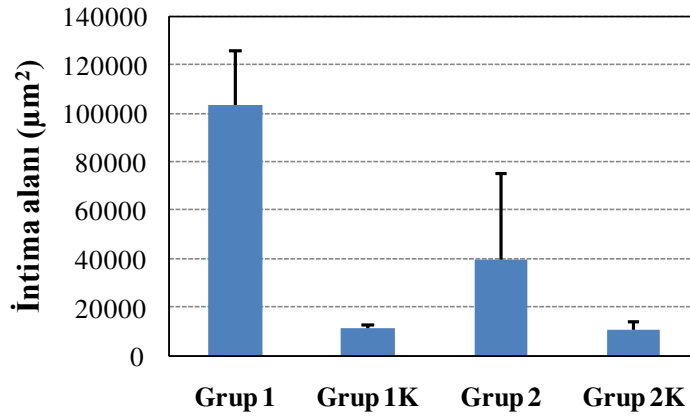


Grupların lümen alanı ortanca değerlerinin karşılaştırılması sonucu anlamlı fark saptanmıştır [$\chi^2=15,540$, $df=3$, $p=0,001$]. Alt grup analizinde; Grup 1 ile Grup 1K'nın karşılaştırılmasında lümen alanının Grup 1'de anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır [$z=-3,13$, $p=0,002$]. Grup 2 ile Grup 2K'nın karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmamıştır [$z=-2,49$, $p=0,75$]. Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılmasında lümen alanının Grup 2'de anlamlı olarak daha fazla olduğu [$z=-3,13$, $p=0,002$] saptanmıştır. Kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında lümen alanı açısından anlamlı fark saptanmamıştır [$z=-0,57$, $p=0,56$].

3.3 İNTİMA ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yapılan seri kesit incelemelerinde grupların intima alanı ortanca değerlerinin karşılaştırılmasında (**Grafik 3**); Grup 1'in $103086,3 \pm 22827,8308$ ($62258,28 - 134603,6$) μm^2 , Grup 1K'nın $11104,35 \pm 1496,58$ ($9745,96 - 13641,67$) μm^2 , Grup 2'nin $39609,49 \pm 35605,21$ ($15935,42 - 103145,05$) μm^2 ve Grup 2K'nın $10451,6 \pm 3242,67$ ($4454,22 - 13941,76$) μm^2 olarak hesaplanmıştır.

Grafik 3. Grupların intima alanı açısından karşılaştırılması.

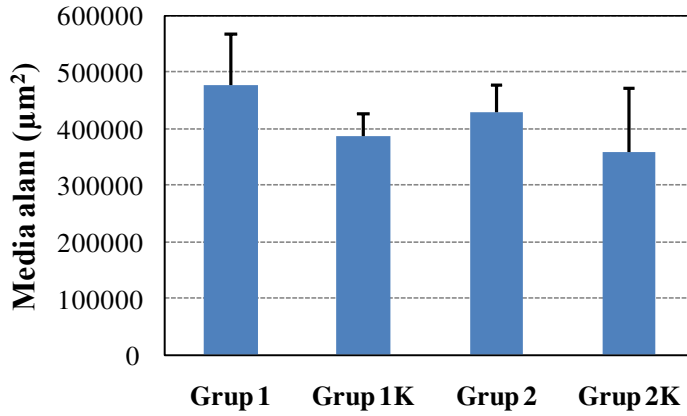


Grupların intima alanı ortanca değerlerinin karşılaştırılması sonucu anlamlı fark saptanmıştır [$\chi^2=22,12$, $df=3$, $p<0,001$]. Alt grup analizinde; Grup 1 ile Grup 1K'nın karşılaştırılmasında intima alanının Grup 1'de anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmıştır [$z=-3,13$, $p=0,002$]. Grup 2 ile Grup 2K'nın karşılaştırılmasında, Grup 2'nin intima alanının anlamlı olarak daha fazla olduğu saptanmamıştır [$z=-3,13$, $p=0,002$]. Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılmasında intima alanının Grup 2'de anlamlı olarak daha az olduğu [$z=-2,49$, $p=0,013$] saptanmıştır. Kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında intima alanı açısından anlamlı fark saptanmamıştır [$z=-0,96$, $p=0,34$].

3.4 MEDİA ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yapılan seri kesit incelemelerinde grupların media alanı ortanca değerlerinin karşılaştırmasında (**Grafik 4**); Grup 1'in $476242,4 \pm 91112,1901$ ($334794,20 - 573785,57$) μm^2 , Grup 1K'nın $385149,78 \pm 40308,65$ ($319114,48 - 428742,97$) μm^2 , Grup 2'nin $427934,75 \pm 47598,48$ ($369186,93 - 520640,10$) μm^2 ve Grup 2K'nın $357240,53 \pm 114100,58$ ($323356,06 - 572869,61$) μm^2 olarak hesaplanmıştır.

Grafik 4. Grupların media alanı açısından karşılaştırılması.

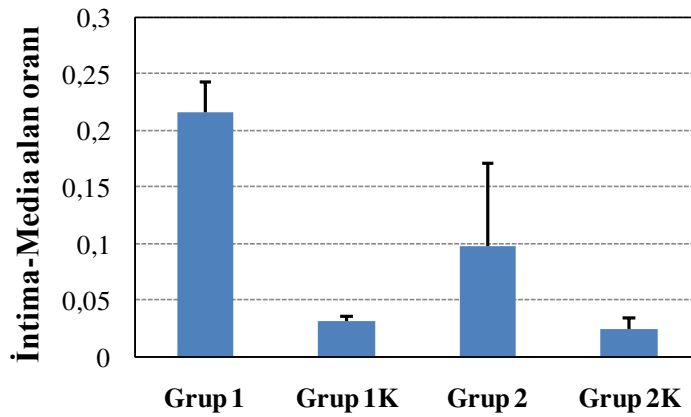


Grupların media alanı ortanca değerlerinin karşılaştırılması sonucu anlamlı fark saptanmıştır [$\chi^2=5,27$, $df=3$, $p=0,15$]. Alt grup analizinde; Grup 1'in media alanının Grup 1K ile karşılaştırıldığında daha fazla olduğu, ancak bu farkın anlamlı olmadığı saptanmıştır [$z=-1,85$, $p=0,064$]. Diğer alt grup analizlerinde de, Grup 2 ile Grup 2K [$z=-1,21$, $p=0,22$], Grup 1 ile Grup 2 [$z=-1,21$, $p=0,22$] ve Grup 1K ile Grup 2K [$z=-0,32$, $p=0,75$] anlamlı fark saptanmamıştır.

3.5 İNTİMA-MEDİA ALAN ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yapılan seri kesit incelemelerinde grupların intima-media alan oranlarının ortalama değerlerinin karşılaştırılmasında (**Grafik 5**); Grup 1'in $0,21645 \pm 0,02660$ (0,19 – 0,26), Grup 1K'nın $0,03063 \pm 0,00476$ (0,02 – 0,04), Grup 2'nin $0,09797 \pm 0,07270$ (0,04 – 0,23) ve Grup 2K'nın $0,02437 \pm 0,00896$ (0,01 – 0,04) olarak hesaplanmıştır.

Grafik 5. Grupların intima-media alan ortancaları açısından karşılaştırılması.



Grupların intima-media alanı oranlarının ortalama değerlerinin karşılaştırılması sonucu anlamlı fark saptanmıştır [$\chi^2=21,376$, $df=3$, $p<0,001$]. Alt grup analizinde; Grup 1 ile Grup 1K'nın karşılaştırılmasında intima-media alan oranının Grup 1'de anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır [$z=-3,13$, $p=0,002$]. Grup 2 ile Grup 2K'nın karşılaştırılmasında Grup 2'nin intima-media alan oranı anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır [$z=-3,003$, $p=0,003$]. Grup 1 ile Grup 2'nin karşılaştırılmasında intima-media alan oranının Grup 2'de anlamlı olarak daha düşük olduğu [$z=-2,236$, $p=0,025$] saptanmıştır. Kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında intima-media alan oranı açısından anlamlı fark saptanmamıştır [$z=-1,34$, $p=0,18$].

4. TARTIŞMA

Arteriyel rekonstrüksiyonun tüm formları, damar duvarının hasarını ve komşu normal doku hücreleri ile birlikte dolaşımdaki öncü hücreler tarafından oluşan hasarın onarımını içermektedir. İntimal hiperplazi (İH), bu iyileşme sürecinin temelini oluşturmakla birlikte sıklıkla, belirgin lüminal daralma ile cerrahi ve/veya girişimsel onarımın başarısızlığına neden olmaktadır. İntimal hiperplazi, tüm arteriyel girişimlerin %15-30'unu etkilemekle birlikte, hasara karşı oluşan bu cevabın kontrolüne yönelik geliştirilen yaklaşımlar, klinik olarak büyük öneme sahiptir⁴⁸.

Vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu restenoz gelişimi ve ateroskleroz oluşumunda öncü rol oynamaktadır¹⁵. İntimal hiperplazi, intimal alanda düz kas hücresi ve ekstrasellüler matriks birikimi ile karakterize, endotel tabakasının hasarına karşı bir cevap olarak gelişmektedir. Vasküler girişimler sonrası gelişebilen restenoz üzerinde İH ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır.

Revaskülarizasyon, tıkalı arter hastalıklarının tedavisinde oldukça sık ve yaygın olarak uygulanan yöntemlerden birisidir; ancak bu girişimlerin başarı oranları, İH'ye ikincil tromboz ve/veya stenoz gelişmesi nedeni ile beklenenden daha azdır⁴⁹. Damar hasarı sonucunda tamir ve remodeling nedeniyle düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu sonucu olarak neointimal hiperplazi gelişmektedir⁵⁰.

Rekonstrüktif vasküler girişimlerden sonra ani tıkanmaya yol açan akut trombüs oluşumundan farklı olarak, geç dönemdeki daralma ve tekrar eden tıkanıklıklarda düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu ile birlikte ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır⁵¹⁻⁵². Hayvan ve insanlarda yapılan arteriyel hasar modellerinde lümen daralmasının temel nedeni intima tabakasındaki düz kas hücre proliferasyonu ve konnektif doku birikiminin olduğu gösterilmiştir⁵³. Arteriyel hasarlanma sonrası hasar bölgesine trombosit göçü gerçekleşir⁵⁴. Adhezyon sonrası trombositler, granüllerindeki vazoaktif ve trombotik faktörler (Serotonin, ADP, Fibrinojen, von Willebrand Faktör) ile birlikte büyüme faktörlerini (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, Dönüştürücü büyüme faktörü, Epidermal büyüme faktörü) salgılar⁵⁵. Mitojenik özellikteki büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu başlatmaktadır⁵⁶⁻⁵⁷. Hasara cevap olarak media tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri intimaya göç ederek intimal

hiperplaziye neden olurlar⁵⁸. *Russel Ross ve ark'ları* tarafından öne sürülen ve halen yaygın kabul gören *hasara cevap hipotezi*'ne göre de intimal hiperplazi'yi başlatan mekanizmanın, hasar gören damar duvarına yapışan etkin trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan ve düz kas hücreleri proliferasyonunu uyaran büyüme faktörleri olduğu bildirilmektedir⁵⁹.

İntimal hiperplazi, tüm arteriyel girişimlerin %15-30'unu etkilemekle birlikte, hasara karşı oluşan bu cevabın kontrolüne yönelik geliştirilen yaklaşımlar, klinik olarak büyük öneme sahiptir⁴⁸. Bugüne kadar ister anastomoz sonrası ister PTCA veya stent sonrası olsun intimal hiperplazinin ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu amaçla intravasküler beta-gama radyasyon uygulaması (brakiterapi)⁶⁰⁻⁶¹, büyüme faktörü inhibitörleri, hücre döngüsü blokerleri (E2F decoyları⁶²⁻⁶³, C-myc antijeni⁶⁴), gen transferleri (VEGF⁶⁵ ve eNOS-iNOS genlerine transferler⁶⁶), adenozin reseptör agonistleri⁶⁷, immunsupresif ilaçlar (Rapamicin⁶⁸⁻⁶⁹, Rapamicin yani Sirolimus kaplı stentler⁷⁰⁻⁷³), kalsiyum kanal blokerleri, statinler⁷⁴⁻⁷⁵, aspirin⁷⁶⁻⁷⁷, iloprost⁷⁸, TxA2 reseptör antagonisti Daltroban⁷⁹, heparinler, ACE inhibitörleri, pentoksifilin⁸⁰, resveratrol⁸¹ gibi çeşitli ilaçlar denenmiştir.

Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-Sistein'in N-asetillenmiş türevine verilen isimdir. Asetilsistein, sahip olduğu nükleofilik serbest tiyol (-SH) grubu aracılığıyla, oksidan radikallerin elektrofilik grubuyla etkileşime girerek direkt antioksidan özellik göstermektedir. Moleküler yapısı nedeniyle hücre içine kolaylıkla giren N-Asetilsistein, burada deasetillenerek, L-sistein'e dönüşür. L-sistein bir glutatyon öncü molekülüdür ve glutatyon sentezini pozitif geri besleme ile artırmaktadır. Glutatyon ise, ekzojen veya endojen sitotoksik maddelerin ve oksidan radikallerin hücreye zarar vermesini önleyen, hücre bütünlüğünün ve işlevlerinin devamı için çok önemli bir endosellüler mekanizmada temel rolü olan, yüksek reaktivlikte bir tripeptittir. Bu yönüyle N-Asetilsistein hücreleri hasardan koruyacak düzeyde glutatyon yapımı için birincil derecede önem taşımaktadır. N-Asetilsistein, sülfidril grupları için kaynak teşkil etmektedir. Sülfidril gruplarının ise, serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi ile birlikte Nitrik oksit'in yarılanma ömrünün düzenlenmesini sağlaması gibi birçok biyolojik fonksiyonu vardır⁸². N-Asetilsistein, glutatyon sentezini tetiklemekte, aynı zamanda nitrogliserin aracılı koroner arter vazodilatasyonunu potansiyalize etmektedir⁸³. Aynı şekilde nitrogliserinin, trombosit agregasyonunu önlemeye yönelik etkisini potansiyelize etmektedir⁸⁴. NAC'nin vasküler düz kas hücrelerinin hücre döngüsünü ve proliferasyonunu

regüle ettiği gösterilmiştir. Hayvan modeli üzerinde yapılan bir çalışmada, köpük hücreleri denilen aterosklerotik plaklardaki makrofajlardan matrix metalloproteinazların salınımını azalttıkları ve böylelikle plak dengelenmesine katkıda bulunduğu gösterilmiřtir⁸⁵.

Mekanik hasara maruz kalan intimal tabakaya salınan birçok faktör mekanik hasar sonrası vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunu uyarır, bu faktörler; plateletlerden köken alan granüller⁸⁶, fibrinojen⁸⁷, lokal intramural trombin⁸⁸, faktör Xa⁸⁹ ve bu alana infiltre olmuş monosit ve makrofaj kökenli olan⁹⁰ ve aynı zamanda bu hücrelerin plazmalarından salınan diğer kemotaktik ve mitojenik faktörlerdir. Hayvanlardaki alışmalar arteriyel hasara cevap olarak oksidan salındığı kanıtını ve rejenere olan endotel hücrelerine lökositlerin adezyonunun regulasyonuna katkıda bulunduğunu gösterdi.

Bir redox duyarlı multisübünitli transkripsiyon kompleksi olan NF-kB'nın aktivasyonu yoluyla endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinin spesifik adezyon moleküllerinin upregulasyonu hasar sonrası vasküler hücre aktivasyonunu destekler⁹¹⁻⁹². Yapılan güncel alışmalar NAC'nin endotel ve düz kas hücresinde NF-kB aktivitesinin önemli bir regülatörü olduğunu gösterdi. NAC düz kas hücrelerinin hücre siklus progresyon ve proliferasyonunu düzenler ve endotel hücrelerinde antitrombotik ve antiplatelet aktivasyonunu potansiyelize eder⁹³.

Koroner angioplasti alanında lökosit ve trombosit aktivasyonu ile oluşan serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu vasküler inflamasyonun damar restenoz sürecinde temel bir rol oynar⁹⁴. Antioksidanlar bu inflamatuvar reaksiyonu baskılayarak neointima formasyonu ve vasküler remodellingi modifiye edebilir. Glutasyon oksidatif doku hasarında nükleofilik bir çöpçü ve antioksidan bir katalizör olarak rol oynar³⁰. Bu yüzden biyolojik yapı ve fonksiyonların korunmasında temel bir role sahiptir. İntrasellüler redükte glutasyonun endotelial hücrelerin serbest oksijen radikallerinden korunmasında önemli rolü vardır⁹⁵ ve koroner arterlere direkt infüze edildiği zaman Asetilkolin'e endotelial vazomotor cevabı arttırdığı gösterilmiřtir⁹⁶. Intravenöz NAC kullanımının glutasyon sentezini indükleme yeteneği sayesinde endotelial fonksiyonlar üzerinde glutasyonla benzer etkileri olduğu gösterilmiřtir⁹⁷.

Aterosklerozun gelişiminde hem doğal hem de adaptif bağışıklık sisteminin önemli rolü olduğu son yıllarda anlaşılmıřtır⁹⁸⁻¹⁰⁰. Doğal bağışıklık sistemi, mikroorganizma veya

patojenle karşılaştığında ortaya çıkan ilk enflamatuvar yanıttır. İmmün hücreler, yani T hücreleri, monositler, makrofajlar ve mast hücreleri, çeşitli dokuları (aterosklerotik arter dahil) dolaşarak antijen ararlar. T hücresi bir antijenle karşılaşp bağlandığında bir dizi sitokin salınarak enflamatuvar bir yanıt oluşur. Çöpçü (scavenger) ve toll-like reseptörler (TLR) aterotrombozda doğal bağışıklıktan sorumlu en önemli reseptörlerdir¹⁰¹. Doğal bağışıklık yanıtın ilk basamağında, çöpçü reseptörler okside LDL'yi hücre içine alarak makrofajın köpük hücresine dönüşmesine yol açar¹⁰². Ayrıca, bu yolak NF-kB nükleer transkripsiyonel faktörü aktive ederek, monosit migrasyonu ve makrofaj/köpük hücre oluşumuna yol açan çeşitli kemoatraktanları tetiklemektedir. Makrofaj/köpük hücreleri de sitokinler vasıtasıyla düz kas hücrelerinin aktivasyonuna, ve buna bağlı olarak da ekstrasellüler matriks ve fibrozise neden olmaktadır¹⁰³. Yapılan çalışmalar NAC'nin endotelial hücrelerde ve düz kas hücrelerinde NF-kB'nin önemli bir regülatörü olduğunu göstermiştir^{91, 104}. Ayrıca matrix metalloproteinazlarının köpük hücreleri denilen aterosklerotik plaklardaki makrofajlardan salınımını azalttıkları ve böylelikle plak stabilizasyonuna katkıda bulunduğı gösterilmiştir⁸⁵

Literatürde NAC ile ilgili endotelde balon hasarı yaratılarak yapılmış iki çalışma mevcut ancak bizim yaptığımız anastomoz çalışması balonla hasara göre daha major bir işlemdir. Balonla hasar yerine anastomoz tekniğı kullanılarak yapıldığı için intimal zedelenmenin daha fazla olduğı düşüncesindeyiz. Çünkü balon ile hasarda sadece intimal zedelenme oluştuğı halde; anastomoz yapılanlarda intima, media ve hatta intimal hiperplazinin etiyolojisinde üzerinde fazla durulmayan bir konu olan adventisyanın zedelenmesinin bile katkısı olduğunu düşünmekteyiz.

More ve ark'larının yaptıkları bir çalışmada, tavşanlarda balon injurisinden 3 gün sonra reendotelizasyonun başladığını ve 14. günde bu sürecin tamamlanarak eksantrik intimal kalınlaşma oluştuğunu rapor etmişlerdir. Ekstrasellüler matriks birikimine bağlı olarak 1. ayda intimal kalınlaşmanın maksimum seviyeye ulaştığı ve 3 ay içinde azalma olduğu tespit edilmiştir²⁰.

Ghigliotti ve ark'larının yaptıkları bir çalışmada tavşan abdominal aortasında balon injuri modelinden sonra NAC ve Heparin kıyaslanmış. Bu çalışmada NAC grubu 7, Heparin grubu 7 ve NAC+Heparin grubu 7 tavşan olarak ayrılmış. Girişimden hemen önce NAC 150 mg/kg/15dk IV infüzyonun ardından NAC suya 150 mg/kg/gün katılarak oral yolla uygulanmış. Çalışma öncesi ve sonrasında tavşanlardan alınan kan örneklerinde plazma total

kolesterol, trigliserid, fibrinojen, hematokrit, beyaz küre ve platelet sayılarında gruplar arasında fark saptanmamış. İnjurinin ardından NAC'nin düz kas hücre proliferasyonunda, intimal hiperplazide ciddi bir azalma sağladığı, vasküler remodellinge önemli derecede katkı sağladığı ve hasarlı aortanın neointimasına bağlanan trombosit ve prokoagulan faktörler üzerinden protrombotik aktivasyonu regüle etmede etkili olduğu saptanmıştır¹⁰⁵.

Jeremias ve ark'larının yaptıkları bir çalışmada tavşan iliak arterlerinde balon angioplasti ile endotelial hasar yaratıldıktan sonra verilen NAC'nin Glutasyon seviyelerinde anlamlı artış sağlamasına rağmen restenozda gruplar arası fark yaratmadığı, yine gruplar arasında inflamatuvar markerlarda da anlamlı fark oluşturmadığı saptanmış¹⁰⁶.

Mass ve ark'larının yaptıkları bir çalışmada bu kez tavşan karotid arterlerine uygulanan balon injuri modeli sonrası NAC uygulanan tavşanlarda inflamatuvar markerlarda, endotelial hasarda, trombus oluşumunda ve elastik lamina hasarında belirgin bir azalma saptanmış bu da NAC'nin mekanik damar hasarı sonrası oluşan inflamatuvar süreci baskılama potansiyelini göstermiştir¹⁰⁷.

N-Asetilsistein dozu konusunda daha önce yapılan çalışmalar^{105-106, 108-109} göz önüne alınarak 150 mg/kg/gün olarak belirlendi. Özellikle *Jeremias ve ark'larının* yaptıkları çalışmada 150 mg/kg/gün NAC dozunun serum glutasyon seviyelerini efektif düzeyde arttırdığı gösterilmiştir.

Yaptığımız istatistiklerde; Grup 1 ile Grup 2'nin lümen alanının karşılaştırılmasında Grup 2'de anlamlı olarak daha fazla [$z=-3,13$, $p=0,002$], kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında ise anlamlı fark olmadığı saptandı [$z=-0,57$, $p=0,56$]. Grup 1 ile Grup 2'nin intima alanının karşılaştırılmasında, Grup 2'de anlamlı olarak daha az olduğu [$z=-2,49$, $p=0,013$], kontrol gruplarının (Grup 1K ve Grup 2K) karşılaştırılmasında ise anlamlı fark olmadığı saptandı [$z=-0,96$, $p=0,34$]. Grup 1 ile Grup 2'nin intima-media alan oranının karşılaştırılmasında ise Grup 2'de anlamlı olarak daha düşük olduğu [$z=-2,236$, $p=0,025$] saptandı. Tüm bunların ışığında bizim çalışmamızda da NAC verilen anastomoz gruplarında lümen alanı, intima alanı ve intima/media alan oranında anlamlı bir düzelme sağlanmıştır, bulgular NAC'nin intimal hiperplaziyi önlemesi yönünden anlamlıdır.

NAC'nin bu etkiyi direkt antioksidan etkisi, glutatyon sentezini indüklemesi, NO'nin yarılanma ömrünü düzenlemesi, kemoatraktanların aktivitesini düzenleme yeteneği, NF-kB aktivitesinin regulasyonu, vasküler düz kas hücrelerinin çoğalma ve migrasyonunu regüle etme özelliği sayesinde yarattığını düşünmekteyiz^{91, 104, 110}.

Bu doğrultuda vasküler girişimler ve anastomoz sonrası NAC kullanımının intimal hiperplaziyi azaltarak ve vasküler remodellingi sağlayarak damarın açık kalma süresini arttıracakı düşüncesindeyiz.

5. KAYNAKLAR

1. Gartner L, Hiatt James, L. . Circulatuar system. Color Textbook of Histology. 2001;second edition:251-70.
2. Ross M. Circulatuar system. Circulatuar system In; Ross MH Histology A Text and Atlas. 1995;Third edition(Williams& Wilkins Maryland):302-14.
3. Paker Ş. Dolaşım sistemi. Paker Ş in Dolaşım sistemi Histoloji, Bursa,. 1990(Uludağ Üniversitesi Basımevi):516-25.
4. Cones M. Connective Tissue and stains. In; Bancroft J.D, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques. 2002;Fifth edition(Churchill Livingstone Toronto):125-63.
5. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature. 1980 Nov 27;288(5789):373-6.
6. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE, Jr., Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. N Engl J Med. 1990 Jul 5;323(1):22-7.
7. Kilbourn RG, Jubran A, Gross SS, Griffith OW, Levi R, Adams J, et al. Reversal of endotoxin-mediated shock by NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis. Biochem Biophys Res Commun. 1990 Nov 15;172(3):1132-8.
8. Michiels C. Endothelial cell functions. J Cell Physiol. 2003 Sep;196(3):430-43.
9. 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 Sep;16(9):1138-46.
10. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. Nature. 1995 Jul 6;376(6535):62-6.
11. Schiffrin EL. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. Am J Hypertens. 2001 Jun;14(6 Pt 2):83S-9S.
12. DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. Circulation. 2000 Sep 19;102(12):1351-7.
13. Verhaar MC, Wever RM, Kastelein JJ, van Loon D, Milstien S, Koomans HA, et al. Effects of oral folic acid supplementation on endothelial function in familial

- hypercholesterolemia. A randomized placebo-controlled trial. *Circulation*. 1999 Jul 27;100(4):335-8.
14. Zubilewicz T, Wronski J, Bourriez A, Terlecki P, Guinault AM, Muscatelli-Groux B, et al. Injury in vascular surgery--the intimal hyperplastic response. *Med Sci Monit*. 2001 Mar-Apr;7(2):316-24.
 15. Takahashi A, Taniguchi T, Ishikawa Y, Yokoyama M. Tranilast inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia by induction of p21(waf1/cip1/sdi1) and p53. *Circ Res*. 1999 Mar 19;84(5):543-50.
 16. Peyot ML, Gadeau AP, Dandre F, Belloc I, Dupuch F, Desgranges C. Extracellular adenosine induces apoptosis of human arterial smooth muscle cells via A(2b)-purinoceptor. *Circ Res*. 2000 Jan 7-21;86(1):76-85.
 17. Dubey RK, Gillespie DG, Osaka K, Suzuki F, Jackson EK. Adenosine inhibits growth of rat aortic smooth muscle cells. Possible role of A2b receptor. *Hypertension*. 1996 Mar;27(3 Pt 2):786-93.
 18. De Meyer GR, Bult H. Mechanisms of neointima formation--lessons from experimental models. *Vasc Med*. 1997;2(3):179-89.
 19. Clowes A. Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. Rutherford RB, ed *Vascular Surgery*. 1995:285-93.
 20. More RS, Rutty G, Underwood MJ, Brack MJ, Gershlick AH. A time sequence of vessel wall changes in an experimental model of angioplasty. *J Pathol*. 1994 Mar;172(3):287-92.
 21. Zou Y, Dietrich H, Hu Y, Metzler B, Wick G, Xu Q. Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1998 Oct;153(4):1301-10.
 22. Tiwari A, Cheng KS, Salacinski H, Hamilton G, Seifalian AM. Improving the patency of vascular bypass grafts: the role of suture materials and surgical techniques on reducing anastomotic compliance mismatch. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2003 Apr;25(4):287-95.
 23. Mason RA, Campbell R, Cassel W, Newton GB, Hui JC, Giron F. The early and late responses of the arterial wall to graft placement. *J Surg Res*. 1989 Nov;47(5):383-8.
 24. Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1986;31(2):217-22.
 25. Petty TL, Mitchell RS. Suppurative lung diseases. *Med Clin North Am*. 1967 Mar;51(2):529-40.

26. Chodosh S. Newer drugs in the treatment of chronic bronchitis. *Med Clin North Am*. 1967 Sep;51(5):1169-79.
27. Barbieri EJ. Mucolytics. *Am Fam Physician*. 1983 Aug;28(2):175-7.
28. Hirsch SR, Zastrow JE, Kory RC. Sputum liquefying agents: a comparative in vitro evaluation. *J Lab Clin Med*. 1969 Aug;74(2):346-53.
29. Harrison PM, Wendon JA, Gimson AE, Alexander GJ, Williams R. Improvement by acetylcysteine of hemodynamics and oxygen transport in fulminant hepatic failure. *N Engl J Med*. 1991 Jun 27;324(26):1852-7.
30. Ruffmann R, Wendel A. GSH rescue by N-acetylcysteine. *Klin Wochenschr*. 1991 Nov 15;69(18):857-62.
31. Bakker J, Zhang H, Depierreux M, van Asbeck S, Vincent JL. Effects of N-acetylcysteine in endotoxic shock. *J Crit Care*. 1994 Dec;9(4):236-43.
32. Blaustein A, Deneke SM, Stolz RI, Baxter D, Healey N, Fanburg BL. Myocardial glutathione depletion impairs recovery after short periods of ischemia. *Circulation*. 1989 Nov;80(5):1449-57.
33. Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Ferrari R, Albertini A, Visioli O. The role of glutathione status in the protection against ischaemic and reperfusion damage: effects of N-acetyl cysteine. *J Mol Cell Cardiol*. 1988 Jan;20(1):5-13.
34. Davies SW, Ranjadayalan K, Wickens DG, Dormandy TL, Umachandran V, Timmis AD. Free radical activity and left ventricular function after thrombolysis for acute infarction. *Br Heart J*. 1993 Feb;69(2):114-20.
35. Farb A, Kolodgie FD, Jenkins M, Virmani R. Myocardial infarct extension during reperfusion after coronary artery occlusion: pathologic evidence. *J Am Coll Cardiol*. 1993 Apr;21(5):1245-53.
36. Ferrari R, Alfieri O, Curello S, Ceconi C, Cargnoni A, Marzollo P, et al. Occurrence of oxidative stress during reperfusion of the human heart. *Circulation*. 1990 Jan;81(1):201-11.
37. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. *Lancet*. 1991 Sep 21;338(8769):732-6.
38. Grech ED, Dodd NJ, Bellamy CM, Perry RA, Morrison WL, Ramsdale DR. Free-radical generation during angioplasty reperfusion for acute myocardial infarction. *Lancet*. 1993 Apr 17;341(8851):990-1.

39. Henderson A, Hayes P. Acetylcysteine as a cytoprotective antioxidant in patients with severe sepsis: potential new use for an old drug. *Ann Pharmacother*. 1994 Sep;28(9):1086-8.
40. Kirshenbaum LA, Thomas TP, Randhawa AK, Singal PK. Time-course of cardiac myocyte injury due to oxidative stress. *Mol Cell Biochem*. 1992 Apr;111(1-2):25-31.
41. Rackow EC, Astiz ME. Pathophysiology and treatment of septic shock. *JAMA*. 1991 Jul 24-31;266(4):548-54.
42. Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B, et al. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001 Sep;281(3):R730-7.
43. Holt S, Goodier D, Marley R, Patch D, Burroughs A, Fernando B, et al. Improvement in renal function in hepatorenal syndrome with N-acetylcysteine. *Lancet*. 1999 Jan 23;353(9149):294-5.
44. Salom MG, Ramirez P, Carbonell LF, Lopez Conesa E, Cartagena J, Quesada T, et al. Protective effect of N-acetyl-L-cysteine on the renal failure induced by inferior vena cava occlusion. *Transplantation*. 1998 May 27;65(10):1315-21.
45. Shaikh ZA, Zaman K, Tang W, Vu T. Treatment of chronic cadmium nephrotoxicity by N-acetyl cysteine. *Toxicol Lett*. 1999 Jan 11;104(1-2):137-42.
46. Tariq M, Morais C, Sobki S, Al Sulaiman M, Al Khader A. N-acetylcysteine attenuates cyclosporin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant*. 1999 Apr;14(4):923-9.
47. Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N Engl J Med*. 2000 Jul 20;343(3):180-4.
48. Williams DO, Holubkov R, Yeh W, Bourassa MG, Al-Bassam M, Block PC, et al. Percutaneous coronary intervention in the current era compared with 1985-1986: the National Heart, Lung, and Blood Institute Registries. *Circulation*. 2000 Dec 12;102(24):2945-51.
49. Davies MG. Intimal hyperplasia: basic response to arterial and vein graft injury and reconstruction. In: Rutherford RB, editor. *Vascular Surgery*. 6 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 149-72.
50. Pauletto P, Sartore S, Pessina AC. Smooth-muscle-cell proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis. *Clin Sci (Lond)*. 1994 Nov;87(5):467-79.

51. Rekhter MD, Zhang K, Narayanan AS, Phan S, Schork MA, Gordon D. Type I collagen gene expression in human atherosclerosis. Localization to specific plaque regions. *Am J Pathol*. 1993 Dec;143(6):1634-48.
52. Bauriedel G, Windstetter U, DeMaio SJ, Jr., Kandolf R, Hofling B. Migratory activity of human smooth muscle cells cultivated from coronary and peripheral primary and restenotic lesions removed by percutaneous atherectomy. *Circulation*. 1992 Feb;85(2):554-64.
53. Galt SW, Zwolak RM, Wagner RJ, Gilbertson JJ. Differential response of arteries and vein grafts to blood flow reduction. *J Vasc Surg*. 1993 Mar;17(3):563-70.
54. Wilentz JR, Sanborn TA, Haudenschild CC, Valeri CR, Ryan TJ, Faxon DP. Platelet accumulation in experimental angioplasty: time course and relation to vascular injury. *Circulation*. 1987 Mar;75(3):636-42.
55. Kaplan AV, Leung LL, Leung WH, Grant GW, McDougall IR, Fischell TA. Roles of thrombin and platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa in platelet-subendothelial deposition after angioplasty in an ex vivo whole artery model. *Circulation*. 1991 Sep;84(3):1279-88.
56. Klagsbrun M, Edelman ER. Biological and biochemical properties of fibroblast growth factors. Implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Arteriosclerosis*. 1989 May-Jun;9(3):269-78.
57. Gospodarowicz D, Ferrara N, Schweigerer L, Neufeld G. Structural characterization and biological functions of fibroblast growth factor. *Endocr Rev*. 1987 May;8(2):95-114.
58. Bornfeldt KE, Raines EW, Graves LM, Skinner MP, Krebs EG, Ross R. Platelet-derived growth factor. Distinct signal transduction pathways associated with migration versus proliferation. *Ann N Y Acad Sci*. 1995 Sep 7;766:416-30.
59. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis--an update. *N Engl J Med*. 1986 Feb 20;314(8):488-500.
60. Leon MB, Teirstein PS, Moses JW, Tripuraneni P, Lansky AJ, Jani S, et al. Localized intracoronary gamma-radiation therapy to inhibit the recurrence of restenosis after stenting. *N Engl J Med*. 2001 Jan 25;344(4):250-6.
61. Waksman R, Raizner AE, Yeung AC, Lansky AJ, Vandertie L. Use of localised intracoronary beta radiation in treatment of in-stent restenosis: the INHIBIT randomised controlled trial. *Lancet*. 2002 Feb 16;359(9306):551-7.

62. Ehsan A, Mann MJ, Dell'Acqua G, Dzau VJ. Long-term stabilization of vein graft wall architecture and prolonged resistance to experimental atherosclerosis after E2F decoy oligonucleotide gene therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2001 Apr;121(4):714-22.
63. Mann MJ, Whittemore AD, Donaldson MC, Belkin M, Conte MS, Polak JF, et al. Ex-vivo gene therapy of human vascular bypass grafts with E2F decoy: the PREVENT single-centre, randomised, controlled trial. *Lancet.* 1999 Oct 30;354(9189):1493-8.
64. Kipshidze NN, Kim HS, Iversen P, Yazdi HA, Bhargava B, New G, et al. Intramural coronary delivery of advanced antisense oligonucleotides reduces neointimal formation in the porcine stent restenosis model. *J Am Coll Cardiol.* 2002 May 15;39(10):1686-91.
65. Hedman M, Hartikainen J, Syvanne M, Stjernvall J, Hedman A, Kivela A, et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT). *Circulation.* 2003 Jun 3;107(21):2677-83.
66. Petrofski JA, Hata JA, Gehrig TR, Hanish SI, Williams ML, Thompson RB, et al. Gene delivery to aortocoronary saphenous vein grafts in a large animal model of intimal hyperplasia. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2004 Jan;127(1):27-33.
67. Albayrak G. Tavşan karotid arterlerinde yapılan anastomozlarda adenozin maddesinin intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisinin araştırılması. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2006.
68. Marx SO, Jayaraman T, Go LO, Marks AR. Rapamycin-FKBP inhibits cell cycle regulators of proliferation in vascular smooth muscle cells. *Circ Res.* 1995 Mar;76(3):412-7.
69. Poon M, Marx SO, Gallo R, Badimon JJ, Taubman MB, Marks AR. Rapamycin inhibits vascular smooth muscle cell migration. *J Clin Invest.* 1996 Nov 15;98(10):2277-83.
70. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med.* 2003 Oct 2;349(14):1315-23.
71. Regar E, Serruys PW, Bode C, Holubarsch C, Guermontprez JL, Wijns W, et al. Angiographic findings of the multicenter Randomized Study With the Sirolimus-Eluting Bx Velocity Balloon-Expandable Stent (RAVEL): sirolimus-eluting stents inhibit restenosis irrespective of the vessel size. *Circulation.* 2002 Oct 8;106(15):1949-56.

72. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2001 Jan 16;103(2):192-5.
73. Sousa JE, Costa MA, Abizaid AC, Rensing BJ, Abizaid AS, Tanajura LF, et al. Sustained suppression of neointimal proliferation by sirolimus-eluting stents: one-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation*. 2001 Oct 23;104(17):2007-11.
74. Yucel S, Bahcivan M, Gol MK, Erenler BH, Kolbakir F, Keceligil HT. Reduced intimal hyperplasia in rabbits via medical therapy after carotid venous bypass. *Tex Heart Inst J*. 2009;36(5):387-92.
75. Aydin U, Ugurlucan M, Gungor F, Ziyade S, Inan B, Banach M, et al. Effects of atorvastatin on vascular intimal hyperplasia: an experimental rodent model. *Angiology*. 2009 Jun-Jul;60(3):370-7.
76. Kulik A, Le May MR, Voisine P, Tardif JC, Delarochelliere R, Naidoo S, et al. Aspirin plus clopidogrel versus aspirin alone after coronary artery bypass grafting: the clopidogrel after surgery for coronary artery disease (CASCADE) Trial. *Circulation*. 2010 Dec 21;122(25):2680-7.
77. Zimmermann N, Gams E, Hohlfeld T. Aspirin in coronary artery bypass surgery: new aspects of and alternatives for an old antithrombotic agent. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 Jul;34(1):93-108.
78. Heise M, Schmidmaier G, Husmann I, Heidenhain C, Schmidt J, Neuhaus P, et al. PEG-hirudin/iloprost coating of small diameter ePTFE grafts effectively prevents pseudointima and intimal hyperplasia development. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2006 Oct;32(4):418-24.
79. Levitt MA, Dryjski M, Tluczek J, Bjornsson TD. Evaluation of a prostacyclin analog, iloprost, and a thromboxane A2 receptor antagonist, daltroban, in experimental intimal hyperplasia. *Prostaglandins*. 1991 Jan;41(1):1-6.
80. Kavala A. Tavşan karotid arterlerinde yapılan anastomozlarda pentoksifilin maddesinin intimal hiperplazi ve endotelyal proliferasyon üzerindeki inhibitör etkisinin araştırılması [Experimental]. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi; 2009.

81. Karaarslan K. Tavşan Karotid Arterlerinde Yapılan Anastomozlarda Resveratrolun İntimal Hiperplazi ve Endotelial Proliferasyon Üzerindeki İnhibitör Etkisinin Araştırılması. İzmir: Dokuz Eylül; 2010.
82. Stamler JS, Slivka A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. *Nutr Rev.* 1996 Jan;54(1 Pt 1):1-30.
83. Winniford MD, Kennedy PL, Wells PJ, Hillis LD. Potentiation of nitroglycerin-induced coronary dilatation by N-acetylcysteine. *Circulation.* 1986 Jan;73(1):138-42.
84. Chirkov YY, Horowitz JD. N-Acetylcysteine potentiates nitroglycerin-induced reversal of platelet aggregation. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1996 Sep;28(3):375-80.
85. Galis ZS, Asanuma K, Godin D, Meng X. N-acetyl-cysteine decreases the matrix-degrading capacity of macrophage-derived foam cells: new target for antioxidant therapy? *Circulation.* 1998 Jun 23;97(24):2445-53.
86. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N Engl J Med.* 1992 Jan 23;326(4):242-50.
87. Gray AJ, Park PW, Broekelmann TJ, Laurent GJ, Reeves JT, Stenmark KR, et al. The mitogenic effects of the B beta chain of fibrinogen are mediated through cell surface calreticulin. *J Biol Chem.* 1995 Nov 3;270(44):26602-6.
88. Bar-Shavit R, Eldor A, Vlodavsky I. Binding of thrombin to subendothelial extracellular matrix. Protection and expression of functional properties. *J Clin Invest.* 1989 Oct;84(4):1096-104.
89. Gasic GP, Arenas CP, Gasic TB, Gasic GJ. Coagulation factors X, Xa, and protein S as potent mitogens of cultured aortic smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992 Mar 15;89(6):2317-20.
90. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. A special case of atherosclerosis progression. *Circulation.* 1992 Dec;86(6 Suppl):III47-52.
91. Gawaz M, Brand K, Dickfeld T, Pogatsa-Murray G, Page S, Bogner C, et al. Platelets induce alterations of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1-dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis.* 2000 Jan;148(1):75-85.
92. Tanaka H, Sukhova GK, Swanson SJ, Clinton SK, Ganz P, Cybulsky MI, et al. Sustained activation of vascular cells and leukocytes in the rabbit aorta after balloon injury. *Circulation.* 1993 Oct;88(4 Pt 1):1788-803.

93. Stamler J, Mendelsohn ME, Amarante P, Smick D, Andon N, Davies PF, et al. N-acetylcysteine potentiates platelet inhibition by endothelium-derived relaxing factor. *Circ Res*. 1989 Sep;65(3):789-95.
94. Ip JH, Fuster V, Israel D, Badimon L, Badimon J, Chesebro JH. The role of platelets, thrombin and hyperplasia in restenosis after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*. 1991 May;17(6 Suppl B):77B-88B.
95. Meister A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem*. 1994 Apr 1;269(13):9397-400.
96. Kugiyama K, Ohgushi M, Motoyama T, Hirashima O, Soejima H, Misumi K, et al. Intracoronary infusion of reduced glutathione improves endothelial vasomotor response to acetylcholine in human coronary circulation. *Circulation*. 1998 Jun 16;97(23):2299-301.
97. Nishikawa Y, Kanki H, Ogawa S. Differential effects of N-acetylcysteine on nitroglycerin- and nicorandil-induced vasodilation in human coronary circulation. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998 Jul;32(1):21-8.
98. Bodi V, Sanchis J, Nunez J, Mainar L, Minana G, Benet I, et al. Uncontrolled immune response in acute myocardial infarction: unraveling the thread. *Am Heart J*. 2008 Dec;156(6):1065-73.
99. Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res*. 2002 Aug 23;91(4):281-91.
100. Matsuura E, Kobayashi K, Lopez LR. Atherosclerosis in autoimmune diseases. *Curr Rheumatol Rep*. 2009 Feb;11(1):61-9.
101. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell*. 2002 Dec 27;111(7):927-30.
102. Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001 Dec;21(12):1876-90.
103. Libby P-B, RO. - Zipes, DP. - Mann, DL., editor. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 8th ed. Philadelphia; Edinburgh: Elsevier Saunders; 2008.
104. Bellas RE, Lee JS, Sonenshein GE. Expression of a constitutive NF-kappa B-like activity is essential for proliferation of cultured bovine vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1995 Nov;96(5):2521-7.

105. Ghigliotti G, Mereto E, Eisenberg PR, Martelli A, Orsi P, Sini D, et al. N-acetylcysteine reduces neointimal thickening and procoagulant activity after balloon-induced injury in abdominal aortae of New Zealand white rabbits. *Thromb Haemost.* 2001 Apr;85(4):724-9.
106. Jeremias A, Dusa C, Forudi F, Jacobsen DW, Vince DG, Nissen SE, et al. N-acetylcysteine in the prevention of vascular restenosis after percutaneous balloon angioplasty. *Int J Cardiol.* 2004 Jun;95(2-3):255-60.
107. Mass H, Pirazzi B, Gonzalez P, Collazo V, Fitzovich D, Avakian E. N-acetylcysteine diminishes injury induced by balloon angioplasty of the carotid artery in rabbits. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995 Oct 13;215(2):613-8.
108. Kingma JG, Jr., Rouleau JR. Effect of N-acetylcysteine on tissue necrosis during acute myocardial infarction in rabbits. *Can J Cardiol.* 1989 Sep;5(6):321-6.
109. Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Benlabed M, Buurman WA, Vincent JL. Protective effects of N-acetyl-L-cysteine in endotoxemia. *Am J Physiol.* 1994 May;266(5 Pt 2):H1746-54.
110. Lee JS, Kypreos KE, Sonenshein GE. Synchronization of cultured vascular smooth muscle cells following reversal of quiescence induced by treatment with the antioxidant N-acetylcysteine. *Exp Cell Res.* 1998 Mar 15;239(2):447-53.