

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

**TAVŞAN KAROTİD ARTERLERİNDE YAPILAN
ANASTOMOZLARDA SİLOSTAZOL
MADDESİNİN İNTİMAL HİPERPLAZİ VE
DÜZ KAS HÜCRE PROLİFERASYONU
ÜZERİNDEKİ İNHİBİTÖR ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. UĞUR KARAGÖZ

DANIŞMAN ÖĞRETİM GÖREVLİSİ: PROF. DR. A. CENK ERDAL

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan hocalarım Sayın Prof. Dr. Öztekin Oto, Sayın Prof. Dr. Eyüp Hazan, Sayın Prof. Dr. Baran Uğurlu, Sayın Prof. Dr. O. Nejat Sariosmanoğlu, Sayın Prof. Dr. Hüdai Çatalyürek, Sayın Prof. Dr. Özalp Karabay, Sayın Prof. Dr. Erdem Silistreli, Sayın Doç. Dr. S. Kıvanç Metin ve ayrıca tezimi yöneten, tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan Sayın hocam Prof. Dr. A. Cenk Erdal'a,

Tezimin gerçekleşmesinde büyük yardımlarını ve desteklerini gördüğüm fakültemiz Histoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Bekir Uğur Ergür'e,

Uzun, yorucu ve bir o kadar da zevkli geçen asistanlığım boyunca iyi ve kötü günlerimi paylaştığım asistan arkadaşlarıma, servis ve yoğun bakımımızın hemşire ve personellerine, ameliyathanemizin hemşire ve personellerine, poliklinik çalışanlarımıza;

Beni bugünüme getirene kadar her türlü zorluğa göğüs geren, sevgi ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme;

Asistanlık hayatım boyunca ona ayırabildiğim kısıtlı zamana rağmen; sonsuz sevgi ve desteğini benden hiç esirgemeyen, hayatı paylaştığım biricik eşim Sinem'e

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	1
İÇİNDEKİLER	2
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ	3
RESİM VE GRAFİK DİZİNİ	4
KISALTMALAR	5
ÖZET	7
İNGİLİZCE ÖZET	8
1. GENEL BİLGİLER	10
1.1. GİRİŞ VE AMAÇ	10
1.2. ARTER TİPLERİ VE HİSTOLOJİSİ	11
1.3. VASKÜLER ENDOTEL	15
1.4. SİLOSTAZOL	28
2. MATERYAL VE METOD	31
2.1. ÇALIŞMA PLANI	31
2.2. DENEY PROTOKOLÜ	32
2.3. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME	35
2.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM	35
3. BULGULAR	35
3.1. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME	36
4. SONUÇLAR	44
4.1. LÜMEN ÇAPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI	44
4.2. LÜMEN ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI	45
4.3. İNTİMA ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI	47
4.4. MEDİA ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI	49
4.5. İNTİMA/MEDİA ALAN ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI	50
5. TARTIŞMA	54
KAYNAKLAR	58

TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ

TABLO	SAYFA
1.1. Endotel hücresinde sentezlenen ve salgılanan biyoaktif maddeler	18
4.1. Ortalama Lümen Çapı Kontrol Grupları ile Karşılaştırılması	44
4.2. Ortalama Lümen Alanı Kontrol Grupları ile Karşılaştırması	46
4.3. Ortalama İntimal Alanın Kontrol Grupları ile Karşılaştırması	48
4.4. Ortalama Media Alanının Kontrol Grupları ile Karşılaştırması	49
4.5. İntima/ Media Alan Oranının Kontrol Grupları ile Karşılaştırılması	51
4.6. Histomorfometrik Değerlendirme	51
4.7. Kontrol Gruplarının Histomorfometrik Değerlendirmesi	52
ŞEKİL	
1.1. Damarın genel histolojik yapısı	14
1.2. Damar duvarının histolojik kesitinin	14
1.3. Damar endotelyum hücre iskeleti	17
1.4. Neointimal hiperplaziyi önlemede farmakolojik yollar	27
1.5. Silostazolun kimyasal yapısı	28

RESİM VE GRAFİK DİZİNİ

RESİM	SAYFA
2.1. Tavşan kulak arkası marginal veninden branül takılması	32
2.2. Tavşan sağ karotis arterinin eksplorasyonu	33
2.3. Karotis arterinin anastomoz öncesi buldog klemple oklüde edilmesi	33
2.4. Karotis arterinin transekte edilmiş görünümü	34
2.5. Karotis arterin anastomoz edilmesi	34
3.1. Lümen çapı ve lümen alanının ölçülmesi	36
3.2. Silostazol almayan Grup A grubuna ait histolojik kesitler. (H+E x2x4)	37
3.3. Silostazol almayan kontrol grubuna (Grup A) ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	38
3.4. Silostazol almayan anastomoz yapılan Grup A grubuna ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	39
3.5. 21 gün Silostazol alan (Grup B) gruba ait histolojik kesitler. (H+Ex2x4)	41
3.6. 21 gün Silostazol alan Grup B'ye ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	42
3.7. 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).	43
GRAFİK	
4.1. Ortalama lümen çaplarının karşılaştırılması	45
4.2. Ortalama lümen alanlarının karşılaştırılması	47
4.3. Ortalama intima alanlarının karşılaştırılması	48
4.4. Ortalama media alanlarının karşılaştırılması	50
4.5. İntima/media alan oranının karşılaştırılması	52

KISALTMALAR:

ADP	: Adenozin di fosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
c-AMP	: siklik AMP
b-FGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
TGF-beta	: Dönüştürücü büyüme faktör beta
PAS	: Periyodik asit shift
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
PGI₂	: Prostosiklin
PAF	: Trombosit aktive edici faktör
PAI	: Plazminojen aktivatör inhibitörü
TTPAI	: Ekstrinsik sistem inhibitörü
t-PA	: Doku plazminojen aktivatörü
H + E	: Hemotoksilen Eozin
TGF-P	: Dönüştürücü büyüme faktör P
IL	: İnterlökin
VSMC	: Damar düz kas hücresi
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentetaz
MMP	: Matriks metalloproteinaz
PTFE	: Politetrafloretilen
XDH	: Ksantin dehidrogenaz
XO	: Ksantin oksidaz
O₂⁻	: Süperoksit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit

LTB₄	: Lökotrien B ₄
HOCl	: Hipokloroz asit
MPO	: Miyeloperoksidaz
PLA₂	: Fosfolipaz A ₂
AA	: Araşidonik asit
COX	: Siklooksijenaz
PG	: Prostoglandin
TX	: Tromboksan
VCAM-1	: Vascular cell adhesion molecule
PF₄	: Trombosit-factor-4
SOD	: Süperoksit dismutaz
ROS	: Reaktif oksijen ürünleri
ONOO⁻	: Peroksinitrit
MIP-2	: Makrofaj inflamatuvar protein 2
MCP-1	: Monosit kemoatraktan protein 1
TNF-α	: Tumor Necrosis Factor- α
ET-1	: Endotelin-1
NMDA	: N-methyl-D-aspartate
cGMP	: Siklik gunaozin monofosfat
AT1	: Anjiotensin I reseptör alttipi
RAS	: Renin-Anjiotensin Sistemi
NFκB	: Nuclear factor κ B
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
ICAM-1	: Intercellular adhesion molecule-1
Tw	: Shear stres
Ahr	: Aril hidrokarbon reseptörü
μm	: Mikrometre
μm²	: Mikrometre kare

ÖZET:

Tavşan karotid arterinde yapılan anastomozlarda Silostazol maddesinin intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkisinin araştırılması.

Uğur Karagöz Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, İzmir.

Amaç: Vasküler girişimler sonrası gelişebilen restenoz üzerinde intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır. Tıkalıcı arter hastalıklarının tedavisinde rekonstruksiyon oldukça sık kullanılan girişimlerden biridir. Günümüzde bu tarz girişimlerin başarısı spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır [1,2]. Vasküler rekonstruktif girişimlerden sonra akut trombüs oluşumunun önemli bir rol oynadığı ani tıkanmanın tersine, geç dönemdeki daralma veya restenozda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır [1,3,5]. Hiperplazik intimal kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar, arteriyel injurilerin iyileşmesinin de karakteristik bir özelliğidir [3]. Bu yüzden biz de, tavşanlarda karotis arterinde yapılan anastomozda silostazolun intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerine etkisini araştırdık.

Materyal ve Metod: Çalışmamızda randomize olarak seçilen ortalama 2-3 kg ağırlığında 16 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar 2 gruba ayrıldı. Tüm gruplardaki tavşanlara uygun pozisyon verilerek, sağ vertikal boyun insizyonu yapıldı. Sağ karotis arterleri transekte edilerek 8/0 polipropilen sütür kullanılarak tek tek sütür tekniği ile anastomoz yapıldı. Grup A (8 adet) tavşanlara herhangi bir ilaç verilmedi. Grup B (8 adet) tavşanlara toplam 21 gün 30-50 mg/kg/gün dozunda günde 2 kez peroral olarak silostazol verildi. Tüm gruplardaki tavşanlar 21. günün sonunda anastomoz yapılan karotid arter segmenti ve karşı taraf karotid arter çıkartılarak incelenmek üzere histoloji laboratuvarına gönderildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopisinde incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler digital görüntü analiz programı ile incelenerek lümen çapı, lümen alanı, intimal alan, medial alan ve intima-media alanı oranı hesaplanarak sonuçlar değerlendirildi. Hazırlanan parafin dokulardan seri kesitler alındı. Bu seri kesitler fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) programı ile intima ve media alanları ölçülerek kesitler üç boyutlu hale getirildi.

Bulgular: Yapılan seri kesitlerde lümen çapı açısından Grup B'in ortalama lümen çapı Grup A'nın ortalama lümen çapından daha büyük bulunmuş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ($p=0.001$). Lümen alanı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in ortalama lümen alanı Grup A'dan daha geniş bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmıştır ($p=0.012$). Seri kesitler intima alanı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in ortalama intima alanı Grup A'dan daha az bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yaratmıştır ($p=0.001$). Media alanı açısından değerlendirildiğinde Grup B'in ortalama media alanı Grup A'dan daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı fark yaratmıştır ($p=0.006$). İntima / media alan oranı açısından seriler değerlendirildiğinde Grup A'nın ortalama intima/media oranı Grup B'den daha büyük bulunmuş olup bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$). Kontrol gruplarında lümen çapları, lümen alanları, intima alanları, media alanları ve intima / media alan oranları açısından istatistiksel olarak fark yoktur.

Sonuç: Silostazolun, vasküler girişimlerden sonra meydana gelen intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun engellenmesinde yararlı bir ajan olarak kullanılabileceğidir.

Anahtar Kelimeler: Silostazol, İntimal hiperplazi, Düz kas hücre proliferasyonu, Anastamoz, Tavşan.

SUMMARY:

The aim of this study is to assess inhibiting effect of cilostazol on intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation at the anastomosis site performed in rabbit carotid artery.

Uğur Karagöz, Department of Cardiovascular Surgery, School of Medicine, Dokuz Eylul University, Izmir, Turkey

Objective: Intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation play an important role on the restenosis after the vascular interventions. Reconstruction is one of the most common intervention in the management of the obstructing artery diseases. Recently, the success of these kind of interventions are under expectations because of spontaneous thrombosis or restenosis. After vascular reconstructive interventions unlikely the acute obstruction in which acute thrombosis is important at the late stage intimal hyperplasia caused by smooth muscle cell migration, proliferation and extracellular matrix deposition play an important role in

narrowing or restenosis. Hyperplastic intimal thickening is not only an adaptive progress against the hemodynamic stress but also a characteristic of arterial injury healing. We assess the effect of cilostazol on intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation at anastomosis performed in rabbit carotid artery.

Materials and Method: In this study we planned to use 16 randomized New Zealand male rabbit weights 2 to 3 kilograms. Rabbits were separated to 2 groups. A vertical neck incision was made in an appropriate position to all group rabbits and carotid artery was dissected. The same artery transected and using 8/0 polypropylene an anastomosis was performed with by one by technique. Group A rabbits (8) assigned as control group. No medication was given to this group. Cilostazol was administrated to group B(8) 30-50 mgr/kg/day twice a day peroral during 21 days. At the end of the day 21 the anostomosis performed carotid artery segments and the contralateral carotid artery of all rabbits were sent to histology laboratory to analyze. The preperations were examined under light microscope. Images were analyzed via digital image analyze program and lumen diamater, lumen area, intimal area, medial area and intima-media area ratio were estimated and results were evaluated. Serial cross-sections taken from paraffin tissues were photographed and transferred to computer environment. Intimal and medial areas were measured and the sections were three dimensioned via Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) program.

Findings: In the serial sections the average lumen diamater of group B was found higher than the group A and this difference was statically significant between group B and group A. The lumen area of group B was found higher than the group A and this difference was significant between group B and group A. When the section series were evaluated for area of intima of group B was lesser than group A and the difference was statically significant between group B and group A. The evaluation of medial area of group B was higher than group A and the difference was statically significant between group B and group A. The evaluation of intima /media area ratio showed that it was higher in group A compared with group B and the difference was significant. No statistical significance was observed between control groups with regards to luminal diameter, luminal area, intimal area, medial area and ratio of the areas of intima to media.

Conclusion: Cilostazol may be a beneficial agent for preventing intimal hyperplasia and smooth muscle cell proliferation after the vascular surgery.

Key words: Cilostazol, intimal hyperplasia, smooth muscle cell proliferation, anastomosis, rabbit.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. GİRİŞ ve AMAÇ

Restenoz oluşumunda intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonunun büyük etkisi vardır. Bypass greftleme, tıkalı arter hastalıklarının tedavisinde sık kullanılan girişimlerdir. Bu tarz girişimlerin başarısı, spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır [1]. Damar yaralanması patolojik tamir ve remodelinge neden olur, bu da düz kas hücre migrasyonu ve proliferasyonu sonucu olarak neointimal hiperplazi olarak sonuçlanır [2]. Yaralanan kan damarında patolojik tamirde endotel hücre kaybı majör katkısı olan faktördür [3]. Sonuç olan neointimal hiperplazi anjioplasti, stent ve bypass greftleme gibi revaskülarizasyon işlemleri sonrası restenozun patolojik temelidir [2,3]. Hayvan ve insanlarda yapılan arteriyel hasar modellerinde lümen daralmasının temel nedeninin intimaldaki düz kas hücre proliferasyonu ve konnektif doku birikiminin olduğu gösterilmiştir [4]. Arteriyel hasar oluştuktan sonra, bu bölge trombositlerle kaplanır. Adhezyon sonrası trombositler granüllerindeki vazoaaktif ve trombotik faktörleri (Serotonin, ADP, Fibrinojen, von Willebrand Faktör) ve ayrıca büyüme faktörlerini (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, Dönüştürücü büyüme faktörü, Epidermal büyüme faktör) salgılar [5]. Mitojenik özellikteki büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu başlatırlar. Hasara cevap olarak media tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri, intimala göç ederek intimal hiperplaziye neden olurlar. Russel Ross tarafından öne sürülen ve halen yaygın kabul gören yaralanmaya cevap (response-to-injury) hipotezine göre de intimal kalınlaşmayı başlatan mekanizma, hasar gören damar duvarına yapışan aktive trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan, düz kas hücreleri proliferasyonunu uyaran büyüme faktörleridir [5].

Silostazol 2-oksokinolon türevidir; protein kinaz A(PKA)'yı aktive eden ve intraselüler siklik adenosin monofosfat(cAMP) düzeylerini arttıran fosfodiesteraz 3 enziminin selektif inhibitörüdür. Yapılan hayvan çalışmalarında görülmüştür ki; silostazol trombosit kaynaklı büyüme faktörünün(PDGF) uyardığı vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe etmektedir. [6]. Biz de silostazolun bu etkisinden yola çıkarak tavşan karotid arterinde yapılan

anastamozlarda intimal hiperplazi ve düz kas hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

1.2. 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.

a)Elastik (Büyük Boy-İletici) Arterler: Çapları en büyük olan bu arterlerde elastik doku çoğunlukta olup aorta, pulmoner arter gibi 7mm 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. Diyastolde, elastik sıkışma arteriyel basıncı düzenler. Kalpten uzaklaştıkça arter basıncı akım hızı, basınç değişkenlikleri azalır.

Tunika intima: Tek katlı yassı hücrelerden oluşan endothelium 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. T.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: Yaşla birlikte sayısı artan konsantrik yerleşimli 40-70 elastik lamina bulunur. Laminalar arasında pencere adı verilen açıklıklar bulunur. Elastik membranlar

arasında düz kas, retiküler lifler, vaso vasorumlar ve kondroitin sülfat (metakromazi +) bulunur. Belirgin bir membrana elastica eksterna yoktur.

Tunika adventisya: Oldukça incedir 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.

b)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 dışa doğru tabakalar aşağıdaki tarzda sıralanır (Şekil 1.1, 1.2):

Tunika intima: Elastik arterlere göre daha incedir fakat subendotelyal tabaka az sayıda düz kas hücresi bulunurken membrana elastica interna çok belirgindir. Pencereleli 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 inanılır [7].

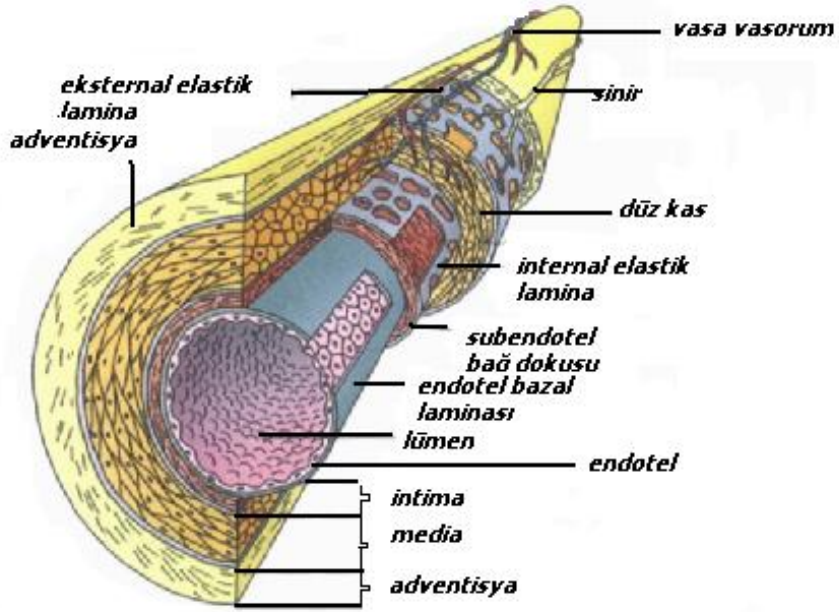
Tunika media: Başlıca düz kas hücrelerinden oluşur. Düz kas hücreleri iç organ duvarındaki düz kaslardan daha küçüktür. İntimaya bakan yüzdeki birkaç düz kas bantı longitudinal seyirlidir. Küçük muskuler arterlerde 3-4 tabaka düz kas varken büyük muskuler arterlerde 40 tabaka konsantrik yerleşimli düz 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 alır [8].

Tunika adventisya: Bağ dokusu fibrilleri, fibroblastlar, yağ hücreleri, vaso vasorumlar, lenfatik damarlar, miyelinsiz sinir sonlanmaları yer alır. Sinir sonlanmalarından salınan

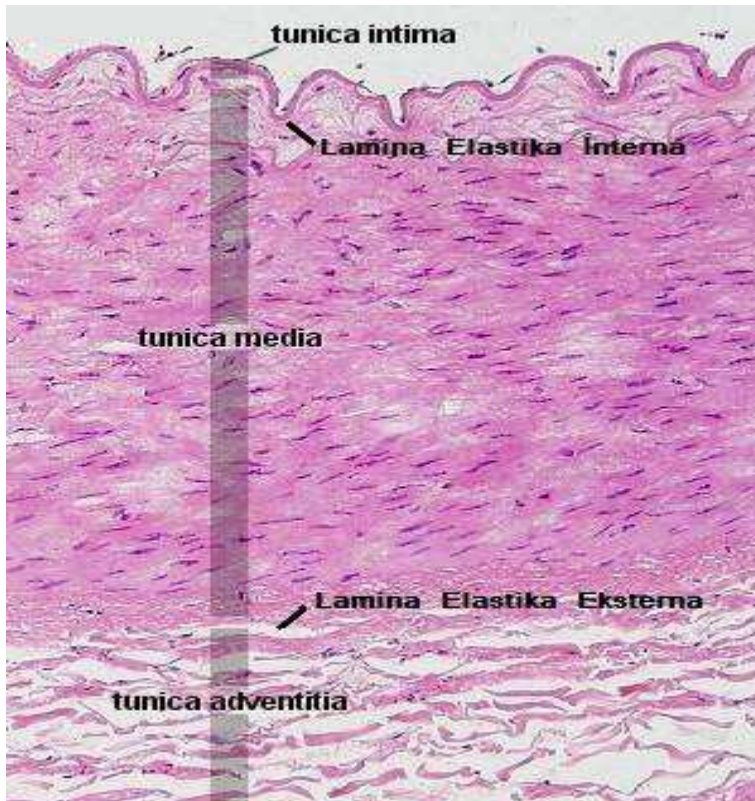
nörotransmitterler dış elastik membranın pencerelerinden geçerek mediaya gelerek üstteki bazı düz kas hücrelerini depolarize ederler. Uyarı diğer düz kas hücrelerine gap-junctionlarla aktarılır. Vasomotor sinirler yer alır. Ara madde çoğunlukla dermatan sülfat ve heparan sülfattan oluşur. Kollajen ve elastik lifler, kesilen arterin büzülmesini kolaylaştıracak şekilde longitudinal seyirlidir [8].

c)Küçük Çaplı Arterler ve Arterioller: Çapları 100 mikrometreden az olan arterlerin tunika intiması endotel ve membrana elastika internadan 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 bulunmaz. Çapı genellikle 0,5mm'den dar, lümenlerinin çapı kadar duvar genişliği olan arteriyoller, kapiller ağdaki kan akımını kontrol eden önemli damarlardır. Düz kasları kesintilidir. Arteriyolden kapillerin ayrıldığı yerde arteriyol duvarındaki düz kaslarda hafif bir kalınlaşma, prekapiller sfinkteri oluşturur. Bu sfinkterin kasılması kapillere kan geçişini engeller.

Arterioller kapillerlere kan akışını düzenleyen terminal arteriyal damarlardır. Endotel, tip III kollajen ve birkaç elastik lif içeren subendotelyal bağ dokusu ile desteklenir. Büyük arteriyollerde ince ve pencereci internal elastik membran yer alırken daha küçük ve terminal arteriyollerde bulunmaz. Küçük arteriyollerde tek düz kas tabakası varken büyük arteriyollerde 2-3 kat düz kas tabakası bulunur. Adventisya tabakası az sayıda fibroblast içeren ince fibroelastik bağ dokusudur [8, 9].



Şekil 1.1. Damarın genel histolojik yapısı.



Şekil 1.2. Damar duvarının histolojik kesitinin mikroskopik görünümü (H+E x 20).

1.3. VASKÜLER ENDOTEL:

Normal endotel bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir skuamoz epitel tabakasıdır. Kan ve interstisyel dokular arasındaki stratejik yerleşiminden dolayı endotelin intravasküler ve ekstrasvasküler olayları düzenleyici bir rolü vardır. Normal endotel kan akımına karşı hem tromborezistan bir yüzey görevi görürken hem de kan ve damar duvarı arasında makromoleküler bir bariyer görevi görür. Vasküler endotel sanıldığı gibi dokularla kan arasında basit bir engel değil tam tersine salgıladığı mediatörlerle vasküler tonusu, kan pıhtılaşmasını, hücre proliferasyonunu, inflamasyonu, damar geçirgenliğini düzenleyen ve vücudun her tarafına yayılmış bir organ olarak kabul edilir.

Endotel hücreleri 10-15 μm^2 genişliğinde, 20-25 μm uzunluğunda olup, uzamış nükleuslara sahip hücrelerdir. Endotel, damar uzun eksenini boyunca bir bazal lamina üzerinde yan yana dizilerek tekli bir tabaka oluşturan, poligonal hücrelerden oluşmuştur. Endotel hücrelerinin yüzeylerinde bazen mikrovilllus, bazen de kıvrımlar şeklinde uzantıların bulunması işlevsel yüzey alanını artırmaktadır. Yetişkin bir insanda endotelin kapladığı ortalama alan 6000 m^2 ve ağırlığı 2,5 kg civarındadır. Endotel hücreleri birbirlerine iki tipte bağlantı yaparlar [10, 11]:

1. Sıkı bağlantı birimleri (Tight Junction)
2. Aralıklı bağlantı birimleri (Gap Junction)

Sıkı bağlantı birimleri intrasellüler aralık boyunca permabilite kontrolünü sağlarken, aralıklı bağlantı birimleri ise hücreler arası etkileşmeyi gerçekleştirir. Bu bağlantılar her damarın işlevine göre farklı oranda bulunurlar. Örneğin; arteriollerde kuvvetli bağlantılar, venüllerde ise daha gevşek bağlantılar bulunmaktadır. Endotel hücrelerinin birbirine aralıklı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde subendotele geçirgenlik fazladır. Sıkı bağlantı birimleri ile bağlandığı yerlerde ise, geçirgenlik endotel hücre membranı tarafından kontrol edilmektedir. Endotel hücrelerinin farklı vasküler yataklarda farklı karakteristikler göstermesi, bazı işlevsel birimlerin oluşmasına neden olmaktadır. Örneğin; serebral damarlarda sıkı bağlantı birimleri kan beyin bariyerini oluşturmaktadır. Endotel hücre katmanı, kan ile dokular arasında selektif bir bariyer oluşturmaktadır [10, 12].

Büyük arterleri, venleri, kapilleri ve lenf yüzeyini döşeyen endotel hücrelerinde önemli yapısal ve işlevsel farklılıklar olmasına karşın temel fonksiyonları benzerlik göstermektedir. Bu hücrelerin vasküler lümene ve düz kas dokusuna bakan yüzeyleri de birbirinden farklıdır. Lümene bakan yüzeyleri, ince bir proteoglikan (Dermatansülfat, Heparansülfat, Heparin)

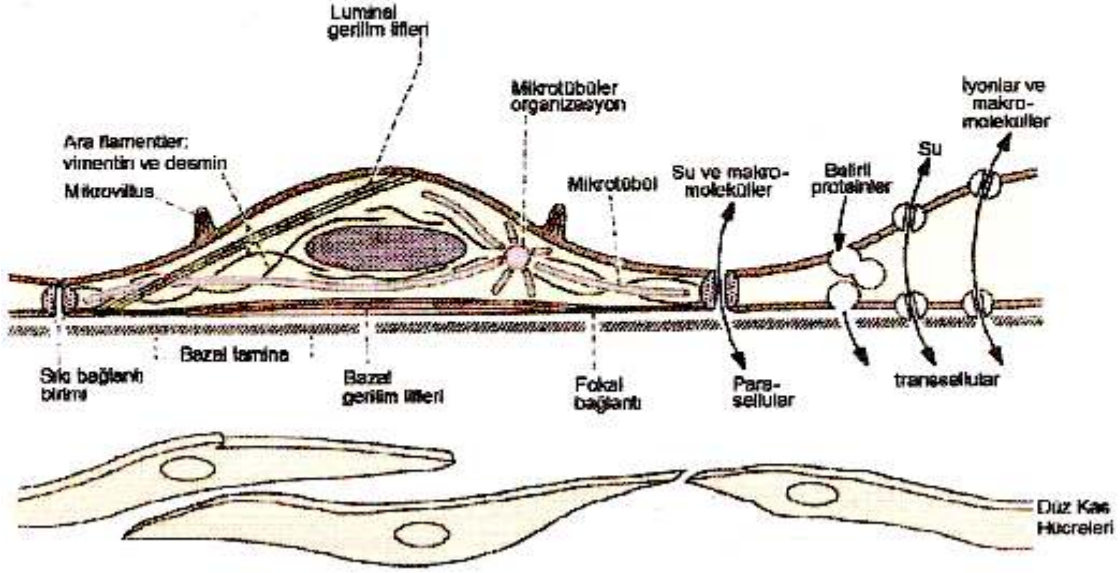
tabaka oluşturur. Endotel hücreleri tarafından sentez edilen bu proteoglikanlar antitrombotik yüzeyi oluşturmaktadır [10].

Endotelyumun altında iyi gelişmiş endoplazmik retikuluma sahip düz kas hücrelerinden oluşan bir neointimanın varlığı saptanmıştır. Neointimanın hücreler arası boşluklarının proteoglikan ve bazal lamina benzeri maddeler içerdiği gözlemlenmiştir. F-aktin için yapılan boyama intimal düz kas hücrelerinin, mediadaki sirküler düz kas hücrelerine dik ve endotel hücreleri ile aynı yönde uzandığını ortaya koymuştur [11, 13]. Hücresel iskelet endotel hücrelerinin biçimlerini korumada önemli rol oynar (şekil 1.3). Ultrastrüktürel incelemeler endotel hücre iskeletinin üç farklı tipte sitoplazmik liflerden oluştuğunu göstermiştir.

Bunlar:

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

Bütün bu lifler hücreye biçim veren dinamik bir çatıyı oluşturmakla beraber hücrenin üç boyutlu yapısında hızlı değişmelere de olanak vermektedir. Endotelyumu oluşturan hücrelerin yapısı ve dış etkilere karşı reorganize olma yeteneği, onun endotel bütünlüğünün devam ettilmesinde kritik ve önemli görevlere sahip olduğunu göstermektedir [14, 15].



Şekil 1.3. Damar endotelium hücre iskeleti.

1.3.1. Endotelium hücre fonksiyonları:

Endotel hücreleri, salgıladıkları medyatörler ile koagülasyonu, fibrinolizisi, damar tonusunu, dolayısıyla kan akışı ve kan basıncını etkileyip çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan aktif hücrelerdir [16].

Endotelium hücre fonksiyonlarını beş bölüm altında özetleyebiliriz [13];

1. Kontrol edilemeyen makromoleküllü protein ve lipoproteinlerin çevre dokuya infiltrasyonuna karşı seçici bariyer görevi görmesi.
2. Dolaşımda bulunan lipoproteinlerin metabolizmasına katılıp, subendotelial bölgeye geçecek lipoproteinlerin tipine karar vermesi.
3. Trombosit agregasyonu ve trombolizi önlemek
4. Gevşetici ve kastırıcı maddeler salarak vasküler tonusun düzenlenmesine katkıda bulunmak.
5. İmmünkompetan hücrelerle birlikte savunma mekanizmalarına katılma görevi.

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

Gaz geçirgenliği oldukça fazla olan endotel katmanının sıvı geçirgenliği ise oldukça azdır. Fizyolojik koşullarda solunum gazları, su, glikoz, yağ asitleri, aminoasitler ve aterojenik olmayan küçük lipoprotein molekülleri arter endotelinden geçerler. Makromoleküller, intrasellüler taşıyıcı vezikülleri ile geçer. Bunun için endotel membranında transendotelyal kanallar mevcuttur.

Endotel hücresi bulunduğu yere göre değişik yapı ve etkide hemostaz vazoaktivite immun reaksiyon ve iltihabi olaylarda görev alır. Bu görevleri ile ilgili çok sayıda medyatör salgılayıp sentezlemektedir. 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 düzenlenmektedir (Tablo 1.1.) [17, 18].

Tablo 1.1. Endotel hücresinde sentezlenen ve salgılanan biyoaktif maddeler.

VAZOAKTİF PROTEİNLER • Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör [(EDRF (NO))] • Endotelin • Proktasiklin (PGI₂)	BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE STOKİNLER • Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF) • Granülosit-Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör • Platelet Aktive Edici Faktör (PAF) • İnterlökin 1, 6, 8 • Trombosit Büyüme Faktörü (TGF)
PROKOAGÜLANLAR • Plazminojen Aktivatör İnhibitörü (PAI) (PAI₁, PAI₂, PAI₃ ve Proteaz Neksin) • Fibronektin • F IX Bağlayıcı Protein • F V ve F XII Aktivatörü	ANTİTOMBOTİK VE ANTİKOAGÜLAN FAKTÖRLER • Doku Plasminojen Aktivatörü (t-PA) • Trombomodulin • Protein – S • EDRF (NO) • Ekstrinsik Sistem İnhibitörü (TTPAI) • Antitrombin III • PGI-2

1.3.2. Endotel hücre hasarına damarın yanıtı:

Endotel hücreleri vasküler tonusu kontrol eden pek çok vazoaaktif maddeler salgılamaktadır. Bu hücreler, gerek lümen içi basınç ve sürtünmedeki değişikliklerden, gerekse kanın şekilli elemanlarından kaynaklanan uyarılar ile vazokonstriktör veya vasodilatasyon şeklinde dengeli bir cevabı intakt endotelde oluşturlarken, aterosklerotik bir damarda bir dizi fizyopatolojik olayın gelişmesine yol açarlar. Arter duvarında iki tip hasar meydana gelir. Birincisi mekanik hasardır. Arterin diseksiyonu, sütürasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi sonrası meydana gelir. İkicisi ise arteriel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülür (Sentetik greftler, stentler, otolog ven greftleri) [19].

Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Endotel hasarına intimanın 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, endotelin antikoagülan özelliğinde bozulma, lümende daralma sonucu, kan akımı azalmakta ve bazı vakalarda tromboz oluşabilmektedir [20].

Arteriyel hasara intimal yanıt üç aşamada oluşur. İlk 24 saat içindeki reaksiyon mediada düz kas hücre proliferasyonudur. Endotel hasarı ile birlikte trombositler damar duvarına yapışmakta ve giderek çoğalmaktadır. Damar duvarına yapışan aktive olmuş trombositlerden büyüme faktörleri gibi mitogenler salgılanmakta bu da düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonuna neden olmaktadır. İkinci aşama 3-14 gün sonra başlar ve böylece neointima şekillenir. Neointima bir kez oluşunca düz kas hücreleri ile hızla ve lümeni daraltacak bir tabaka oluşması ise 3. aşamada olur [21, 22].

Media tabakasında düz kas hücre proliferasyonu ve intimaya migrasyonunun iki farklı büyüme faktörü tarafından tetiklendiği gösterilmiştir. Bunlar temel fibroblast büyüme faktörü (basic fibroblast growth factor; bFGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (platelet derived growth factor; PDGF)'dür. bFGF hasarlanmış düz kas hücrelerinden ve endotel hücrelerinden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonunu regüle eder. PDGF ise trombosit ve vasküler hücrelerden salgılanır, düz kas hücre proliferasyonu ve migrasyonunu sağlar [21].

Düz kas hücresinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımında bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimule eder. Normal damarda NO, Adenozin, gibi büyüme inhibitörleri; PDGF, FGF, insülin benzeri büyüme faktörü, TGF-beta, anjiotensin 2 ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması düz kas hücre proliferasyonuna neden olur. Düz kas hücrelerinin anormal büyümesinin, büyüme faktörleri üretiminde artma veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir [23].

İntimaya ulaşabilen hücrelerin sayısı hasar sonrası mediada sağ kalabilen hücre sayısı ile ilişkilidir. Normalde hücreler, arteriel ekstraselüler matriks ile sıkı ilişki halindedirler. Bu sıkı ilişki integrinler gibi sellüler membran reseptörleri ile sağlanır. Bu temas hücre reseptörlerinden nukleusa sinyali iletir ve hücre sağkalımını sağlar. Hücre kaybı sonucu kontakt durunca sinyal durur ve hücre ölümü olur. Bu olay sonunda büyüme faktörleri intimal kalınlaşmayı uyarır. Endotelde oluşan hasar bölgesi 3 cm'den büyük ise kenarlardan başlayan endotel repopulasyonu hiçbir zaman hasarlı arteriel segmentin orta bölgesine ulaşamamaktadır. Bu alanda düz kas hücre proliferasyonu devam etmektedir. Bu sonuçlar; endotelin tekrar sağlanması ve korunmasının intimal hiperplazi kontrolünde önemli olduğunu göstermektedir [19].

Kronik endotel travmalarında endotel hasarı özellikle damarların bifurkasyon ve dallanma bölgelerinde olmaktadır. Dallanma yerlerinde ya da hemen ötesinde oluşan mekanik stresler endotel ve damar düz kas davranışlarını belirleyen en önemli stimuluslardır. Kanın damar duvarına uyguladığı basınç ve shear stres tetikleyici karakter taşımaktadır. Shear stres ateroskleroz oluşumuna yol açması yanında endotelden prostosiklin ve NO (Nitrik Oksit) tüketimini de azaltmaktadır.

1.3.3. Balon hasarına arteriyel cevap:

İnsanlarda balon hasarı sonrası endotel ile ilişkili patofizyolojik cevaplar otopsi uygulamaları dışında mümkün olmadığından in vivo araştırmaların hepsi hayvan modellerinde araştırılmıştır. Vasküler duvarın yapısal ve fonksiyonel özelliklerinin sürdürülmesinde düz kas hücreleri ve endotelyal hücrelerin bütünlüğü kritik rol oynamaktadır. Hasar sonrası gelişen histopatolojik olaylar incelendiğinde 3 evre görülür: inisial (hasar-24saat), migratuar (3-7gün) ve proliferatif (7gün-3,4hafta). Balon kateterizasyonu ile oluşturulan arteriyel hasarlanma, müsküler arterlerin intimasında trombosit adezyonunu ve

progresif düz kas hücre proliferasyonunu uyarmaktadır [24]. Vasküler yüzey deendotelize edildiğinde bir dizi olay birbirini takip eder. Deendotelize edilmiş bölgeler derhal trombosit kümesi ile kaplanır. Bu trombüsler rezorbe olur ve inflamatuvar hücreler erkenden infiltre olurlar. Trombositler, daha sonraki günler içinde damar lümenine doğru ilerleyen rejenere endotelyum ile yer değiştirir. Aynı zamanda media içinde yer alan düz kas hücreleri prolifer olmaya başlar. Bu olaylar trombosit kaynaklı faktörlere değil, direkt olarak endotelin deendotelizasyonuna bağlıdır. Bu hücreler intimaya doğru göç eder ve bir yandan proliferasyona devam ederken, aynı zamanda büyük miktarlarda da ekstrasellüler matriks sentezleyip sekrete ederler [1, 24]. Bu süreçte endotelial tekrar büyüme tamamlanır ve düz neointima 2-3 hafta içinde hasarlı bölgeyi kaplar. More ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, tavşanlarda balon ile oluşan hasardan 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 edilmiştir [25]. Hasara cevapta endotel iki önemli noktada hayati rol oynar: Birincisi endotelin ortadan kalkması mitojenik cevabın oluşmasına izin verir, ikincisi normal endotelin tekrar oluşması daha ileri proliferasyonu inhibe eder.

1.3.4. Arteriyel akıma ven duvarı adaptasyonu:

Arteriel sisteme implante edilen tüm venler implantasyon sonrası dört–altı hafta içinde intimal kalınlaşma göstererek lümeni yaklaşık %25 daraltırlar. Bu nadiren belirgin stenoza neden olur. Fakat intimal hiperplazi ileride greftte ateroma oluşmasına neden olur. Venöz bypasslarda intimal hiperplazinin esas nedeni hemodinamik stresdir. Greftin venöz yoldan arteriyel yola geçişinde (arteryalizasyonda) adaptasyon mekanizması ile intimal kalınlaşma oluşur. Ven greftleri yeniden venöz yola dönerse oluşan değişikliklerde gerilme meydana gelir. Bu remodilig sırasında TGF-alfa salınımı artmaktadır [20].

Venöz bypasslardan hemen sonra endotele (çoğunlukla anastomoz hattında ve ven endotelinin mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombosit, lökosit yapışır ve mikrotrombüsler oluşur. İki hafta içinde ven greftlerindeki ve anastomozdaki endotelin döküldüğü yerler tamamen reendotelizasyonla yenilenir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma başlar ve 4 haftada maksimal düzeye ulaşır. İlk 4 haftadan sonra düz kas hücre proliferasyonu durur ve ekstrasellüler matriks artmaya başlar. Onikinci

haftada duvar kalınlığı maksimal olur. İntimal hücrelerinin proliferasyonu ven lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durur [26].

1.3.5. Sentetik greftlerde intimal kalınlaşma:

60 mm porları olan poröz sentetik protezlerin (PTFE v.b) luminal yüzlerinde intimal kalınlaşma gözlenmektedir. Damar duvarına transvers olarak uygulanan shear stresler; arteriel akıma poröz protezlerin adaptasyonunda belirleyicidirler. İntimal hiperplazi geliştiği zaman grefte uygulanan shear stres arttırılırsa intimal hiperplazi kalınlığı azalır [27]. Artmış shear strese yanıt olarak endotel hücreleri artmış düzeyde NO sentez ederler. NO akut damar dilatasyonundan sorumludur. Düz kas hücresi ölümünü indükler ve MMP (Matriksmetalloproteinaz) gibi proteolitik enzimleri aktive eder. Sonuç olarak intimal kitle; düz kas hücreleri ortadan kalkması ve ekstrasellüler matriksin lizise uğraması nedeniyle azalır.

Yapılan çalışmalarda prostetik greft kullanılan olgularda otolog ven kullanılanlara göre intimal hiperplazi gelişme oranı daha yüksek bulunmuştur. Arter duvarı ve greftin mekaniksel özellikleri arasındaki farkların anastomozdaki intimal hiperplaziyi artırdığı düşünülmektedir. İntimal kalınlaşma en sık olarak sütür hattında ve ayrılma yüzeyinde meydana gelmektedir. Nedeni bu bölgedeki laminar akım durağan bölge ve hiperkompliyans alanları olarak gösterilmiştir. Anastomoz modellerinde egzersizi stimüle etmek için akım oranları ve pulsatil frekansları artırılmıştır. Bu sayede intimal hiperplazi oluşum oranının azaldığı gösterilmiştir [28, 29].

1.3.6. İntimal hiperplazi etiyolojisi:

İki teori vardır.

♦ *İnjuriye cevap teorisi*

♦ *Reaktif-adaptif remodeling teorisidir.*

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

Duvar shear stress: Endotelyal yüzeye shear stress kan akımı ile direkt, lümen çapının üçüncü kuvveti ile ters orantılıdır. Shear stress (T_w) = viskozite x akım / çap^3 tır. Böylece çaptaki küçük azalmalar bile duvar shear stresinde büyük artışlara neden olabilir. Shear stresdeki artış nedeniyle endotelden akut cevap olarak nitrik oksit (NO) salgılanır. Shear stresin normal değeri 15 dyne/cm² dir. Kan akımındaki artışın neden olduğu T_w artışına engel olmak için damar çapı artar. Deneysel AV fistüllerde; kan akımı 10 kat artarken, shear stres 3 kat artar ve adaptif cevap olarak 24 saat içerisinde damar çapı genişler. Dördüncü haftanın sonunda damar genişlemesi iki kata ulaşır ve böylece shear stres normale döner. Buna karşılık; kan akımı ve shear streste kronik azalmaya cevap olarak lümen çapı azalır ve T_w normale döner. Damar çapındaki bu azalma intimal hiperplazi ile olmaktadır. İntimal hiperplaziyi aktive eden faktörler ise:

- ◆ *T_w azalması*
- ◆ *Akım dallanması*
- ◆ *Ossilasyon (kardiak dp/dt , nabız basıncı) dur.*

Duvar tensile stress: Damar duvar kalınlaşması duvar tensile stres ile ters orantılıdır. Duvar tensile stres kan basıncı ve çap ile direkt orantılıdır. $T_s = P \times r / d$ (duvar kalınlığı) dir. Arter kan basıncındaki artış T_s 'yi artırır. Adaptif cevap olarak (T_s 'nin artması sonucu) duvar kalınlığında artış ortaya çıkar ve damar duvarının yapı ve kompozisyonunda değişiklikler gözlenir. Damar içindeki basıncın değişmesi sonucu T_s 'de 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 duvar çap değişmeden ince kalır. Arteriyel yatağa konan ven greftlerdede; hem basınç artışına cevap olarak tensile stress arttığından duvar kalınlığı artacaktır, hem de shear stresin düşmesine (çünkü safen çapı artere göre büyüktür) sekonder olarak çap azalacaktır. Bu iki mekanizmada intimal hiperplaziyi başlatacaktır. Sonuç olarak; arterlerin adaptif cevapları:

- ◆ Lümen çapının shear stres regülasyonu.
- *Shear stres azalmış ise intimal hiperplazi olur
- *Shear stres artmış ise dilatasyon olur
- ◆ Tensile stres regülasyonu ile dir.

Basınç artması (ven greftin arteriyel yatağa konması) ve lümen çapı artması (küçük artere büyük ven) durumlarında intimal hiperplazi olur. [27,29].

İntimal hiperplazinin gelişmesindeki adaptif mekanizmanın amaçları;

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

Yani; arter yatağa konan ven greftlerde akım iyi, çap arter çapına yakın olmalıdır.

İntimal hiperplastik cevap: Kan ve damar duvarının etkileşiminde endotel arter duvarı homeostazda potansiyel düzenleyici olarak görev yapar. Endotelden; vasküler tonusu, antikoagülasyonu ve inflamatuvar cevabı düzenleyen faktörler salgılanır. Endotelyal hücreler; düz kas hücrelerinin proliferasyonu, büyümesi, migrasyonu ve ölümünü kontrol eden faktörler salgılar. Aynı zamanda intima ve ekstrasellüler matriksin kontrolünü de yapar. İntimal kalınlaşmayı oluşturan komponentler düz kas hücreleri ve ekstrasellüler matriks (kollajen, elastin, proteoglikan) tir. İntrauterin kan damarlarının oluşumunda düz kas hücrelerinin oluşumu ve organizasyonunu endotelin oluşması takip eder. Eğer endotel oluşması engellenirse damar gelişmesi olmaz.

Endotel hücrelerinin yokluğunda damar duvarı adaptasyonu: İnjuriden sonra trombositler adhere ve degranüle olurlar. 24 saat sonra mediada düz kas hücresi proliferasyonu başlar. Düz kas hücre sayısındaki artış günde normaldeki %0.06 dan %10-30'a çıkar. Dört gün sonra mediadan intimaya göç başlar. Bazı hücreler intimaya geldikten sonrada proliferasyon devam eder. Ekstrasellüler matriks de (kollajen, elastin, proteoglikan) artış başlar ve 3 ay sonra intimanın %20'si hücreden, %80'i ekstrasellüler matriksten oluşur. İntimal hiperplazinin endotelle örtülmesi düz kas hücrelerindeki proliferasyonu inhibe eder. Eğer hasarlı bölge 3 cm.den fazla ise; tümüyle neointima gelişemeyeceği için hasarın santral bölgelerinde düz kas hücreleri kanla direkt temas eder ve proliferasyon uyarılır. İntimal hiperplazinin ilk basamağı düz kas hücresi proliferasyonu, ikinci basamağı migrasyondur. Bu basamakları uyaran faktörler; fibroblast büyüme faktörü (FGF) (hasarlı endotelden ve düz kas hücrelerinden salgılanır ve esas olarak düz kas hücrelerinin proliferasyonunu yapar), platelet kaynaklı büyüme faktör (PDGF) (trombosit α granüllerinden ve endotelden salgılanır), PDGF-BB (düz kas hücresi migrasyonu), PDGFAA (düz kas hücre proliferasyonu) dır. Transforming büyüme faktör (TGF) ve angiotensin-II migrasyona etki ederler. Proteazlar proliferasyon ve migrasyon üzerine etkilidirler. İki tip proteaz bildirilmiş olup, bunlardan *Plasminojen aktivatörler olan;*

doku plazminojen aktivatör (tPA) ve ürokinaz düz kas hücrelerini proliferere ederlerken, aynı zamanda PDGF ve FGF plasminojen aktivatörlerini aktive ederek intimal kalınlaşmayı da artırır. tPA üretiminde azalma kalınlaşmayı geriletir. *Metalloproteinaz* ise; migrasyonu artırmaktadır. Böylece proteolitik ve antiproteolitik dengenin endotel tarafından kontrolü intimal hiperplazide önemli rol oynar. İnsülin benzeri büyüme faktör (IGF) ve TGF de migrasyona etkilidir. T lenfositlerinden salgılanan interferon- γ proliferasyonu inhibe eder. Endotel rejenerasyonu ise proliferasyonu inhibe eder. Endotel hücreleri büyüme faktörlerinin (BF) düz kaslara girişine karşı bariyer oluşturur. Endotel ayrıca düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eden maddeleri (heparan sulfat, NO vs. gibi) sentez edip salgılar.

Endotel hücrelerinin varlığında damar duvarı adaptasyonu: Venöz bypasslarda intimal hiperplazinin esas nedeni hemodinamik stress dir. Greftin venöz yoldan arteriyel yola geçişinde (arteryalizasyonda) adaptasyon mekanizması ile intimal kalınlaşma oluşur. Ven greftleri yeniden venöz yola dönerse oluşan değişikliklerde gerileme meydana gelir. Venöz bypasslardan hemen sonra endotele (çoğunlukla anastomoz hattında ve ven endotelinin mekanik hasara uğradığı bölgelerde) trombosit, lökosit yapışır ve mikrotrombüsler oluşur. İki hafta içinde ven greftlerindeki ve anastomozdaki endotelin döküldüğü yerler tamamen reendotelizasyonla yenilenir. Bu dönemde düz kas hücrelerinin uyarılması ile intimal kalınlaşma da başlar ve 4 haftada maksimal düzeye ulaşır. İlk 4 haftadan sonra düz kas hücrelerinin proliferasyonu durur ve ekstrasellüler matriks artmaya başlar. Onikinci haftada duvar kalınlığı maksimal olur. İntimal düz kas hücrelerinin proliferasyonu ven lümeninin arter lümenine uygun hale geldiği dönemde durur.

Diğer taraftan intimal hiperplaziyi idare eden hemodinamik faktörler ise:

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

Tanjansiyal (tensile) stres; damarın çevresinde artışa neden olan basınç yüklenmesidir. Bu stres'i oluşturan komponentler: Basınç x $\frac{\text{çap}}{\text{duvar kalınlığı}}$ dir. Tanjansiyal (tensile) stresi azaltmak için vasküler adaptasyon damar duvar kalınlığını artırmaktır, yani intimal hiperplazidir. Tanjansiyal (tensile) stresi azaltmak için ven greftleri eksternal olarak rijit sentetik greftlerle desteklenirse intimal hiperplastik cevap azalır. Shear stres'i oluşturan komponentler: Akım x $\frac{1}{\text{vizkozite/çap}}$ tır. Kan akımının artması shear stressi artırırken, duvar kalınlığını azaltır. Shear stresin azalması (çapın artması ve akımın azalması gibi geniş çaplı

safenin run-off'u iyi olmayan arter yatağı konması) intimal kalınlaşmayı uyarır. Shear stresteki artış damar endotelinde NO sentazın uyarılması ile arter duvarında siklik guanosine monofosfatı (cGMP) arttırarak NO oluşumunu arttırır. Sonuç olarak NO'nun artması ile aşağıdaki olaylar gelişir: [27].

◆ *İntimal kalınlaşma azalır*

◆ *İntimadaki hücre sayısı azalır*

◆ *Düz kas hücreleri proliferasyonu inhibe olur*

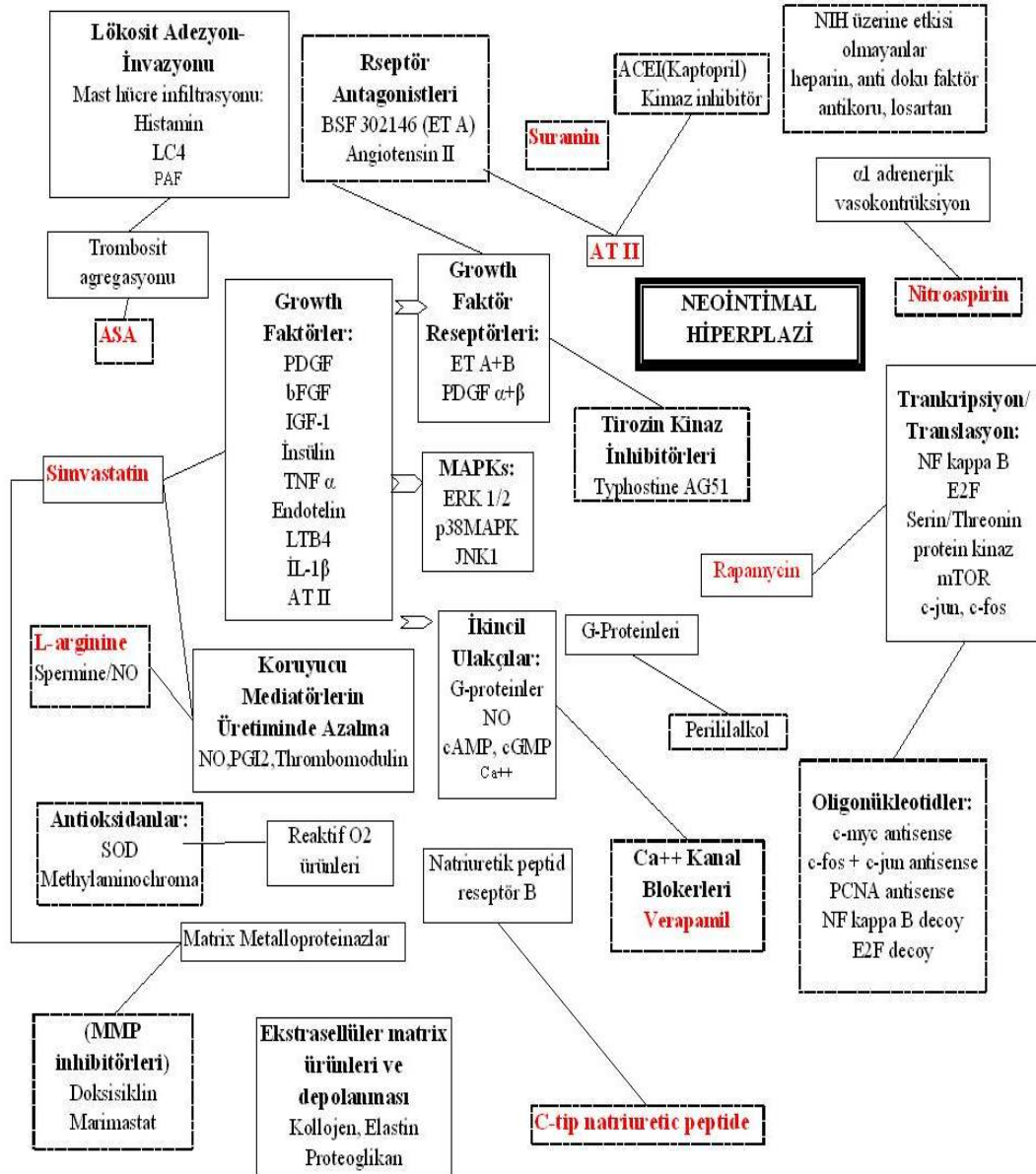
◆ *Hücre ölümüne yol açar*

◆ *Endotel hücrelerindeki adezyon moleküllerinin salınmasını ve inflamasyonu azaltır.*

◆ *Fibroblastlardan kollajen salınımı azalır.*

Ven greftindeki endotel asla arter endoteli gibi fonksiyon görmez. Bu endotelin prostasiklin, EDRF ve NO salınımı daha az, TxA2 üretimi daha çoktur. PTFE protezler 3 hafta içinde komple endotelize olurlar [27]. Sonuç olarak neointimal hiperplaziyi önlemede kullanılan farmakolojik yaklaşımları yukarıdaki bilgiler ışığında aşağıda sıralanan temel mekanizmalar üzerinden özetleyebiliriz [30] .

1. Reaktif oksijen ürünleri
2. Nitrik oksit ve prostasiklin
3. Endotelin
4. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
5. Angiotensin
6. Matriks metallaproteinazlar
7. Kalsiyum
8. G proteinleri
9. Mitojen aktive eden proteinkinazlar



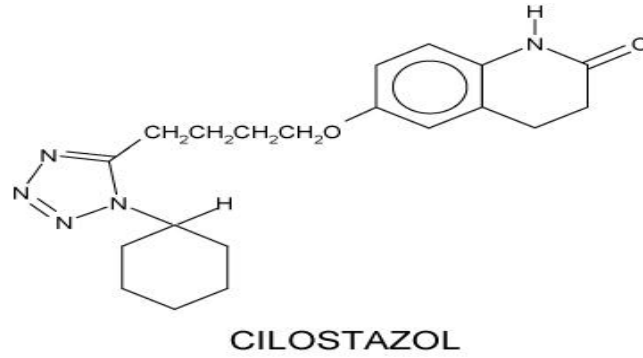
ERK: extracellular signal-regulated kinase; JNK: c-jun N-terminal kinase; MAPK: mitogen activated protein kinase; mTOR: mammalian target of rapamycin; PCNA: proliferating cell nuclear antigen; NIH: neointimal hiperolazi

Şekil 1.4 Neointimal hiperplaziye önlemede farmakolojik yollar [30]

1.4. SİLOSTAZOL:

Silostazol 2-oksokinolon türevidir. Silostazol fosfodiesteraz 3 enziminin selektif inhibitörüdür. Antiplatelet, vazodilatör ve antitrombotik etkilidir. Siklik adenosin monofosfat fosfodiesteraz inhibe olunca cAMP(siklik adenosin monofosfat) yıkımı baskılanır, cAMP(siklik adenosin monofosfat) yoğunluğunun artışıyla fosfolipaz ve siklooksijenaz enzimleri inhibe olur sonuçta tromboksan A2 üretimi ve trombosit agregasyonu inhibe olur. Aynı mekanizmayla düz kas hücrelerinde artan cAMP düzeyleri sayesinde hücre içi depolardan kalsiyum salınımı inhibe olur. Bu olay vazodilatasyonla sonuçlanır. Silostazol yararlı etkilerini vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu engelleyerek ve periferik kanın dolaşımını artırarak göstermektedir [31] .

Açık formülü 6-[4-(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)butoxy] -3,4-dihidro-2(1H)-quinolinone'dır.



1.5. Silostazolun kimyasal yapısı

1999 yılında FDA(Food and Drug Administration) onayı alındıktan sonra istirahat ağrısı ve periferik doku nekrozu olmayan intermittan kladikasyonu hastaların tedavisinde kullanılmış ve ağrısız yürüme mesafesini artırmıştır [32,33].

1.4.1. Silostazol'un Farmakokinetiği

Günümüzde silostazolun önerilen dozu 100 mg tabletten günde 2 keredir. Yüksek yağlı yiyecekler absorpsiyonunu arttıracığı için tabletlerin yemeklerden yarım saat önce veya 2 saat sonra alınması önerilmektedir. Çünkü silostazolun yiyeceklerle birlikte alınması

durumunda yüksek kan düzeylerine ve daha fazla yan etki riskine neden olacağı belirtilmektedir.

Silostazol oral yoldan absorbe edilir ve maksimum plazma düzeyine 3-4 saatte ulaşır. Sitokrom P450 ile metabolize edilir. Monohidroksi-cilostazol ve dihidro-cilostazol olmak üzere iki major metaboliti vardır ve aktif metabolitlerinin yarılanma ömrü 11-13 saattir. Eliminasyonu primer idrar yolu ile (%74), küçük bir miktarı dışkı ile atılmaktadır [31].

Silostazolun intermitten kladikasyonun semptomlarının tedavisindeki yararlı etkileri tedaviden 16-24 hafta sonra görülmektedir. Bununla birlikte faydalarının 4-12 hafta sonra görüldüğü hastalar rapor edilmiştir [34].

Silostazol, başlıca albumin olmak üzere %95-98'i proteine bağlıdır. Silostazolun serbest kısmı ve aktif metabolitleri hafif böbrek fonksiyon bozukluğu olan hastalarda %27 oranında yüksek bulunmuş,fakat hafif karaciğer fonksiyon bozukluğunun protein bağlanmasına etkisi olmadığı görülmüştür [35].

1.4.3. Silostazolun Endotelial Sistem Üzerine Etkileri :

Silostazol fosfodiesterazı inhibe ederek c-AMP düzeyini artırır. cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir. cAMP, vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu p53 ve p21 aracılı apoptozunu indükleyerek engellemektedir. Antiplatelet,vazodilatötör ve antitrombotik etkilidir.

PDGF(trombosit kaynaklı büyüme faktörü) VSMC(vasküler düz kas hücreleri), vasküler endotelial hücreler, trombositler veya makrofajlar tarafından indüklenen bir büyüme faktörüdür ve intimal proliferasyonda önemli bir rol oynar. PDGF(trombosit kaynaklı büyüme faktörü) hücre büyümesini uyardıktan sonra vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonu indükler.

ROS(reaktif oksijen ürünleri)'un aterosklerozdaki intimal kalınlaşmanın patogeneğinde önemli olan hücre proliferasyonu gibi birçok biyolojik olayda görev alan önemli bir molekül olduğuna inanılmaktadır. Reaktif oksijen ürünleri hücreiçi serbest kalsiyum düzeyini arttırarak vasküler tonusu arttırmaktadır [6].

Hem oksijenaz-1(HO-1) oksidatif hasara karşı sitoprotektif etkisi ile bilinir. HO-1'in aktivasyonu VSMC(vasküler düz kas hücreleri) proliferasyonu nedeniyle olan vasküler daralmada tedavi edici davranış göstermektedir. Vasküler düz kas hücre kültürlerinde hücreiçi cAMP(siklik adenozin monofosfat) artışının ve PKA(protein kinaz A) aktivasyonunun HO-1(hem oksijenaz-1) gen ekspresyonunu indüklediği görülmüştür [6].

Silostazol HO-1(hem oksijenaz-1) ekspresyonunu uyarmaktadır ve vasküler düz kas hücrelerinde PKA(protein kinaz A)'yı aktive etmektedir. HO-1(hem oksijenaz-1) ve PKA(protein kinaz A)'nın aktivasyonu trombosit kaynaklı büyüme faktörünün uyardığı proliferasyonu inhibe etmektedir. Silostazol düz kas hücrelerinin hücre siklus progresyon ve proliferasyonunu düzenler ve endotel hücrelerinde antitrombotik ve antiplatelet aktivasyonunu potansiyelize eder [6].

Nakamura ve arkadaşları silostazolun rat torasik aortasında gevşemeye neden olduğunu gösterdiler. Silostazol fenilefrin ile kontrakte edilmiş torasik aortanın gevşemesini konsantrasyon bağımlı biçimde uyarmaktadır. Silostazol ile sağlanan torasik aortanın gevşemesi NOS'ın yarışmalı inhibitörü olan N(G)-nitro-L-arjinin ile tersine çevrildi. Silostazol verilen ratlarda NO'nın sabit metaboliti olan nitritlerin üriner atılımının ve aortik halkadaki NO bazal üretiminin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu bilgi de silostazol ile sağlanan gevşemenin endoteldeki NO'ya bağımlı olduğunu ileri sürmektedir [36].

Igawa ve arkadaşları; silostazolun endotel hücrelerinin varlığı ve yokluğunda doz bağımlı olarak trombosit agregasyonunu inhibe ettiğini gösterdiler. Bununla birlikte endotel hücrelerinin varlığı silostazolun trombosit agregasyonu üzerindeki inhibitör etkisini arttırmaktadır [37].

Tamai ve arkadaşlarının ASA,tiklopidin ve silostazolun kanama zamanına etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, ASA ve tiklopidinin kanama zamanını arttırdığı fakat silostazolun buna herhangi bir etkisi olmadığı saptandı [38].

Ratlarda yapılan çalışmalarda artmış plazma lipoprotein lipaz düzeyleri ile ilişkili olarak silostazolun serum trigliserit düzeyini azalttığı ve yüksek dansiteli lipoprotein düzeyini arttırdığı saptanmıştır [39]. Elam ve arkadaşlarının silostazolun plazma lipoproteinlerine etkilerini araştırdıkları periferik arter hastalığı olan 189 hastaya 12 hafta boyunca günde 2 kez 100 mg dozunda silostazol verdikten sonra trigliseritlerin 15% azaldığı, HDL kolesterolün 10% ve apolipoprotein A1'in 5,7% arttığı; bununla birlikte LDL kolesterol düzeyinin etkilenmediği saptanmıştır [40].

Ishizaka ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada lokal olarak uygulanan silostazolun balon hasarı yapılan rat karotid arterinde neointimal oluşuma etkisini araştırdılar. Silostazol ile tedavi edilen gruptaki hasarlı karotis intimal alanı(0.06 ± 0.01 mm²; $P < 0.001$) kontrol grubuyla(0.15 ± 0.02 mm²; $P < 0.001$) karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha küçük olarak bulunmuştur. Ek olarak hasarlı media tabakasındaki düz kas hücreleri, silostazol grubunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha az olarak saptanmıştır [41].

2. MATERYAL VE METOD

2.1. ÇALIŞMA PLANI:

Randomize, kontrollü, deneysel bir araştırma olan çalışmamıza; Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 16.12.2011 tarihinde 69/2011 protokol numarası ile izin alındıktan sonra başlanmış ve deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda randomize olarak seçilen, ortalama 2-3 kg ağırlığında 16 adet Yeni Zelanda tipi erkek tavşan kullanıldı. Çalışma süresi boyunca tüm denekler aynı yerde ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 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 (Resim 2.1). Deney günü tavşanlara anestezi olarak 50 mg/kg intramüsküler ketamin ve 5 mg/kg intramüsküler ksilazin uygulandı. Enfeksiyondan korunmak için preoperatif olarak tavşanlara 50mg/kg dozunda sefazolin intravenöz yol ile antibiyoterapi 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 deneklerde anastomoz için sağ taraf karotis arteri, kontrol için ise sol taraf karotis arteri kullanıldı. Sterilizasyon sağlanarak uygun pozisyon verildi ve tüm grup tavşanlara vertikal sağ taraf boyun insizyonu yapılarak karotid arter eksplere edildi (Resim 2.2). Daha sonra karotid arter diseke edilerek, 100 IU/kg dozda İ.V heparinizasyon yapıldı. Karotis arteri proksimal ve distalinden bulldog klemple klemlendi (Resim 2.3). Aynı arter transekte edildi (Resim 2.4). Daha sonra 8/0 polipropilen sütür ile continu teknikle anastomoz tamamlandı (Resim 2.5) ve dokular anatomik planda kapatıldı. Tavşanlar 2 gruba ayrıldı. Grup A tavşanlar kontrol grubuydu. Grup B'deki deneklere yirmibir gün 30-50 mg /kg/gün dozunda günde 2 kez peroral olarak silostazol verildi. Yirmibirinci gün sonunda anastomoz yapılan taraf ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotid arter segmenti çıkarılarak incelenmek üzere histoloji laboratuvarına gönderildi. Yüksek doz pentotal ile hayvanların yaşamına son verildi.

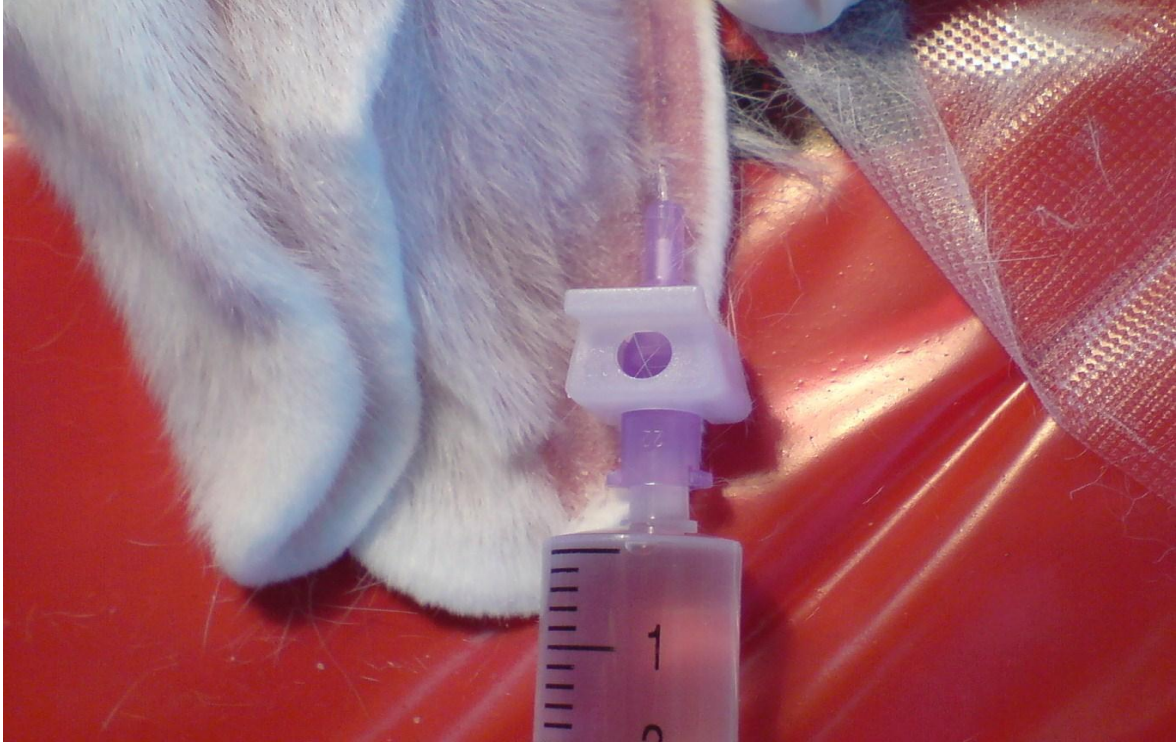
2.2. DENEY PROTOKOLÜ:

Grup A: Tavşanlar kontrol grubunu oluşturdu. Herhangi bir ilaç uygulanmadı. Yirmibirinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf ve yapılmayan sol taraf karotid segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderildi.

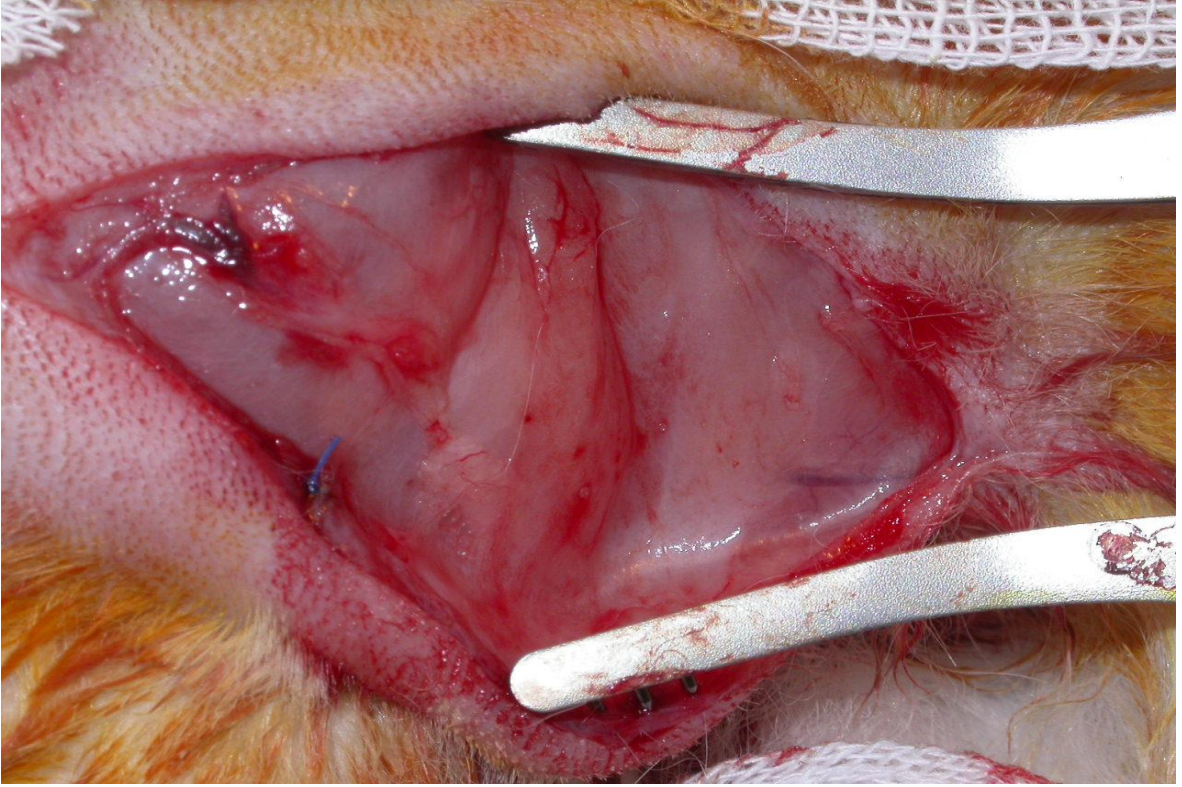
Grup B: Grup A ile aynı protokol uygulandı. Farklı olarak tavşanlara yirmibir gün süre ile 30-50 mg /kg/gün dozunda günde 2 kez peroral silostazol verildi. Yirmibirinci gün sonunda anastomoz yapılan sağ taraf ve yapılmayan sol karotid segmenti çıkarılarak histoloji laboratuvarına gönderildi.

Grup AK: Grup A'deki anastomoz yapılmayan sol karotis arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.

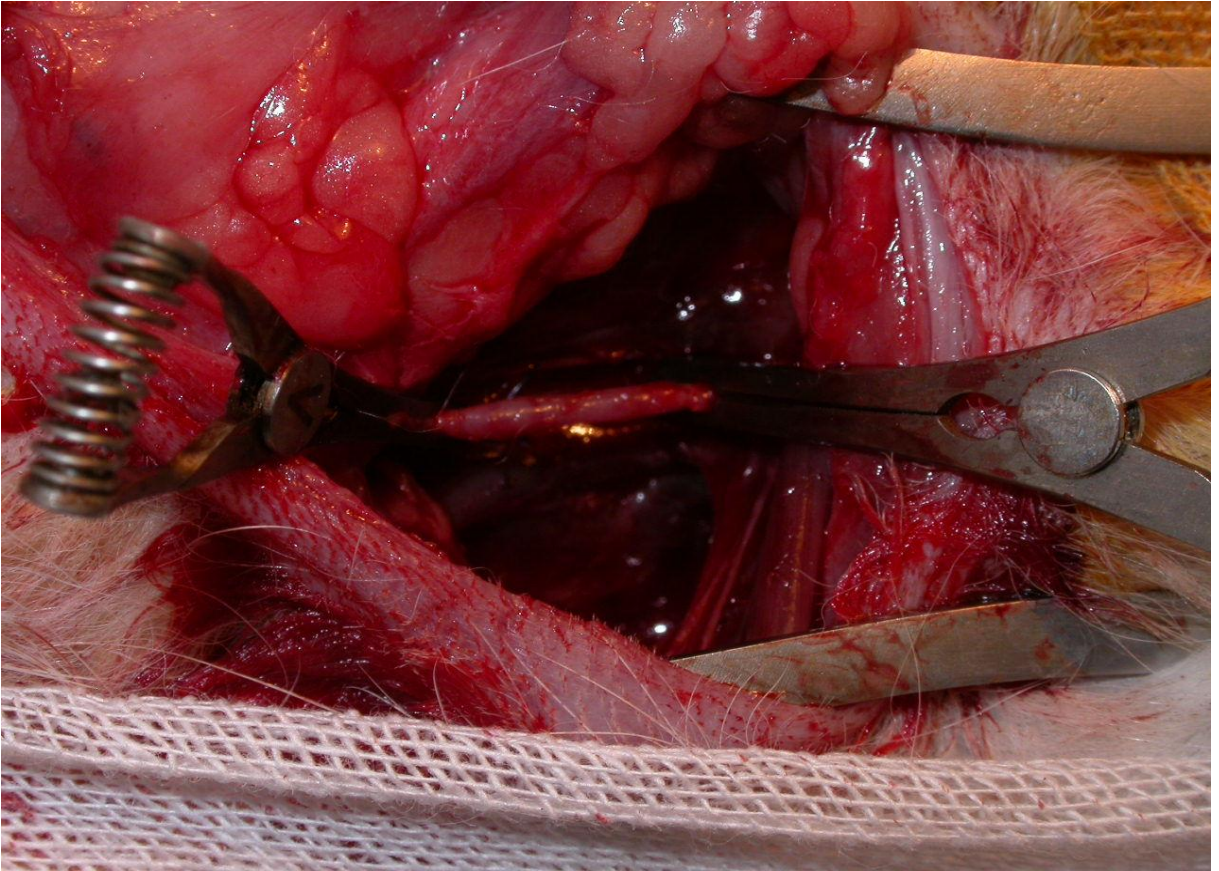
Grup BK: Grup B'deki anastomoz yapılmayan sol karotis arterin histopatolojik incelemesinin yapıldığı grup.



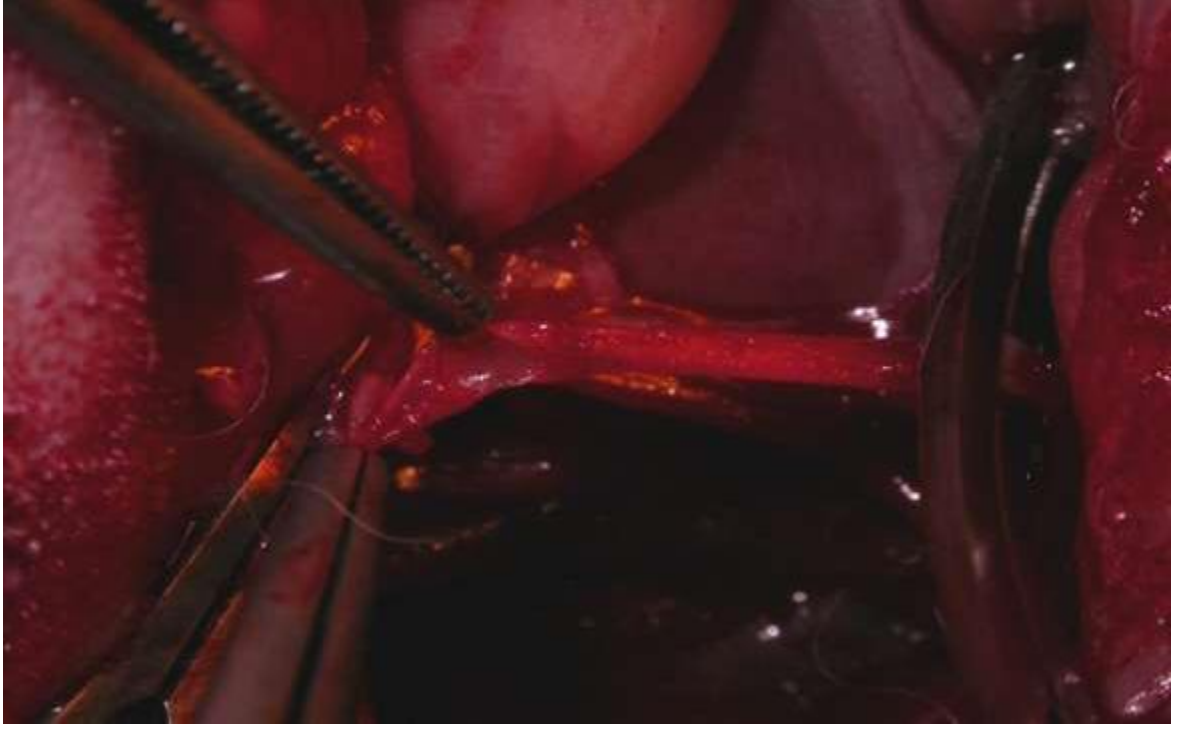
Resim 2.1. Tavşan kulak arkası marginal veninden branül takılması.



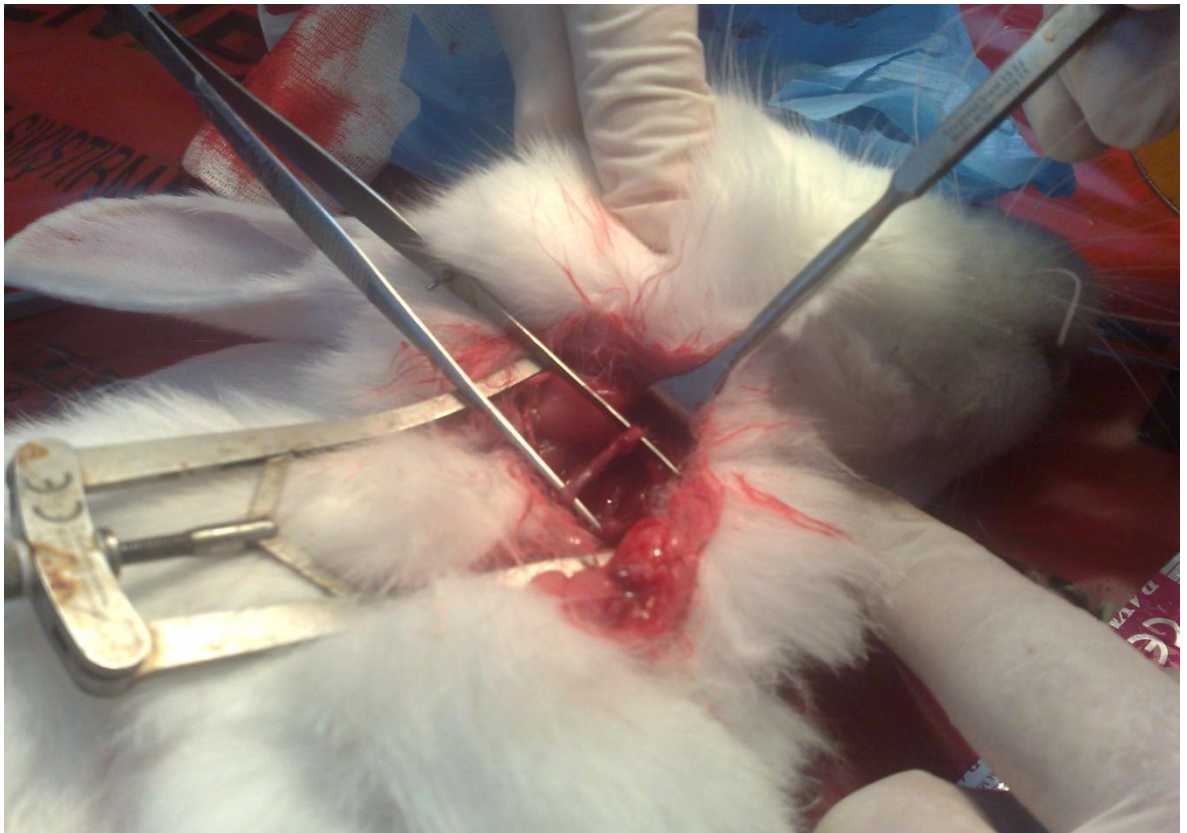
Resim 2.2 Tavşan sağ karotis arterinin eksplorasyonu



Resim 2.3. Karotis arterinin anastomoz öncesi buldog klemple oklüde edilmesi.



Resim 2.4. Karotis arterinin transekte edilmiş görünümü.



Resim 2.5. Karotis arterin anastomoz edilmesi.

2.3. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME:

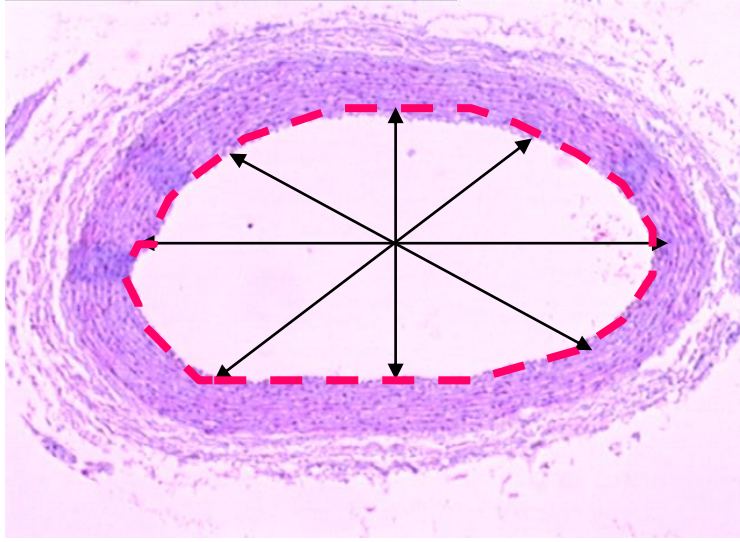
Histolojik inceleme için tavşanlardan elde edilen damar dokuları, %10'luk tamponlu formaldehid içinde fikse edilip parafine gömüldükten sonra hazırlanan parafin bloklardan 5µm kalınlığında seri kesitler alındı. Bu kesitler, Hematoksilen-eozin, Masson-Trikrom ile boyandı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 (Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda incelendi. Anastomoz yapılan ve karşı taraf sağlam damar dokusu kesitleri ışık mikroskopik düzeyinde karşılaştırmalı olarak incelendi. Ayrıca elde edilen görüntüler (JVC TK-890E, Japan) digital görüntü analiz programı ile değerlendirildi (UTSCSA; Image tool version 3.0 University of Texas, San Antonio, Texas.). 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 alanı, media alanı ve intima/media alan oranı arasındaki farklar değerlendirildi. Ayrıca hazırlanan parafin dokulardan seri kesitler alındı. Bu seri kesitler fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarıldı. Reconstruct 1.0.9.9 (JC Fiala) programı ile intima ve media kalınlıkları ölçülerek kesitler üç boyutlu hale getirildi.

2.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEM:

Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Veriler SPSS 15.0 evaluation version (SPSS, Chicago, IL, USA) istatistik programı kullanılarak ikili grupların verilerinin karşılaştırmaları Mann-Whitney U, gruplar arasındaki farkların karşılaştırılmaları Kruskal Vallis varyans analiz testleri ile değerlendirildi, $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda Yeni Zelanda tipi 16 adet erkek tavşan kullanılmıştır. Tüm denekler çalışma süresi boyunca yaşamışlardır. 21 gün sonunda tavşanların hiç birinde yara yeri enfeksiyonu ve nörolojik problem gelişmemiştir. Çalışma süresi bitiminde tüm tavşanların anastomoz yapılan sağ taraf karotis arteri ve anastomoz yapılmayan sol taraf karotis arteri çıkarılarak incelenmek üzere histoloji laboratuvarına gönderildi. Alınan dokulardan yapılan kesitlerde lümen çapı, lümen alanı, intima alanı, media alanı, intima-media alanları oranına bakıldı (Resim 3.1.).



Resim 3.1. Lümen çapı ($\longleftrightarrow$) ve lümen alanının (---) ölçülmesi.

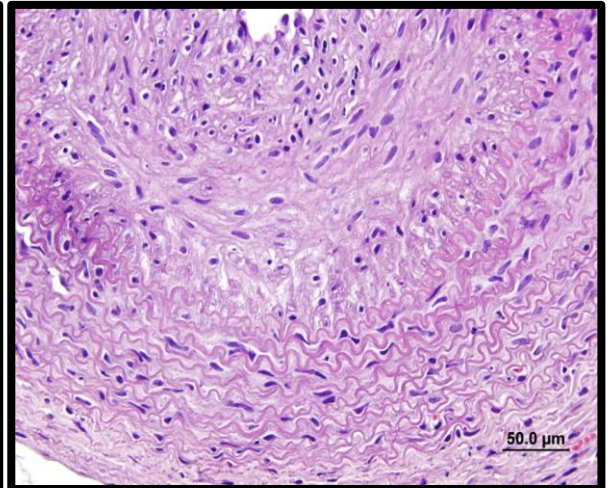
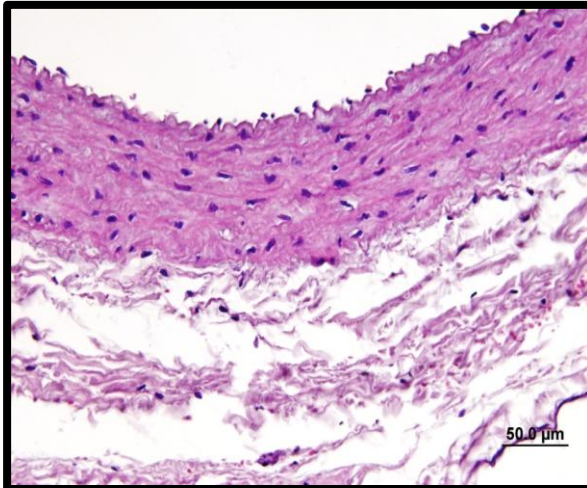
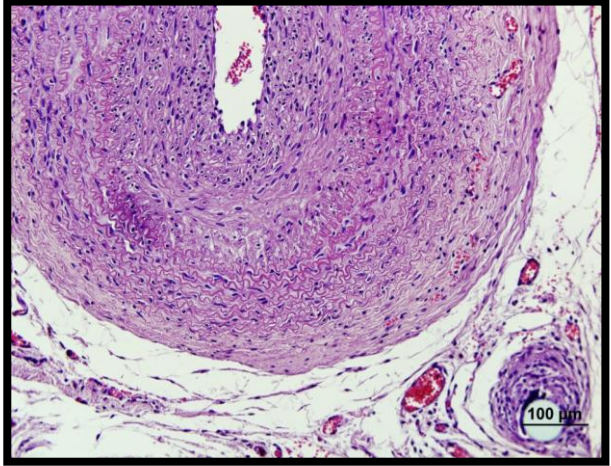
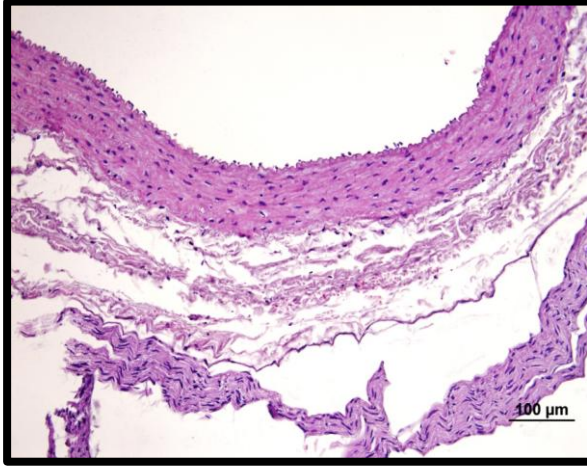
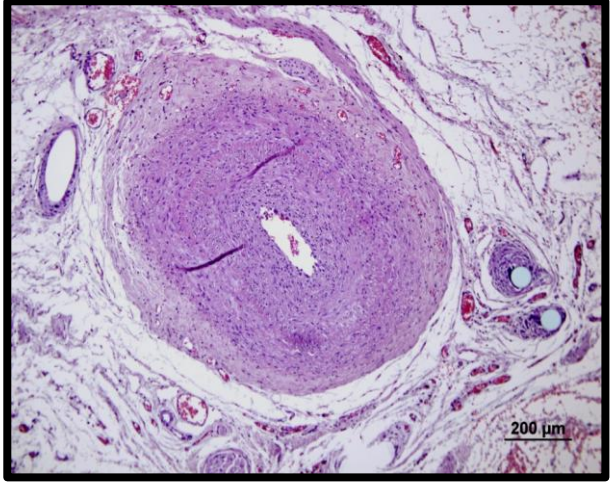
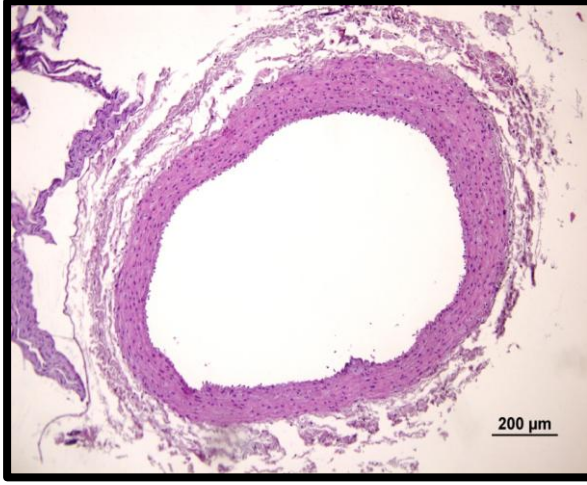
3.1. HİSTOMORFOLOJİK DEĞERLENDİRME:

3.1.1. Grup A:

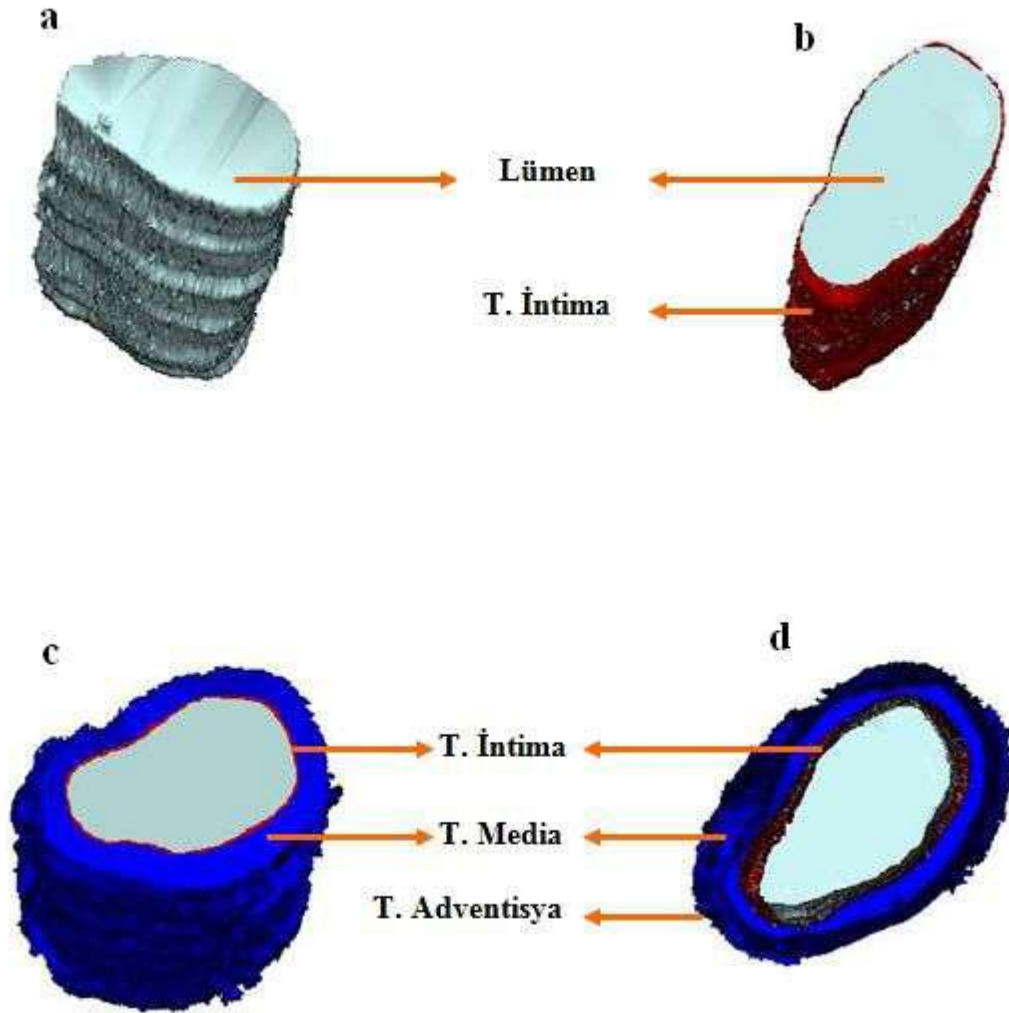
Silostazol verilmeyen tavşanlardan elde edilen kesitlerde anastomoz yapılan sağ taraf karotis arterin yapılmayan sol taraf karotis arter ile karşılaştırıldığında damar lümeninin daraldığı, lümenin düzgün dairesel şeklinin bozulduğu görüldü. İntimal alanda ise düz kas hücre proliferasyonunun olduğu görüldü. Hücresel dizilimlerin dağınık olduğu ve yoğun bağ dokusu artışı ile intimal hiperplazinin olduğu görüldü. Resim 3.2’ de Grup A’deki tavşanlardan yapılan kesit örnekleri verilmiştir. Anastomoz uygulanan Grup A’da Grup AK’ya oranla lümen alanının daha dar olduğu görülmektedir. Grup A’ da intimal hiperplazinin Grup B ile kıyaslandığında çok daha fazla olduğu görülmektedir. Grup A’ da görülen media hipertrofisinin Grup B ile kıyaslandığında daha fazla olduğu görülmektedir (Resim 3.2).

AK

A



Resim 3.2. Silostazol almayan grup; Grup A ve grup AK 'a ait histolojik kesitler. (H+E x4)



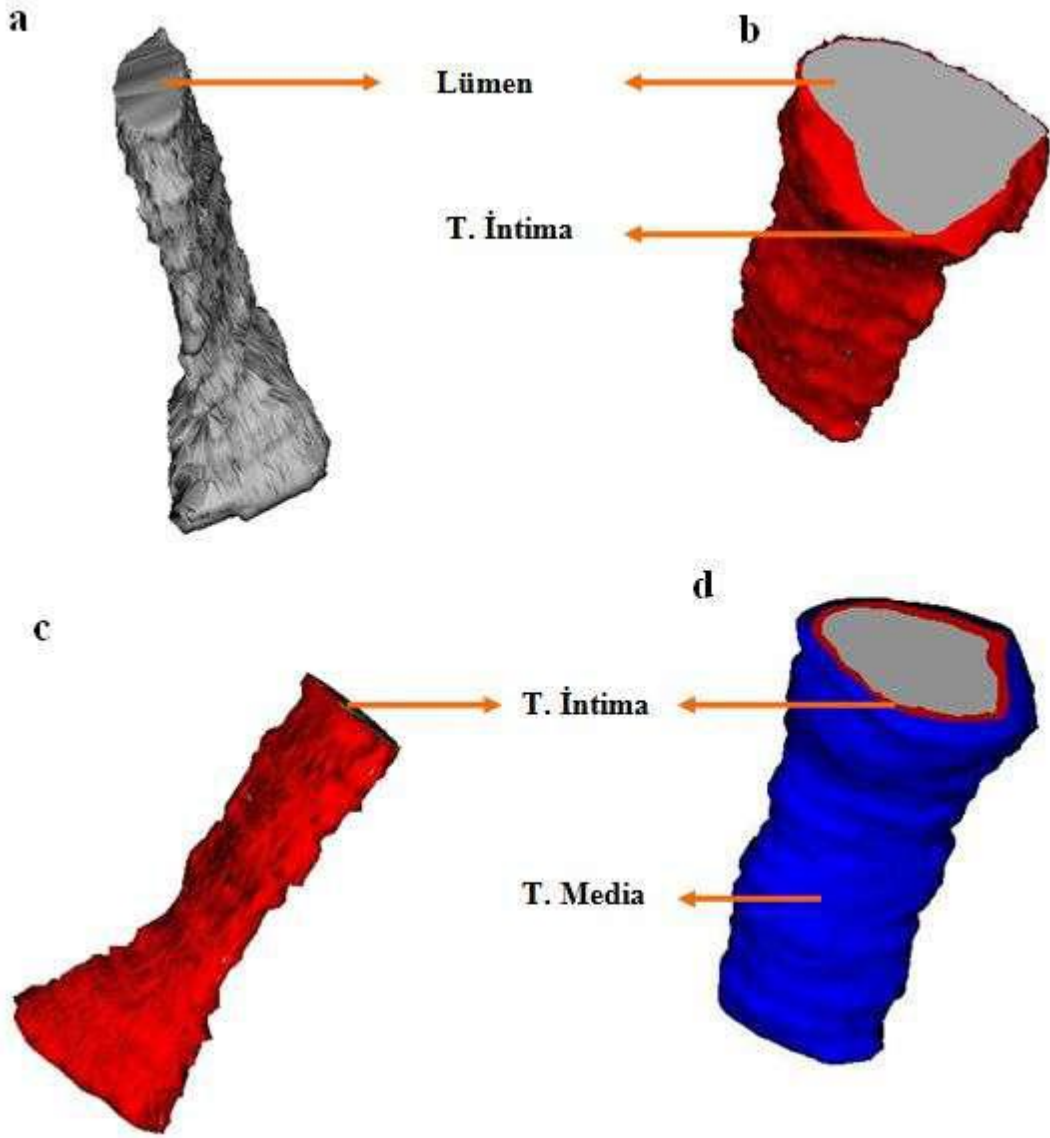
Resim 3.3. Silostazol almayan Grup AK grubuna ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

a: Kontrol (cerrahi girişim yapılmayan karşı taraf A.karotis kommunis) grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni.

b: Kontrol grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

c: Kontrol grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica media.

d: Kontrol grubuna (Grup AK) ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica media + tunica adventisya.



Resim 3.4. Silostazol almayan Grup A grubuna ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

a: Anastomoz yapılan ve Silostazol almayan gruba ait damar kesitlerinin lümeni

b: Anastomoz yapılan ve Silostazol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

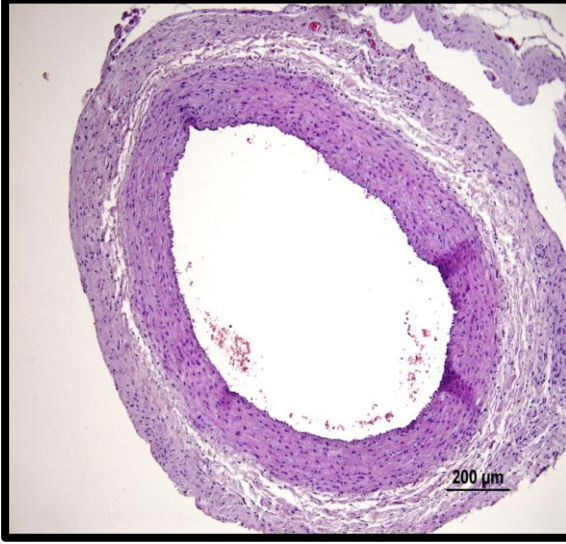
c: Anastomoz yapılan ve Silostazol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

d: Anastomoz yapılan ve Silostazol almayan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası

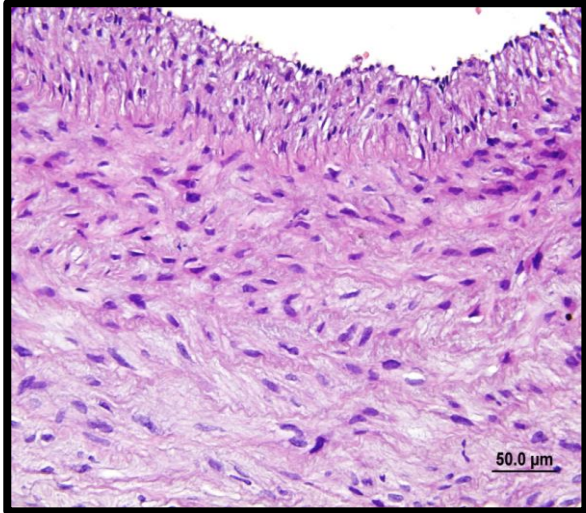
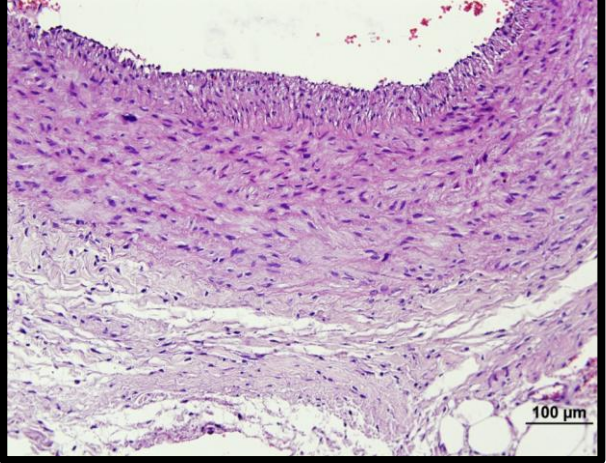
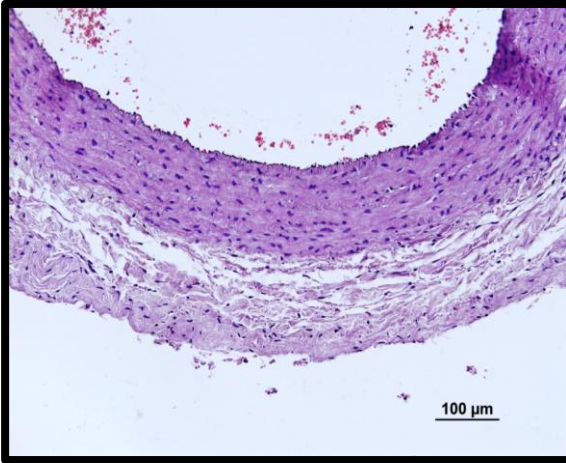
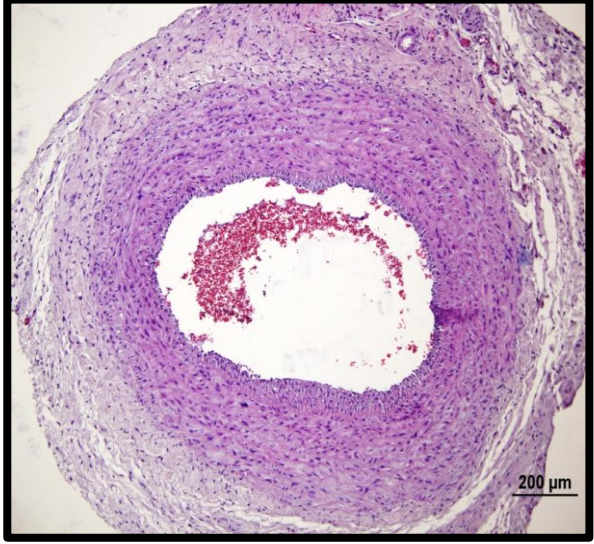
3.1.2. Grup B:

Bu grupta çalışmaya alınan tavşanların anastomoz yapılan sağ karotis arter segmentlerinden elde edilen kesitlerden yapılan incelemede; hem anastomoz yapılan hem de anastomoz yapılmayan gruplarda damar lümenlerinin daha genişlemiş ve düzgün olduğu, lümen çapının Grup A'ya oranla daha geniş kaldığı tespit edildi. Lümen geometrisinin Grup A'ya göre daha düzgün olduğu, intimal hiperplazinin lümen düzgünlüğünü bozacak şekilde lümene çıkıntı yaptığı görüldü. Ortalama tunika intima kalınlığına bakıldığında silostazol alan grupta azalma olduğu tespit edildi. Her iki taraf media tabakalarında Grup A aleyhine bir artma olduğu görüldü (Resim 3.5)

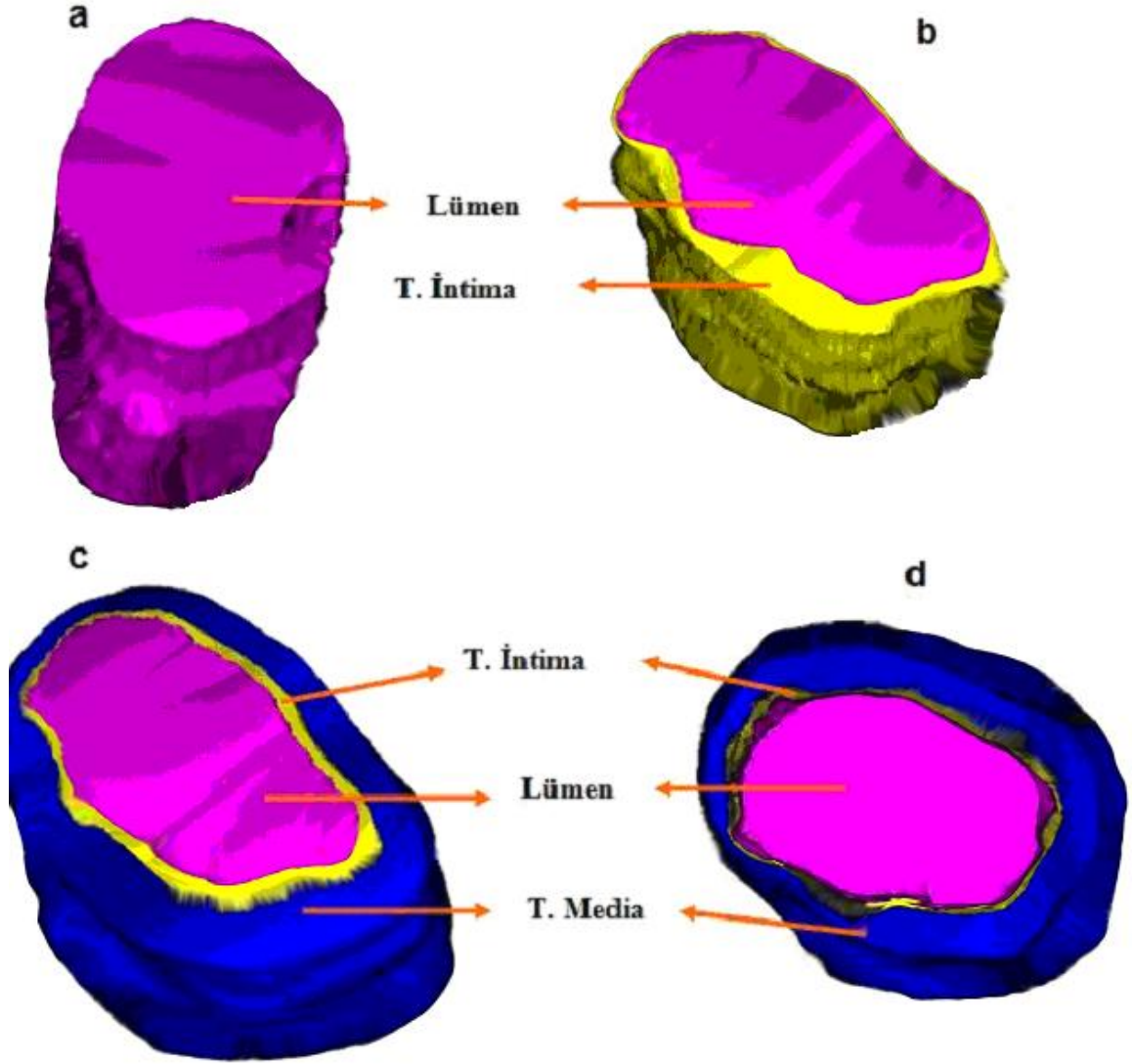
BK



B



Resim 3.5. Silostazol alan grup; Grup B ve Grup BK 'a ait histolojik kesitler. (H+E x4)



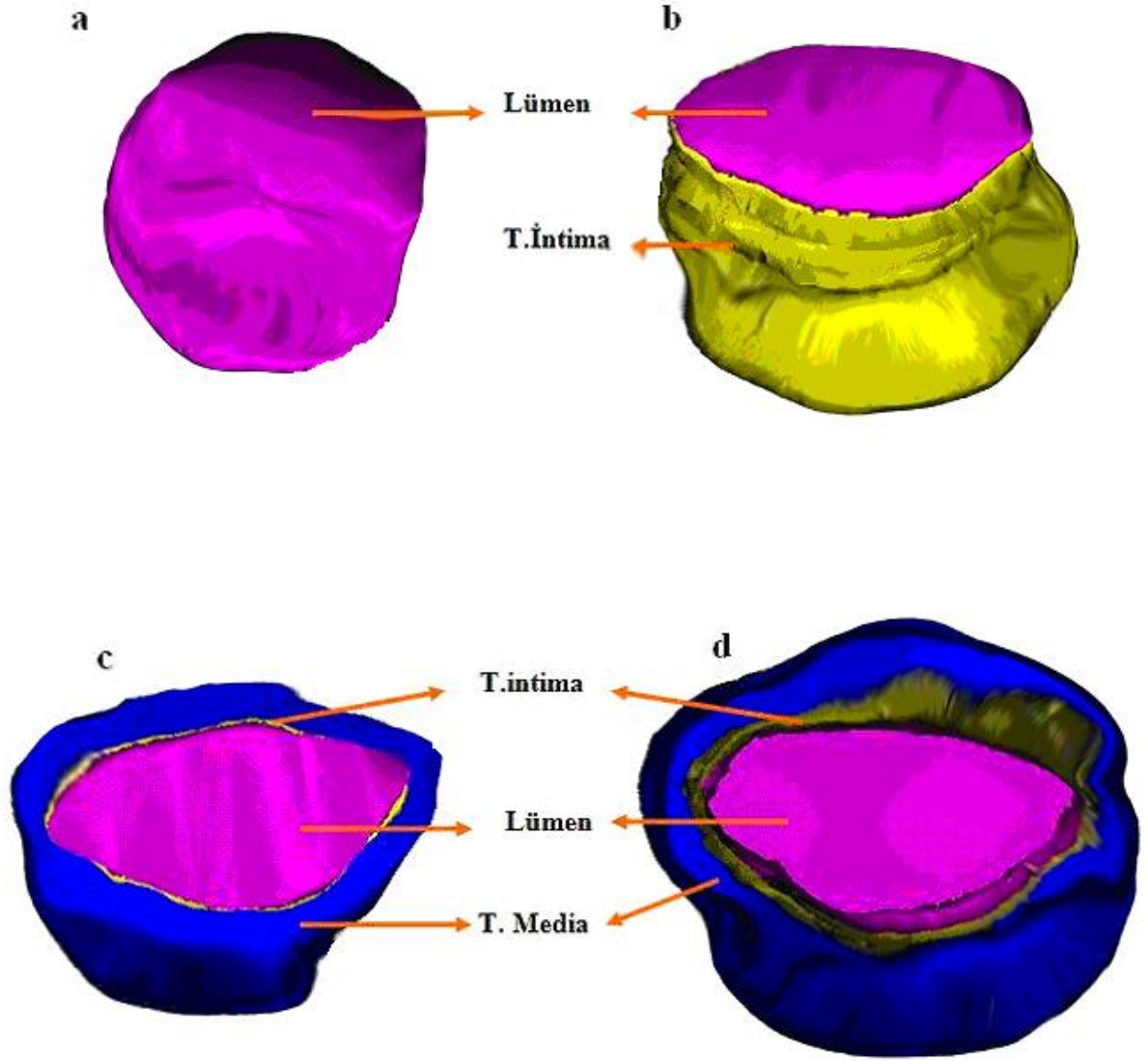
Resim 3.6. 21 gün Silostazol alan anastomoz yapılan **Grup B**'ye ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

a: 21 gün Silostazol alan gruba ait damar kesitlerinin lümeni.

b: 21 gün Silostazol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

c: 21 gün Silostazol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

d: 21 gün Silostazol alan gruba ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.



Resim 3.7. 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına (**Grup BK**) ait histolojik kesitler (3D Reconstruct For Windows 1.0.9.9).

a: 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitlerinin lümeni.

b: 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması.

c: 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

d: 21 gün Silostazol alan grubun karşı taraf damarına ait damar kesitinin lümeni + tunica intiması + tunica mediası.

4. SONUÇLAR

4.1. LÜMEN ÇAPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen çapı karşılaştırmasında; silostazol almayan ve anastomoz yapılan Grup A'nın ortalama lümen çapı $490,067 \pm 50,972 \mu\text{m}$, silostazol almayan ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis grubunun (Grup AK) ortalama lümen çapı $874,932 \pm 22,003 \mu\text{m}$ olarak tespit edildi.

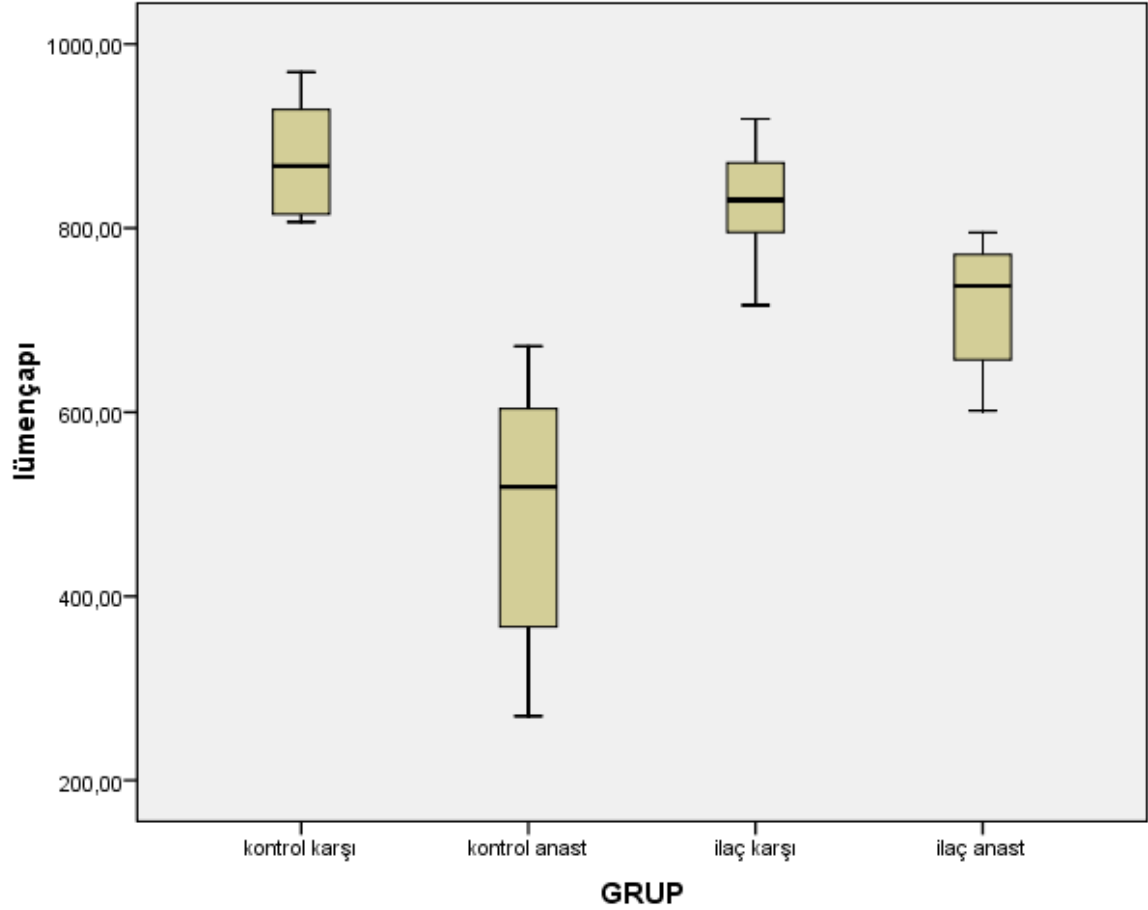
Grup A'nın ortalama lümen çapının ($490,067 \pm 50,972 \mu\text{m}$) Grup AK ve diğer silostazol alan ve anastomoz yapılan gruba (Grup B) göre belirgin olarak daha az olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0.001$).

Silostazol almayan ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis grubunun (Grup AK) ortalama lümen çapı $874,932 \pm 22,003 \mu\text{m}$, silostazol alan ve anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis grubunun (Grup BK) ortalama lümen çapı $828,585 \pm 21,966 \mu\text{m}$ olarak tespit edildi. Anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde lümen çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ($p = 0.208$). Silostazol alan ve anastomoz yapılan Grup B'nin ortalama lümen çapının ($716,018 \pm 24,797 \mu\text{m}$) silostazol almayan ve anastomoz yapılan Grup A'dan daha geniş olduğu ($490,067 \pm 50,972 \mu\text{m}$) ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p = 0.003$).

Grup B'nin ortalama lümen çapının grup BK'nın ortalama lümen çapına göre daha az ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p = 0.009$).

Anastomoz Yapılmayan Kontrol Grupları		Anastomoz Grupları
Grup	Ortalama lümen çapı (μm) $\pm$ SE	Ortalama lümen çapı (μm) $\pm$ SE
Grup A	$874,932 \pm 22,003$	$490,067 \pm 50,972$ ($p=0.001$)
Grup B	$828,585 \pm 21,966$	$716,018 \pm 24,797$ ($p=0.009$)

Tablo 4.1. Ortalama lümen çapı kontrol grupları ile karşılaştırılması



Grafik 4.1. Ortalama lümen çaplarının karşılaştırılması. Grup A; Silostazol almayan anastomoz yapılan grup(kontrol anast), Grup AK; Silostazol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(kontrol karşı), Grup B; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılan grup(ilâç anast), Grup BK; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(ilâç karşı).

4.2. LÜMEN ALANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI:

Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası lümen alanı karşılaştırmasında; silostazol almayan ve anastomoz yapılan Grup A'nın ortalama lümen alanı ($144.087,608 \pm 28.545,057 \mu\text{m}^2$) silostazol almayan ve anastomoz yapılmayan karşı taraf grubunun

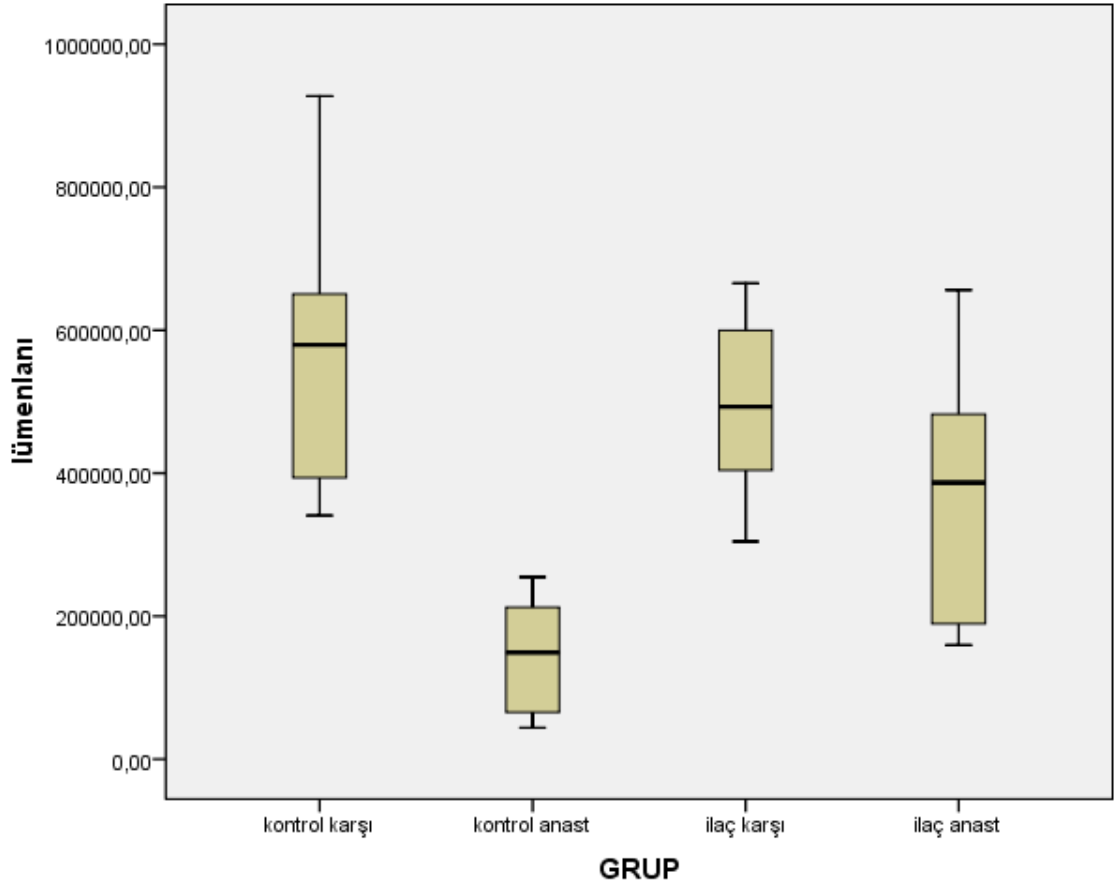
(Grup AK) ortalama lümen alanına ($564.474,278 \pm 67.707,555 \mu\text{m}^2$) oranla daha az bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0.001$).

Grup A'nın (silostazol almayan ve anastomoz yapılan grup) ortalama lümen alanının ($144.087,608 \pm 28.545,057 \mu\text{m}^2$) silostazol alan ve anastomoz yapılan B grubunun ortalama lümen alanına göre ($366.638,070 \pm 62.509,091 \mu\text{m}^2$) azalmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p= 0.012$).

Grup B'nin ortalama lümen alanı ($366.638,070 \pm 62.509,091 \mu\text{m}^2$) ile Grup BK'nın ortalama lümen alanı ($495.509,965 \pm 44.001,575 \mu\text{m}^2$) arasında rakamsal olarak fark olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.115$).

Anastomoz Yapılmayan Kontrol Grupları		Anastomoz Grupları
Grup	Ortalama lümen alanı (μm^2) $\pm$ SE	Ortalama lümen alanı (μm^2) $\pm$ SE
Grup A	$564.474,278 \pm 67.707,555$	$144.087,608 \pm 28.545,057$ ($p=0.001$)
Grup B	$495.509,965 \pm 44.001,575$	$366.638,070 \pm 62.509,091$ ($p=0.115$)

Tablo 4.2. Ortalama lümen alanı kontrol grupları ile karşılaştırması



Grafik 4.2. Ortalama lümen alanlarının karşılaştırılması. Grup A; Silostazol almayan anastomoz yapılan grup(kontrol anast), Grup AK; Silostazol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(kontrol karşı), Grup B; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılan grup(ilâç anast), Grup BK; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(ilâç karşı).

4.3. İNTİMA ALANININ KARŞILAŞTIRILMASI:

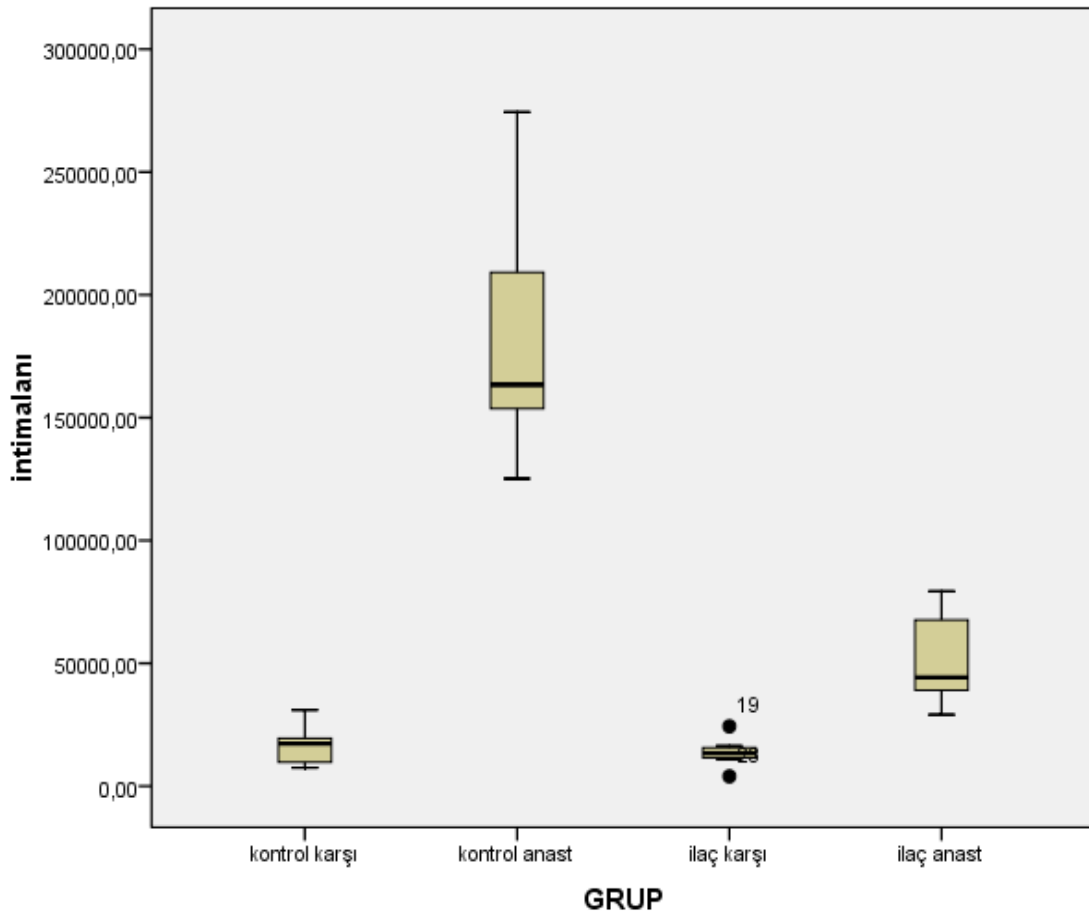
Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası intima alanının(internal elastik lamina ile lümen arasındaki alan) karşılaştırılmasında; Grup A'nın ortalama intimal alanı ($181.500,733 \pm 16.731,850 \mu\text{m}^2$) Grup AK'nın ortalama intimal alanına ($16.427,127 \pm 2.713,660 \mu\text{m}^2$) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Grup A'nın ortalama intimal alanı ($181.500,733 \pm 16.731,850 \mu\text{m}^2$) Grup B'nin ortalama intimal alanına ($51.268,378 \pm 6.535,621 \mu\text{m}^2$) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Grup B'nin ortalama intimal alanı ($51.268,378 \pm 6.535,621 \mu\text{m}^2$) Grup BK'nın ortalama intimal alanına ($13.684,608 \pm 2.014,059 \mu\text{m}^2$) oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.001$).

Anastomoz Yapılmayan Kontrol Grupları		Anastomoz Grupları
Grup	Ortalama intimal alan (μm^2) $\pm$ SE	Ortalama intimal alan (μm^2) $\pm$ SE
Grup A	$16.427,127 \pm 2.713,660$	$181.500,733 \pm 16.731,850$ ($p=0.001$)
Grup B	$13.684,608 \pm 2.014,059$	$51.268,378 \pm 6.535,621$ ($p=0.001$)

Tablo 4.3. Ortalama intimal alanın kontrol grupları ile karşılaştırması



Grafik 4.3. Ortalama intimal alanının karşılaştırılması. Grup A; Silostazol almayan anastomoz yapılan grup(kontrol anast), Grup AK; Silostazol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(kontrol karşı), Grup B; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılan grup(ilâç anast), Grup BK; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(ilâç karşı).

4.4 MEDIA ALANININ KARŞILAŞTIRILMASI:

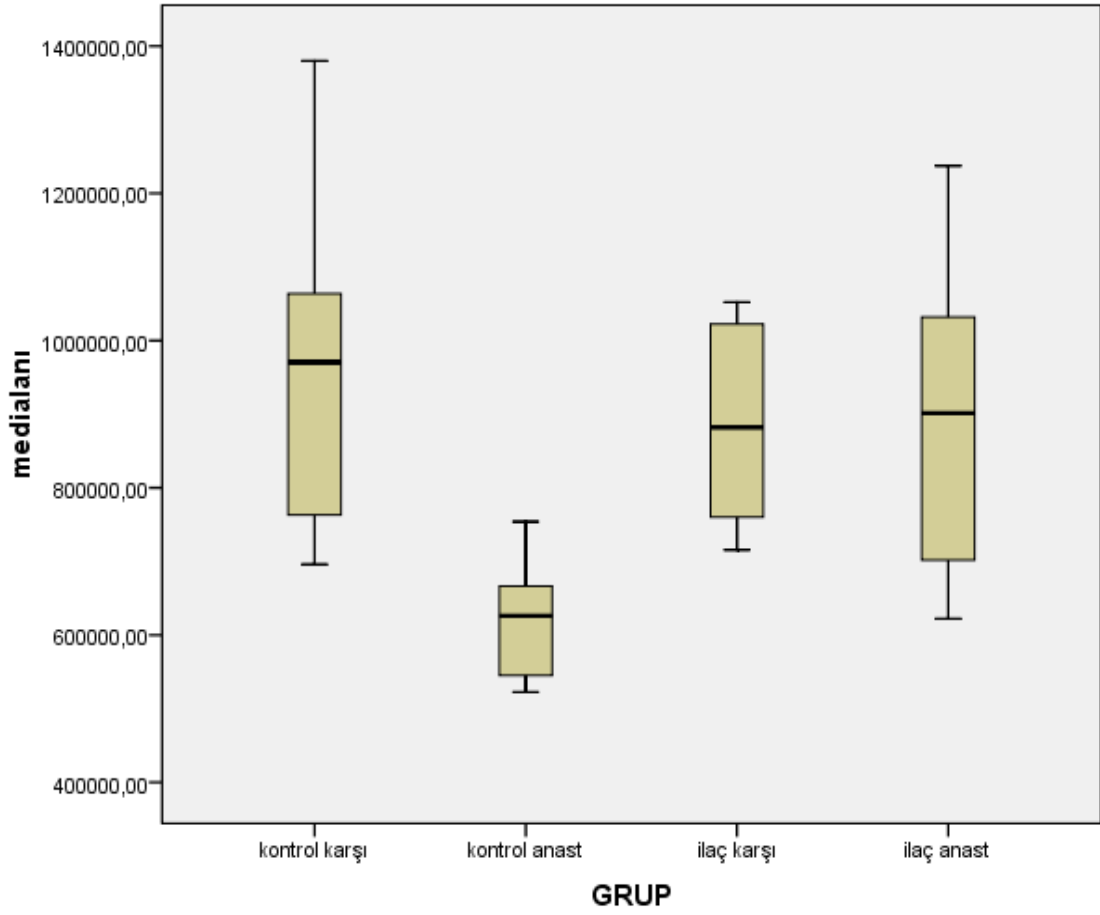
Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası media alanının(İEL ile düz kas hücrelerinin en dış kısmı arasındaki alan) karşılaştırmasında; Grup A'nın ortalama media alanı ($618.962,246 \pm 28.333,195 \mu\text{m}^2$) Grup AK'nın ortalama media alanına ($958.892,960 \pm 79.410,056 \mu\text{m}^2$) oranla daha az bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.002$).

Grup A'nın ortalama media alanı ($618.962,246 \pm 28.333,195 \mu\text{m}^2$) Grup B'nin ortalama media alanına ($891.201,118 \pm 76.839,723 \mu\text{m}^2$) oranla daha az bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p = 0.006$).

Grup B'nin ortalama media alanı ($891.201,118 \pm 76.839,723 \mu\text{m}^2$) Grup BK'nin ortalama media alanına ($887.237,582 \pm 48.237,466 \mu\text{m}^2$) oranla daha az bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=1$).

Anastomoz Yapılmayan Kontrol Grupları		Anastomoz Grupları
Grup	Ortalama media alanı(μm^2) $\pm$ SE	Ortalama media alanı (μm^2) $\pm$ SE
Grup A	$958.892,960 \pm 79.410,056$	$618.962,246 \pm 28.333,195$ ($p=0.002$)
Grup B	$887.237,582 \pm 48.237,466$	$891.201,118 \pm 76.839,723$ ($p=1$)

Tablo 4.4. Ortalama media alanının kontrol grupları ile karşılaştırması



Grafik 4.4. Ortalama media alanının karşılaştırılması. Grup A; Silostazol almayan anastomoz yapılan grup(kontrol anast), Grup AK; Silostazol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(kontrol karşı), Grup B; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılan grup(ilaç anast), Grup BK; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(ilaç karşı).

4.5. İNTİMA/MEDİA ALAN ORANININ KARŞILAŞTIRILMASI:

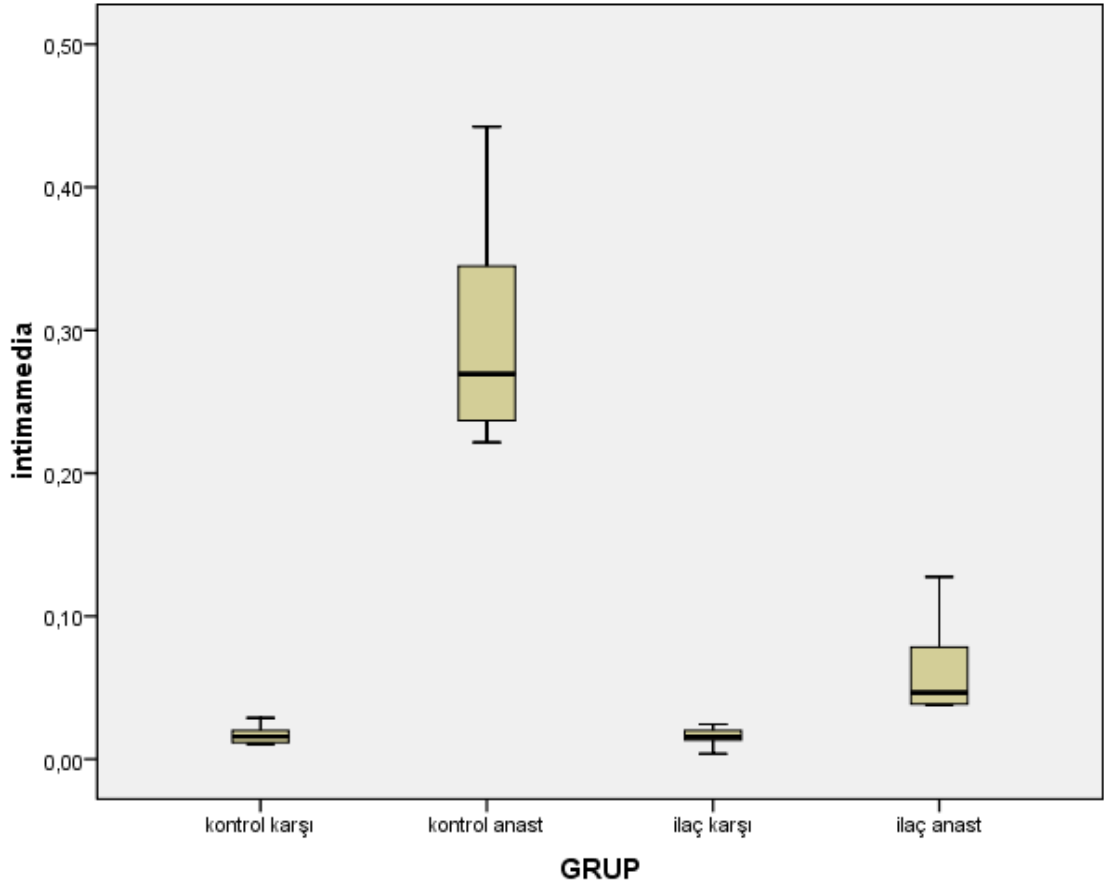
Yapılan seri kesit incelemelerinde gruplar arası intima/media alan oranının karşılaştırılmasında; Grup A'nın ortalama intima/media oranı ($0,295 \pm 0,028$) Grup B'nin ortalama intima /media oranı ($0,061 \pm 0,011$) ile karşılaştırıldığında daha büyük bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Grup A'nın ortalama intima/media oranı ($0,295 \pm 0,028$) Grup AK'nın ortalama intima/media oranı ($0,016 \pm 0,002$) ile karşılaştırıldığında daha fazla bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Grup B'nin ortalama intima/media oranı ($0,061 \pm 0,011$) Grup BK'nın ortalama intima/media oranı ($0,015 \pm 0,002$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.001$).

Anastomoz Yapılmayan Kontrol Grupları		Anastomoz Grupları
Grup	<i>İntima/media alan oranı $\pm$ SE</i>	<i>İntima/media alan oranı $\pm$ SE</i>
Grup A	$0,016 \pm 0,002$	$0,295 \pm 0,028$ ($p=0.001$)
Grup B	$0,015 \pm 0,002$	$0,061 \pm 0,011$ ($p=0.001$)

Tablo 4.5. İntima/Media alan oranının kontrol grupları ile karşılaştırılması



Grafik 4.5. İntima/media alan oranının gruplar arası karşılaştırılması. Grup A; Silostazol almayan anastomoz yapılan grup(kontrol anast), Grup AK; Silostazol almayan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(kontrol karşı), Grup B; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılan grup(ilâç anast), Grup BK; 21 gün silostazol alan anastomoz yapılmayan karşı taraf grup(ilâç karşı).

	Grup A	Grup B	p
Lümen Çapı	490,067 ± 50,972 µm	716,018 ± 4,797 µm	0.001
Lümen Alanı	144.087,608 ± 28.545,057 µm ²	366.638,070 ± 62.509,091 µm ²	0.012
İntima Alanı	181.500,733 ± 16.731,850 µm ²	51.268,378 ± 6.535,621 µm ²	0.001
Media Alanı	618.962,246 ± 28.333,195 µm ²	891.201,118 ± 76.839,723 µm ²	0.006
İntima/Media Alan Oranı	0,295 ± 0,028	0,061 ± 0,011	0.001

Tablo 4.6. Anastomoz yapılan grupların histomorfometrik değerlendirmesi

Kontrol gruplarının histomorfometrik değerlendirmesi:

Yaptığımız alışma sonucunda silostazol alan grup ile almayan grubun kontrol amaçlı olarak alınan sol taraf karotis arterleri incelendiğinde (Grup BK ile Grup AK) lümen çapı, lümen alanı, intima alanı, media alanı ve intima/media alan oranları karşılaştırılmaları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

	Grup AK	Grup BK	p
Lümen apı	874,932 ± 22,003 μm	828,585 ± 21,966 μm	0.208
Lümen Alanı	564.474,278 ± 67.707,555 μm ²	495.509,965 ± 44.001,575 μm ²	0.115
İntima Alanı	16.427,127 ± 2.713,660 μm ²	13.684,608 ± 2.014,059 μm ²	0.462
Media Alanı	958.892,960 ± 79.410,056 μm ²	887.237,582 ± 48.237,466 μm ²	0.600
İntima/Media Alan Oranı	0,016 ± 0,002	0,015 ± 0,002	0.916

Tablo 4.7. Kontrol gruplarının histomorfometrik değerlendirmesi

5. TARTIŞMA

Tıkayıcı arter hastalıklarının tedavisinde rekonstrüksiyon oldukça sık kullanılan girişimlerden biridir. Günümüzde bu girişimlerin başarısı, spontan tromboz gelişimi veya stenoz oluşumu nedeni ile beklenenden daha azdır [1,4]. Vasküler rekonstrüktif girişimlerden sonra akut trombüs oluşumunun önemli bir rol oynadığı ani tıkanmanın tersine, geç dönemdeki daralma veya restenozda düz kas hücre migrasyonu, proliferasyonu ve ekstrasellüler matriks birikimi sonucu oluşan neointimal hiperplazi önemli rol oynamaktadır [1,4]. Hiperplazik intimal kalınlaşma, arterlerin hemodinamik strese karşı normal adaptif bir özelliği olduğu kadar, arteriyel hasarın iyilemesinin de karakteristik bir özelliğidir [2]. Birçok cerrahi girişim normal vasküler yapıyı bozar. Şişirilmiş bir balon embolektomi kateterinin damar boyunca çekilmesi, endotelial yüzeyde soyulmaya, damar duvarında gerilmeye ve mediada bazı düz kas hücrelerinin hasarına yol açar [1].

Endarterektomi, PTCA, vasküler bypass-greft anastomoz bölgelerinde görülen intimal hiperplazi, vasküler rekonstrüktif girişimlerin uzun sürede yetersiz hale gelmesinde en önemli etkenlerden biridir [4]. Hiperplastik yanıtın engellenmesi bypass greftlerinde ve balon anjiyoplasti uygulamalarında damarın açık kalma süresinin belirgin olarak uzatılmasını ve organ kayıplarının azaltılmasını sağlayabilir, yaşam süresinin artırılmasında doğrudan etkili olabilir [4]. İki yıl içinde otolog safen ven greftlerle yapılan femoropopliteal bypasslarda %30, sentetik greftlerle yapılan bypasslarda %40–50, periferik arterlerin anjioplastisinden sonra da %20–50 oranında tıkanma meydana gelebilir [19].

Arter duvarında iki tip hasar meydana gelebilir. Birincisi arterin diseksiyonu, sütürasyonu, endarterektomisi, trombektomisi ve luminal anjioplastisi sonrası meydana gelen mekanik hasardır. İkicisi ise arteriel olmayan yapıların implantasyonu sonrası görülür (Sentetik greftler, otolog ven greftleri, stentler).

Her arteriyel rekonstrüksiyon işlemi bir miktar endotel hasarına neden olmaktadır. Bu hasarın en yaygın nedeni greftin çıkarılma işlemi ve anastomoz sırasında çeşitli derecede travmatize olmasıdır. Endotel hasarına intimanın yanıtı subendotelial 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, endotelin antikoagülan özelliğinde bozulma, lümende daralma sonucu, kan akımı azalmakta ve bazı vakalarda trombozis oluşabilmektedir.

Arteriyel hasara intimal yanıt üç aşamada oluşur. İlk 24 saat içindeki reaksiyon mediada düz kas hücre proliferasyonudur. Endotel hasarı ile birlikte trombositler damar duvarına yapışmakta ve giderek çoğalmaktadır. Damar duvarına yapışan aktive olmuş trombositlerden büyüme faktörleri gibi mitogenler salgılanmakta bu da düz kas hücrelerinin intimaya migrasyonuna neden olmaktadır. İkinci aşama 3-14 gün sonra başlar ve böylece neointima şekillenir. Neointima bir kez oluşunca düz kas hücrelerinin hızla ve lümeni daraltacak bir tabaka oluşturması ise 3. aşamada olur [22, 23].

Arteriyel hasar oluştuktan sonra, bu bölge trombositlerle kaplanır. Adhezyon sonrası trombositler granüllerindeki vazoaktif ve trombotik faktörleri (Serotonin, ADP, Fibrinojen, von Willebrand Faktör) ve ayrıca büyüme faktörlerini (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü, Dönüştürücü büyüme faktörü, Epidermal büyüme faktör) salgılar [5]. Mitojenik özellikteki büyüme faktörleri düz kas hücre proliferasyonunu başlatırlar. Hasara cevap olarak media tabakasında çoğalmaya başlayan düz kas hücreleri, intimaya göç ederek intimal hiperplaziye neden olurlar. Russel Ross tarafından öne sürülen ve halen yaygın kabul gören yaralanmaya cevap (response-to-injury) hipotezine göre de intimal kalınlaşmayı başlatan mekanizma, hasar gören damar duvarına yapışan aktive trombositlerden ve endotel hücrelerinden salınan, düz kas hücreleri proliferasyonunu uyaran büyüme faktörleridir [5].

Düz kas hücresinin büyümesini damar duvarında ya da dolaşımda bulunan bir grup otokrin ve parakrin faktörler ve basınç gibi fiziksel kuvvetler stimule eder. Normal damarda NO, Adenozin gibi büyüme inhibitörleri; PDGF, FGF, insülin benzeri büyüme faktörü, TGF beta, anjiyotensin 2, ve endotelin gibi büyüme faktörleri bir denge halindedir. Bu dengenin bozulması düz kas hücre proliferasyonuna neden olur. Düz kas hücrelerinin anormal büyümesinin, büyüme faktörleri üretiminde artma veya inhibitörlerin azalması sonucunda meydana geldiği düşünülmektedir. İntimal hiperplazinin birinci basamağı düz kas hücre proliferasyonu, ikinci basamağı ise proliferen olan düz kas hücrelerinin intimaya göçüdür [22].

Bu güne kadar ister anastomoz sonrası ister PTCA veya stent sonrası olsun intimal hiperplazinin ve düz kas hücre proliferasyonunun engellemesi üzerine birçok ilaç denenmiş ve çalışma yapılmıştır. Bu amaçla büyüme faktörü inhibitörleri, selektif A2a adenozin reseptör agonistleri, immunsupresif ilaçlar, kalsiyum kanal blokerleri, statinler, aspirin, iloprost, heparinler, pentoksifilin, ACE inhibitörleri gibi çeşitli ilaçlar denenmiştir [20].

Silostazol, fosfodiesteraz 3 enziminin selektif inhibitörü olan bir ilaçtır. Fosfodiesterazı inhibe ederek c-AMP düzeyini artırır. cAMP'nin artmasının vasküler düz kas hücre büyümesini inhibe ettiği bilinmektedir.

Yamamoto ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ratların sağ femoral venlerinin 1 cm'lik segmenti greft olarak çıkarılmıştır. 100 U/kg heparin dozundan sonra abdominal aortanın renal arterler ile bifurkasyonu arasına klemp konulup diseke edilmiştir. Çıkarılan ven segmenti 10/0 prolene ile abdominal aortaya end-to-end olarak interpoze edilmiştir. İnterpoze edilen greft etrafına 25% Pluronic jel içeren 200 µL dimetil sülfoksit içinde çözünmüş 20 mg silostazol verilmiştir. Kontrol grubuna sadece lokal jel verilmiştir. Ratlar 14 ve 28. günlerde sakrifiye edilmiştir. Lokal olarak verilen silostazolun plasebo grubuna göre neointimal hiperplaziyi anlamlı ölçüde azalttığı görülmüştür. Ayrıca 14 ve 28. günlerde sakrifiye edilen rat grupları arasında neointimal hiperplazi açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Silostazolun topikal uygulanmasının ven greftlerinde neointimal hiperplaziyi önlediği bulunmuştur [42].

Yapılan diğer bir çalışmada 12 adet beagle cinsi köpeğe cerrahiden 7 gün öncesinden başlanarak silostazol(30 mg/gün;n=6) ve plasebo(n=6) günde 2 kez verilmiş. Her bir köpeğin her iki tarafındaki juguler veni, aynı tarafın karotid arterine interpoze edilmiş. Ven greftleri cerrahiden 1 ve 4 hafta sonra eksize edilmiş. Birinci hafta sonunda silostazol grubunda belirgin olarak daha az hücre proliferasyonu görülmüş. Dördüncü hafta sonunda bakılan anastomozlarda intima ve media kalınlığının silostazol grubunda plasebo grubuna göre belirgin ince olduğu görülmüştür [43].

Ishizaka ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada sol eksternal karotis arteri vasıtasıyla 2F Fogarty kateteri lümen içinde şişirilerek karotid bifurkasyona kadar çekilip indirilmiştir ve bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Balon hasarının hemen sonrasında bir gruba(n=12) lokal olarak 20 mg silostazol ve diğer gruba(n=14) lokal olarak plasebo jel uygulanmıştır. Balon hasarından 14 gün sonra ratlar sakrifiye edilerek ortak karotid arterleri eksize edilmiştir. Silostazol grubunda intimal alanın kontrol grubuna göre daha az ve intima/media oranının daha düşük olduğu saptanmıştır [41].

Biz de silostazolun, anastomoz sonrası intimal hiperplaziye etkisini araştırdık. Balon anjioplasti sonrası damarda soyulmaya bağlı sadece intima tabakasında hasar meydana gelmektedir. Anastomoz sonrası damarın intima, media ve intimal hiperplaziye olan katkısı genellikle göz ardı edilen adventisya tabakası dahil damarın tüm katları etkilenmektedir. Bizim çalışma modelimizin hem vasküler rekonstrüksiyon sonrası görülen intimal

hiperplaziye benzerliği, hem de anastomoz sonrası damarın tüm katlarının etkileniyor olmasından dolayı balon ile oluşturulan hasar modeline göre daha üstün olduğu kanısındayız. Bu nedenlerden dolayı silostazolun anastomoz sonrası etkilerini araştırdık.

Çalışmamızda silostazolu anastomoz sonrası 21 gün boyunca peroral olarak uyguladık.

Çalışmamızın sonucunda lümen çapı olarak; anastomoz yapılan ve silostazol alan Grup B'nin ortalama lümen çapının anastomoz yapılan ve silostazol almayan Grup A'dan daha geniş olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde lümen çapları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Silostazolun, intimal kalınlığı anastomoz yapılan ve ilaç alan tarafta ilaç almayan gruba göre daha fazla azaltarak lümen çapını arttırdığı sonucu çıkmaktadır.

Anastomoz yapılan ve silostazol almayan grubun ortalama lümen alanının silostazol alan ve anastomoz yapılan B grubunun ortalama lümen alanına göre azalmış olduğu görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde lümen alanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. Burada silostazolun lümen alanını arttırıcı etkisini damar lümenini genişleterek yaptığı kanısındayız.

Çalışmamızda ortalama lümen çapı ve lümen alanlarının karşılaştırılmasında, anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis gruplarında silostazol alan grubun ortalama lümen çapı ve alanının silostazol almayan gruba göre rakamsal olarak daha fazla çıkmasını beklerken düşük çıkmasını tavşan karotid arterlerinin çaplarının farklı olmasına bağlı olduğu kanısındayız.

Anastomoz yapılan ve silostazol almayan Grup A'nın ortalama intima alanı, silostazol alan ve anastomoz yapılan Grup B'nin ortalama intima alanına oranla daha fazla bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Anastomoz yapılmayan karşı taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde intima alanları arasında ilaç verilen grubun intima alanı ilaç verilmeyen gruba göre rakamsal olarak daha az saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Anastomoz yapılan ve silostazol almayan Grup A'nın ortalama media alanı Grup B'nin ortalama media alanına oranla daha az bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak

anlamli bulunmifstir. Anastomoz yapilmayan karfi taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde media alanlari arasinda istatistiksel olarak anlamli fark tespit edilmedi.

Silostazol alan ve anastomoz yapilan Grup B'nin ortalama media alaninin silostazol almayan ve anastomoz yapilan gruba göre daha az olması beklenirken daha fazla çıkmasının nedeni olarak ilaç almayan gruptaki intimal hiperplazinin düz kas hücre proliferasyonuna oranla daha fazla olduğu ve media tabakasını baskıladığı kanısındaız.

Silostazol almayan ve anastomoz yapilan Grup A'nin ortalama intima/media oranı Grup B'nin ortalama intima /media oranı ile karfiılaştırıldığında daha büyük bulunmuş ve bu istatistiksel olarak anlamli bulunmifstir. Anastomoz yapilmayan karfi taraf karotis arterlerin değerlendirmelerinde intima/media oranı arasinda istatistiksel olarak anlamli fark tespit edilmedi.

Çalışmamızdan çıkan sonuçlar, balon anjioplasti veya anastomoz sonrası silostazol verilen çalışmalarda çıkan lümen çapı ve alanındaki genişleme, intima alanında ve intima/media oranında azalma ile paralellik göstermiştir.

Silostazolun vazodilatör etkilerini gösteren çalışmalara paralel olarak bizim çalışmamızda da silostazol verdiğimiz grupların lümen çapları diğer gruplara göre belirgin artmış bulunmifstir. Bunun sadece intima üzerindeki etkilerinden değil vazodilatasyon yapıcı etkisinden de kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızdan ıkan sonuçlar doğrultusunda damar anastomozu sonrası intimal hiperplazinin azaltılması açısından silostazolun kullanılabileceği kanısındaız.

KAYNAKLAR

1. Clowes, A., Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. Rutherford RB, ed. Vascular Surgery, 1995: p. 285-93.
2. Pauleto P, Sartore S, Pessina AC. Smooth muscle proliferation and differentiation in neointima formation and vascular restenosis. Clin Sci. 1994; (87): p.467–479.
3. Schwartz RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia and/or remodeling. Am J Cardiol. 1998 : (81): p.14–17.

4. Galt G, Z.Z., Differential response of arteries and vein grafts to blood flow reduction. *J Vasc Surg*, 1993. 17(3): p. 563-570.
5. Donohoe., S., Myointimal thickening in experimental vein grafts is dependent on wall tension. *J Vasc Surg* 1992. 15(1): p. 176-186.
6. Jung Eun Kim, Jin Young Sung, Chang-Hoon. Cilostazol Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Reactive Oxygen Species Production through Activation of AMP-activated Protein Kinase Induced by Heme Oxygenase-1 *Korean PhysioPharmacol*. 2011 August; 15(4): 203–210.
7. Gartner, L., Hiatt James, L. , *Circulatuar system. Color Textbook of Histology*, 2001. second edition: p. 251-270.
8. Ross, M., *Circulatuar system. Circulatuar system In; Ross MH. Histology A Text and Atlas.*, 1995. Third edition(Williams& Wilkins Maryland): p. 302-314.
9. Cones, M., *Connective Tissue and stains. In; Bancroft J.D, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques*, 2002. Fifth edition(Churchill Livingstone Toronto): p. 125-163.
10. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980.288(5789):p. 373-6.
11. Panza, J.A., et al. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med*, 1990. 323(1): p. 22-7.
12. Kilbourn, R.G., et al. Reversal of endotoxin-mediated shock by NG-methyl-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 1990. 172(3): p. 1132-8.
13. Michiels, C., Endothelial cell functions. *J Cell Physiol*, 2003. 196(3): p. 430-43.
14. Shirk, R.A., F.C. Church, and W.D. Wagner, Arterial smooth muscle cell heparan sulfate proteoglycans accelerate thrombin inhibition by heparin cofactor II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. 16(9): p. 1138-46.
15. Shalaby, F., et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature*, 1995. 376(6535): p. 62-6.

16. Schiffrin, E.L. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J Hypertens*, 2001. 14(6 Pt 2): p. 83S-89S.
17. DeSouza, C.A., et al. Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation*, 2000. 102(12): p. 1351-7.
18. Verhaar, M.C., et al. Effects of oral folic acid supplementation on endothelial function in familial hypercholesterolemia. A randomized placebo-controlled trial. *Circulation*, 1999. 100(4): p. 335-8.
19. Zubilewicz, T., et al. Injury in vascular surgery--the intimal hyperplastic response. *Med Sci Monit*, 2001. 7(2): p. 316-24.
20. Doğan., D.E., N. İntimal hiperplazi nedenleri, önleme ve tedavi yöntemleri. *Kalp ve damar cerrahisi*, 2004. I.baskı(İstanbul, Çapa tıp kitapevi): 2004: p.639-647.
21. Takahashi, A., et al. Tranilast inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia by induction of p21(waf1/cip1/sdi1) and p53. *Circ Res*, 1999. 84(5): p. 543-50.
22. Peyot, M.L., et al. Extracellular adenosine induces apoptosis of human arterial smooth muscle cells via A(2b)-purinoceptor. *Circ Res*, 2000. 86(1): p. 76-85.
23. Dubey, R.K., et al. Adenosine inhibits growth of rat aortic smooth muscle cells. Possible role of A2b receptor. *Hypertension*, 1996. 27(3 Pt 2): p. 786-93.
24. De Meyer, G.R. and H. Bult, Mechanisms of neointima formation--lessons from experimental models. *Vasc Med*, 1997. 2(3): p. 179-89.
25. More, R.S., et al. A time sequence of vessel wall changes in an experimental model of angioplasty. *J Pathol*, 1994. 172(3): p. 287-92.
26. Zou, Y., et al. Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 1998. 153(4): p. 1301-10.
27. Mattsson E., et al. Increased blood flow induces regression of intimal hyperplasia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1997.17: p.2245–2249

28. Tiwari, A., et al. 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. 25(4): p. 287-95.
29. Mason, R.A., et al. The early and late responses of the arterial wall to graft placement. *J Surg Res*, 1989. 47(5): p. 383-8.
30. Schachner T. Pharmacologic inhibition of vein graft neointimal hyperplasia. *JThorac Cardiovasc Surg*. 2006.131(5): p.1065-72.
31. Schrör K. The pharmacology of cilostazol. *Diabetes,obesity and metabolism*. 2002 Mar;4 Suppl 2:S14-9
32. Cardiovascular system - Peripheral vasodilators and related drugs - Cilostazol. *British National Formulary* 2008; 56:
http://www.bnf.org/bnf/bnf/current/119724.htm?q=%22cilostazol%22#_hit.
33. Hiatt WR, Money SR, Brass EP. Long-term safety of cilostazol in patients with peripheral artery disease: The CASTLE study (Cilostazol: A Study in Long-term Effects). *J Vasc Surg* 2008; 47(2): 330-336.
34. Beebe HG, Dawson DL, Cutler BS, et al. A new pharmacological treatment for intermittent claudication: Results of a randomized, multicenter trial. *Arch Intern Med* 1999; 159(17): 2041-2050.
35. Dindyal S, Kyriakides C. A review of cilostazol, a phosphodiesterase inhibitor, and its role in preventing both coronary and peripheral arterial restenosis following endovascular therapy. *Recent Patents on Cardiovascular Drug Discovery*, 2009 Jan, 4(1), 6-14
36. Nakamura T, Houchi H, Minami A, et al. Endothelium-dependent relaxation by cilostazol, a phosphodiesterase III inhibitor, on rat thoracic aorta. *Life Sci* 2001;69:1709-15.

37. Igawa T, Tani T, Chijiwa T, et al. Potentiation of anti-platelet aggregating activity of cilostazol with vascular endothelial cells. *Thromb Res* 1990;57:617-23
38. Tamai Y, Takami H, Nakahata R, Ono F, Munakata A. Comparison of the effects of acetylsalicylic acid, ticlopidine and cilostazol on primary hemostasis using a quantitative bleeding time test apparatus. *Haemostasis* 1999;29:269-76.
39. Tani T, Uehara K, Sudo T, Marukawa K, Yasuda Y, Kimura Y. Cilostazol, a selective type III phosphodiesterase inhibitor, decreases triglyceride and increases HDL cholesterol levels by increasing lipoprotein lipase activity in rats. *Atherosclerosis* 2000;152:299-305.
40. Elam MB, Heckman J, Crouse JR, et al. Effect of the novel antiplatelet agent cilostazol on plasma lipoproteins in patients with intermittent claudication. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1942-7.
41. Ishizaka N, Taguchi J, Kimura Y, et al. Effects of a single local administration of cilostazol on neointimal formation in balloon-injured rat carotid artery. *Atherosclerosis* 1999;142:41-6.
42. Yamamoto K., Fujinaga K., Locally Applied Cilostazol Suppresses Neointimal Hyperplasia and Medial Thickening in a Vein Graft Model. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 13: 322–330)
43. Kudo FA, Kundo Y, Cilostazol suppresses neointimal hyperplasia in canine vein grafts. *Surg Today* (2009) 39:128–132

