

Geçici Anevrizma Klipsinin Sıçan Karotid Arterinde Oluşturduğu Değişikliklerin Histopatolojik Olarak İncelenmesi

Histopathologic Evaluation of the Changes Formed by Temporary Aneurysmal Clipping in the Rat Carotid Artery

Fahri Yılmaz¹ Serdar Kemaloğlu²
A. Kemal Uzunlar¹ Halit Demiralay² Mehmet Özaydın¹

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Diyarbakır

¹Patoloji Anabilim Dalı

²Nöroşirürji Anabilim Dalı

Özet: Bu çalışmada, klip incinmesinden sonra sıçan karotid arterinin düz kas ve endotelyumunun morfolojik rejenerasyonunun doğal seyri araştırıldı. Vasküler hasar Spaque-Dawley cinsi sıçanların sol karotid arterlerinde klips tarafından oluşturuldu. Endotelyal iyileşme 24 saat içinde başladı ve incinmeden sonraki üçüncü ve dördüncü günlerde en hızlıydı. Endotelyal yıkım 5 gün içinde onarıldı. Bu bulgular klips yaralanmasından sonra endotelyal iyileşmenin bir hafta içinde tamamlandığını göstermiştir, oysa düz kas hücrelerinin iyileşmesi daha yavaştır.

Anahtar Sözcükler: Karotid arter, endotel, düz kas, damarsal yıkım

Summary: In this study, we investigated the natural course of the morphological regeneration of the endothelium and smooth muscle of the rat carotid artery after clipping injury. Vascular damage was produced by clipping the left carotid arteries of Spaque-Dawley rats. Endothelial regrowth started within 24 hours and fastest on the third and fourth days after injury. The endothelial injury was repaired within 5 days. These findings suggest that endothelial regrowth is completed within a week after clipping injury, where as smooth muscle cell regrowth is slower.

Key Words: Carotid artery, endothelium, smooth muscle, vascular injury

Arteriyel lümenlerin aterosklerotik daralması insanlarda yaşla birlikte artar ve intimanın diffüz kalınlaşması sonucu ortaya çıkar. Yapılan bazı klinik araştırmalar, aterosklerotik lezyonların gelişiminde arteriyel

incinmeden sonraki rejenerasyon döneminin bir rol oynayabileceğini göstermiştir (1-6).

Vasküler cerrahide kullanılan geçici klipslerin avantajlarına karşılık, damar duvarında çeşitli olumsuz etkileri de

vardır (7,8). Bunların başında damar endotelinde ve düz kaslarda yıkım, bölgesel daralma ve serebral iskemik yıkımlar gelir (9). İncinmeye uğrayan endotelyum ve düz kaslar baştan sona derece derece rejenerer olur. Buna karşın, bu rejenerasyon sürecinin doğal nedeni tam olarak anlaşılamamıştır (1). Bu çalışmanın amacı, sıçan karotid arterlerinde klips tarafından oluşturulan damarsal incinmeden sonra endotelyum ve düz kas hücrelerindeki iyileşmenin seyrini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 320 ± 30 gram olan Spaque-Dawley cinsi 30 adet erişkin sıçan kullanıldı. Sıçanlar Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Merkezi (DÜSAM)'den sağlandı. Sıçanlar 10 mg xylazinhidroclorid (Rampun %2, Bayer) ve 20 mg ketaminhidroclorür (Ketalar flk, Parke-Davis) ün intraperitoneal enjeksiyonu ile spontan solunumda anestezide alındı. Sağ ve sol karotid arterler orta çizgi lineer deri insizyonu ile açığa alındı. Sonra Yaşargil anevrizma klipsleri (1mm genişlikli, 120 gr kapama gücü) sol karotid artere 30 dakika süre ile uygulandı ve bu bölgeler metilen mavisi ile belirlendi. Travmadan sonra sıçanlar gelişigüzel olarak; travmadan hemen sonra, 1., 3., 5., 7. ve 9. günler olarak altı değişik kümeye ayrıldı. Daha sonra belirtilen günlerde sıçanlar sakrifiye edilerek sağ ve sol karotid arterler spesmen olarak alındı. Sağ karotid arterler kontrol için kullanıldı. Alınan arterler %10'luk formalinde işleme alındı ve belirlenen yerlerden alınan parçalar doku işlemlerinden geçirildi. Parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında elde edilen kesitler Hematoxylin-Eosin ile boyanarak ışık mikroskobu düzeyinde histopatolojik olarak incelendi.

Bulgular

Kontrol amacıyla alınan sağ karotid arterlerin internal elastik laminasının tek sıralı endotel hücreleri ile döşeli olduğu ve damar duvarının 4-6 sıralı düz kas hücrelerinden oluştuğu izlendi (Resim 1). Bu endotel hücrelerinin travmadan hemen sonra alınan kümedeki sıçanlarda, travmaya doğrudan uğrayan bölgede tümüyle dökülmüş olduğu gözlemlendi. İnternal elastik lamina altında yer alan düz kas hücrelerinde ise yer yer hafif nekroz izlendi. Ayrıca bir kısım kas hücrelerinin nükleuslarının kaybolduğu ve düz kas hücrelerinde yer yer vakuoller izlendi. Benzer bulgular travmadan sonraki 1. günde alınan sıçanlarda da görüldü (Resim 2). Travmadan sonraki üçüncü günde alınanlarda; düz kas hücreleri tabakasında artma ve vakuoler dejenerasyon alanları vardı. Tüm

arter lümeninin anormal morfolojide çok sıralı rejenerer endotel hücreleri ile döşeli olduğu izlendi (Resim 3). Travmadan sonraki 5. günde endotel hücrelerinin yer yer tek sıralı yer yer de çok sıralı dizilim gösterdiği ve normal morfolojide oldukları izlendi. Media tabakasında rejenerer ve dejenerer hücreler karışık olarak gözlemlendi. Ayrıca kas tabakasında vakuoller vardı (Resim 4). Travmadan sonra ki 7. ve 9. günlerde ise damar lümeninin kontrol kümesindeki gibi normal görünümde tek sıralı endotel ile kaplandığı ve damar duvarının da büyük ölçüde normale döndüğü izlendi.

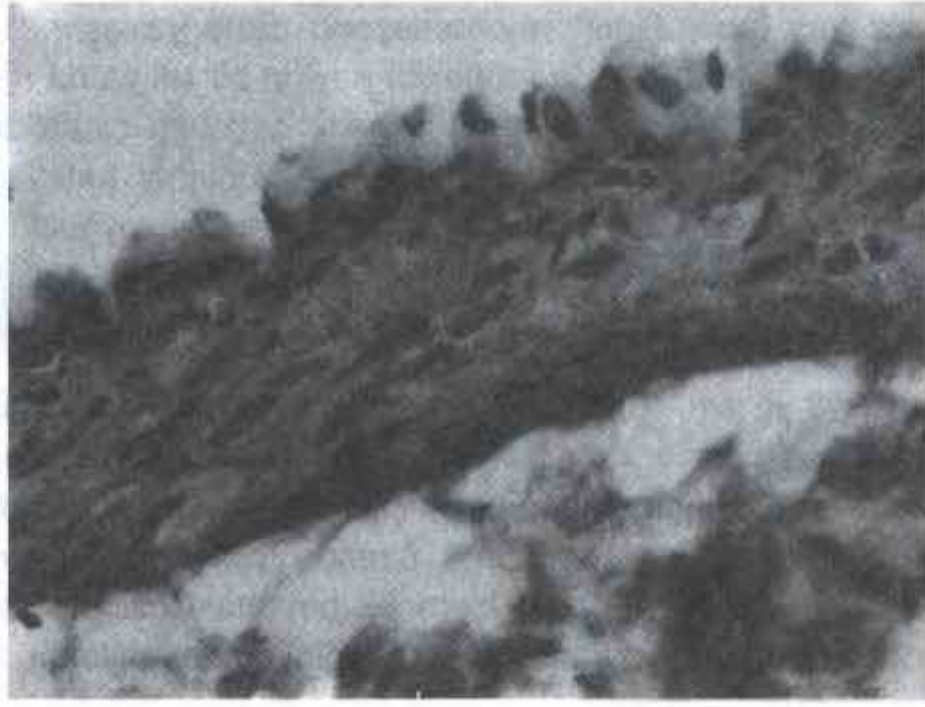
Travmatize arterlerin luminal çaplarının ilk yedi gün içinde belirgin bir değişiklik göstermediği, 7. günden sonra ise hafif bir artış gösterdiği izlendi. Media tabakası miktarı da travmadan sonraki 3. günden sonra biraz artış gösterdi (Resim 3-4).

Tartışma

Arterlerin geçici klipslenmesi nörovasküler cerrahide en sık kullanılan yöntemlerden birisidir. Daha önce yapılan kimi çalışmalar sefalik ya da serebral arterlerin klipslenmesinin damar duvarlarında kolayca yaralanma oluşturabileceğini göstermiştir (10). Bununla birlikte klips yaralanmasından sonra endotel hücre rejenerasyonu ve düz kasların doğal iyileşme süreçleri henüz tam olarak araştırılmamıştır. Bu endotelial yeni gelişme ya da subendotelial kalınlaşma yalnız tromboza yol açmaz aynı zamanda arteriyal kalınlaşmaya neden olarak, arteriosklerozun patogenezinin bir parçası olabileceği gibi incinmenin yinelenmesi ile de bir ilişkisi olabilir (11,12).

Daha önceden yapılan kimi çalışmalarda sıçan karotid arterlerinin klipslenmesinin; endotelial hücrelerin tümüyle yitmesine, medial düz kas tabakasının kontüzyonel incinmesine ve endotelial dokuya trombosit adhezyonuna yol açtığı gösterilmiştir (13). Bu çalışmada da deneysel modelimizde travmadan hemen sonra endotel hücrelerinin tam olarak yitimini ve yer yer nekrotik düz kas hücrelerini gözledik. Bu bulgular klips uygulanan karotid arterlerin hem endotelial hem de düz kas tabakasında incinme oluştuğunu göstermiştir.

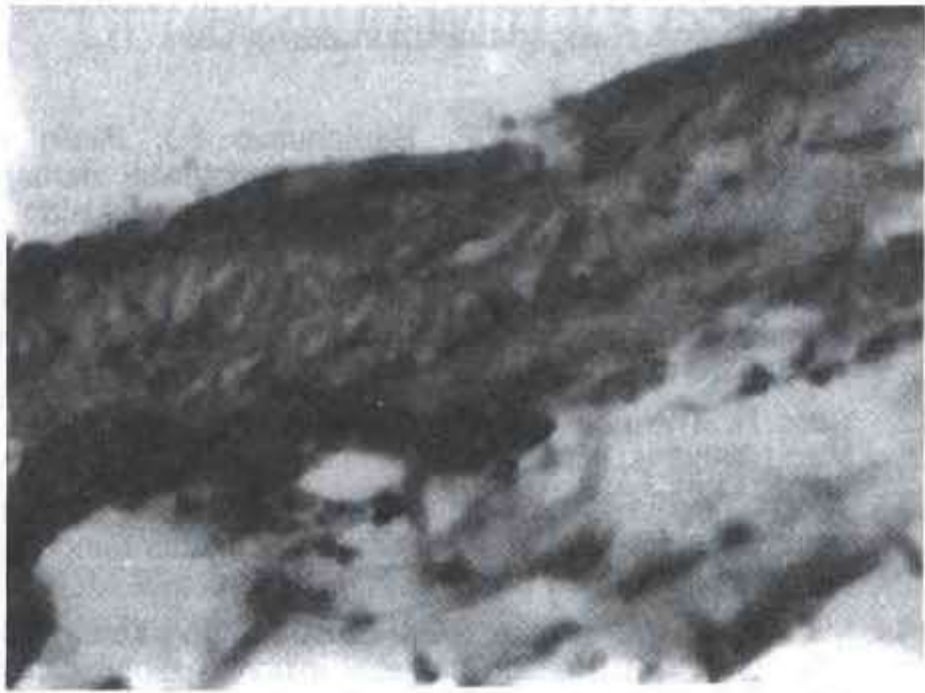
Elektron mikroskopik araştırmalar, lezyon oluştuğu zaman sağlam endotelial hücrelerden yeni endotelial gelişimin başladığını, normal rezidüel endotelyumun kenarından sürekli bir yeni gelişen tabaka oluştuğunu, normal ve incinmeye uğramış endotelyum arasındaki sınırda hücre bölünmesinin gözlemlenebildiğini ortaya koy-



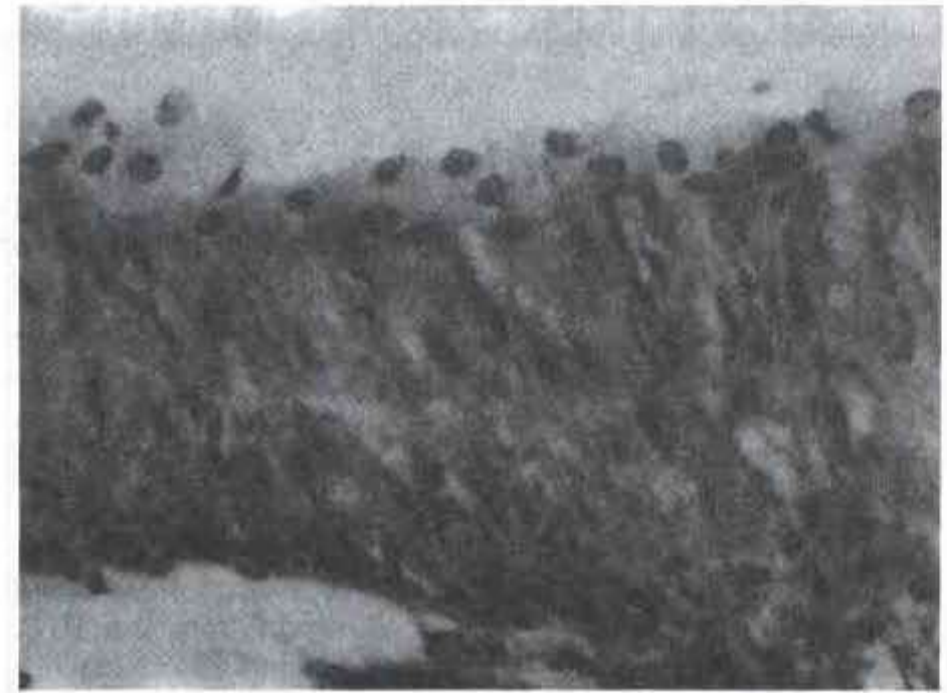
Resim 1. Kontrol: Lümeni tek sıralı endotel hücreleri ile döşeli normal görünümdeki damar duvarı (H+E X40).



Resim 3. Üçüncü gün: Çok sıralı regenere endotel hücreleri ile döşeli ve düz kas tabakasında artma gösteren damar duvarı (H+E X40).



Resim 2. Birinci gün: Endotel hücrelerinin tamamında dökülme, düz kas hücrelerinde nükleus yitimi ve fokal nekroz (H+E X40).



Resim 4. Beşinci gün: Yer yer çok sıralı dizilim gösteren normal morfolojideki endotel hücreleri, kas tabakasında rejenerasyon ve vakuoler dejenerasyon alanları (H+E X40).

muştur (14). Bulgularımız incinmeden sonra 3. ve 5. günlerde yeni gelişme oranının en hızlı olduğunu ve sonra aşamalı olarak azaldığını gösterdi. Tsukahara ve ark. sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında, endotel rejenerasyonu oluşumunun ve meydana geliş zamanının incinmeye uğrayan yerdeki mitoz tarafından düzenlendiğini ve sağlam ya da rezidüel endotelial hücrelerin migrasyona uğradığını öne sürmüşlerdir (1). Kaybolmuş yeterli büyüklükteki bir damar endotel incinmesinden sonra düz kas hücrelerinin luminal yüzey oluşturmak üzere o bölgeye göç edebilecekleri bildirilmiştir (15,16). Bu hücreler nontrombojenik olmalarına karşın, endotelial hücreleri yaparken iyi sınırlı birleşmeleri olmadığı-

dan dolayı psödoendotelyum olarak adlandırılırlar (1). Çalışmamızda iyileşme sürecinde damar lümeninde atipik boyutlarda luminal hücreler görüldü. İncinmeden hemen sonra klips travmasına uğrayan alanda düz kas hücre tabakasında bir azalma ve kas hücrelerindeki nükleusların sayısında da bir azalma vardı. Bu durum klips travmasının düz kas hücre yıkımına neden olduğunu düşündürmüştür. İncinmeden sonraki dönemlerde medial kalınlaşma izlenmiştir. Tsukahara ve ark. bu medial kalınlaşmanın nedenini hem düz kas hücrelerinin sayısında artma, hem de fibroblast gibi konnektif doku elemanlarının artmasından dolayı olabileceğini ileri

sürmüşlerdir (1). Ancak 12 haftalık izleme periodunda karotid arter lümeninde herhangi bir daralma saptanmamıştır. Bununla birlikte, önceki birçok araştırma endotelial incinmenin sıklıkla aterosklerotik subendotelial kalınlaşmaya neden olduğunu göstermiştir (11,12, 17). Çalışmalar arasındaki bu çelişkinin nedeni değişik hayvan türlerinin kullanılması (örneğin: kimi çalışmalarda sıçan, kimilerinde de tavşan kullanıldı) ve damarsal yaralanmayı içeren değişik yöntemlerin kullanılması olabilir (1). Nitekim, Reidy ve ark. (11,16) tavşan ve sıçanlar arasındaki incinmeye uğramış endotelial hücre gelişim oranının, değişik olduğunu bildirmiştir. Sıçan karotid arterlerinde endotelial hücre gelişimi tavşan karotid arterlerinden daha hızlı olduğundan dolayı, sıçan karotid arterlerindeki endotelial incinmenin daha hızlı onarılması, olası intimal kalınlaşmayı önleyebilir (1). Deneysel modelimizde klipsler düz kas tabakasının büyük bir kısmında destrüksiyona yol açtı. Düz kas hücre proliferasyonu, incinmeye uğrayan alanın dışından gelen hücrelerin göçüne bağlı olduğu için, kronik iyileşme

periodunda, artmış luminal boyutun bir nedeni olabilir ve düz kas tabakasının rejenerasyonu daha yavaştır (1). Walker ve ark. (18,19) ya flexibel naylon bir tel ya da rijid bir çelik tel kullanarak damar endoteliumunu çıkardılar ve yalnızca tel tarafından oluşturulan intimal kalınlaşmayı gösterdiler. Bununla birlikte her iki uygulama endotelial incinmenin 2 gün içinde onarıldığını ortaya koymuştur (1).

Kuzeyli ve ark. (9) klips incinmesi oluşturulan damarlardaki olumsuzluğu en aza indirmek için yaptıkları deneysel çalışmalarında; geçici klips uygulamadan önce, ilgili damar segmenti üzerine yerleştirilecek ve yalnızca klips ayaklarını içerecek boyuttaki ezilmiş kas ya da "surgicel" in yararlı olabileceğini göstermişlerdir.

Sonuç olarak sıçan karotid arterlerinin geçici olarak kliplenmesi, hem endotelial hem de düz kas tabakasında yıkım oluşturur. Endotelial iyileşme incinmeden sonraki bir hafta içinde tamamlanır. Buna karşılık düz kasların iyileşme süreci daha uzun zaman alır (1).

Kaynaklar

1. Tsukahara T, Yonekawa Y, Yamamoto M, Kaku Y, Ogata N, et al. Regeneration of rat carotid artery after clipping injury part. I. A morphological study. *Neurosurg* 1993; 32: 66-72.
2. Cowley MJ, Dorros G, Kelsey SF, van Raden MJ, Detre KM. Acute coronary events associated with percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1984; 53: 12c-16c.
3. Holmes DR, Vliestra RE, Smith HC, Vetrovec GW, Kent KM, et al. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): A report from the PTCA registry of the National Heart, Lung and Blood Institute. *Am J Cardiol* 1984; 53: 77C-81C.
4. Kaltenbach M, Kober G, Sherer D, Vallbracht C. Recurrence rate after successful coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1985; 6: 276-281.
5. Kent KM, Bentivoglio LG, Block PC, Cowley MJ, Dorros G. Percutaneous transluminal coronary angioplasty: Report from the registry of National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am J Cardiol* 1982; 49: 2011-2020.
6. Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ. Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: A time related phenomenon: A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3 and 4 months. *Circulation* 1988; 77: 361-371.
7. Charbel FT, Ausman JI, Diaz FG, Malik GM, Sanders J. Temporary clipping in aneurysm surgery: Technique and results. *Surg Neurol* 1991; 36: 83-90.
8. Richling B, Griesmayr Q, Lametschwandtner A, Scherbl-blandner W. Endothelial lesions after temporary clipping: A comparative study. *J Neurosurg* 1979; 51: 654-661.
9. Kuzeyli K, Aktürk F, Söylev E, Baykal S, Pekince A, et al. Geçici klip uygulamasında damar segmentinin surgicel ve kas dokusu ile desteklenmesi ve bunun histopatolojik sonuçları. *T Nöroşir Derg* 1996; 6: 10-13.
10. Manuel D, Osgood CP, Barrionuevo PJ, Perlin A, Kossovsky N. SEM evaluation of endothelial damage following temporary middle cerebral artery occlusion in dogs. *J Neurosurg* 1978; 48: 42-48.
11. Reidy MA. Biology of disease. A reassessment of endothelial injury and arterial lesion formation. *Lab Invest* 1985; 53: 513-520.
12. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. *N Eng J Med* 1986; 314: 488-500.
13. Tani K, Kubota T, Yamasluta T, Ito H, Yamamoto S. Ultrastructural study of arterial endothelial cells after temporary clipping. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1988; 28: 109-116.
14. Manderson JA, Mosse PRL, Safstrom JA, Young SB, Campbell GR. Balloon catheter injury to rabbit carotid artery. I. Changes in smooth muscle phenotype. *Arterioscler* 1989; 9: 289-298.
15. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab Invest* 1983; 49: 327-333.
16. Reidy MA, Clowes AW, Schwartz SM. Endothelial regeneration. V. Inhibition of endothelial regrowth in arteries of rat and rabbit. *Lab Invest* 1983; 48: 569-575.
17. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Mechanisms of stenosis after arterial injury. *Lab Invest* 1983; 49: 208-215.
18. Walker LN, Ramsey MM, Bower DE. Endothelial healing following defined injury to rabbit aorta. Depth of injury and mode of repair. *Atheroscler* 1983; 47: 123-130.
19. Walker LN, Bowyer DE. Endothelial healing in the rabbit aorta and the effect of risk factors for atherosclerosis hypercholesterolemia. *Arterioscler* 1984; 4: 479-488.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Fahri Yılmaz
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı
Diyarbakır