

# İntima Harabiyeti Oluşturan Arterde Açık Kalma Oranını Artırıcı Bir Yöntem Olarak Endotel Hücreleri Yerleştirilmesi (Deneysel Çalışma)

O. Tansel DARÇIN\*, Ömer TETİK\*, Ali RAHMAN\*, M. Ziya DOYMAZ\*\*,  
M. Rıza GEZEN\*\*\*, Ahmet ÇEKİRDEKÇİ\*

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi. ELAZIĞ

\* Göğüs. Kalp ve Damar Cerrahisi Anabilim Dalı

\*\*Temel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

\*\*\* Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Endothelial seeding (endotel hücreleri kaplaması), angioplasti gibi tedavi edici işlemlerdeki gibi intima harabiyetinin oluşturulduğu arterlerde daha sonraki dönemde açık kalma oranını artırıcı bir yöntemdir. Çalışmamızda sekiz adet sokak köpeğinin bilateral eksternal juguler verileri çıkarıldı. Venlerden kollagenaz ile enzimatik olarak endotel hücreleri elde edilen hücreler daha sonra hücre kültürü vasatında pasajlanarak çoğaltıldılar. Üç hafta sonra deneklere aynı şekilde genel anestezi verilerek, her iki femoral arterlerinde deneysel intima harabiyeti oluşturuldu. Femoral arterlerden birisine endotel hücreleri süspan-siyonu, diğerine ise serum fizyolojik verildi. Postoperatif ikinci haftada, köpeklere eşzamanlı bilateral femoral arteriografi yapıldı. Açık kalma oranları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Ayrıca kontrol ve çalışma tarafından alınan arterlerden hazırlanan preparatlar histolojik olarak değerlendirildi. Her iki tarafta da arter duvarlarında, intima harabiyeti oluşturulduğu görüldü. Ancak çalışma tarafında, endotel hücre monolayerinin, harap edilmiş subendotelial doku üzerine yerleştiği izlendi. Kontrol tarafında ise, herhangi bir endotel hücreleri görülmedi. Ancak, lümeninde trombus gelişimi vardı. Böylece seedingin varlığı, histolojik olarak da gösterilmiş oldu.

## Endothelial Seeding as a Method to Improve Patency Rates of Denuded Vascular Surfaces (An Experimental Study)

Endothelial seeding is assumed to be an effective method to improve patency rates of denuded vascular surfaces that is seen after angioplasty. In this study, following anesthesia jugular veins of eight dogs were harvested bilaterally. From these veins endothelial cells were obtained enzymatically by collagenase and were passaged in to culture mediums until they reach a satisfactory number. After three weeks, dogs were anesthetized similar fashion. Their femoral veins were exposed and experimental intimal denudation were performed bilaterally. Subsequently, one of femoral artery was injected with celi solution and the other with saline solution. Two weeks after injections, arteriographic studies of femoral arteries were performed and arterial specimens were taken for histological evaluation. We concluded that patency rates were statistically significant between study and control sites ( $p<0.05$ ). Histologic evaluations has also revealed that cultured endothelial cells have attached to the damaged surfaces. There were no cells on the control site. Thrombus formation was also seen on the damaged subintimal layer despite there was nothing on the study site.

GKDC Dergisi 1998; 6: 229-235

- Bu çalışma, T.C. Fırat Üniversitesi, Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
- Club Hotel Sirene, Belek-Antalya'da 20-24 Ekim 1998 tarihinde yapılan 5. Ulusal Göğüs, Kalp ve Damar Cerrahisi Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

## Giriş

İlk kez 1829'da Lobstein' in ateroskleroz deyimini ortaya atması ile birlikte, bu patolojiye yönelik medikal ve cerrahi yaklaşımlarla, tedavi edici girişimlerde bulunulmuştur. Bu girişimlerden endarterektomi ve perkütan transluminal anjioplasti (PTA), bu gün en yaygın olarak kullanılan invaziv yöntemler arasında yer almaktadır (1-7).

Uzun yıllardan beri kullanılan her iki yöntemde de en büyük sorun, işlemin yapıldığı arter segmentinde restenoz ve tromboz gelişimidir. Bu nedenle de, yapılan girişimlerin başarı oranları düşük kalmaktadır (3-6). Bu sorunları aşmak için platelet inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri, düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) medikal yöntemler ile stent ve aterektomi gibi mekanik yöntemler denenmiştir (3-6,8).

Ancak daha sonra yapılan değerlendirmeler, bunların hiç birisinde önemli ölçüde bir restenoz azalması elde edilemediğini göstermiştir. Olayın patofizyolojisi incelendiğinde ise, restenoza yol açan esas nedenin işlem sırasında endotel örtüsünün o segmentte harap edilmesi ve subendotelyal matris dokusunun kanla teması olduğu görülmüştür. Endotel hücrelerinin, prostasiklin ve endotelyum derived relaxing (EDRF) faktör gibi platelet agregasyon inhibitörleri ile vazokonstrüktör (anjiotensin II, v.b) ve vazodilator maddeler salgıladığı; böylece de bir yandan damar tonüsünün düzenlenmesine katkıda bulunurken, diğer yandan da lokal antitrombojenik etki gösterdiği belirlenmiştir (1,2,7,9,10-13). Bu da çalışmacıları, endarterektomi ve PTA gibi işlemlerin yapıldığı bölgelerin yine aynı canlıdan elde edilerek üretilen endotel hücreleriyle örtülmesi; böylece girişim yapılan arter bölgesine hızla doğal yapısının tekrar kazandırılması fikrine yöneltmiştir (11-15).

Biz bu çalışmamızda, deneysel olarak intima harabiyeti oluşturduğumuz köpek arterlerine, hücre kültürlerinde daha önceden üretilmiş

otojen endotel hücreleri vererek onların bu bölgelere tutunmalarını ve girişim sonrası arterin açık kalma oranını artırmayı amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmada, her iki cinsten sağlıklı, 15-26 kilogram (kg.) ağırlığındaki sekiz adet sokak köpeği kullanıldı. Deneyler yapılırken Canadian Council on Animal Care' in prensiplerine uyuldu. Birinci aşamada, her köpeğin eksternal juguler veni, bilateral olarak çıkarıldı. Bu işlem için, köpeklere 3 miligram (mg.)/kg. xylazine ve 0.25 mg. intramüsküler (İ.M.) enjeksiyonundan yarım saat sonra, 25 mg./kg. ketamin HCl' ün yine İ.M. enjeksiyonu ile genel anestezi uygulandı. İşlem sırasında hipovolemi ve hemokonsantrasyonu önlemek amacıyla, intravenöz (İ.V.) serum fizyolojik infüzyonu yapıldı. Tüm köpeklere deneyin her aşamasında, preoperatif koruyucu antibiyotik (Pronapen flakon 800; Pfizer, İstanbul-Türkiye) yapıldı.

Deneklerin boynunun her iki tarafından da eksternal juguler venler çıkarıldı. Daha sonra, içlerinden geçirilen bir prob yardımı ile, venlerin içi dışına çevrildi. Böylece, intimaları dışarıya çıkarılmış olan damarların, adventisyalı görülmeyecek şekilde içeriye gömülerek, her iki uçları da bağlandı.

Primer venöz endotel hücreleri kültürü yapılırken Sank ve arkadaşlarının (20) kullandıkları metod esas alındı. Venler, 5 ml. fosfat tamponlu solüsyon (PBS-Dulbecco; Biochrom-Seromed, Berlin-Almanya) içinde hazırlanan %0.5' lik kollagenaz (Collagenase; Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo-U.S.A.) solüsyonu ile yıkandı. Sonra venler, PBS-Dulbecco' da %0.5 oranında hazırlanan 20 ml.'lik kollagenaz solüsyonu içerisinde 37 °C' de 15 dk. bekletildi. İnkubasyon sonrasında solüsyon, 1000 devir/dakika (rpm.) da 5 dk. santrifüj edildi.

Hücreler, %20 FBS ihtiva eden, Dulbecco's minimal essential medium nutrient mixture (DMEM; Biocrom-Seromed Berlin-Almanya)

vasatı içeren kültür flaskları içinde 37 °C' deki etüve alınarak inkübasyona bırakıldı. Her üç günde bir vasat değiştirildi. Üçüncü haftadan itibaren, kültür flaskının birkaç noktasından morfolojik olarak endotel hücreleri, altıncı haftada flaskın tümünü kaplayarak, monolayer bir görünüm oluşturdular.

Monolayer endotel hücresi oluştuktan sonra, hücreler PBS İçinde hazırlanmış %0.1 tripsin (Trypsin; Difco Laboratories, Detroit, Mi.-U.S.A) ve %0.1 etilen diamine tetraasetik asit (EDTA; Difco Laboratories, Detroit, Mi.-U.S.A) ile flask yüzeyinden ayrılıp hücre süspansiyonu halinde 2 ml. olarak deneyin ikinci aşaması için hazırlandı.

Deneyin ikinci aşamasında da, köpeklere aynı şekilde anestezi ve medikasyon yapıldı. Her iki uyluğa yapılan vertikal kesilerle, femoral arterler bilateral olarak explore edildi. Denekler 100 ünite (ü.)/kg. dozundaki heparin ile heparinize edildikten sonra, önce sağ femoral arterine vasküler klemp konularak, klempin distaline arteriotomi yapıldı. Buradan sokulan 3.0x2.0 PTA kateteri (Cordis-Europass, Johnson & Johnson, Roden-Netherlands), distale doğru yönlendirilerek, sabit basınç uygulayabilen enjektör ile (Inflation device; B.Braun, Bethlehem, Pa-U.S.A) 9 atmosfer (atm.) basıncında 30 sn. boyunca şişirildi. Şişik durumdaki balon, ileriye ve geriye doğru hareket ettirilerek, 4 cm.' lik bir segmentte deneysel intima harabiyeti oluşturuldu. Daha sonra bu bölgenin distaline de bir vasküler klemp konularak, 4 cm. boyunda izole bir arter segmenti hazırlandı.

Segment 10 ml. serum fizyolojik solüsyonu ile irrije edildi. Laboratuar çalışmacıları tarafından hazırlanan 2 ml.'lik solüsyonlardan bir tanesi serum fizyolojik, bir tanesi de endotel hücresi süspansiyonu içermekteydi. Hangisi olduğunu bilmediğimiz süspansiyonlardan bir tanesi alınarak, hazırlanan arter segmentine verildi.

Daha sonra, üçüncü bir vasküler klemp arteriotomi bölgesinin hemen distaline, harabiyet yapılan bölgenin proksimalinde olacak şekilde

yerleştirildi. Böylece solüsyonun, intima harabiyeti yapılan arter segmentinde lokalizasyonu sağlandı. Arter segmenti, 15 dk. sonra vasküler klempler aracılığı ile 180° çevrilerek, yine 15 dk. daha beklenildi. Böylece, süspansiyon içinde olabileceği düşünülen endotel hücrelerinin, intima harabiyeti oluşturulan arter yüzeyi ile 30 dk. boyunca homojen olarak teması amaçlandı. Bu süre sonrasında, lümene verilen solüsyondan 1 ml. kadar örnek geriye alınarak laboratuar çalışmacılarına verildi. Daha sonra arteriotomi kesisi kapatılarak vasküler klempler kaldırıldı. Aynı işlemler, daha sonra sol femoral artere de tekrarlandı. Sonuçta aynı denek üzerinde, çalışma ve kontrol sahaları oluşturulmuş oldu. Bu işlem yapıldıktan sonra, antibiyotik profilaksisi dışında herhangi bir medikasyon yapılmadı. Deneklerin postoperatif 2. haftada yine aynı şekilde uygulanan genel anestezi altında, abdominal aortalarına yerleştirilen 5 french (F.) intraducer (Intraducer set 5F; Cordis, Johnson&Johnson, Roden-Netherlands) ile bilateral eşzamanlı femoral arteriografileri çekildi.

Aynı seansta deneklerin sağ ve sol femoral arterinden alınan spesmenler, Hematoksilen-eosin (HE) ile boyandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Olympus BH2, Tokyo-Japonya) ile incelendi. Burada her deneğin çalışma ve kontrol bölgelerinden alınan örneklerdeki endotel hücre bütünlüğü ve yine çalışma gruplarındaki hücrelerin harap edilmiş arter yüzeyine tutunmaları, histolojik olarak değerlendirildi.

Deneklerin postoperatif ikinci haftada çekilen eşzamanlı sağ ve sol femoral arteriografilerinin değerlendirilmesi sonucunda, çalışma ve kontrol taraflarındaki stenoz oranları % olarak bulundu. Her iki taraftan da elde edilen bu oranlar, Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Histolojik değerlendirme sırasında, intima harabiyeti oluşturulmuş olan subendotelial tabaka üzerine hücre kültüründe üretilen endotel hücrelerinin tutunmuş olarak görülmesi durumunda seeding başarılı, subendotelial tabaka üzerinde

tutunmuş olan herhangi bir endotel hücrelerinin görülmemesi ve trombüs bulunması durumunda ise başarısız olarak değerlendirildi.

## Bulgular

Deneklerden elde edilen arteriografi sonuçları şöyledir:

**Tablo 1.** Çalışma ve kontrol bölgelerinin arteriografi sonuçları. Çalışma ve kontrol taraflarının stenoz oranlarının karşılaştırması (p=0.01).

Denekler	Çalışma tarafı (%)	Kontrol tarafı (%)
1	20	60
2	10	20
3	30	30
4	30	50
5	10	30
6	0	30
7	20	40
8	0	20
Ortalama (%)	15	35

p<0.05 olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Postoperatif ikinci haftada, deneklerin çalışma ve kontrol taraflarından alınan dokulardan hazırlanan preparatlar 132x büyütmede değerlendirildi. Buna göre:

Tüm deneklerin çalışma tarafında harap edilmiş intimadan geriye kalan subendotelial tabaka üzerine kültürde üretilmiş olan endotel hücrelerinin tutundukları ve monolayer bir görünüm oluşturdukları izlendi. Arter lümeninde herhangi bir trombüs gelişimi yoktu. Kontrol tarafında ise yapılan harabiyet nedeniyle intima dokusunun kaybolduğu, internal elastik laminada yer yer yırtılmalar olduğu ve lümeninde trombüs geliştiği gözlemlendi.

## Tartışma

Endotel hücrelerinin lokal antitrombotik fonksiyonları olduğu, birçok çalışmada açıkça gösterilmiştir. Bu hücreler, doku plazminojen aktivatörleri gibi fibrinolitik ajanlar İle, EDRF ve prostasiklin gibi aynı zamanda vazodilatatör özelliği de olan, antiplatelet ajanlar salgırlarlar.

Bu hücrelerden ayrıca, miyointimal hiperplazide görülen düz kas proliferasyonu ve migrasyonunu da inhibe edebilen, heparin benzeri moleküllerin de salgılandığı gösterilmiştir (1,2,7,12,13).

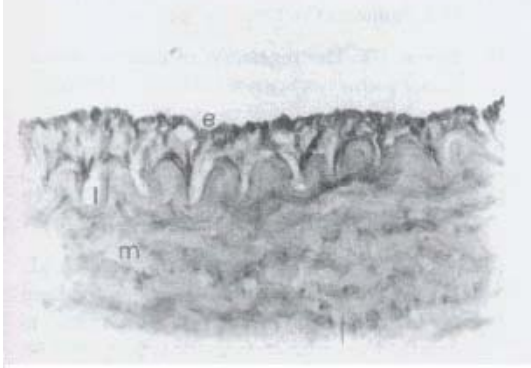
Femoropopliteal PTA uygulanan hastalarda restenoz gelişimi, her zaman önemli bir problem olagelmıştır. Bu hastalarda restenoz, miyointimal hiperplazi ile ateroskleroz gelişmesi sonucu ortaya çıkmaktadır (3,5,8). Bu nedenle de, bu türden girişimlerden beklenen ölçüde başarılı sonuçlar alınamamıştır. Gray ve arkadaşları (21), 55 hastada yaptıkları femoral anjioplastilerde, birinci yılda açık kalma oranını %22 olarak bulmuşlardır. Biz de yaptığımız çalışmada, kontrol tarafında 2. hafta sonrasında açık kalma oranını %65 olarak bulduk (3,5,8).

PTA ve endarterektomiden sonraki açık kalma oranlarının endothelial seeding ile artırıldığı, birçok çalışmada gösterilmiştir. Bununla ilgili deneysel çalışmalar, arterial injürden sonraki miyointimal hiperplazi ve trombüs oluşumunun, işlemden sonra rejeneren olan damarın kendi endoteliumu ile azaltıldığını göstermektedir. Bu nedenle, PTA alanlarının otolog endotel hücreleri ile kaplanmasının miyointimal hiperplaziyi ve trombüs oluşumunu azaltacağı, teorik olarak da düşünülebilir (15-19).

Literatürde de belirtildiği gibi biz de, endothelial seeding suni greftler yerine subendotelial doku üzerine yapmaya karar verdik (14,16-19). Thompson ve arkadaşları (14), deneysel endotel harabiyeti oluşturduktan sonra, %4 paraformaldehit -%2 glutaraldehit ile muamele ettikleri insan safen veni segmentlerine, endothelial seeding uygulamışlardır. Bu çalışmacılar, intima harabiyeti oluştururken PTA balonunu 9 atm. basıncında ve 30 sn. boyunca şişirerek oluşturulan deneysel intima harabiyetini standardize etmişlerdir. Biz de buradan yola çıkarak, aynı yöntemi uyguladık ve böylece her denegın kontrol ve çalışma taraflarında oluşturduğumuz intima harabiyetini standardize etmiş olduk.

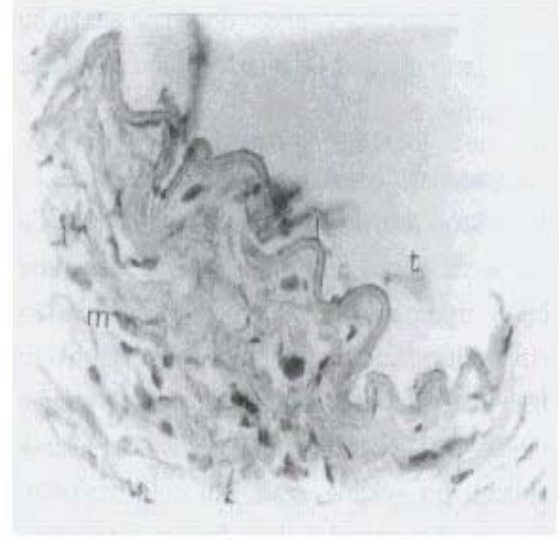


**Resim 1.** Postoperatif ikinci haftada çekilen bilateral eşzamanlı femoral arteriografi. Çalışma tarafında %0, Kontrol tarafında ise % 30 oranındaki restenoz görölüyor. (ç: çalışma tarafı, k: kontrol tarafı)



**Resim 2.** Deneysel intima harabiyeti sonrası endotelial seeding yapılan arter duvarının görünümlü (çalışma tarafı, 132x, HE, orijinal büyütme, e: endotel, I: lamina elastika interna, m:tunika media)

Sterpetti ve arkadaşları (18), karotis endarterektomisi yaptıkları köpeklere endothelial seeding uygulamışlar ve endarterektomize yüzeylere seeding yapılması sonrasında bu bölgelere platelet tutulumunun azaldığını göstermişlerdir. Bu çalışmacılar, seeding sırasında kültürde ürettikleri endotel hücrelerini endarterektomize karotis arterinde 20 dk. tutuktan sonra, arter akımını serbest bırakmışlardır. Thompson ve



**Resim 3.** Deneysel intima harabiyeti uygulanmış olan arter duvarının görünümlü (kontrol tarafı, HE, 132x, orijinal büyütme, t:trombüs, I:lamina elastika interna, m: tunika media)

arkadaşları (14) ise yaptıkları çalışmada, ven greftlerinde yeterli bir seeding için optimum süreyi ve araştırmışlar ve sürenin 30 dk. kadar olmasının yeterli olduğunu; daha uzun sürelerin seedingde herhangi bir artış yapmadığını bildirmişlerdir.

Arteriografi sonuçlarını istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde, kontrol ve çalışma gruplarını oluşturan arterlerde belirlenen lümen kayıpları arasındaki farkın, istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gördük ( $p<0.05$ ). Çalışmamızda iki hafta sonra çekilen arteriografilerdeki açık kalma oranları kontrol tarafında %65 olarak bulunurken, çalışma tarafında bu değer %85 olarak değerlendirildi. Bush ve arkadaşları (22), köpeklerde oluşturdukları deneysel karotis endarterektomilerinde, yüksek dansiteli otojen endotel hücreleri ile seeding yapmışlar ve altıncı haftada çektikleri anjiyografilerde açık kalma oranlarını seeding yapılan tarafta %88, yapılmayan tarafta ise %35 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda seeding yapılan tarafta elde ettiğimiz sonuçlar, bu literatür ile benzerlik göstermektedir. Kontrol tarafında elde ettiğimiz değerler, çalışmacıların kontrol değerleri ile karşılaştırıldığı zaman daha yüksek gibi görünse de, denekleri daha uzun süreler izleme

imkanlarımızın kısıtlı olması nedeniyle çalış-

mamızdaki anjiyografilerin ikinci haftada çekildiği de düşünülürse, erken dönemde alınan bu sonuçların literatür ile tutarlı olduğu kanaatine varılabilir.

Çalışmacılar, seeding sonrası aldıkları örneklerin mikroskopik değerlendirmelerinin sonucunda da seeding çalışmalarının başarılı olduğunu bildirmişlerdir (14,15). Sterpetti ve arkadaşları (18), çalışmalarından 4 hafta sonra yaptıkları histopatolojik değerlendirmede, seeding yapılan tarafta platelet birikiminin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığını belirtmişlerdir. Biz de çalışmamızdan iki hafta sonra değerlendirdiğimiz histolojik kesitlerde literatür ile uyumlu bulgular elde ettik. İnternal elastik lamina üzerindeki subendotelyum tabakasına yerleşmiş olan endotel hücreleri çalışma tarafında gözlenirken, kontrol tarafında görülmemekle beraber lümeninde trombus izlenmesi, seeding çalışmamızın erken dönemde başarılı olduğunu histolojik olarak da göstermektedir.

### Kaynaklar

1. Haimovici H, De Palma R.G. Atherosclerosis: Biologic and surgical considerations. Haimovici H; Vascular Surgery. Principles and Tecniques, Cambridge-Massachusetts, U.S. A, Blackwell Science Inc. 1996.
2. Zarins C, Glagov S. Artery wall pathology in atherosclerosis. Rutherford R.B; Vascular Surgery, Philadelphia, L.J.S.A, W.B. Saunders Co. 1995.
3. Kumpe D.A, Becker G.J. Percutaneous transluminal angioplasty and other endovascular technologies. Rutherford R.B; Vascular Surgery, Philadelphia, U.S.A. W.B. Saunders Co. 1995.
4. Stoney R.J, Thompson R.W. Endarterectomy. Rutherford R.B; Vascular Surgery, Philadelphia, U.S.A. W.B. Saunders Co. 1995.
5. Fogarty T.J, Zarins C, Piantanida P, Newman C, Hermann G. Intraoperative transluminal angioplasty. Haimovici H; Vascular Surgery. Principles and Tecniques, Cambridge-Massachusetts, U.S.A. Blackwell Science Inc. 1996.
6. Haimovici H. Endarterectomy. in: Haimovici H; Vascular Surgery. Principles and Tecniques, Cambridge-Massachusetts, U.S.A. Blackwell Science Inc. 1996.
7. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis. Braunwald E; Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine, W.B. Saunders Co. 1992.
8. Baim D.S. Interventional catheterization techniques: Percutaneous transluminal balloon angioplasty, valvuloplasty, and related procedures. Braunwald E; Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine, W.B. Saunders Co. 1992.
9. Chervu A, Clagett P. Bleeding & clotting disorders. Dean R.H, Yao J.S.T, Brewster D.C; Current Diagnosis and Treatment in Vascular Surgery, Appleton & Lange. 1995.
10. Theroux P, Lidon R-M. Anticoagulants and their use in acute ischemic syndromes. Topol EJ; Textbook of Interventional Cardiology, W.B. Saunders Co. 1994.
11. Esmon CT, The regulation of natural anticoagulant pathways. Science 1987; 235: 1348-1352.
12. Şahin M, Alp N. Endothelin'in klinik kardiyo-lojide yeri ve önemi. MN Kard 1995; 2: 73-76.
13. Gök H, Tokaç M, Korkmaz G, Korkut B, Telli H. Endotel disfonksiyonu. MN Kard 1995; 2: 1-7.
14. Thompson MM, Budd JS, Eady S, Ailen KE, James M, James RF. Effect of seeding time and density on endothelial celi attachment to damaged vascular surfaces. Br J Surg 1993; 80: 359-362.
15. Nabel EĞ, Plautz G, Beyce FM, Stanley JC, Nabel GJ. Rekombinant gene expression in vivo within endothelial cells of the arterial wall. Science 1989; 244:1342-1344.
16. Thompson MM, Budd JS, Eady SL, Hartley G, Early M, James RF. Platelet deposition a f ter angioplasty is abolished by restoration of the endothelial celi monolayer. J Vasc Surg 1994; 19: 478-86.
17. Thompson MM, Budd JS, Eady SL, Underwood MJ, James RF, Bell PR. The effect of transluminal endothelial seeding on myointimal hyperplasia following angioplasty. Eur J Vasc Surg 1994; 8: 423-434.

18. Sterpetti AV, Schultz RD, Bailey RT. Endothelial celi seeding after carotid endarterectomy in a canine model reduces platelet uptake. *Eur J Vasc Surg* 1992; 6: 390-394.
19. Smyth J.V, Rooney O.B, Dodd P.D, Walker MG: Culture of human adult endothelial cells on endarterectomy surfaces. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1995; 10: 308-15.
20. Sank A, Rostami K, Weaver F, Ertl D, Yellin A, Nimni M et. al. New evidence and new hope concerning endothelial seeding of vascular grafts. *Am J Surg* 1992; 164: 199-204.
21. Gray BH, Sullivan TM, Childs MB, Young JR, Olin JW: High incidence of restenosis/reocclusion of stents in percutaneous treatment of long-segment superficial femoral artery disease after suboptimal angioplasty. *J Vasc Surg* 1997; 25:74-83.
22. Bush HL Jr, Jakubowski J A, Sentissi JM, Curl GR, Hayes JA, Deykin D. Neointimal hyperplasia occurring after carotid endarterectomy in a canine model: effect of endothelial celi seeding versus perioperative aspirin. *J Vasc Surg* 1987; 5: 118425.

**Yazışma Adresi:** Dr. O. Tansel DARÇIN  
Rızaiye Mah., Ertuğrul Sok., Ozan Apt.,  
61/1, 23200, ELAZIĞ  
Tel: 0 424 237 95 73  
Fax: 04242182401)