

**KAROTİS ARTERDE ANEVİRİZMA OLUŞTURULMUŞ  
SIÇANLARDA MEZENŞİMAL KÖK HÜCRE  
UYGULAMASININ İYİLEŞMEYE OLAN KATKISININ  
İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THERAPEUTIC EFFECTS OF  
MESENCHYMAL STEM CELL APPLICATION IN A  
CAROTID ARTERY ANEURYSM MODEL IN RAT**

**ÖZBEYEN ATALAY**

**DOÇ. DR. ÖZER AYLİN GÜRPINAR**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

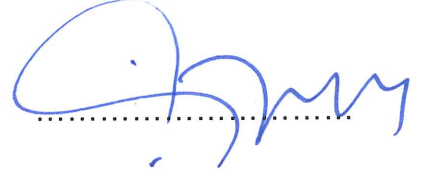
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

**ÖZBEYEN ATALAY**'ın hazırladığı "**Karotis Arterde Anevrizma Oluşturulmuş Sıçanlarda Mezenşimal Kök Hücre Uygulamasının İyileşmeye Olan Katkısının İncelenmesi**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet Çevik TUFAN

Başkan



Doç. Dr. Özer Aylin GÜRPINAR

Danışman



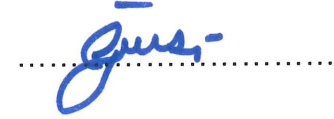
Prof. Dr. Mehmet Ali ONUR

Üye



Prof. Dr. Güldeniz SELMANOĞLU

Üye



Prof. Dr. Mustafa KOCAKULAK

Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sadece onun hakkında konuřulan ve anlatılan olaylarla bile beni dűzgűn bir insan  
olamaya yűneltebilmiř, saygı deęer

**BABAMA**

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25/06/2015

ÖZBEYEN ATALAY



## ÖZET

# KAROTİS ARTERDE ANEVİRİZMA OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA MEZENŞİMAL KÖK HÜCRE UYGULAMASININ İYİLEŞMEYE OLAN KATKISININ İNCELENMESİ

**Özbeyen ATALAY**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez danışmanı: Doç. Dr. Özer Aylin GÜRPINAR**

**Haziran 2015, 61 sayfa**

Bu tez çalışmasında, karotis arterde anevrizma oluşturulmuş sıçanlarda mezenşimal kök hücre uygulamasının iyileşmeye olan katkısı araştırılmıştır. Anevrizma modeli sıçan karotis arterinde yapılmış ve sıçan yağ dokusundan izole edilmiş olan mezenşimal kök hücreler, emilebilir bir matriks içinde bölgeye dışarıdan uygulanmıştır. Sonuçlar makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilmiştir.

Anevrizma, atardamarlarda oluşan patolojik genişlemelerdir ve elastik liflerin incilmesiyle karakterize edilir. Bu nedenle, anevrizma modeli oluşturmak için, elastik liflerin parçalanmasını sağlayan bir enzim olan elastaz kullanılmıştır. Elastaz, literatürde yapılan çalışmaların ışığında tarafımızdan geliştirilmiş olan bir yöntem ile karotis arterin dallandığı bölüm ile proksimal ucu arasında kalan bölüme uygulanmıştır. Anevrizma oluşturulan sıçanlar operasyondan sonra beş gün bekletilmişlerdir. Bu sürenin sonunda mezenşimal kök hücre uygulaması gerçekleştirilmiştir. Mezenşimal kök hücreler vücutta eriyebilir jelatin matriks içine emdirilmiş ve anevrizma bölgesine uygulanmıştır. Bir hafta süreyle hayvanlar takip edilmiş; bu sürenin sonunda karotis arterler diseksiyon yoluyla alınarak makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir. Makroskobik olarak damarın genel yapısı, bütünlüğünü koruyup koruyamadığı ve çapında bir değişiklik olup olmadığı gözle incelenmiştir. Histolojik boyama ile mikroskobik inceleme yapılmış;

damar duvarını oluşturan tabakalarda meydana gelen değişiklikler tespit edilmiş ve elastik liflerin bulunduğu atardamar kalınlığı ölçülmüştür.

Mezenşimal hücre uygulaması yapılmış karotisler ile hiçbir MKH uygulaması yapılmayan kontrol grubu sıçanlardan alınan karotisler karşılaştırılmış ve değerlendirme yapılmıştır. Sonuçta, MKH grubunda anevrizma ile meydana gelen damar duvarı değişikliklerinin düzeldiğı ve bağ dokunun yeniden şekillenmesiyle birlikte bu arterde tunika media'nın ana komponent olan elastik liflerin yeniden yapılanmaya başladığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar, mezenşimal kök hücrelerin anevrizma iyileşmesine katkı sağladığını düşündürmesi bakımından ümit vericidir. Ancak klinik uygulamaların yapılabilmesi, daha fazla *in vitro* ve *in vivo* çalışmanın yapılmasıyla mümkün olabilecektir.

## **ABSTRACT**

# **INVESTIGATION OF THERAPEUTIC EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELL APPLICATION IN A CAROTID ARTERY ANEURYSM MODEL IN RAT**

**Özbeyen ATALAY**

**Master, Department of Biology**

**Supervisor: Doç. Dr. Özer Aylin GÜRPINAR**

**June 2015, 61 pages**

In this study, mesenchymal stem cells application healing on carotid artery aneurysm is investigated in rat model. Aneurysm model was formed in rat carotid artery and adipose derived mesenchymal stem cells was applied zone with absorable matrix. The results were evaluated as macroscopic and microscopic.

Aneurysm is pathologic dilatation on artery and is characterized with thinness of tunica media where elastic fibers are. Therefore, elastase enzyme which can lyse elastic fibers was used for aneurysm model. Elastase was applied between bifurcation and proximal carotid artery with our own method which is improved in the light of literature. Rats which are formed aneurysm was waited for five days after the operation. In the end of this time, the application of mesenchymal stem cells were done. Mesenchymal stem cells were absorbed into soluble gelatin matrix in the body and were applied to aneurysm zone. Along a week, animals were kept under observation then carotid arteries were examined by cutting it out as macroscopic and microscopic. As a macroscopic, general vascular structure was investigated if it protects its own integrity and there is a change in its diameter. Microscopic examination is done with histologic stain; the changes on layers of artery were determined and measured thickness of middle layer where elastic fibers are.

The carotid artery which was processed with mesenchymal stem cell and the non processed control group of rats were compared and their assessments were made. Eventually, the vessel disruption by the impact of aneurysm on the cell group has been recovered and the reshaping of the connective tissue has been caused the nascency of elastic layer has been observed. With those promising results, mesenchymal steam cell is helpful for curing of aneurysm. However it's only possible with more *in vitro* and *in vivo* studyings to be able to clinic implementations.



## TEŞEKKÜR

Öncelikle lisans dönemi ve tüm tez çalışmam boyunca bana yol gösteren, vaktini ayıran ve yardımlarını hiçbir şekilde esirgemeyen, deneyimleriyle çalışmalarına ışık tutan ve nasıl bilim insanı olunabileceğini öğreten danışman hocam **Doç. Dr. Özer Aylin GÜRPINAR**'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamdaki yardımlarından ve verdiği tavsiyelerden dolayı **Prof. Dr. Mehmet ALİ ONUR**'a içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışmamın histolojik boyamalarında laboratuvar imkanlarını sunan Zooloji Anabilim Dalı Histoloji laboratuvarı çalışanlarına, istatistiksel analizlerdeki yardımlarından ötürü **Prof. Dr. Durdu Karasoy**'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca tezimle ilgili her konuda yardımlarını esirgemeyen ve yanımda olan **Araş. Gör. Handan Sevim, Araş. Gör. Esin Akbay, Araş. Gör. Seçil Karahisar, Araş. Gör. Hanife Tanır Dönmez'e**, Hocam **Uzman Remma GÜLSOY**'a, çalışmalarına olan katkılarından dolayı, **Asım Niyaz, Ece Şengür, Özge Nur Kanat**'a çok teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde emekleri olan ve desteklerini hiç esirgemeyen, **Sali Çelik ve ailesine**, bilime olan sevgisi ve saygısını bana aşıl原因 ve desteğini her zaman sunan **Bayram Eminel ve ailesine** çok teşekkür ederim.

Üniversite hayatım boyunca yanımda olan, tüm sıkıntılarımı çeken değerli **K-blok** öğrencilerine teşekkür ederim.

Yakınımda olmasalar da her zaman yanımda hissettiğim, düşünceleriyle bana ilham veren ve bu yolda her zaman cesaretlendiren dostlarım **Tolgahan Özkır, Mustafa İsmail Ataç** ve **Hasan Can Özyiğit**'e teşekkür ederim.

Yanımda olmasıyla bana mutluluk veren, kahrımı çeken **Tuğçe Beklin**'e bana verdiği değer, destek ve gösterdiği anlayıştan ötürü çok teşekkür ederim.

Ve son olarak bu günlere gelmemde bin bir emeği olan, binlerce teşekkürün yetmeyeceği, oğulları olmaktan gurur duyduğum **Rasim ATALAY** ve **Aysel ATALAY**'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Minnettarım.

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER .....	viii
ÇİZELGELER.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Vasküler Sistem .....	2
2.1.1. Arterler.....	3
2.1.1.1. Arterlerin Elastik Özellikleri .....	6
2.1.2. Kapillerler .....	6
2.1.3. Venler .....	8
2.1.4. Arterlerdeki Özelleşmiş Duyu Organları .....	9
2.2. Arter Hastalıkları.....	10
2.2.1. Anevrizma .....	11
2.2.1.1. Arter Anevrizması Tipleri .....	12
2.2.1.2. Anevrizmaların Tedavi Yöntemleri.....	14
2.5. Mezenşimal Kök Hücreler.....	15
2.5.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin Özellikleri .....	16
2.5.2. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücreleri .....	18
3. LABORATUVAR ÇALIŞMASI VE YÖNTEM.....	20
3.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Kültürü.....	20
3.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu .....	22
3.2.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İmmunofloresan Boyama Yöntemi ile Karakterizasyonu.....	22
3.2.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Flow Sitometri Yöntemi ile Karakterizasyonu ..	23
3.3. Karotis Arterde Anevrizma Modelinin Oluşturulması .....	23
3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulamaların Yapılması .....	26
3.5. Karotis Arterde İyileşmenin İncelenmesi.....	28
3.5.1. Makroskobik İnceleme.....	28
3.5.1. Mikroskobik İnceleme .....	29

3.6. İstatistiksel Analiz .....	33
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Kültürü.....	34
4.2. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu .....	35
4.2.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İmmunofloresan Boyama Yöntemi ile Karakterizasyonu.....	36
4.2.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Flow Sitometri Yöntemi ile Karakterizasyonu .	36
4.3. Karotis Arterde Anevrizma Modelinin Oluşturulması .....	38
4.4. Karotis Arterde İyileşmenin İncelenmesi.....	40
4.4.1. Makroskobik İncelemeler.....	40
4.4.2. Histolojik İncelemeler.....	45
4.4.3. Karotis Arterde İyileşmenin % Alan Olarak Hesaplanması .....	51
5. KAYNAKLAR .....	56
ÖZGEÇMİŞ .....	61

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Kan damarlarının genel yapısı .....	2
Şekil 2.2. Büyük tip elastik arterlerin yapısı .....	4
Şekil 2.3. Kassal arterlerin yapısı .....	6
Şekil 2.4. Kılcal damarların yapısı .....	7
Şekil 2.5. Orta büyüklükte bir venin yapısı .....	9
Şekil 2.6. Anevrizma tipleri .....	13
Şekil 3.1. Yağ dokusu parçaları .....	20
Şekil 3.2. Mezenşimal kök hücrelerin 25cm <sup>2</sup> 'lik kültür kaplarında çoğaltılması ....	21
Şekil 3.3. Karotis arterin ortaya çıkartılması .....	24
Şekil 3.4. Karotis arterin yerleşimi ve elastaz uygulama bölgesi .....	25
Şekil 3.5. Karotis arterin yerleşimi ve elastaz uygulama bölgesi .....	25
Şekil 3.6. <i>In vivo</i> uygulamalar için hazırlanan jelatin matriks .....	27
Şekil 3.7. Anevrizma bölgesine kök hücre uygulaması .....	28
Şekil 3.8. Laboratuvar çalışması ve yöntem -özet- .....	32
Şekil 4.1. İnkübasyonun 18. saatinde yağ dokudan ayrılan mezenşimal kök hücreler .....	34
Şekil 4.2. İnkübasyonun 7. gününde yağ dokudan ayrılan mezenşimal kök hücreler .....	35
Şekil 4.3. Birinci pasajdaki mezenşimal kök hücreler .....	35
Şekil 4.4. İmmunofloresan boyamadan sonra mezenşimal kök hücreler .....	36
Şekil 4.5. Mezenşimal kök hücrelerin flow sitometri analizlerinin sonuçları .....	37
Şekil 4.6. Elastaz uygulaması (anevrizma) .....	38
Şekil 4.7. Hematoksilen&eosin boyama kontrol .....	39
Şekil 4.8. Verhoeff boyamada kontrol ve anevrizma .....	39
Şekil 4.9. Kontrol grubunda karotis arterin görünümü .....	41
Şekil 4.10. Anevrizma sonrası doğal yapısını kaybetmiş karotis arterin görünümü .....	42
Şekil 4.11. Anevrizma ve kontrol gruplarında karotis arterlerin makroskobik görünümü (a) .....	43
Şekil 4.11. Anevrizma ve kontrol gruplarında karotis arterlerin makroskobik görünümü (b) .....	44
Şekil 4.12. Kontrol gruplarında karotis arterin histolojik kesitleri .....	45
Şekil 4.13. Anevrizma grubunda karotis arterin histolojik kesiti .....	46

Şekil 4.14. Anevrizma grubunda karotis arterin histolojik kesiti .....	47
Şekil 4.15. Anevrizma grubunda tüm örneklerde karotis arterin histolojik kesitleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	48
Şekil 4.16. Hücre grubunda karotis arterin histolojik kesiti .....	49
Şekil 4.17. Anevrizma grubunda tüm örneklerde karotis arterin histolojik kesitleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması .....	50
Şekil 4.18. Karotis arterde elastin tabakasının kalınlığının ölçülmesi .....	51
Şekil 4.19. Kontrol ve hücre grubunda elastin tabaka kalınlıklarının karşılaştırılması .....	52

## ÇİZELGELER

Tablo 4.1. ....	52
-----------------	----

## 1. GİRİŞ

Günümüzde çeşitli sebeplere bağlı olarak meydana gelen birçok damar hastalığı vardır. Anevrizma ise, atardamarların duvarında oluşan patolojik genişlemelerdir. Anevrizmalı damarlar, normal atardamarlara göre çok daha zayıf duvar yapısına sahip oldukları için, patlayarak hayatı tehdit eden ciddi kanamalara neden olabilirler. Anevrizma tedavisi, anevrizmanın yerine ve büyüklüğüne göre farklılık göstermekle birlikte, çoğunlukla cerrahi girişimlere ya da endovasküler yolla tedaviye gereksinim göstermektedir. Ancak tanı ve tedavi amaçlı olarak invaziv yöntemlerin kullanılması bir kısır döngü oluşturmakta, hasarlı damarlarda yeni hasarların oluşmasına yol açmaktadır. Bu durumda hücresel tedavi yeni bir yaklaşım olarak görülmekte, yağ dokudan izole edilen mezenşimal kök hücreler bugün için etkili bir yöntem olarak görülmektedir.

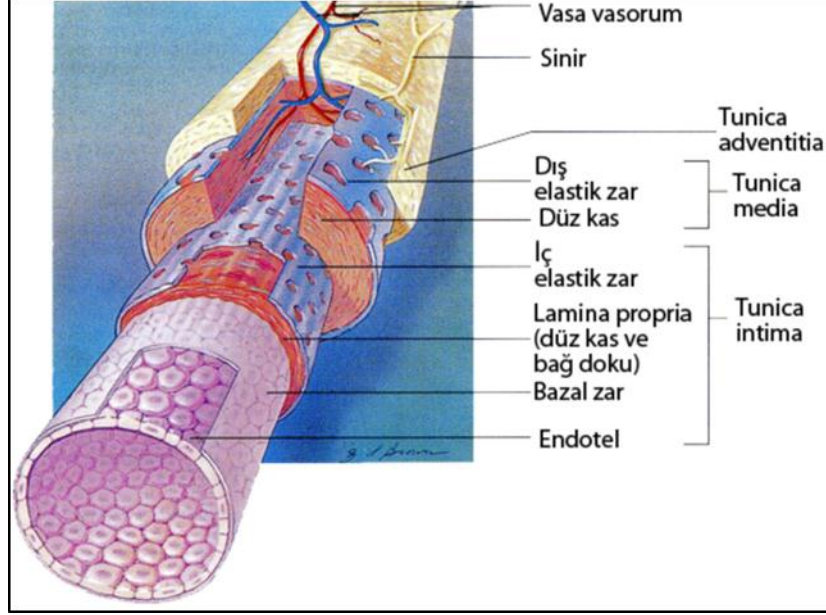
Mezenşimal kök hücreler henüz farklılaşmamış hücreler olup, kendilerini yenileyebilme ve buldukları mikro çevreye ve aldıkları uyarılara göre farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Bu özellikleri yetişkin bir bireyde hasar gören bir doku veya organın tamir sürecinde görev almalarını sağlar. Aldıkları sinyaller doğrultusunda göç edebilmeleri, immün sistemi baskılayıcı özellikte aynı zamanda nonimmunojenik olmaları sayesinde mezenşimal kök hücreler, hücresel tedavilerde dikkat çekmektedir.

Bu tez çalışmasında sıçan karotis arterinde oluşturulan anevrizma modelinde tarafımızdan geliştirilen invaziv olmayan bir yöntemle mezenşimal kök hücre uygulaması yapılmış ve iyileşme incelenmiştir. Sonuçlar, mezenşimal hücrelerin anevrizmalı damar duvarında iyileşmeye yardımcı olduğunu ve damar bütünlüğünün yeniden oluşturulmasına katkı sağladığını göstermiştir. Bu nedenle, bu çalışmanın ileride deney hayvanları ile yapılacak çalışmalar için bir model olabileceği düşünülmektedir. Ancak hiç kuşkusuz klinik uygulamaların yapılabilmesi çok daha fazla *in vitro* ve *in vivo* çalışmanın yapılmasıyla mümkün olabilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Vasküler Sistem

Kapiller damarlar ve venüller dışındaki bütün kan damarları genel olarak üç tabakadan meydana gelmiştir (Şekil 2.1) [1].



**Şekil 2.1.** Kan damarlarının genel yapısı [2].

Tunica intima (iç tabaka), içte endotel hücre dizisi, bunun altında bazal lamina ve gevşek bir fibroelastik bağ dokusundan oluşan subendotelial tabakadan meydana gelmiştir. Subendotelial tabakanın dış kısmında elastik liflerin yoğunlaşması ile membrana elastika interna meydana gelir[1]. Bu yapı orta tip arterlerde belirgin bir şekilde görülür, ancak venler ve büyük tip arterlerde ayırt edilmez. Subendotelial tabakada düz kas hücreleri de yer alır. Bu tabakada hem bağ dokusu fibrilleri hem de düz kas hücreleri genel olarak longitudinal olarak düzenlenmiştir.

Tunica media (orta tabaka), esas olarak sirküler düzenlenmiş düz kas hücrelerinden meydana gelir. Kas hücreleri arasında dağılmış farklı miktarlarda elastik ve kollajen fibriller ile proteoglikanlar bulunur. Ekstrasellüler matriks düz kas hücrelerince oluşturulur. Bu tabaka arterlerde iyi gelişmiştir. Elastik ve musküler arterler arasında media tabakasının içeriği farklılık gösterir. Kapiller ve postkapiller venüllerde bu tabakayı perisitler oluşturur[1].



Tunica adventisiya (dış tabaka), en dış tabakadır. Daha çok uzunlamasına düzenlenmiş kollajen ve elastik liflerden oluşur. Özellikle venlerde bu tabakada düz kas hücreleri de bulunur. Media tabakasının yakınında elastik liflerin yoğunlaşması ile membrana elastika eksterna oluşur. Adventisiya venlerin duvarlarında en belirgin tabakadır. Büyük damarlarda adventisiya içinde "vaza vazorum" olarak adlandırılan küçük kan damarları bulunur[1]. Vaza vazorumlar lümeninden diffüzyonla beslenemeyecek kadar kalın olan adventisiya ve media tabakalarını besler. Arterlerde bu damarlar daha az sayıdadır ve sadece adventisiya tabakasında bulunur. Venlerde ise daha çok sayıdadır ve media tabakasına ulaşır. İntima ve medianın en iç tarafı damarsızdır ve kandan diffüzyonla beslenir. Lenfatik kapillerler; arterlerde sadece adventisyada bulunurlar, venler de ise media tabakasına kadar girerler [1].

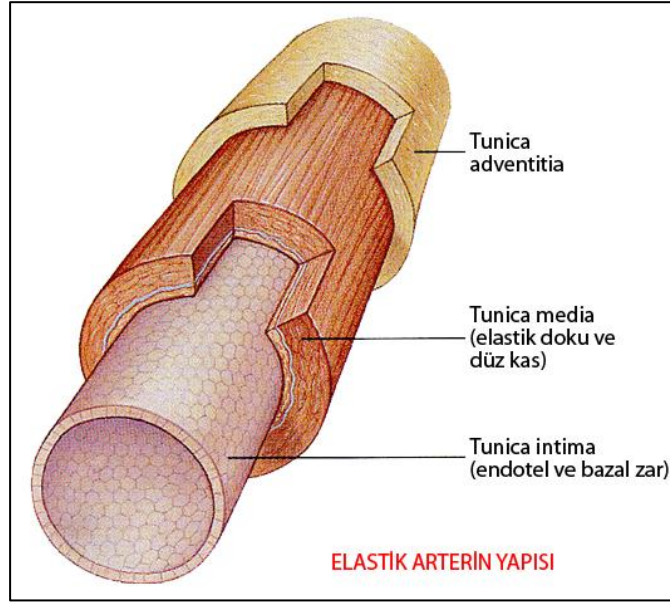
Kan damarı duvarlarındaki düz kaslar miyelinsiz sempatik sinir ağı (vazomotor sinirler) ile uyarılır. Bu sinirlerden norepinefrin salınımı damarlarda vazokonstrüksiyona neden olur. İskelet kasındaki arterler ayrıca kolinerjik vazodilatatör sinir desteği alır. Bu efferent sinirler arterlerin media tabakasına girmediğinden, norepinefrinin media düz kas hücrelerini etkileyebilmesi için birkaç mikrometre diffüze olması gerekir. Mediadaki düz kas hücreleri arasındaki gap junctionlar, nörotransmitterlerin daha içteki kas hücrelerine taşınmasını sağlar. Venlerde sinir uçları hem adventisyada hem de mediada bulunur. Fakat total yoğunluk açısından arterler daha zengindir.

### **2.1.1. Arterler**

Kalbin pompaladığı kanı kapiller yatağa götüren damarlardır. Arterler kalpten uzaklaştıkça çapları azalarak devam eden dallanmalar yaparlar. Kalpten çıkan iki ana arter vardır. Bunlar sağ ventrikülden çıkan truncus pulmonalis ve sol ventrikülden çıkan aortadır. Truncus pulmonalis kalpten çıktıktan hemen sonra sağ ve sol pulmoner arterlerine ayrılarak akciğerlerde dağılır. Aorta ise kalbin üst tarafından yukarı doğru çıkıp daha sonra sola doğru bir kıvrım yaparak aşağı döner. Toraks ve abdomen boşluğundaki organlara dallar vererek pelviste abdominal aorta sağ ve sol arteria iliaca communislerine ayrılır. Baş-boyun ve üst ekstremitelerin arterleri ise arcus aortadan çıkan truncus brachiocephalicus, sol arteria carotis communis ve sol arteria subclaviadır. Bu arterlerin gittikçe dallanmaları ile büyük çaptan daha küçük çaplı damarlar (arterioller) oluşur ve bu

dallanma damarın tek bir endotel hücreli tabaka (kapiller) olmasına kadar devam eder. Kapillerler, kardiyovasküler sistemin en küçük fonksiyonel elementidir. Bu şekilde dallanma gösteren arterler çaplarına göre dört gruba ayrılır [1]:

Büyük tip arterler (elastik arterler, iletici arterler): Aorta, arteria pulmonalis, *arteria karotis communis*, arteria subclavia ve arteria iliaca communis bu gruba girer (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Büyük tip elastik arterlerin yapısı [2].

Bu arterlerin duvarları çaplarına göre daha incedir. Media tabakasındaki elastik lifler fazla olduğu için canlı dokuda sarı renkte görülürler. Kalbin yakınındaki büyük iletici damarların sistol sırasında duvarlarındaki elastik lifleri uzar, diastolde ise bu fibriller geri çekilerek kan basıncını korur. Böylece elastik arterler, kalp vuruları aralıklı olmasına rağmen akımın devamlılığını sağlayan yardımcı bir pompa olarak görev yapar. Tunika intima, müköler arterlerdekine göre daha kalındır. Aortada, total duvar kalınlığının yaklaşık % 20'sini intima tabakası oluşturur. Lümene bakan yüzü tek sıra yassı endotel hücre dizisi ile örtülüdür. Komşu endotel hücreleri birbirleriyle zonula okludens ve bazen de gap junctionlar ile bağlanmıştır. Subendotelial tabaka kalındır. Burada uzunlamasına yerleşim gösteren kollajen ve elastik lifler ile düz kas hücreleri görülür. Kas hücreleri intimada bulunan çeşitli tip intersellular maddeleri üretirler. İntimanın periferik kısmında membrana elastika interna, media tabakasındaki elastik liflerle karıştığı için ayırt edilemez. Tunika medianın büyük damarlardaki kalınlığı 500 mikrona (0.5 mm) kadar ulaşır. Yeni

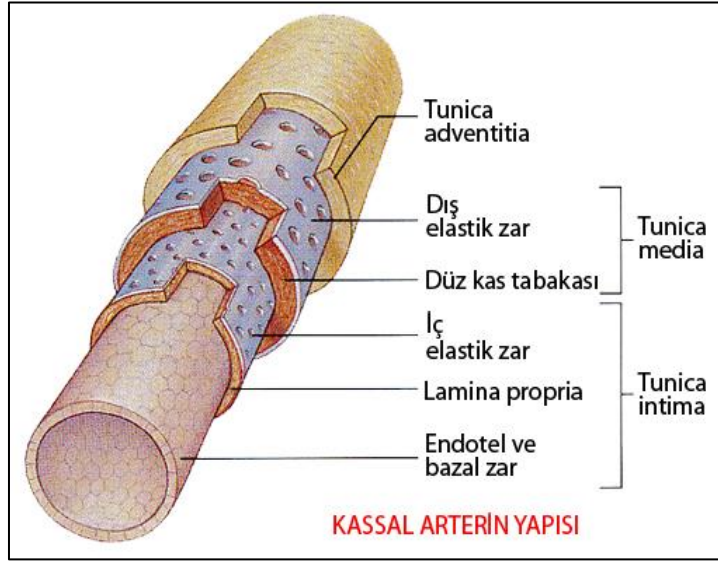
doğanlarda 40, yetişkinlerde 70 kadar pencerele düzenlenmiş elastik membran içerir. Elastik membranlar arasında kollajen fibriller ve düz kas hücreleri de bulunur. Bu membranlar arasındaki düz kas hücreleri elastin, kollajen ve proteoglikanları üretir. Tunika adventisya ise elastik arterlerde ince olup farklı yönlerde seyreden kollajen ve elastik lifler içerir. Kollajen lifler damarın sistolde aşırı dilate olmasını engeller. Bu tabakada; fibroblastlar, düz kas hücreleri, diğer tip bağ dokusu hücreleri, damarlar (vaza vazorum) ve sinirler bulunur [1].

Orta tip arterler (musküler arterler, dağıtıcı arterler): Arteria brakialis, arteria femoralis, arteria radialis ve dalları bu grupta yer alır. Arteriyal sistemdeki damarların çoğu orta tip arterdir (şekil 2.3). Bu tip damarlardaki histolojik katlar; Tunika intima: Lümene bakan yüzünü tek sıra endotel hücre dizisi oluşturur. Endotel altında ince bir subendotelial tabaka bulunur. Media tabakasına yakın dış kısımda damar enine kesitlerinde kıvrıntılı bir yapı olarak membrana elastika interna belirgin şekilde görülür. Tunika medianın kalınlığı düz kas hücrelerinin dairesel şekilde oluşturduğu 3-4 tabakadan 40 tabakaya kadar değişmektedir. Düz kas hücreleri arasında bu hücreler tarafından sentez ve salgılanan kollajen ve elastik lifler görülür. Tunika adventisya, müsküler arterlerde adventisya tabakası tunika media kadar ya da daha kalın olabilir. Uzunlamasına düzenlenmiş elastik lifler ve daha az miktarda da kollajen fibriller içerir. Müsküler arterlerin duvarındaki elastik liflerin çoğu adventisyada bulunur. Media tabakasına yakın i kısımda sınırları belirgin olmaksızın evre bağ dokusu ile devam eden membrana elastika eksterna gözlenir. Adventisyada ayrıca vazomotor sinirlerden oluşan bir sinir ağı ve lenfatik damarlar da yer alır [1].

Küçük arterler: Çapları daha küçük ve duvarı daha ince olmakla birlikte orta tip duvar yapısına benzer özellikler gösterir.

Arteriol (prekapiller damar): Arteriyel sistemin çapı 30 ile 400 mikron arasında değişen en küçük terminal dalları arteriol olarak isimlendirilir. En küçük arteriollerde sadece endotel hücresi ve bazal membran bulunur. Daha büyük arteriollerde endotel hücre dizisi altında ince bir bağ dokusu ve zorlukla belirlenebilen bir membrana elastika interna gözlenir. Tunika media, damarın büyüklüğüne göre değişen 2-6 sıra düz kas hücresinden oluşur. Düz kas hücreleri arteriol duvarını çepeçevre sarmadığında, bu damarlar artık metarteriol olarak isimlendirilir. Metarteriollerin başlangıç bölümünde düz kas hücre halkasından

oluşan sfinkter yapısı (prekapiller sfinkter) kapillerlere girecek kan miktarını kontrol eder. Tunika adventisya, ince gevşek bir bağ dokusudur. Media tabakası kadar kalın olabilir. Kollajen ve elastik liflerden oluşur. Küçük tip arterlerin en uç kısımları ve arterioller (prekapiller damarlar) rezistans damarlar olarak bilinir. Bu damarlar kalpten atılan kanın periferde karşılaştığı en büyük direnç bölgesidir; periferik direncin oluşumunu ve kontrolünü sağlarlar[1].



**Şekil 2.3.** Kassal arterlerin yapısı [2].

#### 2.1.1.1. Arterlerin Elastik Özellikleri

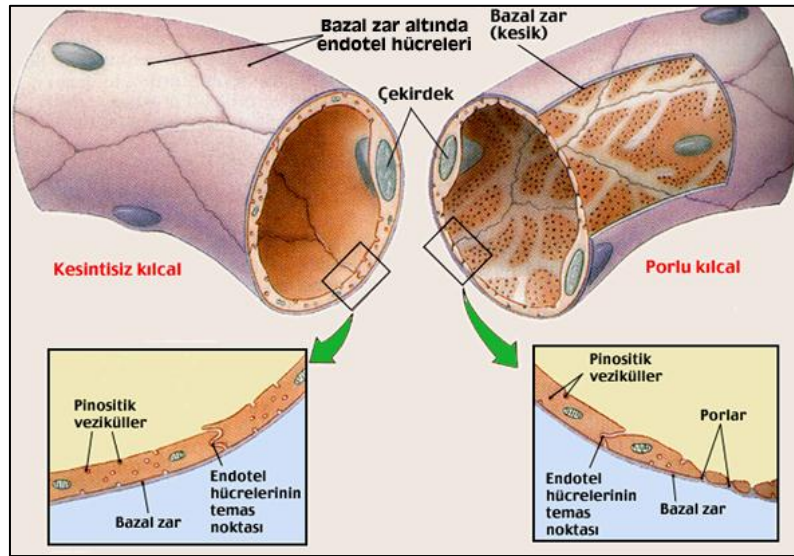
Arterlerin media tabakası damarın elastik özelliğinden sorumludur. Elastik özelliğinin üç temel komponentini; elastik lameller, fibriller, kollajen lifler ve düz kaslar oluşturur. Küçük prearteriyolar damarlardaki düz kasların etkisi esas olarak elastik ya da kollajen lifler üzerine olur. Elastik ve kollajen, media tabakasında stres altında damarın davranışını belirler. Düşük basınçta stresin çoğu elastik lamellerde oluşur. Kasın kontraksiyonu ile stres kollajen liflere aktarılır ve damar duvarı sertleşir. Kasın gevşemesiyle stres elastik lamellere aktarılır ve damar duvarının dilate olması sağlanır [1].

#### 2.1.2. Kapillerler

Arteriol ve venüllerin arasında çok sayıda dallanmalar ve anastomozlar ile bir ağ yapısı oluşturan damarlardır. Toplam uzunluğu 96.000 km kadar olduğu hesaplanmıştır. Ortalama çapları 5-9 mikron kadardır (Şekil 2.5). Metabolik aktivitesi fazla olan dokular (akciğer, karaciğer, böbrek, müköz membranlar,

bezler, iskelet - kalp kası, beyin korteksi) kapillerce zengindir. Düz kaslar, tendon, sıkı bağ dokusu ve seröz membranlar gibi yapılar ise kapillerler bakımından fakirdir.

Kanın akış hızı aortada ortalama 320 mm/sn iken, kapillerlerde 0.3 mm/sn'dir. Kapiller sistem ırmakların aktığı ve boşaldığı bir göle benzetilebilir. Kapiller sistemde kan akımının yavaş ve kapiller duvarın ince oluşu, kan ile doku arasındaki değişim için çok uygundur. Kapiller damarların duvarı içten dışa doğru; endotel, perisit ve ince bir retiküler fibril ağından oluşur. Endotel hücreleri arasında fasiya okludens (devamlılık göstermeyen sıkı bağlantı) tipi bağlantılar görülmesine rağmen beyinde kapiller endotelleri arasında ise zonula okludens (devamlılık gösteren sıkı bağlantı) tipi bağlantılar bulunur. Perisitler modifiye düz kas hücreleri olup endotel hücrelerini kısmen kuşatır. Endotel hücrelerinin yapısına ve bazal laminanın varlığına bağlı olarak kapillerler dört gruba ayrılır.



**Şekil 2.4.** Kılcal damarların yapısı [2]

Kesintisiz veya somatik kapillerler: Duvarında pencerelerin olmaması ile karakterize edilirler. Bu tip kapillerler; kaslarda, bağ dokusunda, ekzokrin bezlerde ve sinir dokusunda bulunur. Bazal lamina kesintisiz olarak endoteli kuşatır. Komşu hücreler arasında zonula okludens tipi bağlantılar vardır.

Pencereli veya visseral kapillerler: Endotel hücrelerinin sitoplazmalarında 60-80 mikron çapında ince bir zarla kapatılmış pencereler vardır. Endotel etrafında devamlı bir bazal lamina bulunur. Bu tip kapillerler; böbrek, bağırsak ve endokrin

bezler gibi kan ile doku arasında madde alış verişinin hızlı olduğu organlarda görülür.

**Pencereli zarsız kapillerler:** Böbrek glomeruler kapillerlerinde bulunan, pencerelerinde diyafram olmayan ve bazal laminası diğerlerine göre oldukça kalın olan kapillerlerdir.

**Sinuzoidal kapillerler:** Çapları diğer kapillerlere göre daha büyüktür (30-40 mikron). Seyri boyunca genişlemeler ve daralmalar gösterir. Endotel hücre sitoplazmasında çok sayıda zarsız pencere vardır. Devamlı bir bazal lamina yoktur. Endotel hücreleri aralıklı yerleşim gösterir. Duvarlarında perisit bulunmaz. Sinuzoidlerin en tipik örneği karaciğerde bulunur. Bunun dışında dalak, kemik iliği, adrenal korteks, adenohipofiz gibi endokrin bezlerde de gözlenir [1].

### **2.1.3. Venler**

Kan, kapiller ağdan başlayan venüller aracılığı ile önce küçük çaplı venlere dökülür. Bu venler ise daha büyük çaplı venleri oluşturduktan sonra vena cava inferior ve vena cava superioru oluşturarak kalbin sağ atriumuna dökülürler. Venler, duvarları ince olduğu için kolayca gerilir ve daha fazla kan tutarlar. Bu yüzden kapasitans damarlar (kan yüklenim damarları, ven yatağı, hacim deposu) olarak bilinirler. Bu özellikleri intravasküler basıncı artırmalarını engeller. Kapasitans damarlardan kalbe dönen kan miktarı, ön yükü belirleyen önemli bir faktördür. Ven duvarlarında karşılıklı intimal kıvrımlardan oluşan ven kapakçıkları bulunur. Kapakçıklar; iki yüzü endotel ile örtülü, orta bölümü ise elastik liflerce zengin subendotelial tabakadan oluşur. Kapaklar özellikle alt ekstremitedeki venlerde çok sayıda bulunur. Merkezi sinir sistemi ve visseral organ venleri ile büyük venlerde kapak bulunmaz [1].

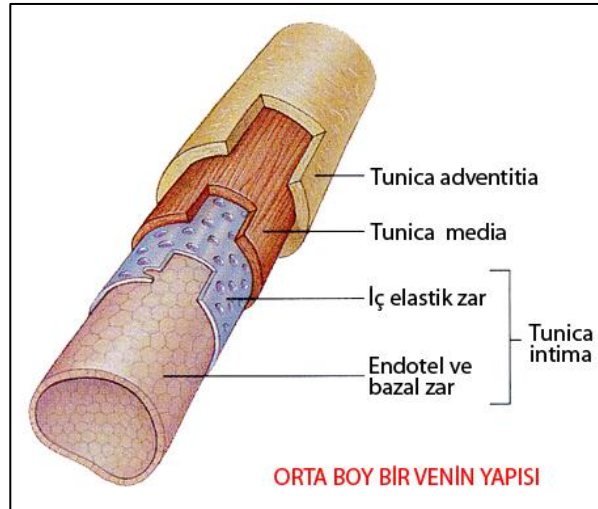
**Venüller:** Başlıca üç tip venül vardır:

**Postkapiller venüller:** Kapillerler; 10-25 mikron çapındaki en küçük venüllere açılırlar. Bunların yapısı kapillerlere benzer, ancak daha çok perisit içerirler. Bu venüllerde kapillerlerdeki gibi madde alış verişi olur. **Toplayıcı venüller:** Postkapiller venüller; 20-50 mikron çapında daha büyük toplayıcı venüllere açılırlar. Bu damarlarda perisitler devamlı bir tabaka oluşturur. Bunların dışında kollajen fibriller yer alır. **Müsküler venüller:** Toplayıcı venüllerin çapları arttıkça, perisitler düz kas hücreleri ile yer değiştirir. Bir iki sıralı düz kas hücre tabakası

oluşur ve en dışta kollajen fibrillerin yoğun olduğu bir adventisya görülmeye başlar. Bunların çapları 50-100 mikron arasında değişir.

**Küçük venler:** Müsküler venüllerin devamıdır. Benzer duvar yapısına sahip olmasına rağmen çapları 1 mm ye kadar ulaşır. Kas hücreleri daha belirgindir ve dışında adventisya tabakası görülür.

**Orta tip venler:** Bu damarlarda tunika intima, iç tarafta endotel hücre dizisi, altında ince bir bağ dokusu ve dışta da belirgin olmayan bir membrana elastika interna şeklinde bulunur. Tunika media, arter tunika mediasına göre daha incedir. Aralarında elastik ve retiküler lifler bulunan iki ya da üç tabaka düz kas hücresi içerir. Tunika adventisya, bu venlerde damar duvarının en kalın tabakasıdır. Uzunlamasına düzenlenmiş kalın kollajen demetlerden oluşur (Şekil 2.6).



**Şekil 2.5.** Orta büyüklükte bir venin yapısı [2]

**Büyük venler:** Bu damarlarda tunika intima, endotel hücre dizisi ve altında orta tip venlere göre daha çok elastik ve kollajen lifler içerir. Membrana elastika interna dış tarafta bulunur. Tunika mediada çok miktarda bağ dokusu ve bir kaç sıra düz kas hücresi yer alır. Tunika adventisya, geniş bir tabakadır. Kalın bir kollajen fibril demeti, uzunlamasına düzenlenmiş düz kas hücrelerinden ve elastik liflerden oluşur. Çok sayıda vaza vazorum içerir[1].

#### 2.1.4. Arterlerdeki Özelleşmiş Duyu Organları

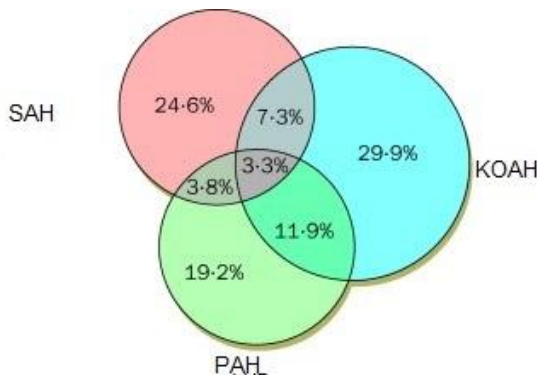
Vücuttaki ana arterler üç tip özelleşmiş duyu organına sahiptir. Bunlar karotid sinuslar, karotid cisimcikler (glomus caroticum) ve aortik cisimciklerdir. Ayrıca küçük baroreseptörler aorta ve bazı büyük damarlarda da yerleşmişlerdir. Bu

yapılardaki sinir sonlanmaları; kalp atışı, solunum ve kan basıncı kontrolü için impulsları beyne götürür ve kan basıncı ve içeriğini gösteren bir monitör gibi çalışırlar.

Karotid sinüsde kan basıncı değişikliklerini algılayan baroreseptörler bulunur. Bu yapılar; arteria carotis communisin bifurkasyon yerine yakın, arteria carotis interna'nın duvarına yerleşmiştir. Burası nervus glossopharingeustan gelen fazla sayıda sinir sonlanmasına sahiptir. Karotid sinüslerin yerleştiği arter duvarında, tunika adventisya daha kalın, tunika media ise daha incedir. Bu durum kan basıncı arttığında tunika medianın gerilmesine yol açar. Bu gerilme çok sayıdaki sinir uçları tarafından algılanır. Karotid sinüslerden başlayan afferent impulslar beynin vazomotor merkezi tarafından alınır ve bu uyarılar vazokonstriksiyonu tetikleyerek kan basıncını uygun konuma getirir. Kan basıncı yükseldiğinde kalbi yavaşlatır ve arteriyollerde vazodilatasyon yapar. Ayrıca küçük baroreseptörler aorta ve bazı büyük damarlarda da yerleşmişlerdir. Karotid cisimcikler (glomus caroticum), arteria carotis communis'in bifurkasyon yerinde yerleşmişlerdir. Kandaki O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ve H<sup>+</sup> gibi maddelerin konsantrasyonunu algılamadan sorumlu sinir sonlanmaları içeren kemoresöptörlerdir. Aortik cisimcikler, arcus aorta'da yerleşmiş yapı ve fonksiyon bakımından karotid cisimciklere benzerler [1].

## 2.2. Arter Hastalıkları

Arter hastalıkları, vücudun genelinde görülen atardamar hastalıklarıdır. Beyin ve kalp dışında periferik arterlerde görülen hastalıklar, periferik arter hastalıkları



(PAH) olarak tanımlanır. Sigara kullanımı, yanlış beslenme, diyabet ve aterskleroz bu hastalıkların başlıca sebepleridir. Sanıldığına aksine PAH'ın mortalitesi ve görülme sıklığı çok daha yüksektir. Serebrovasküler arter hastalıkları (SAH) ve koroner

arter hastalıkları (KAH) göz önünde bulundurulduğunda PAH'ın yüzdesi azımsanamayacak ölçüdedir. PAH varlığı başlı başına bir kötü prognoz göstergesidir ve bu hastaların sağ kalımları pek çok kanser türünden daha kötüdür.



PAH içerisinde karşımıza farklı düzey ve önemde birçok hastalık çıkmaktadır. Bunlar; akut ve kronik bacak iskemileri, abdominal aort, iliyak ve *periferik arter anevrizmaları* ve stenozlardır [3].

### 2.2.1. Anevrizma

Arteriyal anevrizma, normal arterlerde bulunmayan, damar duvarındaki patolojik genişlemeleri ifade eden genel bir tıbbi tanımlamadır [4].

Abdominal aortik anevrizma (AAA) ölümcül etkileri olan ve giderek daha yaygın hale gelen klinik bir durumdur. İleri düzeyde yaşlanma ve ateroskleroz ile bağlantılıdır. Anevrizmanın kaynağı ve oluşumu tam olarak anlaşılmamakla birlikte insan AAA'sı kronik aortik duvar inflamasyonu, elastin dejenerasyonu ve orta duvar incilmesi ile karakterize edilir [5]. Bu hastalıkta, artan proteolitik aktivitenin kademeli aortik duvar zayıflamasına ve artan matriks eksilmesine yol açtığı bildirilmiştir. Matriks metalloproteazların (MMP) baskın hücre dışı matriks (ECM) proteazlarından olduğu ve anevrizma gelişimine katkıda bulunduğuna dair destekleyici kanıtlar bulunmaktadır [6,7]. Birçok MMP üyesi (MMP-1, 2, 3, 8, 9, 12, 13, 14) AAA oluşumunda rol oynamakla beraber, MMP-2 ve MMP-9'un özellikle elastin dejenere edici aktivitesi olduğu belirtilmektedir [7].

Aortik media'nın (aort duvarının orta kısmı) düzenli yapısının parçalanmasıyla bağlantılı olan vasküler inflamasyonun, AAA'nın gelişiminde temel rol oynadığı saptanmıştır. Nüklear faktör kappa B (Nf-κB), inflamatuvar değişikliklerinden sorumlu genlerin transkripsiyon faktörü olarak bilinir. Nf-κB, MMP ifadesini arttıran etkiye sahip olmanın yanında [8,9] elastin geni transkripsiyonunu baskılayarak elastin sentezini de durdurur [10]. Bunun yanında yapılan birçok çalışmada Nf-κB'nin baskılanmasının deneysel AAA'nın oluşumunu engellediği gösterilmiştir [10,11]. Tüm bunlar Nf-κB'nin anevrizma oluşumunda anahtar transkripsiyon faktörü olabileceğini göstermektedir.

AAA oluşumunda bir diğer etken ise anevrizmalı dokuda artan oksidatif strestir [12, 13]. Bolca üretilen reaktif oksijen türleri (ROS), matriks parçalayıcı proteinlerin aktivasyonuna ve düz kas hücrelerinin apoptozunun uyarılmasına neden olabilir. ROS üretiminde baskın enzim olan NADPH oksidaz (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat), AAA'lı dokularda yüksek ifade edildiği ve aktivitede olduğu

kanıtlanmıştır [13]. Yeni bir çalışmada ise, NADPH oksidazın baskılanmasının deneysel anevrizma oluşumunu zayıflattığı gösterilmiştir [14].

Beyin atardamarları ve aort damarı, anevrizmaların en sık yerleştiği bölgelerdir. Beyin anevrizmalarının toplumda görülme sıklığı %2-3'dür [15]. Polikistik böbrek hastalarında, ve daha önceden subaraknoid kanama geçirmiş olan insanlarda beyin anevrizmasının oluşması riski daha fazladır. Anevrizmalar, sağlıklı bir artere göre çok daha zayıf ve ince duvar yapısına sahip oldukları için, patlama riski taşırlar ve ölümcül kanamalara neden olabilirler. Beyindeki anevrizmalı damarın yırtılması, beyin ile beyin zarı arasındaki boşluk (subaraknoid boşluk) içinde kanamaya neden olur [16]. Bu kanamalara subaraknoid kanama ismi verilir. Beyin anevrizmalı hastaların çoğunda, yırtılma olmadan önce bir belirti gözlenmez. Beyin atardamarında anevrizma gelişmiş olan hastaların önemli bir kısmında anevrizma teşhisi, anevrizmaya bağlı olmayan şikayetlerin araştırılması amacıyla yapılan manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve bilgisayarlı tomografi (BT) gibi tetkiklerin sonucunda tesadüfi olarak konulur. Ayrıca, özellikle büyük boyutlu anevrizmalar, baş ağrısı, göz kapağında düşüklük, çift görme, bulantı-kusma, göz arkasında ağrı hissi gibi şikayet ve bulgular oluşturabilir. Anevrizmaya bağlı subaraknoid kanama geçirmiş hastalarda karşılaşılan en sık olgu, bir anda baş gösteren çok şiddetli baş ağrısıdır. Bu ağrı ile birlikte, bilinç bulanıklığı, bulantı-kusma veya bilinç kaybına rastlanmaktadır.

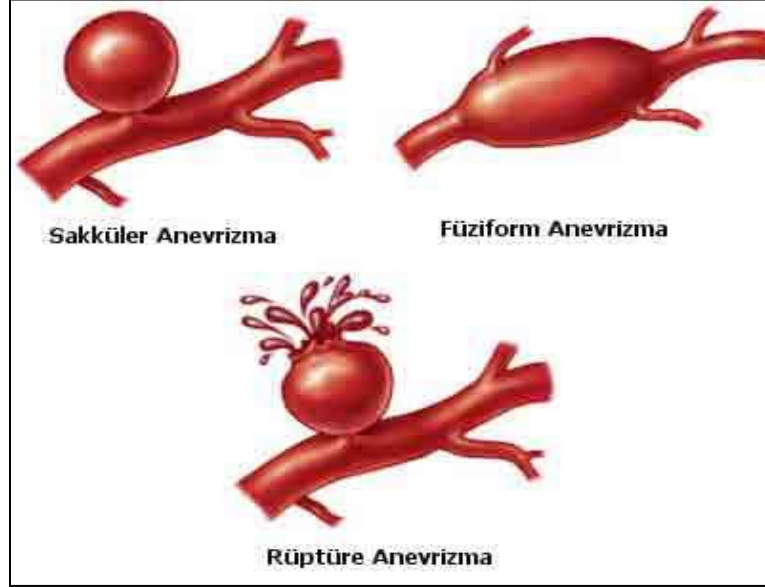
#### **2.2.1.1. Arter Anevrizması Tipleri**

Arter anevrizmaları çeşitli şekillerde görülebilir (Şekil 2.6):

Saküler (kese biçimli) anevrizmalar: En sık görülen anevrizma tipi olup büyük damarların çatallanma bölgelerinde oluşur. Bu çatallanma noktalarında damar duvarı daha fazla basınca maruz kalmaktadır. Bu basınç zamanla damar duvarında oluşturduğu hasar sonucu balon oluşumuna neden olabilir. Saküler anevrizmalar yıllar içerisinde gelişir ve bundan dolayı anevrizmanın yırtılma riski yaşla birlikte artar. İleri yaşlarda damar yapısının bozulması sonucu damar duvarının esnekliğini kaybetmesi de anevrizma oluşumunda diğer önemli bir nedendir.

Fusiform (iğ biçimli) anevrizmalar: Bu anevrizma tipinde damarın uzunca bir bölümünü içeren iğ şeklinde bir genişleme meydana gelir. Bu tip anevrizmalar da

yırtılarak kanayabilir, ileri derecede genişleyip çevresindeki beyin dokusunda baskıya yol açabilir veya içinde pıhtılaşma geliştirip buradan ayrılan kalıntıların normal beyin damarlarında tıkanmaya (emboli) neden olarak inme benzeri yakınmalar oluşturabilir.



**Şekil 2.6.** Anevrizma tipleri

Bunların dışında, mikotik ve travmatik anevrizmalardan da bahsedebiliriz.

Mikotik (iltihap sonucu gelişen) anevrizmalar: Nadir görülen anevrizma tipi olup damarın mikrobik hastalığı sonucu gelişir. Genellikle kese biçimlidirler. İltihap, damar duvarında hasara yol açarak duvarın zayıflaması sonucu anevrizma oluşur. Sıklıkla subakut bakteriyel endokarditin bir komplikasyonudur.

Travmatik (kaza sonucu gelişen) anevrizmalar: Beyin kan damarlarında kaza sonucunda gelişen anevrizma tipidir. Travma bölgesinde hasar gören damar duvarı zayıflayarak yırtılmalara neden olabilir.

Anevrizmalar, duvar yapılarına göre gerçek anevrizmalar ve yalancı (psödo) anevrizmalar olarak sınıflandırılırlar. Bu iki anevrizma arasındaki farklar oldukça belirgindir. Gerçek anevrizmalar normal atardamar duvarını oluşturan tüm tabakaları (intima, media ve adventisya) bulundurur. Fakat bu tabakaların kalınlıkları farklıdır. Yalancı anevrizmalar incelendiğinde, damar duvarında oluşan yırtılmayla oluştuğu ve anevrizmalı arterin duvarında damarsal tabakaların tümünün bulunmadığı görülmüştür.

### 2.2.1.2. Anevrizmaların Tedavi Yöntemleri

Anevrizma tedavisindeki temel düşünce, anevrizma içine kan girişini engelleyip basıncı azaltmak (yeniden) patlama riskini ortadan kaldırmaktır. Anevrizma patlamasına bağlı beyin kanaması olan hastalarda, eğer tedavi edilmezse, hastaların yaklaşık %35'inde ilk kanamayı takip eden 1 ay içerisinde anevrizma bölgesinde tekrar patlama meydana gelerek ikinci bir beyin kanaması oluşur. Bu nedenle anevrizma sonucu beyin kanaması geçiren kişiler, en kısa zamanda gözetim altına alınıp, tedavi edilmelidir. Henüz yırtılmamış bir anevrizma teşhis edilen hastalarda ise tedavi, yaş durumu, anevrizmanın yaratmış olduğu şikayetler, anevrizmanın morfolojik yapısı (yapısı/görünümü), bulunduğu yer, boyutları ve hastaya özel diğer tıbbi şartlar göz önüne alınarak verilir. [17] Beyinde oluşan anevrizmalarının tedavisine iki ana yaklaşım bulunmaktadır:

- Açık cerrahi ve
- Endovasküler tedavi (kapalı cerrahi).

Açık cerrahi tedavisi, beyin cerrahı uzmanları tarafından gerçekleştirilir [16]. Bu yöntemde anevrizmanın olduğu arter kafatası açılarak bulunup, anevrizma boynu ile damar arasına metal bir klip konularak anevrizma içerisine kan girişi engellenir.

Endovasküler tedavi ile, kafatası açılmadan nöroradyoloji uzmanları tarafından damar içinden uygulanan bir yöntemdir. [18,19,20]. Endovasküler tedavide, anjiyografi cihazı kullanılır. İşlemin tüm aşamaları X-ışını altında izlenip, yönlendirilmeler ile gerçekleştirilir. Günümüzde, cerrahi bir işleme gereksinim göstermemesi nedeniyle endovasküler yöntemler, anevrizma tedavisinde tercih edilmektedirler. Bu tedavi yönteminde, oldukça ince bir kateter yardımı ile anevrizmaya ulaşıp, platinden yapılmış bir koil adı verilen madde ile anevrizma kesesi doldurulur. Bu işleme anevrizmanın koillenmesi adı verilir. [17]. Koiller oldukça yumuşak metal tellerdir. Anevrizma kesesi, koillerle tamamen doldurulup, anevrizma içerisine kan girişi önlenerek tedavi gerçekleştirilir.

Açık cerrahi ve endovasküler tedavi sorunu ortadan kaldıracı birer müdahale olmakla birlikte, müdahale sonrasında hastalarda çeşitli komplikasyonlar gelişebilmektedir. Endovasküler tedavide graftların yerleştirilmesi sonucunda damar zedelenmesi, graftlarda kırılma ve ayrılmalar, yanlış yerleştirme sonucu

graftların damar duvarına yapışması gibi istenmeyen sonuçlar meydana gelebilmektedir [21,22]. Ayrıca graftların bükülmeleri, yerinden ayrılmaları, sızıntıların oluşması ve spontan trombozun oluşması meydana gelebilecek diğer komplikasyonlardır [23,24]. Açık cerrahi sonucunda ise %2-6 oranında miyokardiyal enfarktüs ve aritmi gibi kardiyak komplikasyonlar ve böbrek yetmezliği geliştiği belirtilmektedir [25]. Ek olarak iskemik kolit ve enfeksiyon oluşması olasılıkları mevcuttur [26].

Günümüzde bu komplikasyonlardan olabildiğince uzaklaşabilmek için farklı tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu noktada kök hücre uygulamaları iyi bir seçenek olarak görülmektedir. Hayvanlar üzerinde kemik iliği kökenli mezenşimal kök hücreler kullanılarak yapılan çalışmalarda abdominal aortik anevrizma iyileşmesinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir [27,28]. Bu çalışmalar anevrizma tedavisi için mezenşimal kök hücre uygulamasının umut verici olacağını göstermektedir. Ancak klinik uygulamalardan önce çok daha fazla *in vivo* çalışmanın yapılması gerekliliği açıktır.

## **2.5. Mezenşimal Kök Hücreler**

Kök hücreler henüz farklılaşmamış hücreler olup, kendilerini yenileyebilme potansiyeline sahiptir. Kök hücreler, farklılaşma özelliklerine ve kaynaklarına göre sınıflandırılabilirler. Bir organizmayı bütünüyle meydana getirebilen zigot, totipotent kök hücrelerdir. Embriyonun blastosist aşamasındaki hücreler, ektoderm, endoderm ve mezoderm olmak üzere üç germ tabakasını ve bunlardan gelişen tüm doku ve organları oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bu hücreler, *pluripotent kök hücreler*dir. Sınırlı sayıda hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahip olan ve yetişkin bir bireyde bulunan kök hücrelere ise multipotent kök hücre adı verilir. Multipotent kök hücreler, tipik olarak yer aldıkları dokunun hücrelerine dönüşebilirken, aynı zamanda bu dokunun hasarı sonrasında yenilenmesinde de rol oynar. Bir de indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden bahsedebiliriz. Bu hücreler organizmada doğal olarak bulunmazken, vücut dışında belirli hücrelere pluripotent özellik kazandırılmasıyla oluşur. Pluripotensi özelliği bu hücrelere belirli genlerin transfer edilmesi ile kazandırılır ki bu durum, hücrelerin canlı vücuduna uygulanması sırasında belirli riskleri de beraberinde getirir.

Mezenşimal kök hücreler, hematopoietik grup dışında kemik, kıkırdak, kas, yağ, tendon ve sinir hücreleri gibi çok farklı hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahip multipotent özellikteki kök hücrelerdir. Bu hücreler aynı zamanda yetişkin kök hücreler olarak da tanımlanır.

### **2.5.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin Özellikleri**

Mezenşimal kök hücreler, göç edebilme özellikleri, hedef dokuda mikro çevreye bağlı olarak farklılaşabilme yetenekleri, immun sistemi baskılayıcı özellikte ve nonimmunojenik olmaları nedeniyle hasarlı doku ve organların tedavi edilmesinde iyi bir kaynak olarak görülmektedir. Bu nedenle, mezenşimal kök hücreler günümüzde çok fazla ilgi çekmekte, hatta geri dönüşümü olmayan ve tedavi edilemeyen bazı hastalıkların tedavisinde klinik olarak kullanılabilir [30]. Ancak mezenşimal kök hücrelerin bu şekilde kullanılabilmesi özelliklerinin çok iyi anlaşılabilmesi ve haklarında çok daha fazla bilgiye sahip olmakla mümkün olabilecektir.

Bir dokudan izole edilen hücreye mezenşimal kök hücre diyebilmek için üç temel özellik vardır:

1. İzole edildikleri dokudan ayrıldıktan sonra, kültür kabının yüzeyine tutunabilmeli,
2. Ektoderm, endoderm ve mezoderm kaynaklı hücrelere farklılaşabilmeli,
3. Hücre yüzeyinde özgül bazı antijenleri ifade edebilmelidir.

Mezenşimal kök hücreler, ilk olarak Friedenstein tarafından, kemik iliğindeki stromal ince uzun şekilli ve koloni oluşturmaya meyilli ve proliferatif yeteneği olan hücreler olarak tanımlanmıştır. Bu hücrelerin, *in vitro* koşullarda plastik kültür yüzeylerine tutunabildiği, osteoblast, kondroblast ve adiposit gibi hücre tiplerine farklılaşabildiği ifade edilmiştir. Daha sonra kemik iliğinde elde edilen bu hücreler mezenşimal kök hücreler ya da mezenşimal stromal hücreler olarak tanımlanmıştır. Günümüzde bu hücrelerin kemik iliği dışında da farklı dokularda da olduğu gösterilmiştir.

Mezenşimal kök hücrelerin yüzey antijenleri büyük bir çeşitlilik göstermektedir [31] ve günümüzde hala hangi yüzey antijenlerinin tam olarak mezenşimal kök hücre özelliğini yansıttığı ile ilgili tam bir fikir birliğine varılabilmemiş değildir. Ancak, Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for

Cellular Therapy (ISCT) tarafından kabul görmüş bazı yüzey antijenleri vardır. Buna göre, mezenşimal kök hücre, CD105, CD73 ve CD90 (+) iken; CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 $\alpha$ , CD19 ve HLA-DR (-) olmalıdır. Bu sayede mezenşimal kök hücreler hematopoitik gruptan ve karışık bir hücre popülasyonundan ayırt edilebilirler. Yüzey antijenlerinin mezenşimal kök hücreler üzerinde çok önemli görevleri vardır. Bunlar, bazı sitokin ve büyüme faktörlerinin reseptörleri olabildiği gibi aynı zamanda hücre adezyon molekülü olarak görev yapar; mezenşimal kök hücrelerinin göçünde ve hedef dokuya entegrasyonunda rol oynar. Bu nedenle bu antijenler, mezenşimal kök hücrelerin buldukları dokuya ve dolayısıyla mikro çevreye bağlı olarak ifadelerinde değişiklik gösterebilirler.

MKH'ler hasarlı doku bölgesine gitme ve oraya yerleşme eğilimi gösterirler. Deney hayvanlarında ve insanlarda yapılan uygulamalar, çoğunluğunda intravenöz verilme şekli kullanılmasına rağmen, hücrelerin hasarlı doku bölgesinde lokalize olduğunu göstermiştir. İnflamasyon ile ilişkili mezenşimal kök hücre yerleşiminde, kimokinler, adezyon molekülleri ve MMP gibi faktörler rol oynar.

Bu kimokinler arasında kimokin ligand-12 (CCL-12) – kimokin (C-X-C) reseptör-4 (CXCR4) ve kimokin ligand-2 (CCL-2) – kimokin reseptör-2 (CCR2) en yaygın olanlarıdır. CXCR4'ün mezenşimal kök hücrelere transfer edilmesiyle miyokardiyal enfarktüs modelinde hücrelerin hasarlı doku bölgesine yerleşiminin daha etkili olduğu gösterilmiştir. Adezyon molekülleri olarak P-selektin ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve VLA-4'ün de MKH göçünde rol aldıkları bilinmektedir. VCAM-1 molekülü ile kaplanmış MKH'in inflamasyonun olduğu mezenterik lenf nodülleri ve bağırsakta bölgeye çok daha etkili bir şekilde yerleştikleri fare modelinde gösterilmiştir. MKH'lerin yerleştikleri bölgede canlı kalabilmeleri de doğal olarak etkilerini ve iyileştirici potansiyellerini arttırmaktadır. MKH'lerin bu özelliğinde MMP'ler ve özellikle MMP1 etkili rol oynamaktadır. MKH'in hasarlı bölgeye göçünü ve burada yerleşmesini düzenleyen moleküllerin aktiviteleri TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi sitokinler tarafından düzenlenir [29].

Mezenşimal kök hücreler, salgıladıkları faktörler ile hücre proliferasyonu ve farklılaşması, buna bağlı olarak da hasarlı doku bölgesinde iyileşme sağlarlar. Bu faktörler;

- Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
- İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)
- Bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF)
- Hepatosit büyüme faktörü
- Interlökin-6 (IL-6)
- CCL-2
- Bazı nöral trofik faktörler

Anjiyogenezisi uyarmak ve apoptozisi önlemek mezenşimal kök hücrelerin iyileşmedeki etkinliğini artırır. Ancak kanser metastazlarında anjiyogenezis hiç istenmeyen bir durumdur.

Mezenşimal kök hücre kaynakları çeşitli olamla birlikte, güvenilirliği ve etkinliği *yağ dokusu mezenşimal kök hücrelerinin* klinik olarak uygulanabilir olmasını mümkün kılmaktadır. clinicaltrials.gov tarafından 2010 yılı Mayıs ayı verilerinden yağ dokusu kökenli mezenşimal kök hücrelerin, farklı ülkelerde çeşitli amaçlar ile kullanıldığı belirtilmektedir [30]. MKH'ler hemen her dokuda rejenerasyondan ve doku homeostazisinden sorumludur.

Mezenşimal kök hücreler bu özellikleri sayesinde farklı uygulama alanlarına olanak tanırırlar. Mezenşimal kök hücrelerin rejeneratif amaçlı olarak yararları konusunda elimizde veriler tatmin edicidir. Ancak, hücrelerin uygulamadan sonraki akıbetleri, canlı vücudunda izledikleri yol ve uygulama için en etkin hücre miktarı konusunda hala bazı sorular vardır. Bu nedenle tek bir uygulama şekli ya da hücre miktarından bahsetmek zordur. Hazırlanan modele göre veya klinik uygulamaya göre bu parametreler değişiklik göstermektedir.

### **2.5.2. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücreleri**

Yetişkin kök hücreler, embriyonik kök hücreler ve indüklenmiş pluripotent kök hücreler ile kıyaslandıklarında daha düşük farklılaşma kapasitesine sahip olmakla birlikte, elde edilme ve dolayısıyla da etik açıdan düşünüldüğünde embriyonik kök hücreler ve indüklenmiş pluripotent kök hücrelerden çok daha avantajlıdır. Günümüzden 40 yıl önce kemik iliğinde de çok fazla hücre tipine farklılaşabilme yeteneğine sahip kök hücrelerin olduğunun anlaşılmasından beri, kemik iliği mezenşimal hücreleri, elde edilme kolaylığı da göz önüne alındığında rejeneratif tıpta büyük ilgi çekmektedir [29]. Bununla birlikte kemik iliği aspirasyon yöntemi ile



kemik iliğinin toplanması acı verici bir işlem ve sonuçta elde edilen hücre miktarı ise çoğunlukla yetersizdir.

Yağ dokusu elde edilme kolaylığı ve bir seferde toplanan dokunun fazla miktarda olmasından dolayı oldukça ilgi çekici görünmektedir. İnsan yağ dokusu kök hücreleri, *in vitro* koşullarda adipojenik, osteojenik, kondrojenik, nörojenik ve miyojenik farklılaşma yeteneği ve bol miktarlarda kolay elde edilebilme özelliği nedeniyle pre-klinik çalışmalarda tedavi edici amaçlarda kullanım için ümit vericidir. Ayrıca yağ dokusu kök hücrelerin immun cevap oluşturma olasılığı daha düşük ve uzun dönemde kültür koşullarında kemik iliği kök hücreleri ile kıyaslandığında genetik olarak çok daha stabildir [29].

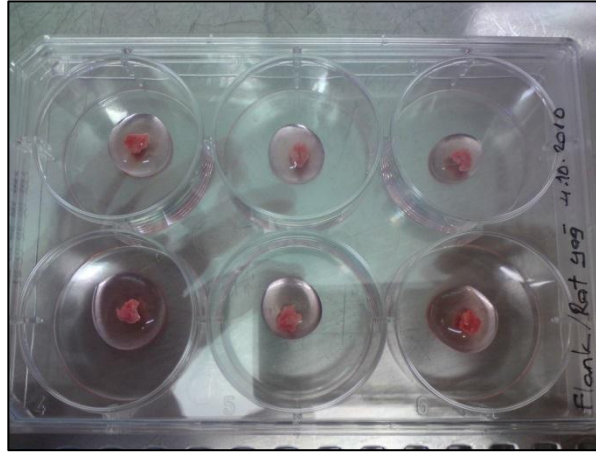
Yağ dokusu kök hücreleri yüzey özellikleri bakımından Kemik iliği kök hücreleri ile karşılaştırıldığında çok fazla benzerlik gösterir. Her iki hücre tipi de ISCT'nin belirlediği ortak yüzey antijenlerini ifade ederler. Ancak bazı özellikleri bakımından çok ufak farklılık gösterirler. Kemik iliği kök hücreleri, CD49'd'yi çok az ifade ederken, yağ dokusu kök hücreleri çok daha fazla ifade eder. CD106 yağ dokusu kökenli hücreler tarafından çok az ifade edilirken, kemik iliği kök hücreleri tarafından daha yüksek miktarlarda ifade edilir. Bu ters ifade oranı ilginçtir. Çünkü CD106, CD49'd'nin reseptörüdür ve her iki molekül de hematopoietik kök hücreler tarafından ifade edilir ve kemik iliği progenitör hücrelerinin yerleşimi ve mobilizasyonundan sorumludur. Bununla birlikte yağ dokusu mezenşimal kök hücreleri için kabul görmüş sonuç; bu hücrelerin, CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD73, CD105, CD166 ve MHC Class I pozitif; CD34 ve MHC Class II için ise negatif özellik göstermeleridir [29, 30, 31].

Sağlıklı ve yetişkin bir birey için, toplam vücut ağırlığının %10-15'i yağ dokusu olup; bu dokunun yaklaşık yarısı cilt altında, geri kalanı da omentum, mezenter ve iç organlar arasında yer alır. Yağ dokusu, yetişkin bir birey için temel enerji kaynağı, yağda çözünen vitaminlerin, toksinlerin depo edildiği bir destek dokusudur. Yetişkin bir birey için cilt altı yağ dokusu aynı zamanda yağ dokusu mezenşimal kök hücrelerini elde etmek için iyi bir kaynaktır.

### 3. LABORATUVAR ÇALIŞMASI VE YÖNTEM

#### 3.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Kültürü

Bu çalışmada mezenşimal kök hücreler, daha önceki çalışmamızda izole ettiğimiz ve laboratuvarımızın hücre bankasından sağladığımız hücrelerdir. Mezenşimal kök hücreler, sıçan cilt altı yağ dokusundan primer eksplant kültür yöntemi ile izole edilmiştir [33]. Deney hayvanından hücre izolasyonu için gerekli izinler, Hacettepe Üniversitesi Etik Kurullarından alınmıştır (Karar No: 2013-04-04). Xylazine (Rihter Pharma AG, Austria) (10 mg/kg) ve ketamin (Rihter Pharma AG, Austria) (50 mg/kg) ile anesteziye alınan sıçanların (Wistar albino, erkek, 250-300 g) karın bölgesi tıraşlanmış, batikon ile temizlenen bölgede cilt açılmış, periton kesilerek kasık bölgesinden yağ dokusu (flank yağ dokusu) çıkartılmıştır. Alınan yağ dokusu parçaları, % 0.5 penisilin-streptomisin (Biochrom AG, Germany) ve % 10 fetal bovine serum (FBS) (Biochrom AG, Germany) içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham's F12 (DMEM/F12) (Biochrom AG, Germany) (taşıma besiyeri) içine alınmış ve işlemlere bundan sonra steril hava kabini içinde devam edilmiştir. 1-2 mm'lik parçalara ayrılan yağ dokusu taşıma besiyeri ile yıkanarak 6 kuyucuklu hücre kültür kabına alınmıştır (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.** Yağ dokusu parçaları

Dokuların üzerine birer damla % 0.2 penisilin-streptomisin, %20 FBS içeren DMEM/F12 (primer besiyeri) damlatılmış ve standart kültür koşulları yani 37°C ve %5CO<sub>2</sub>-%95 hava koşulunda 30 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Bu şekilde dokuların daha iyi yapışmaları ve mezenşimal kök hücrelerin dokudan ayrılarak kültür kabı yüzeyine tutunabilmeleri sağlanmış, bu sürenin sonunda dokuların

üzerine yine primer besiyeri eklenerek inkübasyona devam edilmiştir. Hücreler bundan sonra mikroskopik olarak takip edilmiş (IX70 Olympus, Japan) ve mezenşimal kök hücrelerden kaynaklanabilecek sitokinlerin olası etkilerini önlemek için besiyeri her gün değiştirilmiştir.

İnkübasyonun 5. gününde yağ doku parçaları uzaklaştırılmış ve hücrelerin kültür kabının yüzeyini tamamiyle kaplayıp konfluent hale gelmesi beklenmeden klasik tripsinizasyon yöntemi ile ilk pasajı yapılmış, hücreler 25cm<sup>2</sup>'lik kültür kaplarına alınmıştır (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2.** Mezenşimal kök hücrelerin 25cm<sup>2</sup>'lik kültür kaplarında çoğaltılması

Pasajlama sırasında, hücrelerin üzerindeki besiyeri alınmış ve serumun tripsin üzerindeki inhibe edici etkisini ortadan kaldırmak için hücre yüzeyine her bir kuyucuk için 0.5 ml olacak şekilde tripsin/EDTA (%0.05/%0.02; w/v) (Biochrom AG, Germany) eklenerek yıkama yapılmış, tripsin/EDTA çözeltisi toplanarak atılmıştır. Ardından yine her bir kuyucuk için 0.5 ml tripsin eklemesi yapılarak 37<sup>0</sup>C'de hücrelerin tutundukları kabın yüzeyinden ayrılmaları sağlanmıştır. Yüzeye tutunan hücrelerin tamamen yüzeyden ayrıldıkları ve süspansiyon haline geldikleri gözlemlendikten sonra, hücreler 5 ml %20 FBS içeren DMEM/F12 ile toplanmış ve santrifüj tüpüne alınarak 800 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra hücreler (pelet), bu kez %10 FBS içeren DMEM/F12 ile süspansiyon edilmiş, 25 cm<sup>2</sup> yüzey alanına sahip kültür kaplarına aktarılmış ve inkübasyona devam edilmiştir. Bu işlemle primer kültürdeki hücrelerden birinci pasaj (P1) elde edilmiştir. Ardından hücreler dördüncü pasaja kadar (P4) çoğaltılmıştır. P4'deki hücreler, konfluent hale geldikten sonra her bir

sıçan karotisi için bir 25 cm<sup>2</sup>'lik kültür kabındaki hücreler (650.000 hücre) kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

### **3.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu**

Mezenşimal kök hücrelerin karakterizasyonu için immunofloresan boyama ve flow sitometrik analiz yöntemleri kullanılmıştır.

#### **3.2.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İmmunofloresan Boyama Yöntemi ile Karakterizasyonu**

İmmunofloresan boyama yöntemi için mezenşimal kök hücrelerin karakterizasyonunda kullanılan iki yüzey antijeni olan CD13 ve CD29 molekülleri seçilmiştir. Bunun için 3. pasajdaki hücreler, 6 kuyucuklu kültür kaplarına alınarak inkübe edilmiş, hücreler kültür kabınının hemen hemen yarısını kapladığında (yarı konfluent) uygun primer ve sekonder antibadi molekülleri kullanılarak boyanmış ve floresan mikroskopunda incelenmiştir. Bu işlemde kullanılan primer ve sekonder antikolar ile blocking serum Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA'dan temin edilmiştir. İmmunofloresan boyama yönteminde sırasıyla şu aşamalar gerçekleştirilmiştir:

1. Hücrelerin üzerindeki besiyeri alınır ve fosfat tampon çözeltisi (PBS) (Sigma Chemical Co., USA ) ile bir kez yıkanır.
2. Hücreler -10 °C'de metanol ile fikse edilir.
3. Metanol uzaklaştırılır ve havada kurutulur.
4. Hücrelerin üzerine blocking serum eklenerek (CD13 için Kat.No: Sc2043; CD29 için Kat.No: Sc2044) 20 dakika inkübe edilir.
5. Blocking serum uzaklaştırılır ve hücreler PBS ile yıkanır.
6. Primer antikor (CD13 için Kat.No: Sc6595; CD29 için Kat.No: Sc6583) konularak 60 dakika inkübe edilir.
7. Primer antikor uzaklaştırıldıktan sonra PBS ile üç defa 5 dakika süreyle yıkanır.
8. Sekonder antikor (CD13 için Kat.No: Sc2783; CD29 için Kat.No: Sc2783) konularak 60 dakika inkübe edilir.
9. Sekonder antikor uzaklaştırıldıktan sonra PBS ile üç defa 5 dakika süreyle yıkanır.

10. Hücrelerin yüzeyi mounting medium ile kapatılarak floresan mikroskopta (BH2-RFL-T3 model fluorescence attachment, Olympus) incelenir.

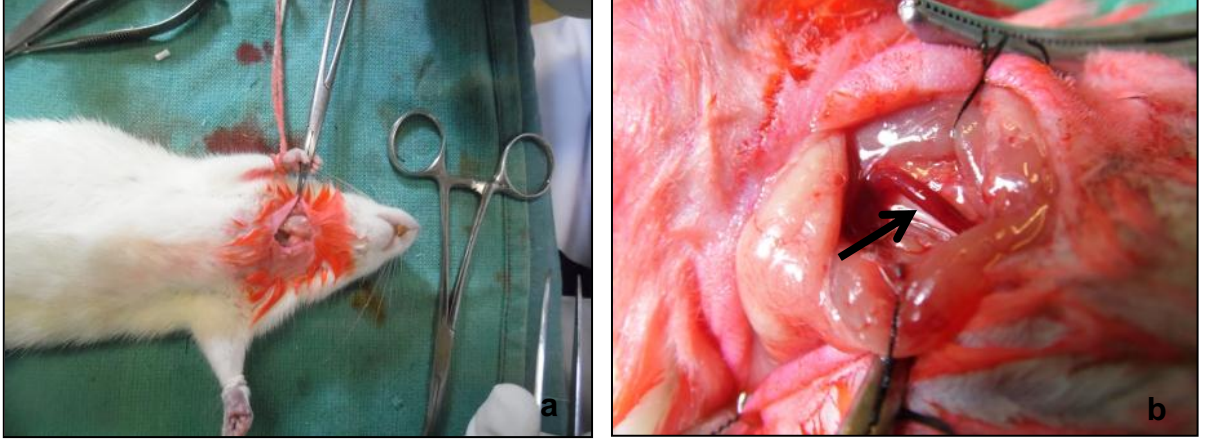
Primer ve sekonder antikor ile blocking medium solüsyonları 1:100 (v/v) olacak şekilde PBS içinde hazırlanır ve tüm işlemler oda ısısında gerçekleştirilir. Boyamanın yapılmasından hemen sonra mikroskop incelemesinin yapılması floresan ışımının kaybolmadan iyi bir görüntü elde edilebilmesi için önemlidir. Eğer bir bekleme süresi gerekiyorsa (30-45 dakikayı geçmemek kaydıyla) kültür kabının yüzeyi alüminyum folyo ile sarılarak +4°C'de buzdolabında saklanmalıdır.

### **3.2.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Flow Sitometri Yöntemi ile Karakterizasyonu**

Flow sitometrik olarak hücrelerin karakterizasyonu için 2. pasajdaki hücreler hazırlanmıştır. Bu hücrelerde hizmet alımı karşılığında, Kocaeli Üniversitesi Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (KOGEM, Kocaeli, Türkiye) CD29, CD45, CD54, CD90, CD106, MHC Class I ve MHC Class II yüzey molekülleri için flow sitometrik analizleri yapılmıştır. Bu şekilde mezenşimal kök hücrelerin sözü geçen yüzey moleküllerini ne oranlarda ifade ettiği gösterilmiştir.

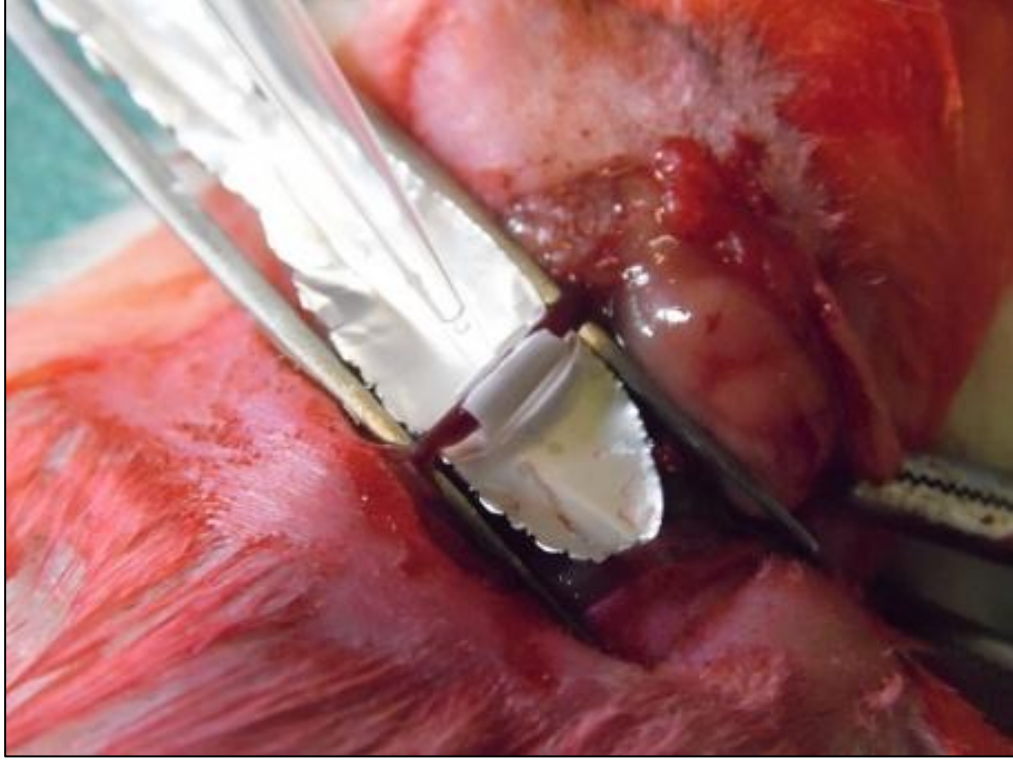
### **3.3. Karotis Arterde Anevrizma Modelinin Oluşturulması**

Karotis arterde anevrizma modelinin oluşturulması sırasında kullanılacak olan sıçanlar için gerekli etik kurul izni, Hacettepe Üniversitesi Etik Kurullarından alınmış ve çalışmanın *in vivo* aşamasında 12 adet Wistar albino, 250-300 g ağırlığında dişi sıçan kullanılmıştır (Karar No: 2015-08-07). Xylazine (Rihter Pharma AG, Austria) (10 mg/kg) ve ketamin (Rihter Pharma AG, Austria) (50 mg/kg) ile anesteziye alınan sıçanların boyun bölgesi tıraşlanmış ve batikon ile temizlendikten sonra cilt açılmıştır. Boyun kaslarının ve trakenin arkasında yer alan bir çift karotis artere ulaşmak için, boyun kasları makas kullanmadan düz uçlu pens ile dikkatli bir şekilde açılmıştır. Karotis arter ile rahat bir açılma alanı oluşturabilmek için, kaslar cerrahi iplik ile tutturulup kenara çekilmiş ve karotis arter ortaya çıkarılmıştır (Şekil 3.3.a ve b).



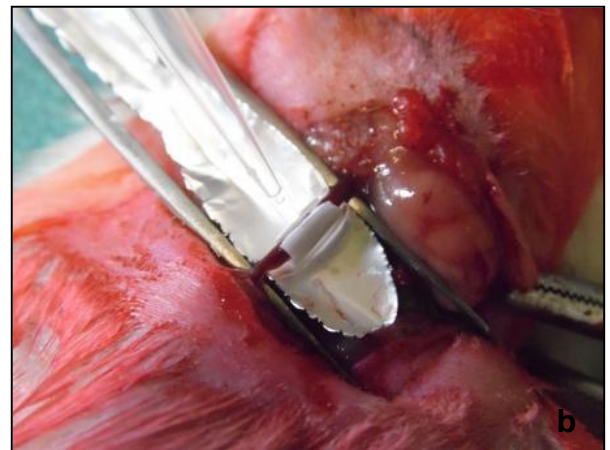
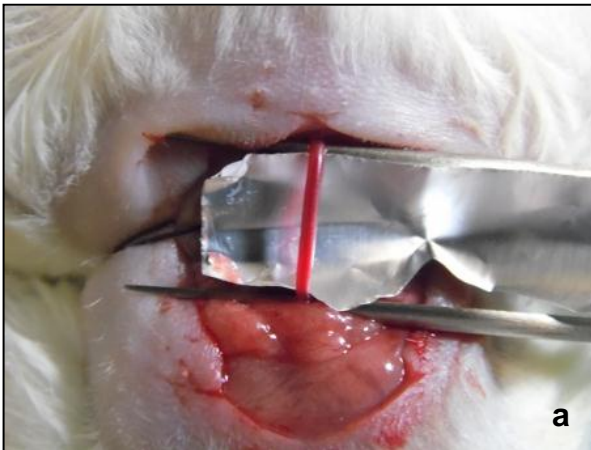
**Şekil 3.3.** Karotis arterin ortaya çıkartılması; Boyun bölgesi traşlanıp, antiseptik madde ile temizlenerek açılan sıçan (a), boyundaki bezler ve kaslar ayrılarak ortaya çıkarılan karotis arter(b).

Karotis arterde anevrizma meydana getirmek için, elastaz enzimi kullanılarak, arterin elastik lif tabakasına zarar verilmiştir. Bu şekilde damarın genişleyerek esnekliğini kaybetmesi sağlanmıştır. Literatürdeki çalışmalar incelenerek [33] sıçan karotisi için uygun yeni bir model tarafımızdan geliştirilmiştir. Karotis arterin dallandığı bölüm ile proksimal ucu arasındaki kalan yaklaşık 0.5 cm'lik kısım (Şekil 3.4) elastaz (Type I elasase from porcine pancreas, 9.1 U/mg, Sigma Aldrich) ile muamele edilmiştir.



**Şekil 3.4.** Karotis arterin yerleşimi ve elastaz uygulama bölgesi

Elastazın çevre dokulara zarar vermesini engellemek için damarın altına bir alüminyum folyo serilmiş ve daha önceden hazırlayıp UV ile steril ettiğimiz 0.5 cm büyüklüğünde plastik bir küvetin içine alınarak uygulama burada gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5. a ve b).



**Şekil 3.5.** Karotis arterin yerleşimi ve elastaz uygulama bölgesi; karotisin ortaya çıkarılması (a), karotise dışarıdan elastaz uygulaması (b).

Elastazın uygulama dozu olarak literatürdeki örnekler incelenerek sıçan karotisi için en uygun doz ve uygulama süresi belirlenmiştir [34]. Buna göre elastaz uygulamadan hemen önce 0.18 mg (1.638 ünite) olacak şekilde fosfat tamponu (PBS) içinde hazırlanmış ve bir seferde 50 µl olacak şekilde 15 dakika arayla olmak üzere iki kez ve toplam 30 dakika süreyle uygulanmıştır. Bu sürenin sonunda küvet damarın üzerinden uzaklaştırılmış, damar ve çevre dokular ortamdan elastazı uzaklaştırmak için PBS ile yıkandıktan sonra çevre kaslar orijinal pozisyonlarına yerleştirilmiştir. Cilt dikilmeden önce, uygulama yapılan karotis hizasına gelecek şekilde kas dokusu vücutta erimeyen 4.0 sütün ile bir dikiş atılarak işaretlenmiş ve cilt kapatılarak deney hayvanı örnekler alınincaya kadar bir hafta süreyle kafesine alınmıştır. Deney hayvanları, standart koşullarda pelet yem ile beslenmiş, ilk üç gün içme sularına ağrı kesici ve ateş düşürücü parasetamol eklenmiştir.

#### **3.4. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Uygulamaların Yapılması**

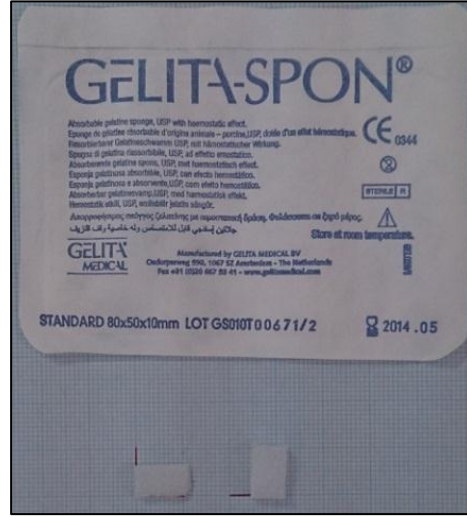
Bu çalışmada üç grup oluşturulmuş (1. Kontrol grubu; 2. Hücre grubu; 3. Anevrizma grubu) ve toplam 12 adet 6-8 haftalık, 300 g ağırlığında Wistar albino dişi sıçan kullanılmıştır.

1. Kontrol grubu: Bu grup, herhangi bir uygulamanın yapılmadığı sağlıklı sıçanlardan oluşmuştur. Bu sıçanlara ait sol karotis herhangi bir işlem yapılmaksızın alınarak histolojik incelemeye tabi tutulmuş ve sağlıklı damarın tabakaları gösterilmiştir.

2. Anevrizma grubu: Bu grupta yukarıda ifade edildiği gibi karotis arterde anevrizma oluşturulmuş (Şekil 3.5 a ve b), anevrizma oluşumunun ardından beş gün sonra hiçbir uygulama yapılmadan karotis arter alınmış ve histolojik inceleme yapılmıştır.

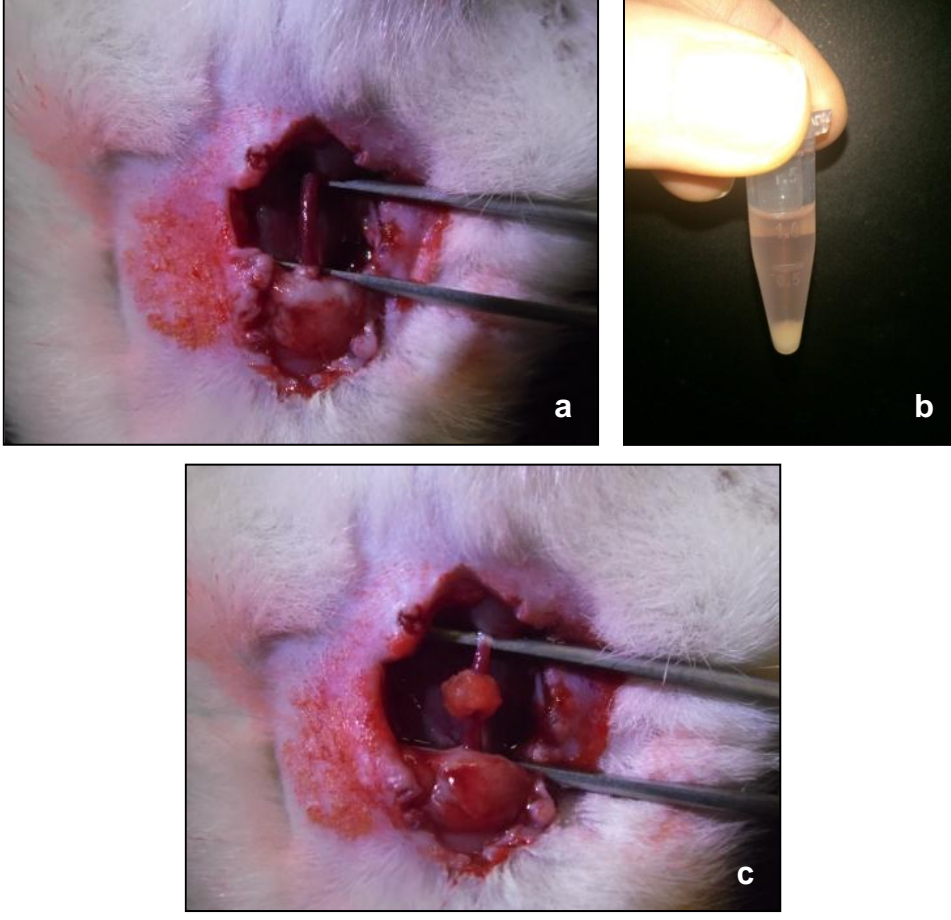
3. Hücre grubu: Bu grupta anevrizma oluşturulduktan sonra anevrizma bölgesine mezenşimal kök hücre uygulaması yapılmıştır. Mezenşimal kök hücreler, bölgeye implante edilen hücre kaybını önlemek için vücutta eriyebilir özellikteki jelatin matriks (0.2x0.5x1 cm) (GELITA-SPON, Absorbable Gelatin Sponge) (Şekil 3.6) içine emdirilerek anevrizma bölgesine uygulanmıştır (Şekil 3.7.a, b ve c).





**Şekil 3.6.** *In vivo* uygulamalar için hazırlanan jelatin matriks

Bunun için, 25 cm<sup>2</sup>'lik kültür kaplarında üretilmiş olan dördüncü pasajdaki mezenşimal kök hücreler uygulama esnasında tripsinize edilmiş, santrifüj sonunda elde edilen hücre peleti bir kez de serum içermeyen besiyeri içinde süspansiyon edildikten sonra, ependorf tüplerine alınarak santrifüj edilmiş ve kullanılmıştır. Her bir uygulama bölgesi için 100 µl PBS içinde toplam 650.000 hücre kullanılmıştır.



**Şekil 3.7.** Aneurizma bölgesine kök hücre uygulaması; Aneurizmalı karotis (a), mezenşimal kök hücre peleti (b), jelatin matriks ile hücrelerin karotise uygulanması (c)

### 3.5. Karotis Arterde İyileşmenin İncelenmesi

Mezenşimal kök hücre uygulamasının iyileşmeye olan etkilerinin incelenmesi için postoperatif 7. günün sonunda sıçanlara yüksek doz anestezi ile ötenazi yapılmış, karotis arter çıkartılarak makroskobik ve mikroskobik olarak incelenmiştir.

#### 3.5.1. Makroskobik İnceleme

Makroskobik incelemede sıçanlar öncelikle, hareketlilik, yürüme probleminin olup olmadığı, uyarılara cevap verip vermediği, tüylerinin rengi ve parlaklığı gibi genel sağlık parametreleri bakımından değerlendirilmiştir. Ötenazi sonrasında karotis arter vücut dışına çıkartılmış, kontrol, aneurizma ve hücre gruplarında damarın genel morfolojisi, kalınlığı ve fibrotik doku oluşup oluşmadığı yönünde değerlendirilmiştir.

### 3.5.1. Mikroskopik İnceleme

Mikroskopik inceleme için kontrol, anevrizma ve hücre gruplarında doku kesitlerinde histolojik boyama yapılmıştır. Bunun için, hematoksilin&eozin ve hematoksilin&eozin&verhoeff boyama yöntemleri kullanılmıştır. Hematoksilin&eozin boyama ile damar yapısı ve tabakaları gösterilirken, hematoksilin&eozin&verhoeff boyamada ise ek olarak karotis arter duvarındaki elastik fiberler de boyanmıştır. Elastik fiber tabakasının kalınlığı mikroskopik olarak ölçülmüş, sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve mezenşimal kök hücre uygulamasının iyileşme üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Histolojik boyama yöntemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

1. Ötenazi sonrası karotis arterler çıkartılmış ve 5 ml'lik cam şişelere alınmıştır.
2. Bouin's solüsyonu ile 8 saat muamale edilip dokular fikse edilmiştir.
3. Uygun şekilde doku takibi yapıp parafine gömülen dokular, mikrotom yardımı ile 7 mikron kalınlığında kesilmiş, 1 gece boyunca 70°C etüvde beklenerek lam üzerindeki fazla parafinin erimesi sağlanmış ve boyama prosedürüne geçilmiştir.

Hematoksilin&eozin boyama: Sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır.

1. Ksilolde 30 dakika bekletilir (Deparafinizasyon)
2. Ksilolde 30 dakika bekletilir
3. %100 etil alkolde 10 dakika bekletilir
4. %90 etil alkolde 10 dakika bekletilir
5. %70 etil alkolde 10 dakika bekletilir
6. Distile suda yıkama yapılır 5 dakika
7. Hematoksilinde 7 dakika bekletilir
8. Distile suda 5 dakika bekletilir
9. Eozinde 2 dakika bekletilir
10. Distile suda 5 dakika bekletilir
11. Scott solüsyonunda 7 dakika bekletilir
12. Preparatlar distile suya batırılıp çıkarılır

13. %70 alkolde 2 dakika bekletilir
14. %90 alkolde 2 dakika bekletilir
15. %100 alkolde 2 dakika bekletilir
16. Ksilolde 15 dakika bekletilir
17. Ksilolde 15 dakika bekletilir
18. Preparatlar entellan ile kapatılır

Verhoeff boyama: Boya solüsyonları taze hazırlanmıştır. Üç farklı solüsyonun kullanıldığı verhoeff boyası aşağıda anlatıldığı şekilde uygulanmıştır.

A Solüsyonu:

%10 Alkolik Hematoksilen Solusyonu. 100 ml absolute alkol (%100 etil alkol) içerisinde 10 gr Hematoksilen tozu çözülür.

B Solüsyonu:

%10 Ferrik Klorid. 100 ml distile su içerisinde 10 gr ferrik klorid tozu çözülür.

C Solüsyonu:

Verhoeff's İyodin Solüsyonu. 2 gr İodine, 4 gr potasyum iyodid, 100 ml Distile su

Verhoeff elastik boya çalışma solüsyonu:

25 ml A solüsyonu

25 ml %100 etil alkol

25 ml B solüsyonu, Bu üç solüsyon iyice karıştırıp daha sonra 25 ml C solüsyonundan eklenir.

%2 ferrik klorid diferensiasyon solüsyonu

20 ml B solüsyonu (%10 ferrik klorid), 80 ml distile su

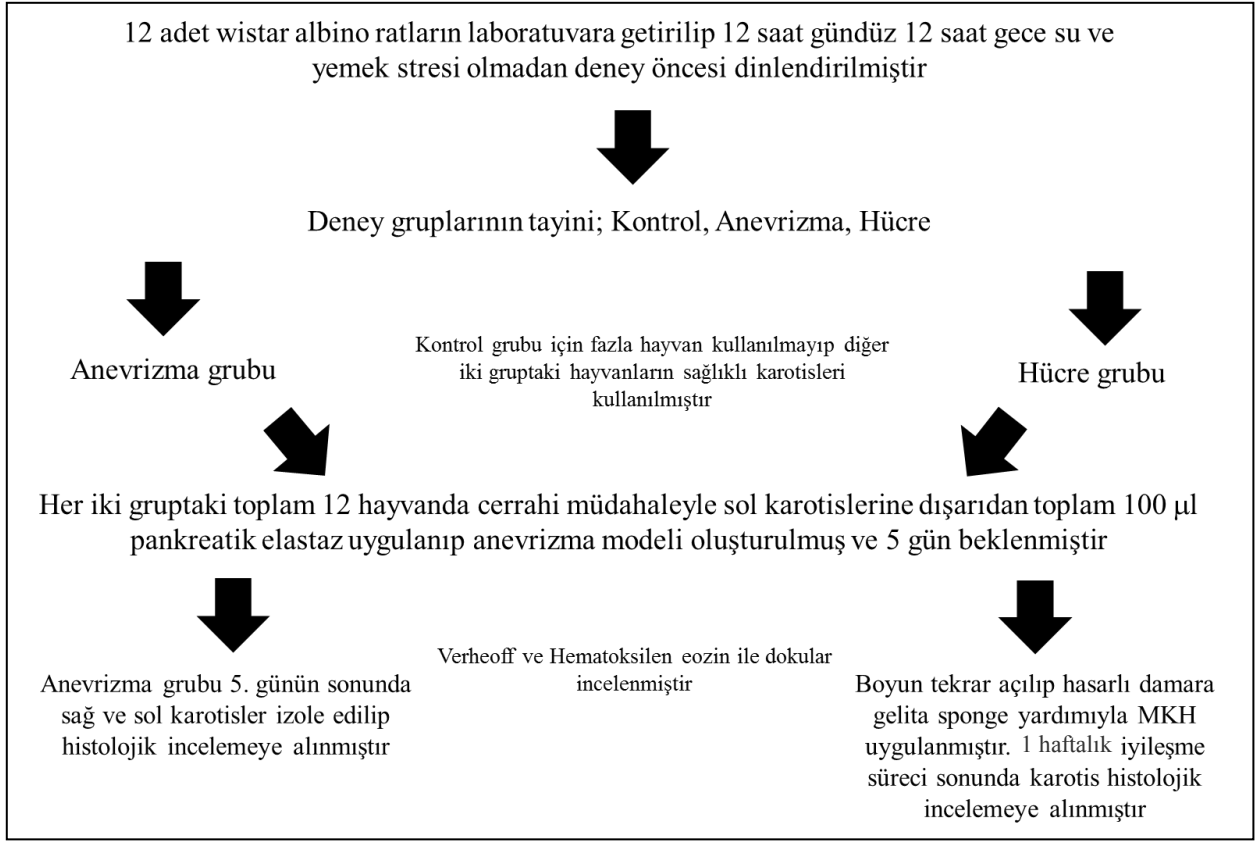
%5 sodyum tiyosülfat solüsyonu:

100 ml distile su, 5 gr sodyum tiyosülfat

Boyama Protokolü:

1. Preparatlar 2-3 saat etüvde(60°C) bekletip, sonrasında 1 gece ksilolde parafin uzaklaştırılır
2. Dereceli alkollerden geçirilerek deparafinize edilir (sırasıyla 2 dakika %100, %96 ve %75'lik alkoller)
3. Çeşme suyunda hidrate edilir (2 dakika)
4. Verhoeff elastik boya çalışma solüsyonu( 15-20 dakika)
3. Akar suda 20 dakika bekletilir
4. Distile suya alınır
5. %2 ferrik klorid solusyonu ile diferansiye edilir
6. %5 sodyum tiyosülfat (1 dakika)
7. Akarsuda 5 dakika yıkanır
8. Eozin ile zıt-boyama (1 dakika) yapılır
9. Akarsuda 1 dakika yıkanır
10. % 95 ve %100' lük alkollerden sırasıyla hızlıca geçirilir
11. Ksilolde (minimum 20 dakika) bekletilir
12. Entellan ile kapatılır

Bu tez çalışmasında yapılan laboratuvar çalışmaları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** Laboratuvar çalışması ve yöntem -özet-

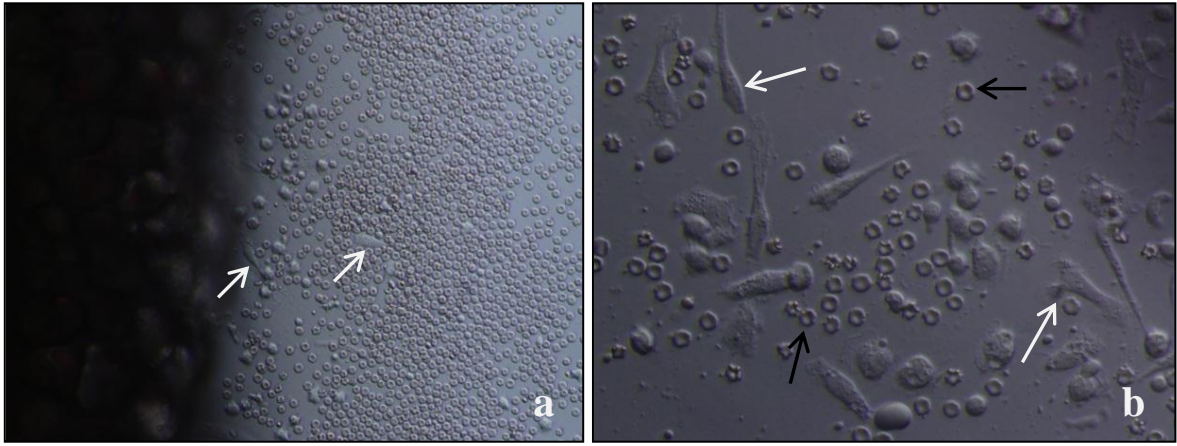
### **3.6. İstatistiksel Analiz**

Kontrol, anevrizma ve hücre gruplarında karotis arterde elastik tabakanın kalınlığı arasında görülen farkın anlamlı olup olmadığı parametrik olmayan bir test olan Mann Whitney U testi ile incelenmiş, bulunan p değerleri ile sonuçlar yorumlanmıştır.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İzolasyonu ve Kültürü

Laboratuvarımızdaki hücre bankasından temin edilerek kullanılan mezenşimal kök hücreler, primer eksplant kültür tekniği ile izole edilmiş, hücre izolasyonu sırasında herhangi bir enzimatik yöntem kullanılmamıştır. Bu yöntemde, primer yağ dokusundan mezenşimal kök hücrelerin ayrılarak kültür kabının yüzeyine tutunmaları ile hücre izolasyonu sağlanmıştır. İnkübasyonun 18. saatinde mezenşimal kök hücrelerin dokudan ayrılarak kültür kabının yüzeyine tutunmaya başladıkları ve fibroblastik morfolojiye sahip bu hücrelerin eritrositlerin arasında belirgin bir şekilde yer aldıkları görülmüştür (Şekil 4.1. a ve b).



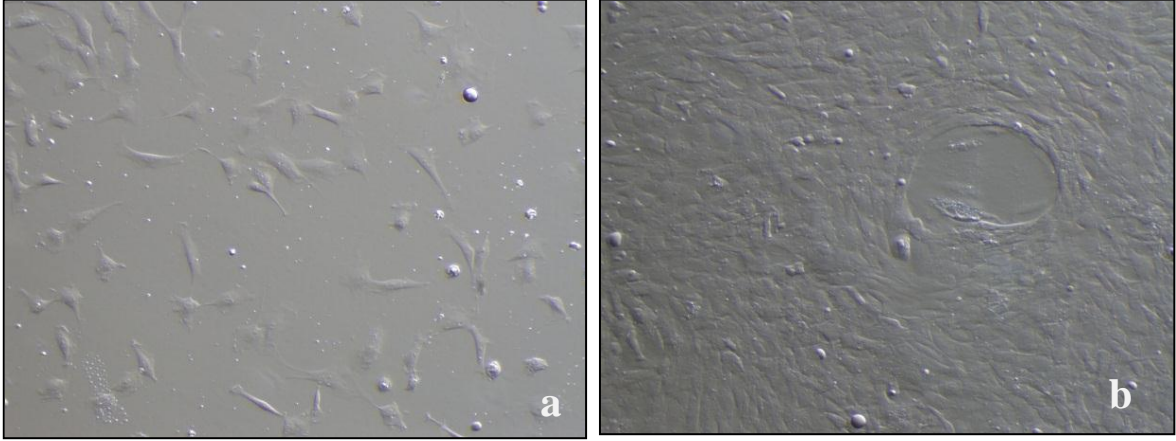
**Şekil 4.1.** İnkübasyonun 18. saatinde yağ dokudan ayrılan mezenşimal kök hücreler (a) 100 ve (b) 200 büyütme (beyaz ok mezenşimal kök hücreleri, siyah ok eritrositleri göstermektedir)

İnkübasyonun başlangıcından 7 gün sonra fibroblastik morfoloji gösteren hücrelerin sayısı artmış ve kültür kabının belirli bölgelerinde konfluent oluşum gözlenmiştir (Şekil 4.2. a ve b).

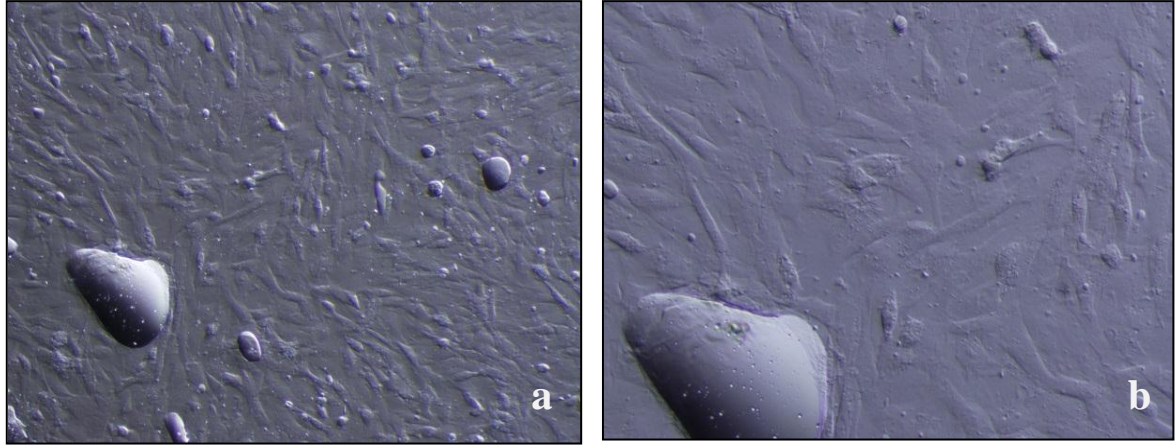
Bu süre içinde eritrositler besi ortamının değiştirilmesiyle ortamdan uzaklaştırılmış ve birinci pasajdan sonra kültürde hemen hemen hiç eritrosit kalmamıştır (Şekil 4.3. a ve b).

İnkübasyonun 7. gününde hücrelerin tamamen konfluent hale gelmesi beklenmeden birinci pasaj yapılmıştır.





**Şekil 4.2.** İnkübasyonun 7. gününde yağ dokudan ayrılan mezenşimal kök hücreler (a) ve kültür yüzeyinin belirli alanlarında oluşan konfluent görünüm (b) (100 büyütme)



**Şekil 4.3.** Birinci pasajdaki mezenşimal kök hücreler (a) 100 büyütme ve (b) 200 büyütme (eritrositler tamamen ortamdaki uzaklaşmıştır)

Bu aşamadan sonra hücrelerin tamamen konfluent hale gelmesi sağlandıktan sonra hücreler haftada iki kere pasajlanmış ve dördüncü pasajda kullanılmak üzere hazırlanmıştır. Morfolojik takip, mezenşimal kök hücrelerin pasajlanması yani alt kültürleri devam ederken, ince uzun iğ şeklindeki fibroblastik morfolojilerini devam ettirdikleri gösterilmiştir.

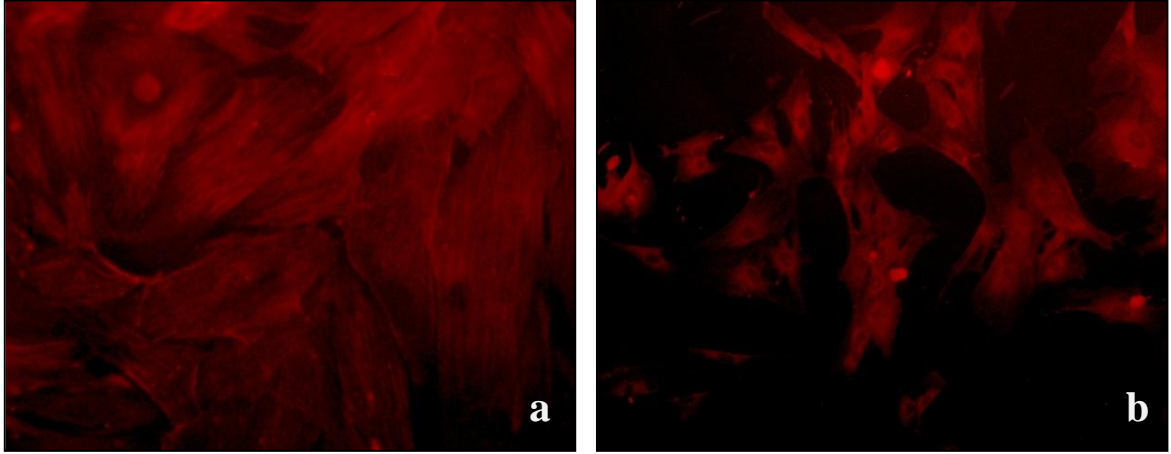
#### 4.2. Yağ Dokusu Mezenşimal Kök Hücrelerin Karakterizasyonu

Yağ dokusu kökenli mezenşimal kök hücreleri de kemik iliği kök hücreleri gibi spesifik bazı yüzey antijenlerini ifade ederler. Bu da mezenşimal kök hücrelerin

karışık bir hücre populasyonu içinden hızlı bir şekilde karakterize edilmelerine olanak tanır.

#### **4.2.1. Mezenşimal Kök Hücrelerin İmmunofloresan Boyama Yöntemi ile Karakterizasyonu**

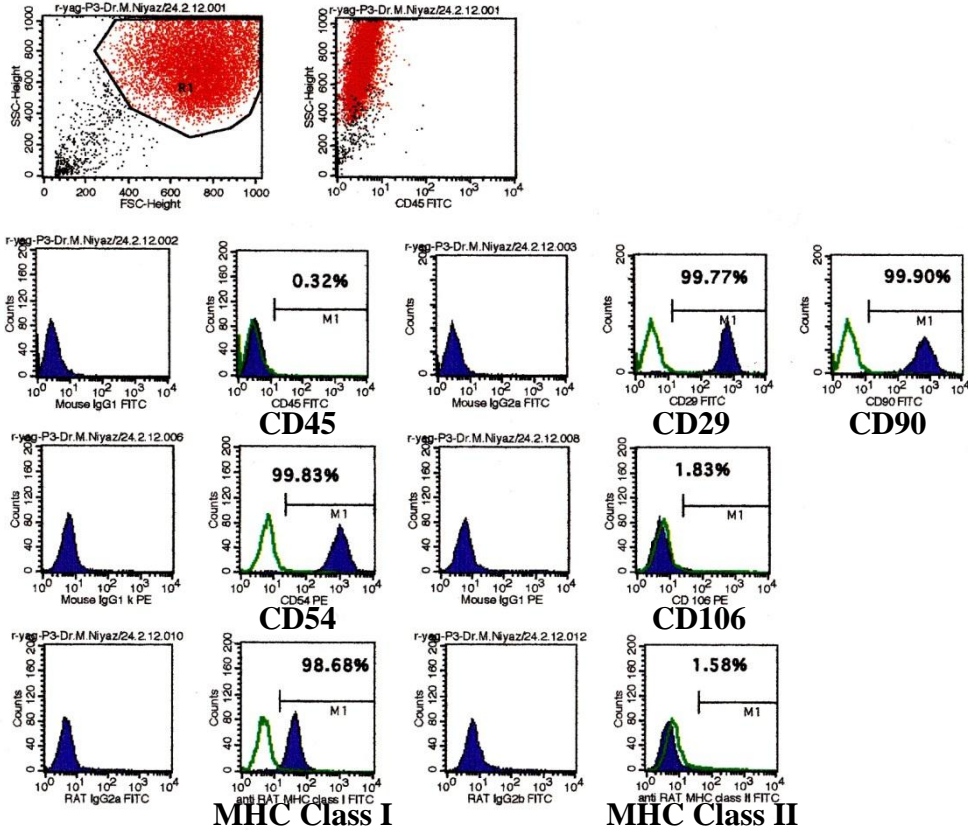
Mezenşimal kök hücreler, CD13 ve CD29 yüzey antijenleri bakımından immunofloresan boyama yöntemi ile karakterize edilmiştir [32]. İmmunofloresan boyama sonuçları, yağ dokusundan izole edilen hücrelerin CD13 ve CD29 antijenleri için pozitif boyama verdiklerini (Şekil 4.4.a ve b). ve dolayısıyla bu hücrelerin mezenşimal kök hücre karakteristiğinde olduklarını göstermiştir.



**Şekil 4.4.** İmmunofloresan boyamadan sonra mezenşimal kök hücreler (a) CD13 (b) CD29 pozitif hücreler (200 büyütme)

#### **4.2.2. Mezenşimal Kök Hücrelerin Flow Sitometri Yöntemi ile Karakterizasyonu**

Flow sitometri analizi sonuçları yağ dokusu kökenli MKH'lerinin CD29, CD90, CD54 ve MHC Class I için pozitif, CD45, CD106 ve MHC Class II için negatif sonuç verdiğini göstermiştir (Şekil 4.5). Bu sonuçlar hücrelerin 98.68'ini temsil etmektedir ve sözü geçen antijenler için pozitif ve negatif sonucun çok yüksek doğrulukla ve homojenitede olduğunu göstermektedir.



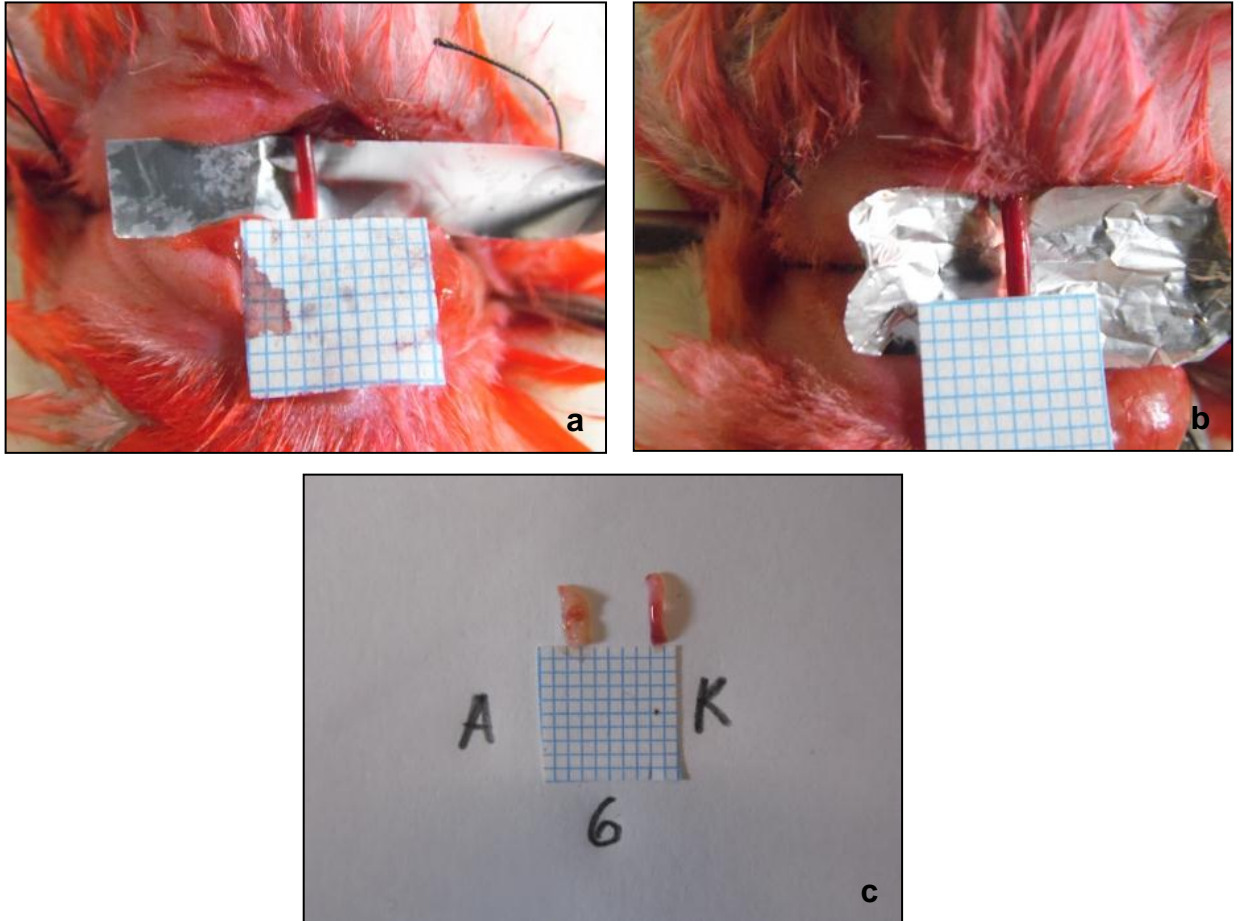
**Şekil 4.5.** Mezenşimal kök hücrelerin flow sitometri analizlerinin sonuçları. CD29, CD90, CD54 ve MHC Class I pozitif; CD45, CD 106 ve MHC Class I negatif mezenşimal kök hücreler

CD29, CD90, CD54 ve MHC Class I için pozitif sonuç verdiğini göstermiştir. CD29 (integrin  $\alpha 1$ ) mezenşimal kök hücre tutunması ve göçünde rol oynarken, CD90 (Thy-1) bir glikofosfatidilinositol (GPI) bağlı yüzey proteindir ve immunoglobulin süperaillesinin bir üyesidir ve mezenşimal kök hücrelerin tutunma, damar dışına çıkma ve göçünde rol oynayan bir moleküldür. CD54 ise bir intrasellüler hücre adezyon molekülüdür, mezenşimal kök hücrelerin hücre etkileşimlerinde ve göçünde rol oynar. CD45 ve CD106 ise hematopietik hücreler için özgül olan yüzey antijenleridir ve mezenşimal kök hücrelerde negatif sonuç verir. MHC Class II ise mezenşimal kök hücreler için negatiftir. Bu molekül, antijen sunucu hücreler tarafından ifade edilir ve mezenşimal kök hücreler tarafından düşük düzeylerde ifade edilmesi mezenşimal kök hücrelerin hipoinmunojenik özellik göstermesini sağlar. MHC Class I ise NK hücreleri üzerinde baskılayıcı etkiye sahiptir [29].

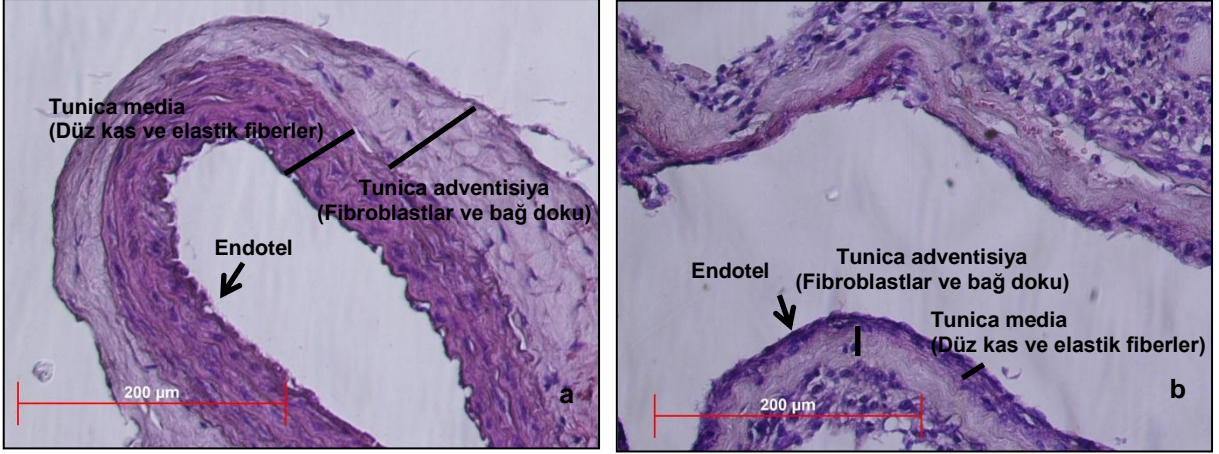
### 4.3. Karotis Arterde Anevrizma Modelinin Oluşturulması

Karotis arterde anevrizma oluşturulması sırasında toplam 30 dakika sũreyle elastaz muamelesi yapılmıştır. Bu sũrenin sonunda damarın elastin tabakasında elastik liflerin parçalanması ile birlikte damar elastikiyetini kaybetmiş ve damarda gözle görũlũr bir şekilde bir genişleme meydana gelmiştir (şekil 4.6.a, b ve c).

Arterde anevrizma oluşumu aynı zamanda histolojik boyama ile gũsterilmiřtir. Hematoksilin&eoziin boyamada elastik arterlerde elastin tabakasının yer aldığı tunika media kontrol grubunda çok belirgin olarak görũlmektedir (şekil 4.7. a). Anevrizma grubunda ise tunika medianın belirgin bir şekilde incelidiği ve yer yer tamamen kaybolduğu görũlmektedir.

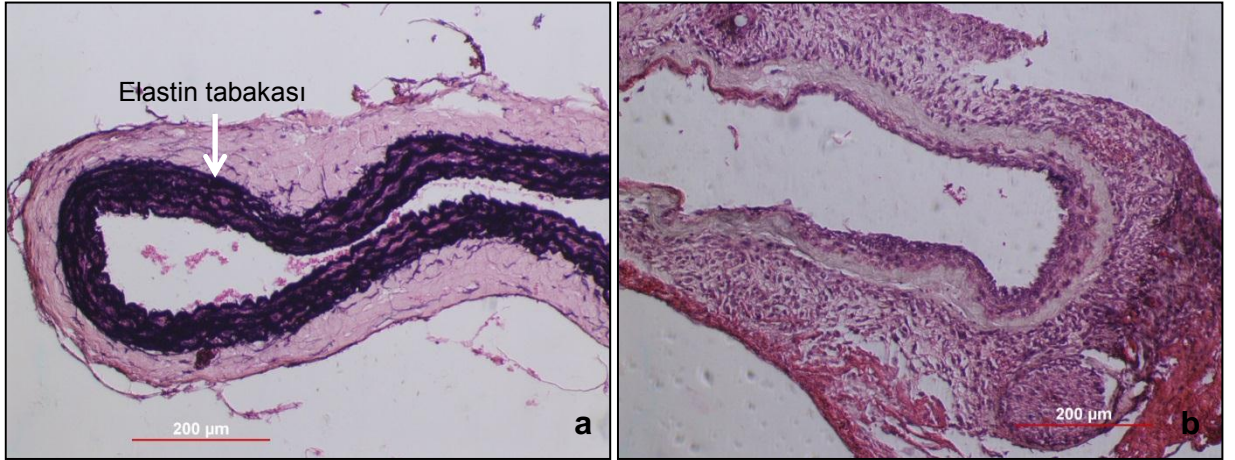


**şekil 4.6.** Elastaz uygulaması (anevrizma) ȳncesi (a) ve sonrası (b) karotis arterin gȳrũnũmũ (c)



**Şekil 4.7.** Hematoksilen&eozin boyama kontrol (400 büyütme) (a) ve anevrizma (400 büyütme) (b) grubu

Ancak hematoksilen&eozin boyamada elastin tabakası boyanmadığından fibriller sadece bir silüet şeklinde yer almaktadır. Verhoeff ile boyama yapıldığında ise elastik fiberler siyah renkte boyanmakta, kontrol grubunda anevrizma grubu ile karşılaştırıldığında belirgin bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.8.a ve b).



**Şekil 4.8.** Verhoeff boyamada kontrol ve anevrizma; Kontrol grubu(a), anevrizma grubu(b) (100 büyütme)

#### **4.4. Karotis Arterde İyileşmenin İncelenmesi**

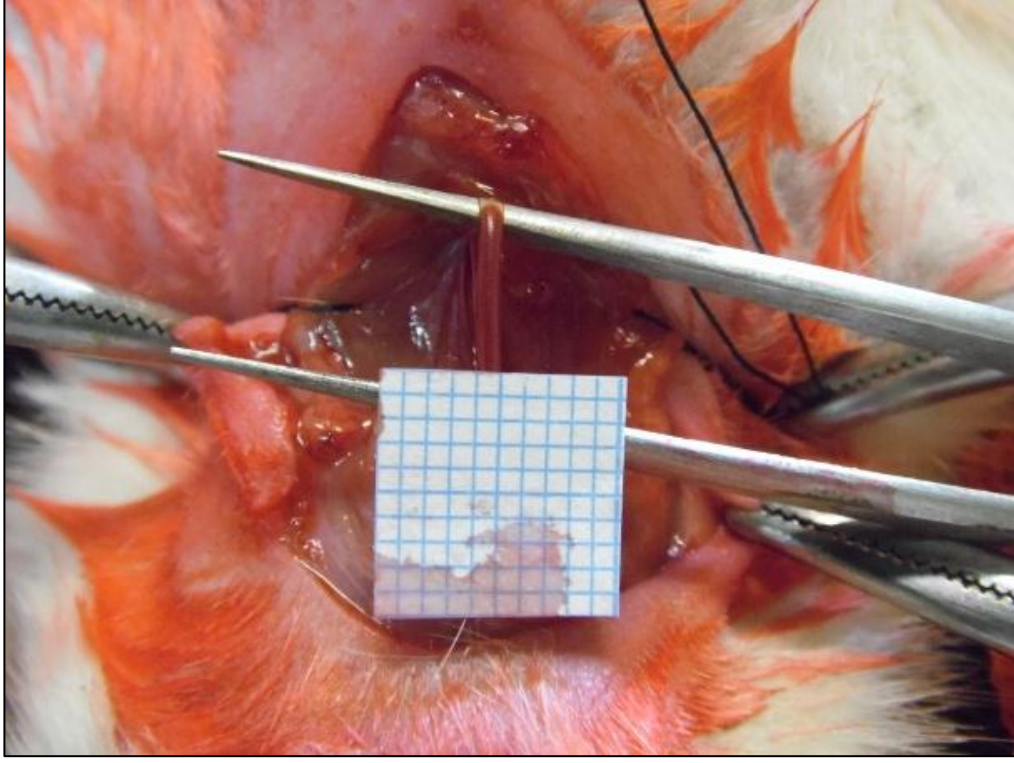
Tüm gruptaki hayvanlar yüksek doz anestezi ile ötenazi yapıldıktan sonra makroskopik ve mikroskopik incelemeye alınmıştır. Anevrizma grubundaki hayvanlar, elastaz uygulamasından beş gün sonra, hücre grubundakiler ise hücre uygulamasından bir hafta sonra incelenmiştir. Kontrol grubu için, deney gruplarındaki hayvanların uygulama yapılmamış sol karotis arterleri kullanılmıştır.

##### **4.4.1. Makroskopik İncelemeler**

Bu aşamada, “anevrizma-kontrol” ve “hücre-kontrol” grupları karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılmaya alınan deney hayvanları genel sağlık durumları açısından bakıldığında herhangi bir sorun ile karşılaşmamıştır. Hareket ve yürümelerinde herhangi bir bozukluk görülmemiş ve uyarılara cevap vermişlerdir.

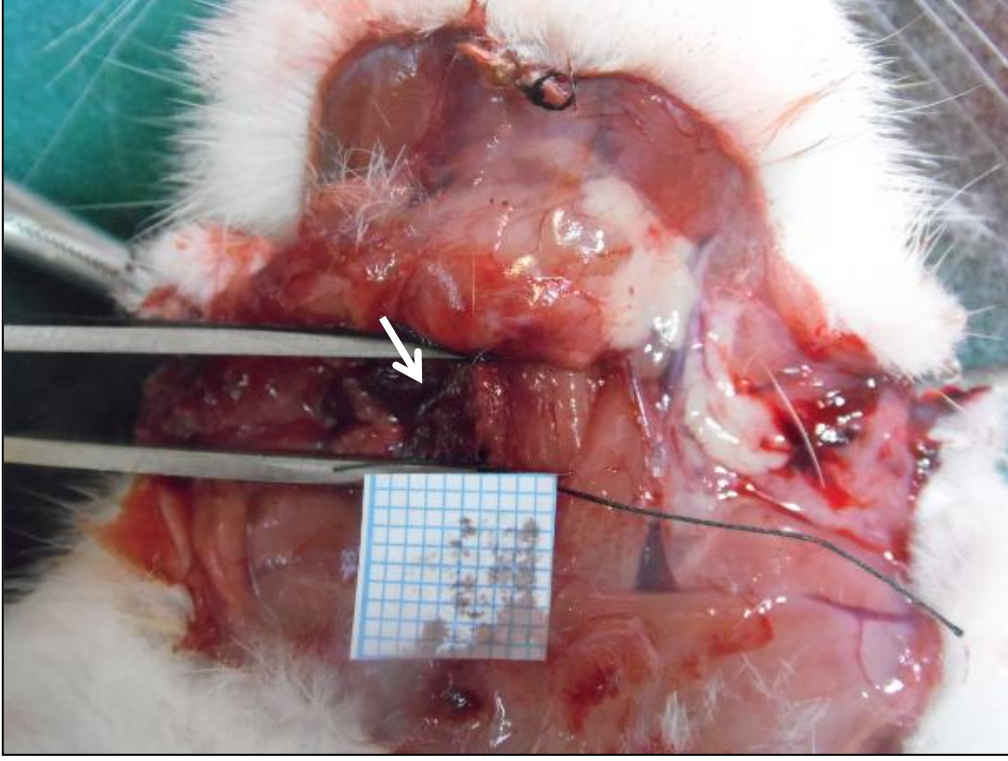
İnceleme için karotis arter, proksimalinden ve distalinden bağlanarak kesilmiş ve vücut dışına çıkartılmıştır. Kontrol, anevrizma ve hücre grupları karşılaştırıldığında tüm bireylerde belirgin bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol grubu karotis arterler, gruptaki tüm bireylerde yaklaşık olarak 1 mm çapında, düzgün silindirik iskelet yapısında, dış yüzeyde herhangi bir fibröz tabaka gelişmemiş ve dilate olmamış şekildedir (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9.** Kontrol grubunda karotis arterin görünümü

Ancak anevrizma grubunda, sıçanların boynu açıldığında dikkati çeken ilk olgu karotisin eğimli ve şişkin, homojen olmayan bir yapıya sahip olduğudur. Elastazın etkisiyle çok hassaslaştığı için kolayca yırtılabilir bir hal almıştır (Şekil 4.10).



**Şekil 4.10.** Anevrizma sonrası doğal yapısını kaybetmiş karotis arterin görünümü

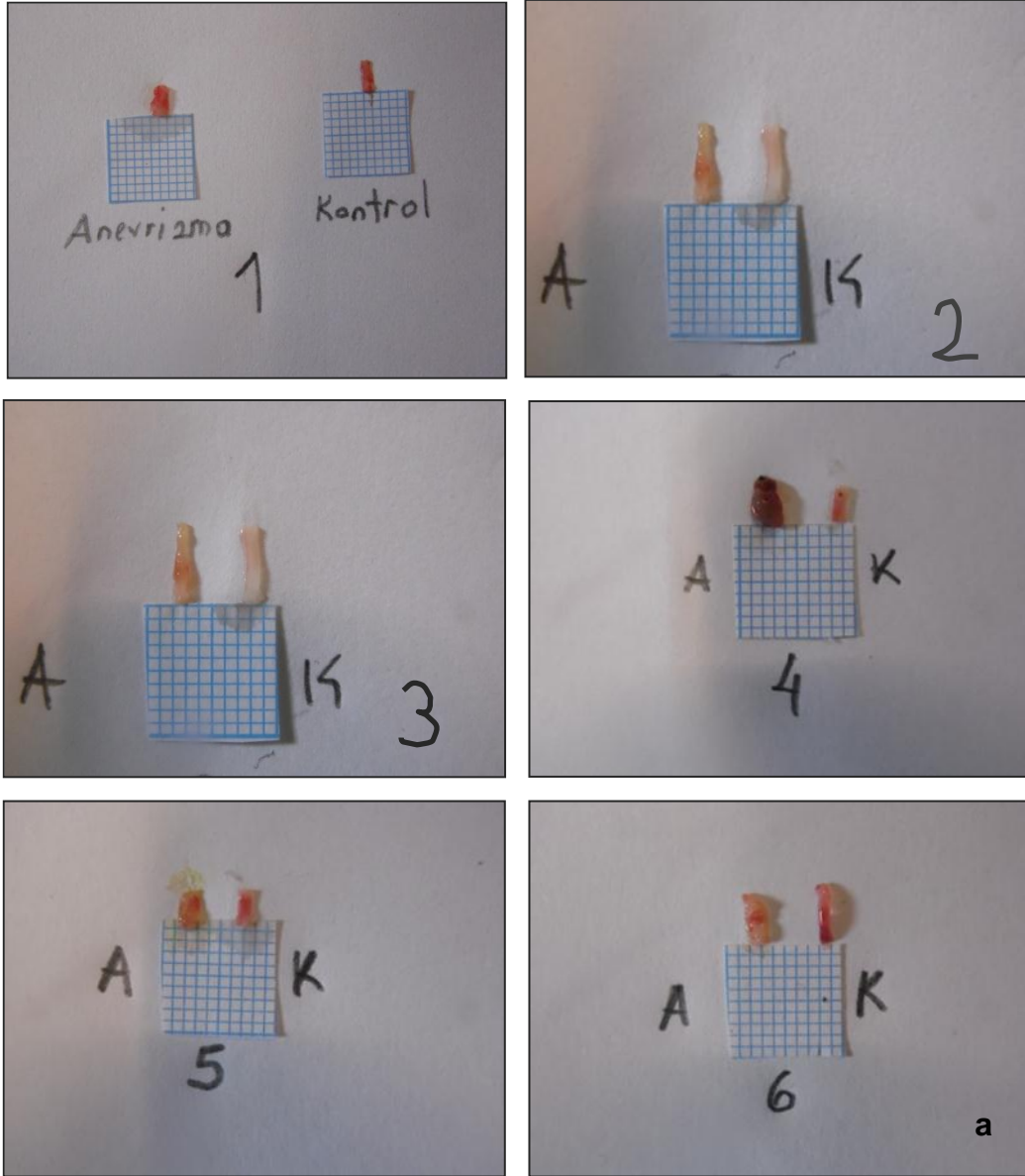
Makroskobik olarak gözlemlenen diğer bir olgu ise tabakalarındaki incelmeden dolayı silindirik şekilde olması beklenen damar yapısı yerine, daha kolay katlanabilir ve şekli bozuk bir iskelet yapısının görülmüş olmasıdır.

Damar kalınlığı gruplar arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. Anevrizma grubundaki tüm bireylerdeki karotis arterler, kontrol grubuna göre genişlemiş ve yaklaşık olarak 2 mm çapa ulaşmıştır. Bu genişleme, fibröz doku oluşumundan kaynaklanan bir genişleme olmayıp, tabakaların bozulması ve kan basıncı nedeniyle damarın şişmesidir .

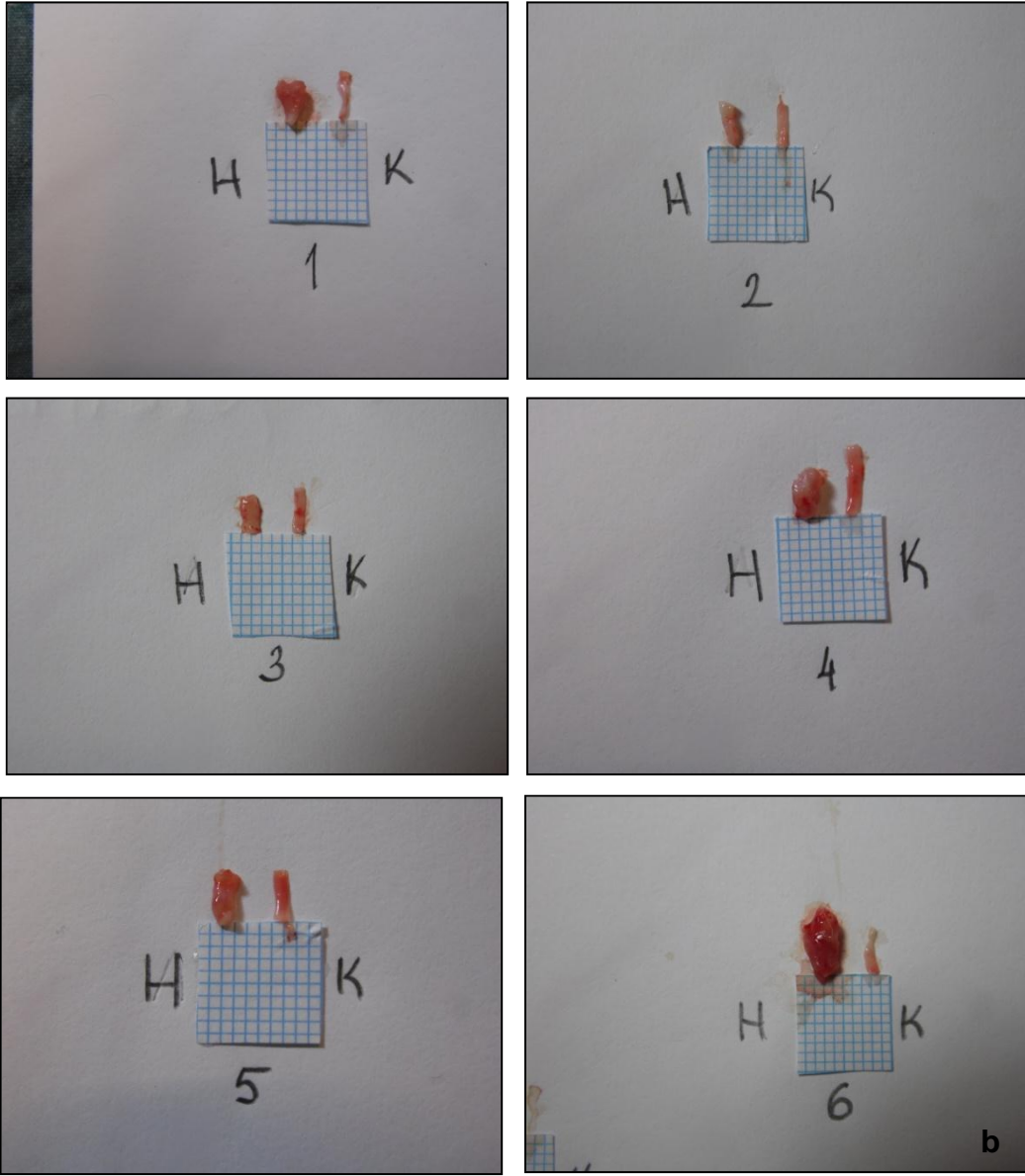
Hücre grubundaki bireylerin tümünde karotis arterde bir kalınlaşma gözlenmiş, ancak bu kalınlaşma ile damar duvarı incelmemiş, aksine bağ doku oluşumuna bağlı bir kalınlaşma olmuştur. Bu durum, damar bütünlüğünün korunmasını sağlamıştır. Bu da hücre grubunda anevrizma bölgesinde bir iyileşmenin olduğunu



desteklemektedir. Mikroskopik incelemelerde yanltıcı olmaması açısından karotis arter izole edilirken etrafındaki yeni doku çok temizlenmeden bütünüyle alınmıştır. Makroskopik incelemelere ait görüntüler, gruptaki tüm bireylerde Şekil 4.11. a ve b'de gösterilmiştir.



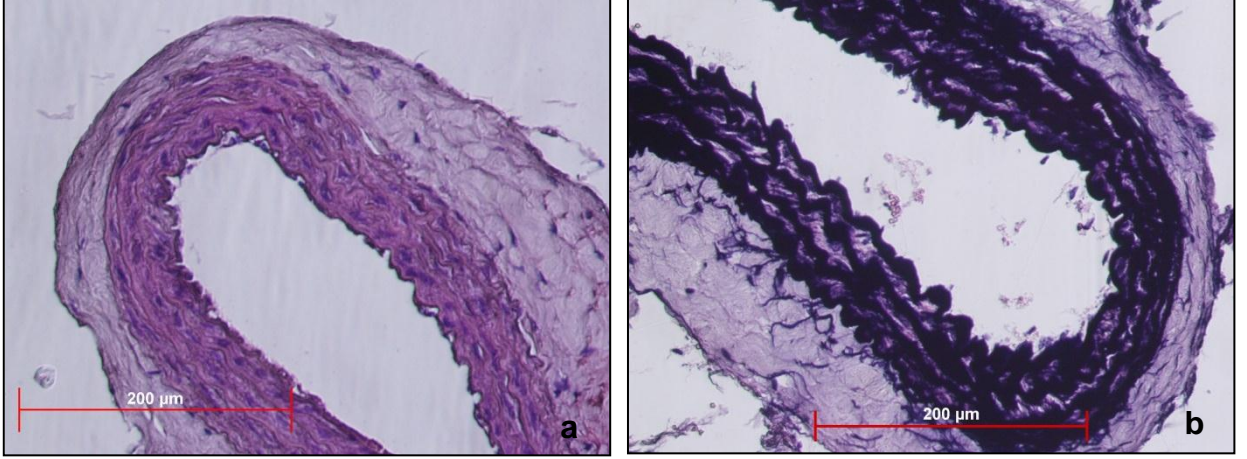
**Şekil 4.11.** Anevrizma ve kontrol gruplarında karotis arterlerin makroskopik görünümü (a)



**Şekil 4.11.** Anevrizma ve kontrol gruplarında karotis arterlerin makroskobik görünümü (b)

#### 4.4.2. Histolojik İncelemeler

Histolojik kesitlerde (hematoksilen&eozin boyama) kontrol gurubundaki sağlıklı karotis arterler normal boyutlarında ve tabakaları net bir şekilde görülmektedir. Verhoeff boyasında elastik liflerin varlığı siyah renkte, dalgalı bir yapı halinde, tunika mediadaki düz kas hücrelerinin arasında görülmektedir (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** Kontrol gruplarında karotis arterin histolojik kesitleri hematoksilen&eozin boyama (a), verhoeff boyama (b) (400 büyütme)

Anevrizma grubuna ait preparatlar incelendiğinde karotis arterlerin yapısında belirgin bir bozulma görülmektedir. Damarın destek dokusunu kaybetmiş olmasından dolayı, gruptaki bazı örneklerde damar bütünlüğü tamamen kaybolmuş durumdadır (Şekil 4.13).



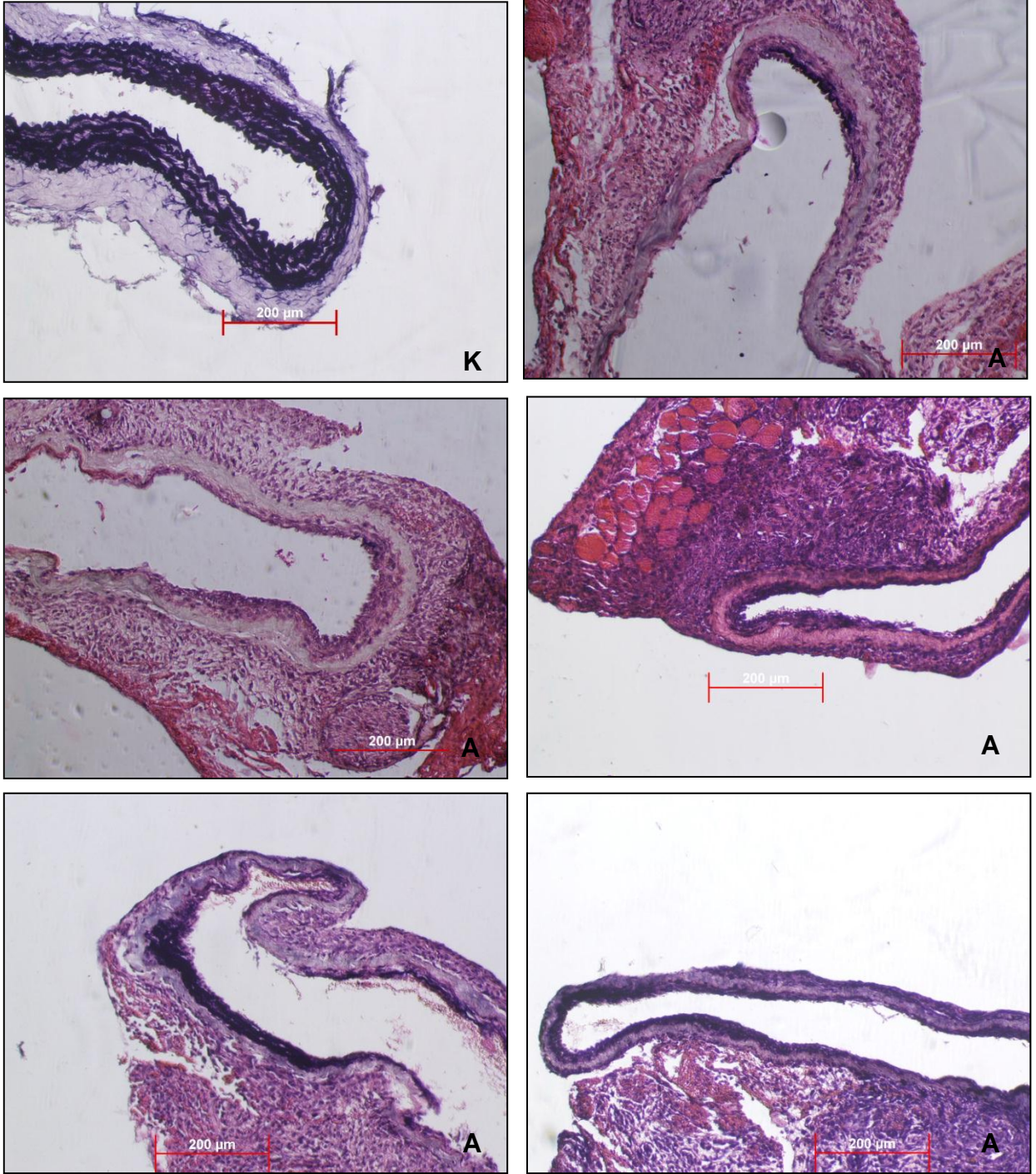
**Şekil 4.13.** Aneurizma grubunda karotis arterin histolojik kesiti (verhoeff boyama)  
(40 büyütme)

Anevrizma grubundaki tüm örneklerde damar çapının genişlediği net bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bazı örneklerde damar içi katlanmalar ve cepler de oluşmuştur (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14.** Anevrizma grubunda karotis arterin histolojik kesiti (verhoeff boyama) (40 büyütme) ; Karotis üzerinde anevrizma sonucu oluşan cepler.

Anevrizma grubunda karotis arterde meydana gelen bu değişiklikler, bu grubun tüm örneklerinde değişik derecelerde görülmektedir (Şekil 4.15). Burada bir grupta damarın bütünlüğünün bütünüyle bozulması nedeniyle kesit alınamamıştır. Bu nedenle bu şekilde tekrar sayısı beş olarak verilmiştir



**Şekil 4.15.** Anevrizma grubunda tüm örneklerde karotis arterin histolojik kesitleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması (verhoeff boyama) (40 büyütme)

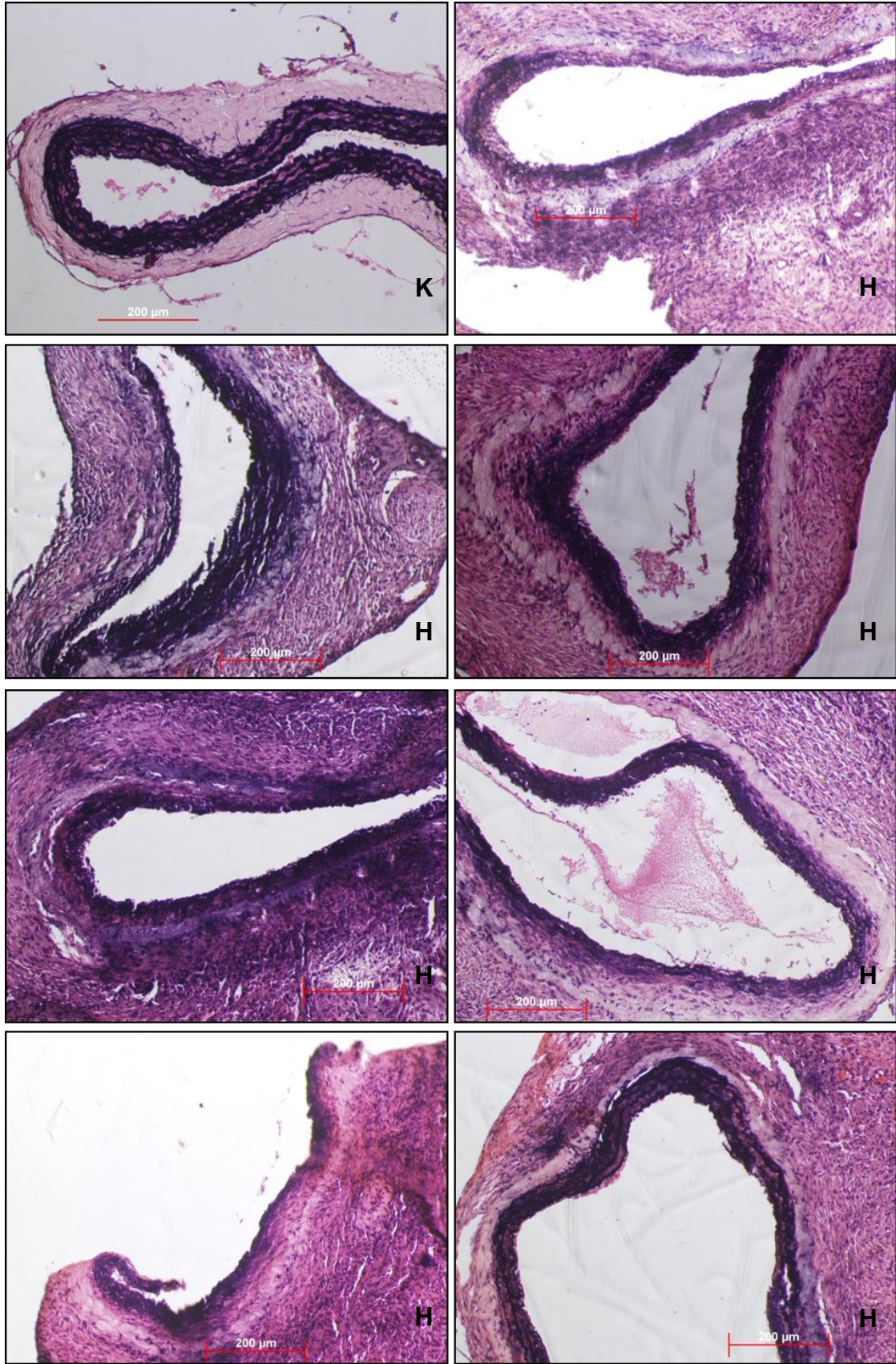
Hücre grubundaki incelemede ise damarın eski yapısını tekrar kazanmaya, tabakaların normal kalınlıklarına geri dönmeye başladığı gözlemlenmiştir. Damarın etrafı geniş bir bağ dokusu ile kaplanmıştır (Şekil 4.16).



**Şekil 4.16.** Hücre grubunda karotis arterin histolojik kesiti (verhoeff boyama) (40 büyütme)

Hücre grubunda, anevrizma sırasında ortadan kaybolmuş olan elastik liflerin tekrar oluşmaya başladığı verhoeff boyası ile net bir şekilde gözükmektedir. Hücre grubunun, kontroldeki kesitlere benzerliği olumlu bir gelişmedir. Kalınlaşan tunika adventisiya tabakasında yer alan bağ doku fibroblastları ECM'nin yeniden şekillenmesine katkı sağlamıştır. Çalışmamızda mezenşimal kök hücreleri damar dışından uyguladığımız düşünülürse, hücrelerin bu noktada iyileşmeye katkı sağladığını söylememiz mümkündür.

Anevrizma grubunda karotis arterde meydana gelen bu değişiklikler, bu grubun tüm örneklerinde değişik derecelerde görülmektedir (Şekil 4.17).



**Şekil 4.17.** Aneurizma grubunda tüm örneklerde karotis arterin histolojik kesitleri ve kontrol grubu ile karşılaştırılması (verhoeff boyama) (40 büyütme)



#### 4.4.3. Karotis Arterde İyileşmenin % Olarak Hesaplanması

Büyük elastik arterlerde elastin tabakası fonksiyonel olarak çok önemli ve aynı zamanda kalındır. Bu nedenle bu çalışmada iyileşmenin incelenebilmesi için bu tabakanın kalınlığı ölçülmüş ve gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Elastin tabakanın kalınlığının hesaplanabilmesi için verhoeff ile boyanmış örnekler kullanılmıştır (Şekil 4.18).



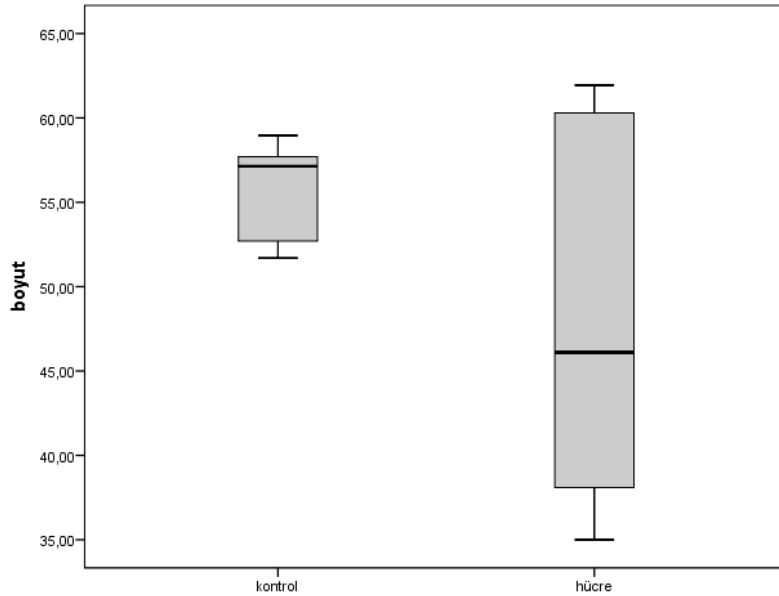
**Şekil 4.18.** Karotis arterde elastin tabakasının kalınlığının ölçülmesi (verhoeff boyama) (40 büyütme)

Her bir damar kesitinden 6 farklı noktadan olacak şekilde gruptaki her bir örneklem (n: 6) için, iki kesitten ölçümler yapıp ortalamaları alınmış ve bu ortalama değer o örneklem için elastin tabaka kalınlığı olarak kabul edilmiştir. Ölçüm noktaları seçilirken rastgele ve en büyük ve en küçük ölçümleri de kapsayacak şekilde ölçüm yapılmıştır. Anevrizma grubunda elastin tabakası tahrip olduğu için ölçüm yapılamamış ve elastin tabakasının kalınlığı 0 olarak kabul edilmiştir. Kontrol ve hücre gruplarında elastin tabakasının kalınlığı yukarıda ifade edildiği gibi hesaplanmış ve Tablo 4.1'de verilen sonuçlar elde edilmiştir.

**Tablo 4.1.** Kontrol ve hücre gruplarında elastin tabakasının kalınlıkları

	Kontrol Grubu ( $\mu\text{m}$ )	Hücre grubu ( $\mu\text{m}$ )
$n_1$	51,70	35,00
$n_2$	52,70	42,15
$n_3$	57,60	61,94
$n_4$	57,70	38,09
$n_5$	56,67	50,06
$n_6$	58,96	60,30
$n_{\text{ort}}$	55,87	47,92

İstatistiksel analizler, parametrik olmayan Man Whitney U Testi ile yapılmıştır. Buna göre kontrol grubu ve hücre grubu karşılaştırıldığında p değeri 0,337 olarak bulunmuştur ( $p > 0,05$ ) verilmiştir (Şekil 4.19).



**Şekil 4.19.** Kontrol ve hücre grubunda elastin tabaka kalınlıklarının karşılaştırılması

Bu sonuç, kontrol grubu ve hücre grubu arasındaki farkın anlamlı olmadığını, yani hücre grubunda anevrizma oluşmuş karotis arter üzerine hücre uygulaması yapıldığında, iyileşmenin çok başarılı olduğunu ve kontrole yakın değerler verdiğini göstermektedir.

Çalışmamızda, sıçan yağ dokusundan izole edilen mezenşimal kök hücrelerin karotis arterde anevrizmanın iyileşmesine olan katkısı araştırılmıştır. Günümüzde mezenşimal kök hücreler doku hasarlarının tedavisinde iyi bir kaynak oluşturmakta ve bu amaçla kullanılmaktadır [34]. Mezenşimal kök hücre kaynakları farklılık göstermekle birlikte yağ dokusu önemi gittikçe artan iyi bir kaynak olarak görülmektedir. Yağ dokunun invaziv bir şekilde elde edilebilmesi, bir seferde toplanan yağ doku miktarının, böylece izole edilecek hücre sayısının da fazla olması, bireyin kendisinden elde edilerek immün cevap riskinin ortadan kaldırılması yağ dokunun tercih edilmesine neden olmaktadır.

Günümüzde anevrizma tedavisinde kök hücre yaklaşımları ilgi çekmeye başlamış ve bu konuda kemik iliği kök hücrelerinden yararlanılarak yapılan *in vivo* çalışmalara rastlanmaktadır. Turnbull ve arkadaşları domuzda yaptıkları aortik anevrizma modelinde kemik iliği mezenşimal kök hücrelerini kullanmışlar [35] ve hücre uygulanan grupta iyileşmenin meydana geldiğini göstermişlerdir. Bir başka çalışmada yine domuzda aortik anevrizma modelinde kemik iliği mezenşimal kök hücreleri, geleneksel anevrizma tedavisinde kullanılan dacron materyallere alternatif olarak kullanılmıştır [36]. Bu çalışmada hücre uygulanan grupta dacron malzemeye göre daha az fibrotik doku oluştuğu, immün cevabın daha az olduğu ve iyileşmenin daha hızlı gerçekleştiği gösterilmiştir. Bu iki çalışmada da mezenşimal kök hücreler anevrizma bölgesinde doğrudan aorta içine uygulanmıştır. Bir başka çalışmada ise farede aortik anevrizma modelinde intravenöz uygulama ile verilen mezenşimal kök hücrelerin iyileşmeyi arttırdığı histolojik olarak gösterilmiştir [37]. Bu çalışmada aynı zamanda mezenşimal kök hücrelerin immün sistemi rolleri de vurgulanmıştır.

Anevrizma, genellikle abdominal aorta anevrizma modellerinde çalışılmakta [38, 39, 40, 41, 42] ve bu çalışmalarda sıklıkla kemik iliği mezenşimal kök hücreleri kullanılmaktadır [43, 44, 45]. Bizim çalışmamızda ise literatürden farklı olarak avantajları yukarıda da anlatılan yağ dokusu mezenşimal kök hücreleri kullanılmıştır. Mezenşimal kök hücreler sıçanda karotis arterde oluşturulan

anevrizma modelinde kullanılmıştır. Karotis arter aorta gibi elastik tipte büyük bir arterdir [46]. Bununla birlikte karotisin eslatin tabakası aortaya göre daha daha ince olmasından dolayı, vücuttaki diğer daha küçük arterlere model oluşturulabileceği düşünülmektedir.

İlk anevrizma modeli sıçan abdominal aortasında elastaz perfüzyon yöntemiyle geliştirilmiştir [33]. Bu modelde aortanın 1,5 kat büyüdüğü, etrafında fibröz dokunun olduğu ve tunika mediadaki elastik liflerin harap edildiği bildirilmiştir [47, 48]. Modelin aortik anevrizmayı oluşturabildiği, anevrizmanın patogenezi anlayabilmemizi sağladığı ve farmakolojik tedavilerde kullanılabildiği kanıtlanmıştır [49, 50]. Bu tez çalışmasında bizim geliştirmiş olduğumuz anevrizma modeli damar dışından bir uygulama ile yapılmaktadır. Bu modelin damar içi yapılan anevrizma modellerine göre daha hızlı ve daha etkili sonuç verdiğini, daha kolay uygulandığını söylemek mümkündür. Anevrizma sırasında elastik yapı bozulmaktadır. Elastik liflerin oluşmasından sorumlu olan hücreler tunika adventisiya yer alan fibroblast hücreleri ve daha da önemli rol olarak media tabakasındaki düz kas hücreleridir. Buradaki düz kas hücreleri belirli oranda damar için gerekli ekstraselüler matriksi oluşturmaktadır. Geliştirdiğimiz yöntemde dışarıdan uygulanan elastaz ile doğrudan bu iki tabaka zarar görmekte ve elastin tabakası kaybolmakta, damar bütünlüğü bozulmaktadır. Anevrizmanın vücutta gelişimi sırasında başlangıç faktör tam olarak anlaşılammakla birlikte elastin dejenerasyonu ve buna bağlı olarak orta duvar incilmesi [5,51] çok tipik olduğu için, geliştirmiş olduğumuz bu yöntem, çalışmada model oluşturmadaki, temel ihtiyacı karşılamaktadır. Bu uygulama ile aynı zamanda elastik liflerin kaynaklarından olan fibroblast hücreleri de zarar gördüğünden (bağ dokusu) oluşan bu hasar geri dönüşümsüz olmaktadır. Böylece mezenşimal kök hücrelerinin dışarıdan uygulama yöntemiyle bağ doku hücrelerinin yerine geçerek iyileşmeye doğrudan bir katkı sağlayıp sağlamadığını anlamamız mümkün olabilmıştır. Ayrıca kas hücrelerine farklılaşabilen mezenşimal kök hücreler, düz kas proliferasyonuna da katkı sağladığı düşünülmektedir. Mezenşimal kök hücre uygulamasının yapıldığı grupta, adventisiya ve media tabakalarının yeniden oluşmaya başladığı ve elastik liflerin şekillendiğinin görülmesi bu düşüncemizi destekler niteliktedir.

Bu çalışmada oluşturulan model ile yapılan hücre uygulamasının rejeneratif odaklı olması hedeflenmiştir. Böylelikle bu *in vivo* çalışmanın uygulanabilir diğer yöntemlere kıyasla çok daha kolay, kısa ve uzun dönemde etkili olabileceği düşünülmektedir. Destek dokusu ve hücreleri zarar görmüş bir damarın yabancı bir malzemeyle iyileştirmeye çalışmak yerine, o destek dokuyu tekrar oluşturabilecek hücreler ile tedavi edilmesinin daha etkili bir yöntem olacağını söylemek mümkündür.

Özetle bu çalışmada;

- Karotis arterde yeni bir anevrizma modeli oluşturulmuş,
- Geliştirilen yeni bir yöntemle anevrizma bölgesine dışarıdan hücre uygulaması yapılmış,
- Kök hücrelerin hasarlı bölgede iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir.

Mezenşimal kök hücreler buldukları mikro çevreyle uyumlu bir şekilde hareket ederek iyileşmede rol almaktadırlar. Fakat bu uyumu hangi düzeyde sağladıkları daha fazla araştırmaya ihtiyaç göstermektedir. Bu bölgede salgılanan matrixmetalloproteinazların değerlerini değiştirip değiştirmediği, elastik lifleri salgılayan fibroblastlara ne düzeyde farklılaştığı, anevrizmanın ilerlememesinde önemli rol oynayan düz kas ve endotel hücrelerini nasıl etkiledikleri yeni çalışmalarla araştırılmalıdır. Bu şekilde tasarlanacak ve yapılacak deneylerle iyileşme mekanizmasının tam olarak nasıl olduğu anlaşılacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

- [1] Niyaz M., Sıçanlarda Vegf'in ve Yağ Dokusundan İzole Edilen Mezenşimal Hücrelerin Travma Modelinde Damar Rejenerasyonuna Etkisi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2014
- [2] Cinnamon V.P., Regan J., Russo A., *Seeley's Human Anatomy & Physiology*, 9th edition, McGraw Hill, **2006**.
- [3] Bozkurt, A. K., Demirkılıç, U., Topçuoğlu, Ş., Gürbüz, A., Yazıcıoğlu, L., Küçüker, Ş.A., Karabay, Ö., Sargin, M., Bayrak, S., Yılmaz, M., Doğancı, S., Erşen, E., *Periferik Arter ve Ven Hastalıkları Kılavuzu*, Öncü Basımevi, Ankara, **2008**.
- [4] Aggarwal, S., Qamar, A., Sharma, V., Sharma, A., Abdominal aortic aneurysm: A comprehensive review, *Experimental and Clinical Cardiology*, 16, 11–15, **2011**.
- [5] Shimizu, K., Mitchell, R.N., Libby, P., Inflammation and cellular immune responses in abdominal aortic aneurysms, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 26, 987–994, **2006**.
- [6] Keeling, W.B., Armstrong, P., Stone, P., Bandyk, D.F., Shames, M.L., An overview of matrix metalloproteinases in the pathogenesis and treatment of abdominal aortic aneurysms, *Vascular and Endovascular Surgery*, 39, 457–464, **2005**.
- [7] Hobeika, M.J., Thompson, R.W., Muhs, B.E., Brooks, P.C., Gagne, P.J., Matrix metalloproteinases in peripheral vascular disease, *Journal of Vascular Surgery*, 45, 849–857, **2007**.
- [8] Takeshita, H., Yoshizaki, T., Miller, W.E., Sato, H., Furukawa, M., Pagano, J.S., Raab-Traub, N., Matrix metalloproteinase 9 expression is induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 C-terminal activation regions 1 and 2, *Journal of Virology*, 73, 5548–5555, **1999**.
- [9] Kim, H., Koh, G., Lipopolysaccharide activates matrix metalloproteinase-2 in endothelial cells through an NF-kappaB-dependent pathway, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 269, 401–405, **2000**.
- [10] Miyake, T., Aoki, M., Masaki, H., Kawasaki, T., Oishi, M., Kataoka, K., Ogihara, T., Kaneda, Y., Morishita, R., Regression of abdominal aortic aneurysms by simultaneous inhibition of nuclear factor kappaB and ets in a rabbit model, *Circulation Research*, 101, 1175–1184, **2007**.
- [11] Parodi, F.E., Mao, D., Ennis, T.L., Bartoli, M., Thompson, R.W., Suppression of experimental abdominal aortic aneurysms in mice by treatment with pyrrolidine dithiocarbamate, an antioxidant inhibitor of nuclear factor-??B, *Journal of Vascular Surgery*, 41, 479–489, **2005**.

- [12] McCormick, M.L., Gavrila, D., Weintraub, N.L., Role of oxidative stress in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 27, 461–469, **2007**.
- [13] Miller, F.J., Sharp, W.J., Fang, X., Oberley, L.W., Oberley, T.D., Weintraub, N.L., Oxidative stress in human abdominal aortic aneurysms: A potential mediator of aneurysmal remodeling, *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*, 22, 560–565, **2002**.
- [14] Xiong, W., Mactaggart, J., Knispel, R., Worth, J., Zhu, Z., Li, Y., Sun, Y., Baxter, B.T., Johanning, J., Inhibition of reactive oxygen species attenuates aneurysm formation in a murine model, *Atherosclerosis*, 202, 128–134, **2009**.
- [15] Vlak, M.H.M., Algra, A., Brandenburg, R., Rinkel, G.J.E., Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: A systematic review and meta-analysis, *Lancet Neurology*, 10, 626–636, **2011**.
- [16] Molyneux, A., International subarachnoid aneurysm trial of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 patients with ruptured intracranial aneurysms: a randomised trial, *The Lancet*, 360, 1267–1274, **2002**.
- [17] Kubilay, A., Endovasküler anevrizma tedavi yöntemleri, <http://kubilayaydin.com.tr/televi/detay/Tedavi/17/19/0> (Haziran 2015)
- [18] Sluzewski, M., van Rooij, W.J., Rinkel, G.J.E., Wijnalda, D., Endovascular Treatment of Ruptured Intracranial Aneurysms with Detachable Coils : Long-term Clinical and Serial Angiographic Results, *Radiology*, 227, 720, **2003**.
- [19] Currie, S., Mankad, K., Goddard, A., Endovascular treatment of intracranial aneurysms: review of current practice, *Postgraduate Medical Journal*, 87, 41–50, **2011**.
- [20] Kubilay, A., Beyin Anevrizmaları, <http://kubilayaydin.com.tr/hastaliklar/detay/Hastaliklar/9/1/0> (Haziran 2015)
- [21] Powell, J.T., Greenhalgh, R.M., Small abdominal aortic aneurysms, *The New England Journal of Medicine*, 9, 78–83, **2003**.
- [22] Hallett, J., Marshall, D.M., Petterson, T.M., Gray, D.T., Bower, T.C., Cherry, J., Gloviczki, P., Pairolero, P.C., Ernst, C.B., Brewster, D.C., Cronenwett, J.L., Graft-related complications after abdominal aortic aneurysm repair: Reassurance from a 36-year population-based experience, *Journal of Vascular Surgery*, 25, 277–286, **1997**.

- [23] Laheij, R.J., Buth, J., Harris, P.L., Moll, F.L., Stelter, W.J., Verhoeven, E.L., Need for secondary interventions after endovascular repair of abdominal aortic aneurysms. Intermediate-term follow-up results of a European collaborative registry (EUROSTAR), *British Journal of Surgery*, 87, 1663-1673, **2000**.
- [24] Blankensteijn, J.D., de Jong, S.E.C., Prinssen, M., van der Ham, A.C., Buth, J., van Sterkenburg, S.M.M., Verhagen, H.J.M., Buskens, E., Grobbee, D.E., Two-year outcomes after conventional or endovascular repair of abdominal aortic aneurysms, *New England Journal of Medicine*, 352, 2398–2405, **2005**.
- [25] Humphreys, W.V., Byrne, J., James, W., Original article Elective abdominal aortic aneurysm operations, *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 82, 64–68, **2000**.
- [26] Hausegger, K., Schedlbauer, P., Deutschmann, H., Tiesenhausen, K., Complications in endoluminal repair of abdominal aortic aneurysms, *European Journal of Radiology*, 39, 22–33, **2001**.
- [27] Makkar, R.R., Price, M.J., Lill, M., Frantzen, M., Takizawa, K., Kleisli, T., Zheng, J., Kar, S., McClellan, R., Miyamota, T., Bick-Forrester, J., Fishbein, M.C., Shah, P.K., Forrester, J.S., Sharifi, B., Chen, P.S., Qayyum, M., Intramyocardial injection of allogenic bone marrow-derived mesenchymal stem cells without immunosuppression preserves cardiac function in a porcine model of myocardial infarction, *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 10, 225–233, **2005**.
- [28] Grøgaard, H.K., Sigurjonsson, O.E., Brekke, M., Kløw, N.E., Landsverk, K.S., Lyberg, T., Eriksen, M., Egeland, T., Ilebakk, A., Cardiac accumulation of bone marrow mononuclear progenitor cells after intracoronary or intravenous injection in pigs subjected to acute myocardial infarction with subsequent reperfusion, *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 8, 21–27, **2007**.
- [29] Lindroos, B., Suuronen, R., Miettinen, S., The Potential of Adipose Stem Cells in Regenerative Medicine, *Stem Cell Reviews and Reports*, 7, 269–291, **2011**.
- [30] Zuk, P.A., Zhu, M., Asjian, P., De Ugarte, D.A., Huang, J.I., Mizumo, H., Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells, *Molecular Biology of the Cell*, 13, 4279-4295, **2002**.
- [31] Katz, A.J., Tholpady, A., Tholpady, S.S., Shang, H., Ogle, R.C., Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells, *Stem Cells*, 23, 412–423, **2005**.
- [32] Niyaz, M., Gürpınar, Ö.A., Günaydın, S., Onur, M.A., Isolation, culturing and characterization of rat adipose tissue-derived mesenchymal stem cells: a simple technique, *Turkish Journal of Biology*, 36, 658-664, **2012**.



- [33] Anidjar, S., Salzmann, J.L., Gentric, D., Elastase-induced experimental aneurysms in rats, *Circulation*, 82, 973, **1990**.
- [34] Ren, G., Chen, X., Dong, F., Li, W., Ren, X., Zhang, Y., Shi, Y., Concise Review: Mesenchymal Stem Cells and Translational Medicine: Emerging Issues, *Stem Cells Translational Medicine*, 1, 51–58, **2012**.
- [35] Turnbull, I.C., Hadri, L., Rapti, K., Sadek, M., Liang, L., Shin, H.J., Costa, K.D., Marin, M.L., Hajjar, R.J., Faries, P.L., Aortic implantation of mesenchymal stem cells after aneurysm injury in a porcine model, *Journal of Surgery Research*, 170, 179–188, **2011**.
- [36] Riera Del Moral, L., Aramburu, C.L., García, J.R.R., de Cubas, L.R., García-Olmo, D., García-Arranz, M., Experimental model for adjuvant treatment with mesenchymal stem cells for aortic aneurysm, *American Journal of Stem Cells*, 1, 174–81, **2012**.
- [37] Fu, X., Yamawaki-Ogata, A., Oshima, H., Ueda, Y., Usui, A., Narita, Y., Intravenous administration of mesenchymal stem cells prevents angiotensin II-induced aortic aneurysm formation in apolipoprotein E-deficient mouse, *Journal of Translational Medicine*, 11, 175, **2013**.
- [38] Brewster, D.C., Cronenwett, J.L., Hallett, J.W., Johnston, K.W., Krupski, W.C., Matsumura, J.S., Guidelines for the treatment of abdominal aortic aneurysms: Report of a subcommittee of the Joint Council of the American Association for Vascular Surgery and Society for Vascular Surgery, *Journal of Vascular Surgery*, 37, 1106–1117, **2003**.
- [39] Greenhalgh, R.M., Brown, L.C., Kwong, G.P.S., Powell, J.T., Thompson, S.G., Comparison of endovascular aneurysm repair with open repair in patients with abdominal aortic aneurysm (EVAR trial 1), 30-day operative mortality results: randomised controlled trial, *The Lancet*, 364, 843–8, **2004**.
- [40] Matsumura, J.S., Brewster, D.C., Makaroun, M.S., Naftel, D.C., Bell, P.R.F., Krupski, W.C., Cao, P., Ballard, J.L., A multicenter controlled clinical trial of open versus endovascular treatment of abdominal aortic aneurysm, *Journal of Vascular Surgery*, 37, 262–271, **2003**.
- [41] Xiong, W., Mactaggart, J., Knispel, R., Worth, J., Zhu, Z., Li, Y., Sun, Y., Baxter, B.T., Johanning, J., Inhibition of reactive oxygen species attenuates aneurysm formation in a murine model, 202, 128-134, **2009**.
- [42] De Bruin, J.L., Baas, A.F., Buth, J., Prinssen, M., Verhoeven, E.L.G., Cuypers, P.W.M., van Sambeek, M.R.H.M., Balm, R., Grobbee, D.E., Blankensteijn, J.D., Long-term outcome of open or endovascular repair of abdominal aortic aneurysm, *The New England Journal of Medicine*, 362, 1881–1889, **2010**.

- [43] Ishibashi, M., Egashira, K., Zhao, Q., Hiasa, K., Ohtani, K., Ihara, Y., Charo, I.F., Kura, S., Tsuzuki, T., Takeshita, A., Sunagawa, K., Bone marrow-derived monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 is critical in angiotensin II-induced acceleration of atherosclerosis and aneurysm formation in hypercholesterolemic mice, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 24, 174–178, **2004**.
- [44] Tang, E.H.C., Shvartz, E., Shimizu, K., Rocha, V.Z., Zheng, C., Fukuda, D., Shi, G.P., Sukhova, G., Libby, P., Deletion of EP4 on bone marrow-derived cells enhances inflammation and angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 31, 261–269, **2011**.
- [45] Sharma, A.K., Lu, G., Jester, A., Johnston, W.F., Zhao, Y., Hajzus, V., Reza Saadatzaheh, M., Su, G., Bhamidipati, C.M., Mehta, G.S., Kron, I.L., Laubach, V.E., Murphy, M.P., Ailawadi, G., Upchurch, G.R., Experimental abdominal aortic aneurysm formation is mediated by IL-17 and attenuated by mesenchymal stem cell treatment, *Circulation*, 126, 38-45, **2012**.
- [46] Laing S.T., McPherson, D.D., Cardiovascular therapeutic uses of targeted ultrasound contrast agents, *Cardiovascular Research*, 83, 626–635, **2009**.
- [47] Daugherty, A., Cassis, L., Mouse Models of Abdominal Aortic Aneurysms, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 24, 429–434, **2004**.
- [48] Colonnello, J.S., Hance, K., Shames, M.L., Wyble, C.W., Ziporin, S.J., Leidenfrost, J.E., Ennis, T.L., Upchurch, G.R., Thompson, R.W., Transient exposure to elastase induces mouse aortic wall smooth muscle cell production of MCP-1 and RANTES during development of experimental aortic aneurysm, *Journal Vascular Surgery*, 38, 138–146, **2003**.
- [49] Thompson, R.W., Curci, J., Ennis, T.L., Mao, D., Pagano, M.B., Pham, C.T.N., Pathophysiology of abdominal aortic aneurysms: Insights from the elastase-induced model in mice with different genetic backgrounds, *Annals of New York Academical Science*, 1085, 59–73, **2006**.
- [50] Wassef, M., Upchurch, G.R., Kuivaniemi, H., Thompson, R.W., Tilson, M.D., Challenges and opportunities in abdominal aortic aneurysm research, *Journal of Vascular Surgery*, 45, 192–198, **2007**.
- [51] Georgiadis, G.S., Trellopoulos, G., Antoniou, G., Gallis, K., Nikolopoulos, E.S., Kapoulas, K.C., Pitta, X., Lazarides, M.K., Early results of the Endurant endograft system in patients with friendly and hostile infrarenal abdominal aortic aneurysm anatomy, *Journal of Vascular Surgery*, 54, 616–627, **2011**.

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **Kimlik bilgileri**

Adı Soyadı: Özbeyen ATALAY

Doğum Yeri: Kırcaali

Medeni Hali: Bekar

E-posta: ozbeyen@hacettepe.edu.tr

Adresi: Hacettepe Üniveristesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Beytepe/ANKARA

### **Eğitim**

Lise: 2003-2006 Bursa Erkek Anadolu lisesi

Lisans: 2007-2013 Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü

### **Yabancı Dil**

İngilizce – iyi

### **İş Deneyimi**

-

### **Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi**

-

### **Tezden Üretilmiş Yayınlar**

-

### **Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar**

-

### **Bilimsel Çalışmalar**

M. Niyaz, Ö. Atalay, E. Ergin, E. Akbay, Ö. A. Gürpınar, M. A. Onur, Yağ dokusundan izole edilen mezenkimal kök hücrelerin ve vasküler endotelial büyüme faktörünün damar rejenerasyonuna etkisinin incelenmesi, Aralık 2013, 4. Kök Hücre Sempozyumu, İstanbul, Türkiye., Poster birincilik ödülü