



ORIGINAL

Valoración de la lesión vascular tras la aplicación de métodos extraluminales de oclusión temporal



E.M. San Norberto^{a,*}, A.J. Álvarez-Barcia^b, J.H. Taylor^a, I. García-Saiz^c y C. Vaquero^a

^a Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España

^b Facultad de Medicina, Animalario, Universidad de Valladolid, Valladolid, España

^c Servicio de Anestesiología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Recibido el 3 de abril de 2014; aceptado el 5 de mayo de 2014

Disponible en Internet el 14 de julio de 2014

PALABRAS CLAVE

Lesión vascular;
Instrumentos
quirúrgicos;
Trombosis

Resumen

Introducción: Los sistemas de oclusión temporal provocan la lesión de la pared arterial. Nuestro objetivo es comparar el daño arterial de los métodos de oclusión vascular extraluminal (tangenciales y circunferenciales).

Material y métodos: Un total de 80 ratas fueron sometidas a la oclusión de la carótida común durante 60 min. Se aleatorizaron en 8 grupos: pinza vascular (CV) y bulldog vascular (BD), como técnicas tangenciales; y lazo de Potts (LZ) y torniquete de Rumel (RM), como técnicas circunferenciales.

Resultados: El grupo tratado con CV y RM presentó un mayor grosor máximo en la media que el grupo tratado con BD a los 7 días ($p < 0,05$), mientras que a los 15 días el grupo tratado con LZ presentó un grosor máximo de la media superior al medido en el grupo CV ($p < 0,05$). Tras 7 y 15 días, las arterias ocluidas por técnicas de oclusión circunferencial presentaron un mayor engrosamiento total de la pared ($p < 0,01$). Los grupos tratados con BD, RM y LZ presentaron un mayor grosor total de la pared vascular que el tratado con CV ($p < 0,05$). El grupo tratado con RM, además, presentó mayor grosor total que el tratado con BD y el LZ ($p < 0,05$). A los 7 días en las arterias tratadas mediante técnicas tangenciales se apreció una mayor área de la luz vascular que en las arterias tratadas mediante técnicas circunferenciales ($p < 0,05$).

Conclusiones: Los métodos tangenciales dañan menos la estructura de la pared arterial que los métodos circunferenciales, produciendo una menor alteración en el grosor de la pared vascular y una menor estenosis de la luz.

© 2014 SEACV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: esannorberto@hotmail.com (E.M. San Norberto).

KEYWORDS

Vascular injury;
Surgical instruments;
Thrombosis

Vascular injury assessment after the application of extraluminal methods for temporal occlusion

Abstract

Introduction: Temporary occlusion systems cause arterial wall injury. The aim of this study is to compare the arterial damage extraluminal methods of vascular occlusion (tangential and circumferential).

Material and methods: A sample of 80 rats were subjected to occlusion of the common carotid artery for 60 minutes. They were randomized into 8 groups: vascular clamp (CV) and vascular bulldog (BD) as tangential techniques, and Potts loop (LZ) and Rumel tourniquet (RM) as circumferential techniques.

Results: The CV and RM treated groups had a higher average maximum medial thickness in the treated BD at 7 days ($P < .05$), whereas 15-day LZ-treated group had a higher average medial thickness than the measures in the CV group ($P < .05$). After 7 and 15 days, the arteries occluded by occlusion circumferential techniques showed a greater total wall thickening ($P < .01$). The groups treated with BD, RM and LZ showed greater vessel total wall thickness than the group treated with CV ($P < .05$). The RM-treated group also showed a greater total thickness than the BD and LZ groups ($P < .05$). At 7 days, arteries treated by tangential techniques showed a greater area of the lumen than arteries treated by circumferential techniques ($P < .05$).

Conclusions: Tangential methods are less destructive methods of the artery wall structure than the circumferential methods, producing a minor disturbance in the thickness of the vessel wall and less lumen stenosis.

© 2014 SEACV. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

A principios del siglo XX Guthrie¹ ya sugirió la importancia de una pinza vascular atraumática. Desde entonces, la bibliografía quirúrgica está llena de referencias a las lesiones provocadas por las pinzas vasculares y otros procedimientos de oclusión vascular temporal y de estudios con el objetivo de minimizar este traumatismo vascular, entre otros, a través del desarrollo de nuevos dispositivos. Existen además múltiples estudios realizados con animales que concluyen que el uso de diferentes dispositivos de oclusión conduce a daños en las estructuras vasculares²⁻⁷.

Las pinzas vasculares convencionales y los lazos comprimen la pared del vaso más de lo estrictamente necesario y, por lo tanto, originan daño tisular. Han sido descritas diversas formas de daño vascular originadas por la oclusión vascular desde el exterior del vaso o extraluminales. Desde hace más de 30 años se conoce que el daño endotelial y vascular es proporcional a la fuerza de oclusión desarrollada por las pinzas^{5,8} o los lazos vasculares⁹. Este daño endotelial también está relacionado con la duración del pinzamiento^{2,10}.

El daño endotelial con pérdida de células endoteliales también se correlaciona con una reducción de actividad fibrinolítica en la pared del vaso, y esto también puede reducir la permeabilidad postoperatoria tras un procedimiento quirúrgico. Las lesiones intimaes son un potente estímulo para el depósito de plaquetas y fibrina y pueden llegar a originar la oclusión trombótica del vaso, especialmente en aquellos de pequeño calibre^{9,10}. La aparición de disecciones o embolizaciones distales también aceleran la hiperplasia neointimal.

Aunque se ha descrito en ocasiones el daño que sobre la estructura o la función del vaso ocluido puede ocasionar alguna de las técnicas, no hay suficientes estudios comparativos entre los grupos de técnicas más habituales utilizadas por los cirujanos que alimenten la posible elección de unos en detrimento de otros. Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio es comparar el daño arterial de los 2 grupos de métodos de oclusión vascular extraluminal empleados en cirugía arterial, en un modelo animal de pinzamiento carotídeo: los sistemas que ocluyen el vaso mediante un pinzado paralelo al mismo, o «tangenciales», y los métodos que comprimen el vaso en todo su perímetro, o «circunferenciales».

Material y métodos

Ochenta ratas adultas macho, cepa Wistar Han, de 14 a 18 semanas de edad, y de entre 275 y 440 g de peso fueron utilizadas en el presente estudio del Animalario de la Universidad de Valladolid, centro inscrito en el Registro de Centros de Experimentación Animal con el número ES 4718000033. Proceden de una colonia de cría libre de gérmenes patógenos específicos (SPF) de este Animalario. Todos los experimentos se realizaron siguiendo las normas de la legislación vigente sobre experimentación animal.

Fueron divididas en 2 grandes grupos de 40 animales cada uno. Dentro del grupo de técnicas tangenciales, se utilizaron la pinza vascular (CV) y el bulldog vascular (BD) como técnicas representativas, con 20 animales en cada subgrupo, y sacrificio a los 7 y a los 15 días (10 para cada técnica y tiempo quirúrgico). Para el segundo grupo, con técnicas circunferenciales, se emplearon 40 animales, utilizando en 20 el lazo de Potts (LZ) y en otros 20 el torniquete de Rumel

(RM), y sacrificándose medio grupo a los 7 días y el resto a los 15 postoclusión.

Técnica anestésica

Se administró una combinación de xilacina (10 mg/kg) y que-tamina (75 mg/kg) por vía intraperitoneal, mezcladas en la misma jeringa, lográndose un plano anestésico quirúrgico adecuado, repitiéndose con la mitad de dosis a los 30 min por la misma vía. Con ello se logró mantener la anestesia durante el tiempo total del procedimiento (65 min). Se lubricaron los ojos con lágrima artificial. Durante la cirugía se mantuvo a los animales sobre una almohadilla térmica para contrarrestar la pérdida de temperatura corporal, dada la importancia que este fenómeno tiene tanto para la supervivencia intraoperatoria como para la recuperación anestésica y el postoperatorio, en general, en animales de pequeño tamaño y, en particular, en los roedores. La quetamina a estas dosis no inhibe el reflejo cardiorrespiratorio, por lo que todos los animales mantuvieron la respiración espontánea durante la intervención.

Técnica quirúrgica

Los animales fueron inmovilizados en decúbito supino mediante sujeción de las 4 extremidades y colocados con hiperextensión cervical mediante sujeción de la cabeza a nivel craneal frontal. El cuello fue rasurado y la piel preparada con solución yodada. Técnicas estériles fueron empleadas durante todo el procedimiento. Una incisión longitudinal media de unos 4 cm fue realizada en la región cervical anterior del animal. Los músculos cervicales (omohioideo, esternohioideo y esternomastoideo) fueron rechazados lateralmente y la tráquea fue identificada, después, la disección se dirigía lateralmente para controlar la arteria carótida común. La arteria carótida común izquierda fue empleada como control y la derecha fue aislada mediante una banda elástica de 10 mm de anchura con el fin de facilitar su manejo y posteriormente fue ocluida durante un tiempo de 60 min con uno de los diferentes materiales de oclusión descritos (fig. 1).

En todos los casos se puso un punto a 1 mm a cada lado del sistema de oclusión con el fin de tener la zona localizada cuando se procediera a la extracción y procesado de la muestra para su inspección histológica. Para ello se utilizó sutura monofilamento no reabsorbible de 9/0 (polipropileno) con aguja atraumática, anudando el punto con 2 nudos planos y cruzados en la adventicia del vaso.

Tras el tiempo correspondiente de oclusión, la pulsación sanguínea distal fue confirmada distalmente a la aplicación del material ocluyente. La piel fue suturada mediante poliamida monofilamento no absorbible de 3/0. Posteriormente el animal fue devuelto a su jaula inicial, provista de alimento y agua, y vigilado hasta la recuperación anestésica.

Transcurrido el tiempo posquirúrgico previsto para cada grupo se practicó la eutanasia mediante aspiración de CO₂ en cámara. Se procedió entonces a la extracción de ambas carótidas, obteniendo el fragmento señalado por las 2 suturas en la arteria experimental y un fragmento equivalente en la arteria control no intervenida.

Estudio histopatológico

Se extrajeron segmentos de carótida de aproximadamente 1 cm de longitud. Se procedió a la inmersión inmediata en una solución fijadora de formol al 10%, sobre un recipiente de cristal oscuro. Transcurrido el tiempo de fijación de las piezas (24 h), se lavó con agua destilada durante 2 h para eliminar el exceso de fijador. Se sumergieron las piezas en alcohol etílico a concentraciones crecientes, sustituyendo toda el agua del tejido por alcohol. Extraídas las piezas del benzol, se sumergieron durante 30 min en una mezcla a partes iguales de benzol y parafina blanda. Posteriormente, se pasaron por diferentes tipos de parafinas blandas y duras, hasta que fue sustituido totalmente el benzol y la parafina penetró en los tejidos e impregnó todas las estructuras. Se obtuvieron 10 cortes seriados de la parte central de la pieza de un espesor de 6 μ que fueron adheridas al portaobjetos, adecuadamente preparado con albúmina, con el fin de facilitar la adherencia a las muestras. Los portaobjetos fueron desengrasados mediante inmersión en alcohol-éter. Los portaobjetos fueron sometidos a inmersión en xilol y luego en alcoholes de concentración creciente. Se realizó una tinción con hematoxilina eosina y, por último, el aclaramiento y montaje.

Morfometría

Las preparaciones histológicas fueron analizadas mediante un sistema informático morfométrico (Nikon DS Camera Control Unit DS-L2, Nikon Corporation, Tokyo, Japón).

Las preparaciones fueron examinadas inicialmente a 40 aumentos. De cada una de ellas se eligieron los cortes que estuviesen más libres de artefactos, realizándose todas las mediciones sobre el campo elegido. Para cada uno de los parámetros se realizaron las mediciones en 3 cortes histológicos de cada preparación.

Posteriormente, se procedió al examen de los cortes a 100 y a 400 aumentos tanto de las arterias control como de las arterias experimentales con el fin de definir daños histológicos apreciables mediante microscopía óptica, prestando especial atención a la estructura tisular y a la aparición de fenómenos de trombosis o neointima. En algunos casos se hizo precisa la utilización de la observación microscópica con 1.000 aumentos mediante objetivo de inmersión. Finalmente, y para demostrar diferencias en el grosor de la pared, luz vascular y en la estructura del vaso respecto a los controles, así como entre los diferentes grupos entre sí, se procedió a la medición morfométrica de las muestras. Los parámetros que se valoraron fueron los siguientes: grosor máximo de la capa media, área de la luz vascular, grosor total de la pared, presencia de trombosis y presentación de neointima.

Análisis estadístico

Los datos fueron expresados como medias \pm desviación estándar y analizados con un estudio ANOVA unilateral. Una probabilidad de menos del 5% ($p < 0,05$) fue considerada estadísticamente significativa. Se empleó en el estudio estadístico el paquete estadístico SPSS 14.0 (SPSS, Chicago, IL, EE. UU.). Para cada uno de los parámetros se calculó la

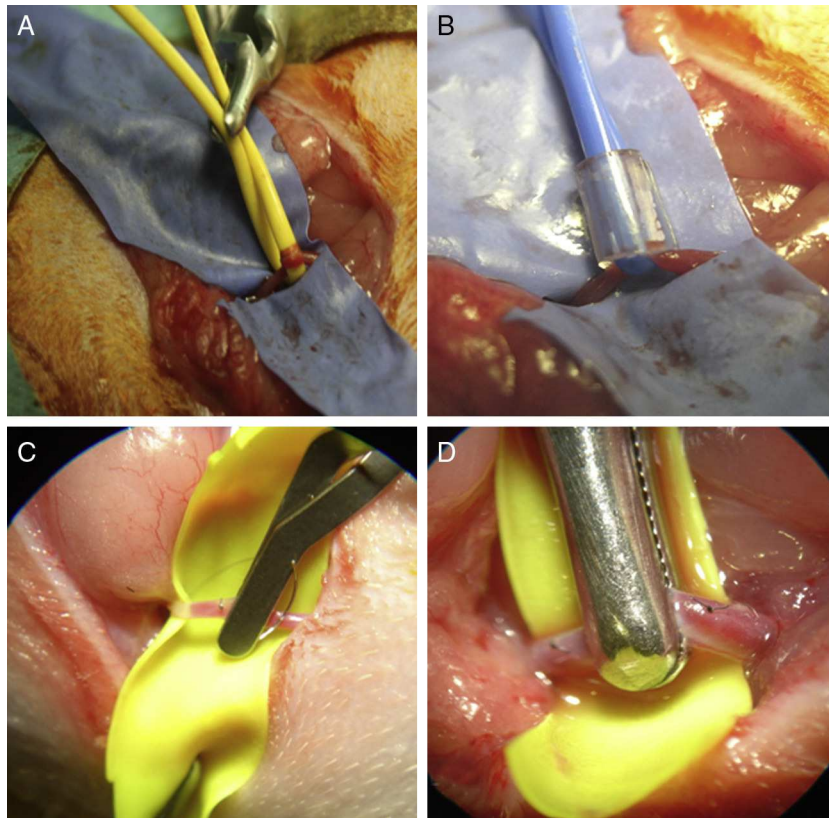


Figura 1 Métodos de oclusión extraluminal empleados en el estudio. A) lazo de Potts; B) torniquete de Rumel; C) bulldog vascular; D) pinza vascular.

media muestral y la desviación estándar. Asimismo, se calculó el intervalo de confianza para la media poblacional con un nivel de confianza del 95%. Se empleó la prueba de Levene para estudiar la igualdad de la varianza, para realizar las múltiples comparaciones entre los grupos específicos de tratamiento se realizó un test *post-hoc* de Tukey y en el caso de estudiar las diferencias de los grupos de tratamiento frente al grupo control se realizó el ajuste de Dunnett. En casos en los que no existió homogeneidad de la varianza, se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis y las múltiples comparaciones entre cada uno de los grupos se estudiaron mediante un test de U de Mann-Whitney. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$. Los datos serán analizados mediante el software estadístico SPSS Statistics 20.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, EE. UU.).

Resultados

No existió mortalidad en los grupos, de tal manera que los 80 animales operados alcanzaron al final del experimento, tanto los sacrificados a los 7 días como los sacrificados a los 15 días.

Grosor máximo de la media: El grupo tratado con CV y técnica de RM presentó un mayor grosor máximo en la media que el grupo tratado con BD a los 7 días ($p < 0,05$), mientras que a los 15 días el grupo tratado con LZ presentó un grosor medio de $88,53 \mu\text{m} (\pm 16,05)$ superior al medido en

el grupo CV con $74,23 (\pm 17,34)$ ($p < 0,05$). El grupo control a 15 días presentó un grosor máximo de la media superior al observado en el grupo control a 7 días ($p < 0,05$). En cuanto a la comparación entre grupos de tratamiento (circunferenciales vs. tangenciales), se observa un mayor espesor en la capa media en las tratadas mediante técnicas circunferenciales, sin alcanzar significación estadística (fig. 2).

Grosor total de la pared: Tras 7 días, en la pared de las arterias ocluidas por técnicas de oclusión circunferencial al vaso, se observó un mayor engrosamiento total que en las arterias ocluidas mediante compresión tangencial ($p < 0,01$). El grosor total de la pared de las arterias ocluidas por lazo o torniquete también fue mayor que el de las arterias ocluidas mediante pinzas vasculares cuando fue medido a los 15 días postoclusión ($p < 0,05$). También tuvieron mayor grosor la pared de las arterias ocluidas mediante estas técnicas circunferenciales que las arterias no ocluidas o control ($p < 0,01$). Los grupos tratados con BD, RM y LZ presentaron un mayor grosor en la pared vascular que el tratado con CV ($p < 0,05$). El grupo tratado con RM, además, presentó mayor grosor que el tratado con BD, el LZ y el control ($p < 0,05$). Por tanto, el RM resultó ser la técnica que ocasionaba el mayor grosor de la pared vascular, y el CV la que ocasionaba el menor grosor total de la pared cuando las mediciones se tomaban a los 15 días, arrojando unas medidas medias de $110,02 \mu\text{m}$ la pared de las arterias tratadas con CV frente a $165,35 \mu\text{m}$ de las tratadas con RM.

Área de la luz: A los 7 días en las arterias tratadas mediante técnicas tangenciales se apreció una mayor área

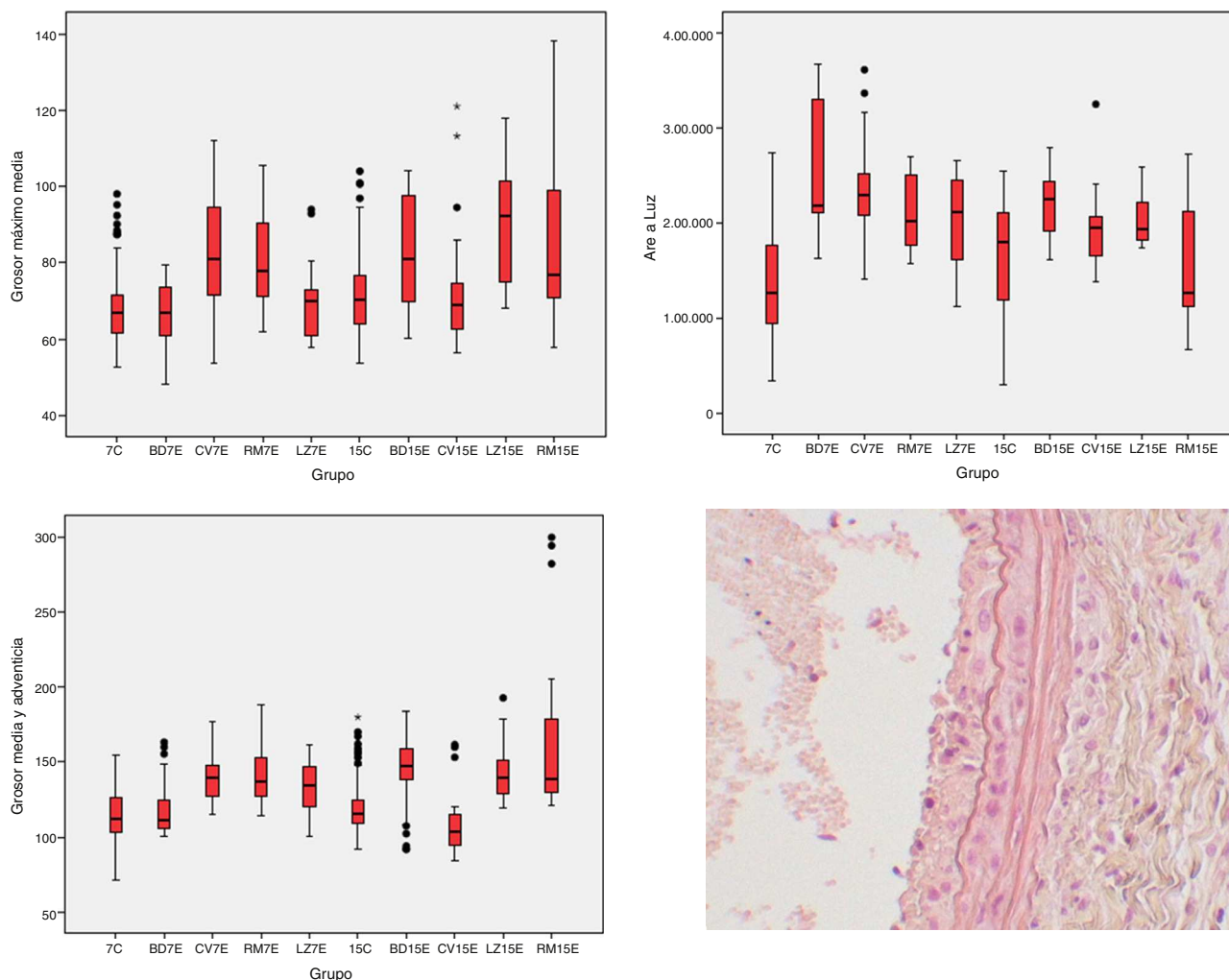


Figura 2 Distribución de las medidas de grosor máximo de la media, área de la luz vascular y grosor total de la pared. Imagen histológica de neointima (hematoxilina-eosina, 400x).

BD: bulldog vascular; C: control; CV: pinza vascular; LZ: lazo de Potts; RM: torniquete de Rumel; .

de la luz vascular que en las arterias tratadas mediante técnicas circunferenciales ($p < 0,05$), el área de la luz en el grupo BD fue de $247.303,04 \mu\text{m}^2 (\pm 66.429,68)$ frente a la observada en el grupo tratado con la técnica RM, que fue de $211.287,43 \mu\text{m}^2 (\pm 37.683,31)$ ($p < 0,05$). Tras 15 días, los animales tratados con BD y LZ vieron incrementada el área de la luz frente al grupo control ($p < 0,05$), además, el área de la luz en el grupo BD fue mayor que en el grupo tratado con la técnica RM ($p < 0,05$).

Formación de trombo: Un animal del grupo tratado con RM y eutanasia a los 15 días (grupo RM 15) mostró la arteria tratada trombosada y no permeable en la necropsia (fig. 3). Un animal del grupo ocluido con LZ y sacrificado a los 7 días (grupo LZ 7), también presentó la arteria trombosada y no permeable en la necropsia.

Presentación de neointima: A los 7 días, 2 de las arterias ocluidas con RM presentaron neointima en el estudio histológico. A los 15 días tras la oclusión, se observó presencia de neointima en una de las arterias ocluidas con RM, una de las tratadas con CV y 3 de las ocluidas mediante LZ.

Discusión

Los resultados observados en nuestro trabajo demuestran la capacidad lesiva en la estructura de la arteria de ambos grupos de oclusión extraluminal. Tanto los métodos tangenciales como los circunferenciales ocasionan un engrosamiento de la capa media, resultado probablemente de los procesos reparativos de la misma tras la lesión por aplastamiento que producen ambos métodos. En el caso de los métodos circunferenciales, este engrosamiento es mayor, dado que posiblemente también la superficie lesionada por aplastamiento es mayor, o lo es en mayor grado.

El área de la luz es mayor en las arterias tratadas que en el control, principalmente tras los 7 primeros días, por el daño celular de la capa media. No obstante, la regeneración de la capa de músculo liso puede ser más lenta y esto podría haber sido la causa del tamaño luminal mayor en el período de recuperación crónica. En el caso de las arterias tratadas por métodos circunferenciales, esta área es menor que en las tratadas con métodos tangenciales, debido a que su capa muscular ha sido más dañada y su engrosamiento ha sido

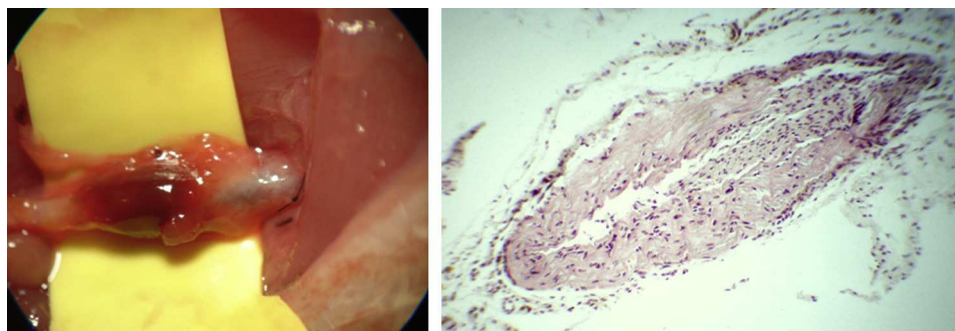


Figura 3 Arteria carótida trombosada tras 15 días, imagen macroscópica (izquierda), y corte histológico a 400x (derecha) (hematoxilina eosina).

mayor. Los resultados obtenidos en el área de la luz corresponden también a los obtenidos en el diámetro máximo de la misma. En ambos casos nuestros resultados coinciden con los del trabajo de Tsukahara et al.¹¹ en el que se presentan los resultados del pinzamiento de la arteria carótida de la rata en diferentes tiempos postoclusivos y que determinan un engrosamiento en la capa media que comienza a manifestarse a los 7 días tras la lesión y persiste al menos durante las 12 semanas que dura el estudio. La lesión que se desarrolla inicialmente en la capa media por el aplastamiento por uno u otro medio oclusivo conlleva la aparición de células inflamatorias y un proceso primero degenerativo y posteriormente regenerativo con mayor presencia celular y de tejido fibroso, lo que explicaría el engrosamiento en esta capa durante el proceso reparativo¹².

El grosor total de la pared mayor en las arterias tratadas con métodos circunferenciales viene a corroborar lo que se aprecia en los datos anteriores y podría deberse, además de a la capa media, al resto de paredes del vaso, no estudiadas separadamente en el presente trabajo. Herderg, en 2003¹³, presentó un estudio para determinar los efectos beneficiosos de las estatinas en las estenosis por stent de arterias de conejos normo- e hipercolesterolémicos, concluyendo que un mayor nivel de daño en el vaso se corresponde con una mayor área de la capa íntima, pero una menor área de la capa media. Esto podría deberse a que la capa media es la principal fuente de células para la creación de neointima^{14,15}.

En cuanto al endotelio, no existe evidencia de su lesión, pero la bibliografía consultada confirma la rápida capacidad regenerativa de la capa íntima en este modelo de oclusión vascular extraluminal en rata, que se produce en los primeros momentos tras la lesión, por lo que serían convenientes estudios histológicos, seriados en el tiempo, de lo que sucede en la capa íntima desde la lesión hasta su regeneración o lesión estenosante en diferentes especies, con el fin de conocer lo que sucede en el ser humano^{16,17}. Esta diferencia puede coincidir con la mayor respuesta proliferativa de los modelos de lesión vascular en arteria carótida de la rata frente a otras especies que muestran una respuesta más trombótica^{18,19}. Esta respuesta más proliferativa que trombogénica está relacionada con la mayor eficacia de los agentes que reducen la migración de células musculares lisas y la proliferación en el modelo en carótida de rata^{20,21} que, sin embargo, muestran escasa actividad en ensayos en humanos.

Existen diferentes sesgos en el estudio. Las arterias estudiadas son de aproximadamente 1 mm de diámetro *in vivo*. Las fuerzas de oclusión para arterias de otros calibres probablemente sean diferentes y requieran estudios adicionales. También otras investigaciones pueden emplearse para conocer la fuerza de compresión parietal que ejercen cada uno de los métodos, o si la modificación del tiempo de oclusión puede modificar las alteraciones causadas. Puesto que todas las arterias permanecieron permeables tras retirar el dispositivo, los daños íntimos observados no fueron clínicamente relevantes a corto plazo. Sin embargo, a largo plazo, la hiperplasia neointimal que se desarrolle puede originar situaciones clinicopatológicas. Además, los vasos patológicos, con presencia de aterosclerosis y calcificaciones, parecen ser más susceptibles que los no ateroscleróticos a las lesiones originadas por el pinzamiento²²⁻²⁶ y otros medios de control del flujo como los circunferenciales^{27,28}, y en este estudio no fueron considerados.

En conclusión, nuestro estudio sobre el modelo de oclusión extraluminal en arteria carótida de rata demuestra que los métodos tangenciales dañan menos la estructura de la pared arterial que los métodos circunferenciales, produciendo una menor alteración en el grosor de la pared vascular y una menor estenosis de la luz. Serían de utilidad estudios sobre otros modelos animales y sobre arterias con enfermedad previa que determinaran si la respuesta es similar.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Guthrie CC. Blood vessel surgery and its applications. Arnold; 1912.
2. Babin-Ebell J, Gimpel-Henning K, Sievers HH, Scharfshwerdt M. Influence of clamp duration and pressure on endothelial damage in aortic cross-clamping. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010;10:168-71.
3. Barone GW, Conerly JM, Farley PC, Flanagan TL, Kron IL. Assessing clamp-related vascular injuries by measurement of associated vascular dysfunction. *Surgery*. 1989;105:465-71.
4. Bunt TJ, Manship L, Moore W. Iatrogenic vascular injury during peripheral revascularization. *J Vasc Surg*. 1985;2:491-8.

5. Dobrin PB, McGurrin JF, McNulty JA. Chronic histologic changes after vascular clamping are not associated with altered vascular mechanics. *Ann Vasc Surg.* 1992;6:153–9.
6. Dujovny M, Kossovsky N, Munoz G, Langhi R, Nelson D, Fein JM. Reduced vascular trauma after temporary occlusion with modified Biemer and Yasargil clips. *J Microsurg.* 1981;2:195–201.
7. Harvey JG, Gough MH. A comparison of the traumatic effects of vascular clamps. *Br J Surg.* 1981;68:267–72.
8. Darçin OT, Cengiz M, Ozardali I, Andaç MH. Pressure-controlled vascular clamp: A novel device for atraumatic vessel occlusion. *Ann Vasc Surg.* 2004;18:254–6.
9. Pabst Sr T, Flanigan DP, Buchbinder D. Reduced intimal injury to canine arteries with controlled application of vessel loops. *J Surg Res.* 1989;47:235–41.
10. Margovsky AI, Lord RS, Chambers AJ. The effect of arterial clamp duration on endothelial injury: An experimental study. *Aust N Z J Surg.* 1997;67:448–51.
11. Tsukahara T, Yonekawa Y, Yamamoto M, Kaku Y, Ogata N, Taniguchi T. Regeneration of the rat carotid artery after clipping injury. Part I. A morphological study. *Neurosurgery.* 1993;32:66–71.
12. Tani K, Kubota T, Yamashita T, Ito H, Yamamoto S. [Ultrastructural study of arterial endothelial cells after temporary clipping]. *Neurol Med Chir (Tokyo).* 1988;28:109–16.
13. Herdeg C, Fitzke M, Oberhoff M, Baumbach A, Schroeder S, Karsch KR. Effects of atorvastatin on in-stent stenosis in normo- and hypercholesterolemic rabbits. *Int J Cardiol.* 2003;91:59–69.
14. Tulis DA. Histological and morphometric analyses for rat carotid balloon injury model. *Methods Mol Med.* 2007;139:31–66.
15. Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: Results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol.* 1992;19:267–74.
16. Noa M, Mas R, Lariot C. Protective effect of policosanol on endothelium and intimal thickness induced by forceps in rabbits. *J Med Food.* 2007;10:452–9.
17. Rinaldi B, Romagnoli P, Bacci S, Carnuccio R, Maiuri MC, Donniacuo M, et al. Inflammatory events in a vascular remodeling model induced by surgical injury to the rat carotid artery. *Br J Pharmacol.* 2006;147:175–82.
18. Schwartz RS. Neointima and arterial injury: Dogs, rats, pigs, and more. *Lab Invest.* 1994;71:789–91.
19. Jeremy JY, Thomas AC. Animal models for studying neointima formation. *Curr Vasc Pharmacol.* 2010;8:198–219.
20. Casscells W. Migration of smooth muscle and endothelial cells. Critical events in restenosis. *Circulation.* 1992;86:723–9.
21. Phillips JW, Barringhaus KG, Sanders JM, Yang Z, Chen M, Hesselbacher S, et al. Rosiglitazone reduces the accelerated neointima formation after arterial injury in a mouse injury model of type 2 diabetes. *Circulation.* 2003;108:1994.
22. Jackiewicz TA, McGeachie JK, Tennant M. Structural recovery of small arteries following clamp injury: A light and electron microscopic investigation in the rat. *Microsurgery.* 1996;17:674–80.
23. Kuhnel TS, Muller GH. Experimental animal studies of clip-induced microvascular trauma. *Microsurgery.* 2004;24:241–7.
24. Margovsky AI, Chambers AJ, Lord RS. The effect of increasing clamping forces on endothelial and arterial wall damage: An experimental study in the sheep. *Cardiovasc Surg.* 1999;7:457–63.
25. Moore WM, Manship LL, Bunt TJ. Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. Normal vessels. *Am Surg.* 1985;51:392–400.
26. Ozalp B, Canbaz S, Huseyinova G, Duran E. Histopathological comparison of vascular wall damage created by external cross-clamp and endoluminal balloon occlusion techniques. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2009;50:545–53.
27. Hodge J, Chester J. A technique for atraumatic clamping of calcified arteries. *Ann R Coll Surg Engl.* 2001;83:363.
28. Prionidis I, Browne TF. Catheter occlusion technique to facilitate distal anastomoses using vein grafts. *J Vasc Surg.* 2005;42:173–5.