

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ
MODELİNDE İSKEMİ SONRASI ANJİOGENİK
FAKTÖR SALINIMI VE SEREBRAL
ANJİOGENEZİSE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. BİROL BAYRAKTAR

UZMANLIK TEZİ

İZMİR - 2010

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI

**RATLARDA DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ
MODELİNDE İSKEMİ SONRASI ANJİOGENİK
FAKTÖR SALINIMI VE SEREBRAL
ANJİOGENEZİSE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. BİROL BAYRAKTAR

Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2010.KB.SAG.009
sayı ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	i
ŞEKİL LİSTESİ	i
GRAFİK LİSTESİ	i
RESİM LİSTESİ	ii
KISALTMALAR	iii
TEŞEKKÜR	iv-v
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
1- ARTERİOVENÖZ MALFORMASYONLAR	3
1.1- Arteriovenöz Malformasyonlarda Tarihçe	4
1.2- Arteriovenöz Malformasyonlarda Embriyoloji	4
1.3- Arteriovenöz Malformasyonlarda Epidemiyoloji Ve İnsidans	5
1.4- Arteriovenöz Malformasyonlarda Patoloji Ve Patofizyoloji	5
1.5- Arteriovenöz Malformasyonlarda Klinik Özellikleri Ve Tanı	6
1.6- Arteriovenöz Malformasyonlarda Tedavi Yöntemleri	7
1.6.1- Arteriovenöz Malformasyonlarda Cerrahi Tedavi	9
1.6.2- Arteriovenöz Malformasyonlarda Radyocerrahi	11
1.6.3- Arteriovenöz Malformasyonlarda Endovasküler Tedavi	12
1.7- Arteriovenöz Malformasyonlar Ve Anjiogenez	13
2- ANJİOGENEZİS VE ANJİOGENİK FAKTÖRLER	15
2.1- Vasküler Endotelyal Growth Faktör	18
2.1.1- Vasküler Endotelyal Growth Faktör Reseptörleri	19
2.1.2- Vasküler Endotelyal Growth Faktör Sentezi	21
2.1.3- Vasküler Endotelyal Growth Faktör Fonksiyonları	23
3- DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ MODELLERİ	25
3.1- İki damar oklüzyon modeli	26
GEREÇ VE YÖNTEM	27
BULGULAR	37
TARTIŞMA	47
SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR	53

TABLO LİSTESİ

- Tablo 1: Spetzler ve Martin AVM gradelendirme sistemi
- Tablo 2: Önemli anjiogenik faktörler ve etki mekanizmaları
- Tablo 3: VEGF reseptörleri, ligandları ve etkileri
- Tablo 4: Deneysel serebral iskemi modelleri sınıflandırılması
- Tablo 5: Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları
- Tablo 6: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerleri
- Tablo 7: sVEGFR-1'in ortalama değerleri
- Tablo 8: 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerleri
- Tablo 9: sVEGFR-2'in ortalama değerleri
- Tablo 10: Grupların beyin dokusundaki İHK boyama ile VEGF ekspresyonu skorlaması

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1: Hipoksi ve iskeminin VEGF reseptörlerini indükleyerek anjiogenezi başlatması
- Şekil 2: Rat beyin koronal düzlemde caudoputaminal bölgenin şematik olarak görülmekte

GRAFİK LİSTESİ

- Grafik 1: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerlerinin ortalaması
- Grafik 2: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerlerinin ortalaması
- Grafik 3: İmmunohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Deneklerin kuyruk venlerinden kan alınması

Resim 2: Pretrakeal orta hat cilt insizyonu

Resim 3: Trakea posterolateralinde sağ karotid arterin etraf dokudan disseksiyonu

Resim 4: Sağ karotid arterin 3/0 ipek sütür ile bağlanması

Resim 5: Sağ karotid bağlandıktan sonra kesilerek total oklüzyonu

Resim 6: Sağ karotid arterin oklüzyonu sonrası sol karotid artere geçici klipaj uygulanması

Resim 7: Rat beyin koronal düzlemde alınan kesite ait görünüm

Resim 8: Çıkarılan rat beynin üstten görünümü

Resim 9: Çıkarılan rat beynin alttan görünümü

Resim 10: Grup 3'deki VEGF (-) olan denek'in Işık mikroskopisinde caudoputaminal bölgedeki iskemik alanın görüntülenmesi.

Resim 11: Grup1'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu

Resim 12: Grup 2'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu

Resim 13: Grup 3'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu

Resim 14: Grup 3'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu

KISALTMALAR

VEGF	Vasküler Endotel Growth Faktör
AVM	Arteriovenöz Malformasyon
SVM	Serebrovasküler Malformasyon
EGF	Epidermal Growth Faktör
PDGF	Platelet Derived Growth Faktör
bFGF	Basic Fibroblast Growth Faktör
TNF- α	Tümör Necrosis Faktör - α
TGF- α	Transforming Growth Faktör- α
MRG	Manyetik Resonans Görünüleme
MRA	Manyetik Rezonans Anjiografi
BT	Bilgisayarlı Tomografi
SMA	Smooth Muscle Actin
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
pCO ₂	Parsiyel karbondioksit
GKR	Gamma-Knife Radyocerrahi
Gy	Gray
HIF	Hipoksi İnducible Faktör
CA4, CA1	Piramidal hücre şeridleri
İHK	İmmunohistokimyasal
H&E	Hematoksilen&Eozin

TEŞEKKÜR

Nöroşirurji eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tez çalışmalarımın her aşamasında yanımda hissettiğim, nöroşirurjiyi bana ve arkadaşlarıma sevdiren tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. M. Nuri ARDA'ya,

Bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, hoşgörüsünü esirgemeyen ve sıkıntılarımızı rahatlıkla paylaştığımız değerli hocam ve anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ümit ACAR'a,

Nöroşirurjiye ve hayata farklı açılardan bakabilmemi sağlayan, klinik tecrübelerini hiç esirgmeden benimle paylaşan değerli hocam Prof. Dr. Metin GÜNER'e,

Mesleki gelişimimde öğrettiği pratik bilgilerle ameliyatları bana kolaylaştıran, tez çalışmamın tamamlanmasında bilgisi ve sabrıyla her türlü desteği gösteren değerli ağabeyim Prof. Dr. Kemal YÜCESOY'a,

Hekimlik sanatının ve cerrahinin inceliklerini bana öğreten, güven duygusunu bana aşılayan değerli ağabeyim Prof. Dr. Serhat ERBAYRAKTAR'a,

Bilgisi ve titizliğiyle nöroşirurjikal gelişmemde bana büyük katkılar veren, zor anlarımda hep yanımda olan ve bir ağabey gibi hissettiğim Doç. Dr. Ercan ÖZER'e,

Kıdemsizken başasistanım, başasistanken uzmanım olan ve katkılarını esirgemeyen Op. Dr. Orhan KALEMCİ'ye,

Asistanlık hayatım boyunca sevincimi ve üzüntümü paylaştığım, uykusuz nöbetlerde yanımda olan ve dosttan öte ailem gibi hissettiğim, başta kliniğimizden uzman olan başta Op. Dr. Özgür AKŞAN, Op. Dr. Cenk ERGÜDEN ve Op. Dr. Levent FIRAT'a, asistanlığa birlikte başladığım Dr. Gündüz Kadir İSTAN'a ve Dr. Ceren KIZMAZOĞLU, Dr. Göktuğ AKYOLDAŞ, Dr. Erdiç ÖZBEK, Dr. Hakan KÖPRÜLÜ ve Dr. Ozan DURMAZ olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Tez çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen Patoloji A.D.'dan Prof. Dr. Erdener ÖZER ve Uzm. Dr. Merih GÜRAY'a, Biyokimya A.D.'dan Doç. Dr. Sezer UYSAL'a,

Ameliyathanede geçen günlerimde güler yüzlü ve çalışkanlığı ile hayatı bizler için kolaylaştıran başta Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.'dan Prof. Dr. Atalay ARKAN'a ve Prof. Dr. Necati GÖKMEN'e, ameliyathane hemşirelerimiz Sema AKIN ve Sevgi DENİZ'e, hep yanımızda olan ve işlerimizi kolaylaştıran sayın Hüseyin VARLI'ya, her konuda yanımızda olan dostum sayın İlker EREL'e, ameliyathane personelimiz Erol GÜRDAL ve Arif KIVRAKOğLU başta olmak üzere tüm ameliyathane çalışanlarına,

Servisteki hastalarımıza büyük bir özveri ile bakan servis sorumlu hemşiremiz şirin AKYIL başta olmak üzere, tüm servis hemşireleri ve personellerine, A.D. sekreterimiz şule UYANIKER'e

Hayatımın her anında desteğini ve sevgisini yanımda hissettiğim canım eşim mit BAYRAKTAR'a, sevgili kızım şevval Naz BAYRAKTAR'a, beni bugünlere getiren başta annem ve babam olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Birol BAYRAKTAR

RATLARDA DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ MODELİNDE İSKEMİ SONRASI ANJİOGENİK FAKTÖR SALINIMI VE SEREBRAL ANJİOGENEZİSE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Birol Bayraktar, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi

DEÜ Tıp Fakültesi Hastanesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, 35330 İnciraltı/ İZMİR

ÖZET

Amaç: Ratlarda serebral arterlerden karotid arterlerin kapatılarak beslediği alanda en önemli anjiogenik faktör olan VEGF ekspresyonunu ve kandaki reseptörleri sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 değerleri kullanılarak anjiogenik aktivite araştırılmış, arteriovenöz malformasyonun(AVM) tekrarlamasında sadece besleyici arterin kapatılması sonrası gelişen durumun rekanalizasyon değil revaskülarizasyon olduğunun gösterilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda Wistar Albino türü 18 adet dişi rat rastgele 3 gruba ayrıldı ve her grupta 6 rat kullanıldı. Deneklerde, cerrahi işlem öncesi 35 mg ketamin ve 5 mg ksilazin verilerek anestezi sağlandı ve kuyruk venlerinden kan örnekleri alındı. Grup 1 (sham): Sadece boyun orta hat insizyonu yapıldı. Grup 2: Sağ karotid arter 3/0 ipek ile bağlanarak oklüde edildi. Grup 3: Sağ karotid arterin kapatılmasını takiben sol karotid arter Yaşargil anevrizma klibi (Aesculap FE 721 K) ile 10 dakika süreyle geçici olarak oklüde edildikten sonra klip kaldırılıp işlem sonlandırıldı. Cerrahi işlem sonrası 10. gününde tekrar kuyruk venlerinden kan alındıktan sonra sakrifiye edilip ratların beyinleri çıkarıldı. Çıkarılan beyin dokusunda immunohistokimyasal boyama yöntemiyle VEGF ekspresyonu, cerrahi işlem öncesi ve sonrası alınan kan örneklerinde sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 değerleri Elisa yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: Serebral arterleri kapatılan gruplarda VEGF ekspresyonunda yükselme, cerrahi işlem sonrası VEGF'ün kompetitif reseptörü sVEGFR-1 değerlerinde anlamlı düşme ve anjiogenezde etki mekanizması net bilinmeyen sVEGFR-2 değerlerinde yükselme saptandı.

Sonuçlar: Serebral besleyici arterlerin kapatılması sonrası, distalinde anjiogenik faktörlerin anjiogenezini uyarması ve yeni damar oluşumunun kanıtlarının bulunması AVM'larda endovasküler veya cerrahi yöntemlerle besleyicilerin kapatılmasının tedavide yeterli olmadığını ve AVM'ların tekrarlamasında rekanalizasyonun değil revaskülarizasyonun sorumlu tutulması gerektiği ve embolizasyon ile AVM'un tedavi edilemeyeceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Anjiogenez, Vasküler endotelial growth faktör, arteriovenöz malformasyon, revaskülarizasyon

EVULATING ANGIOGENIC FACTOR RELEASING AFTER İSCHEMİA AND EFFECT ON ANGIOGENESIS İN CEREBRAL İSCHEMİA RAT MODEL

Birol Bayraktar, MD., Dokuz Eylul University, School of Medicine, Department of
Neurosurgery, Inciralti – Izmir / Turkey

SUMMARY

Objective: We study angiogenic activity by using the most important angiogenic factor VEGF expression and value of sVEGFR-1 and sVEGFR-2 receptors in blood. For this, we occlude carotid arters of cerebral arters in rats. The aim of this study is to show in repeating AVM, the occlusion of main arter causes revascularisation, not recanalisation.

Materials And Methods: In our study we use 18 female Wistar Albino rats, divided into 3 groups randomly, in each group we use 6 rats. All rats were subjected to anesthesia with ketamine hydrochloride of 35 mg and xylazine of 5 mg dose during blood sampling from tail veins and before surgery. Group 1 (sham): Only middle neck incision done. Group 2: Right carotid arter occluded by 3.0 silk suture. Group 3: After occlusion of right carotid arter, left carotid arter occluded by Yaşargil aneurysm clip (Aesculap FE 721 K) for only 10 minutes, then clip taken off. After 10 days from surgery, again blood sampling from tail vein, and then rats sacrificed, their brains have taken out. In brain specimens, VEGF expression examined by immunohistochemical staining methods. In blood samples before and after surgery, Svegfr-1 and Svegfr-2 values examined by Elisa method.

Results: Groups in which cerebral arters occluded, VEGF expression increased, after surgery competitive receptor sVEGFR-1 of VEGF value decreased and in angiogenesis sVEGFR-2 value increased but the effect mechanism of this is not clear.

Conclusions: After occlusion of main cerebral arters, angiogenic factors stimulates angiogenesis in distal arters. By finding evidences of angiogenesis, occlusion of main arters by endovascular or surgical methods in AVMs is not enough in treatment and the cause of repeated AVMs is revascularisation, not recanalisation. The AVMs can not be treated by embolisation. These are the results of our study.

Key Words: Angiogenesis, vascular endothelial growth factor, arteriovenous malformation, revascularisation.

GİRİŞ VE AMAÇ

Arteriovenöz malformasyonlar(AVM) arterial ve venöz sistemler arasında bağlantının olduğu, arada kapiller yatağın bulunmadığı intrakraniyal damar anomalikleridir (1, 2). Serebral arteriovenoz malformasyonlar, gerek intraserebral kanama, gerekse epilepsi ya da fokal nörolojik defisit oluşturan patolojiler olarak, nöroşirürji pratiğinde önemli bir yer tutarlar (3). Toplumun % 0,1'inde AVM bulunduğu ve bu olguların % 12'sinin semptomatik olduğu bilinmektedir (2, 4). AVM'lar genç insanlardaki travmatik olmayan intraserebral kanamaların önde gelen ve 20 yaş altı hastalardaki en sık nörolojik bozukluk ve ölüm nedenidir (2). Doğal seyrine bırakılan AVM'ların uzun süreli prognozları kötüdür ve her yıl için % 2-4 oranında kanama riski vardır. AVM'nin başlangıç kanamasında mortalite % 10-30'dur ve bu oran tekrarlayan her kanamada artar. Kanamaya bağlı morbidite ise % 15-25 civarındadır (3).

AVM'ler büyüklüğü, lokalizasyonu ve venöz drenajı biçimine göre (Spetzler-Martin gradlemesi) grade'lenir (1). AVM'lardaki arterler kan akımı ve basınç değişikliklerinde otoregülasyonun normal paternini gösteremezler (2). Besleyici arterlerinin yüksek kan debisine sahip olmaları, yüksek grade cerrahi açıdan zorlukları gündeme getirmiştir. Bu nedenle AVM tedavisinde yaklaşık 40 yıl önce kullanıma giren Endovasküler tedavi(embolizasyon) yeni bir umut olarak yerini almıştır (25). Bu tedavi yönteminde önce besleyici arterlerin kapatılması, sonrada nidusun tam olarak tıkanması şeklindedir (1, 2). Embolizasyon ile tedavi edilen hastalarda erken dönemde anjiyografik olarak iyi sonuçlar alınsa da uzun dönemde rekürrensler görülmüştür. Önceleri rekürrensin sebebi rekanalizasyon olarak değerlendirip tekrar embolizasyon uygulanmıştır. Embolizasyon ile tedavi edilen AVM'ların tam olarak oklüde edilememesi ve rekkürensin ortaya çıkmasını rekanalizasyon olarak isimlendirilen bir sebebe bağlamışlardır. Rekanalizasyonu ise embolizasyonda kullanılan likid embolik ajanların kendilerine has özelliklerinden dolayı zamanla AVM'daki drene edici venlere doğru sızması ve buna bağlı olarakta embolizan ajanların ortamdan uzaklaşarak geliştiği şeklinde açıklamışlardır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla desteklenen düşünce ise neovaskülarizasyondur. Neovaskülarizasyonun sebebini ise, embolizasyonla AVM'u besleyen arterlerin proksimalden kapatılması ve nidusta oklüde edilmemiş kısım kalmasına bağlı olarak

yeni damarların gelişmesi, yani yeni besleyicilerin ortaya çıkması sonucudur. (25, 26). Neovaskülarizasyonun ise AVM nidusu ve etrafındaki dokuda anjiogenik aktivitenin yüksek olmasına sonucu anjiogenezi gündeme getirmiştir (25).

Anjiogeneze ekstrasellüler matrix, solubl faktör ve hücreler arası etkileşim sonucu; endotelial hücrelerin diferansiyasyonu, migrasyonu ve proliferasyonu ile seyreden kompleks bir olaydır (5). Anjiogeneze, anjiogenik faktörler olarak adlandırılan birçok ajan rol almaktadır (6). Anjiogenik faktörler içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulana ise Vasküler Endotel Growth Faktör(VEGF)' dir. VEGF, endotel hücreleri için bilinen en spesifik mitojenik faktördür, vaskülogenezis ve anjiogeneze önemli derecede rol oynar (7, 8). VEGF ailesi ilk olarak 1980'lerde tanımlanmıştır. VEGF'nin endotel hücresinde etki gösterebilmesi ve hücreye bağlanabilmesi için kendine özgül reseptörleri sentezlemesi gereklidir. Bu reseptörler VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin kandaki çözünebilir formları olan sVEGFR-1, sVEGFR-2'dir (9, 10).

Yapılan çalışmalarda rezeke edilen AVM dokularında etrafındaki embolizasyon sonrası AVM dokusu etrafındaki hipoksik ve iskemik alanda VEGF ekspresyonu ve reseptörlerini yüksek oranda bulmuştur (27, 28). Yapılan bir çalışmada; VEGF reseptörlerinin beyindeki endotel hücrelerinden başka, nöron ve glia hücrelerinin zarında da bulunması oldukça ilginçtir. Bu bulgu, bize VEGF'ün bu hücreleri de etkileyebildiğini göstermiştir (13).

Çalışmamızda AVM'lardaki gibi, özellikle besleyici arterlerin embolizasyon ile oklüde edilmesi veya cerrahi olarak sadece besleyici arterlerin kapatılması sonrası kalan dokuda oluşan anjiogenik aktiviteyi göstermek için ratlarda serebral arterlerden A. Karotis komminisler kapatılarak beslediği alanda anjiogenik faktörlerden VEGF ekspresyonunu immunohistokimyasal olarak ve kanda sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 değerleri Elisa yöntemini kullanarak anjiogenik aktiviteyi araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

1- ARTERİOVENÖZ MALFORMASYONLAR

Serebrovasküler malformasyonlar(SVM) beyin ya da meninkslerdeki vasküler yapıların, embriyolojik gelişimlerinin herhangi bir aşamasındaki duraksamaya bağlı olarak oluşup, patolojik olayın derecesine ve oluşum evresine göre farklı histolojik görünüm sergileyen lezyonlardır(11). McCormick'in yaptığı patolojik sınıflamaya göre SVM'lar; Arteriovenöz Malformasyonlar(AVM), Kavernöz Anjiomlar, Venöz Anjiomlar ve Kapiller Tlanjiektaziler 4 grupta incelemiştir (1).

Kavernöz anjiomlar, ince duvarlı ve aralarına nöral doku girmeyen değişik boyutlarda kavernöz veya sinuzoidal kanalların kopmak kitlelerinden oluşurlar. Anjiografide görülmezler ve anjiografide görülmeyen SVM'lerin büyük kısmını oluşturur. Tanı genellikle MRG ile konulur ve yıllık kanama oranları % 0,7'dir (1).

Venöz anjiomlar, SVM'lerin en sık tipidir. Bir veya daha fazla büyük santral venlere drene olan ve bu nedenle anjiografide veya MRG'de 'caput medusa' görüntüsü veren histolojik olarak normal venlerin toplanmasından oluşurlar. Venöz anjiomların venleri normal beyin venlerine drene olur bu nedenle bu venlerin obliterasyonu venöz koleksiyona ve infarktlara neden olabilir (1).

Kapiller telenjiektaziler aralarında normal beyin parankiminin girdiği kapiller damar kümelerinden oluşur. Histolojik olarak damarlar normal kapillerle aynıdır. Anjiografide görülmez ve sıklıkla Osler-Weber- Rendu sendromunda görülürler (1).

Arteriovenöz malformasyonlar arterial ve venöz sistemler arasında bağlantının olduğu, arada kapiller yatağın bulunmadığı intrakraniyal damar anomalikleridir (1, 2). AVM'ler, 200 yıl önce ilk olarak "erektil tümörler" adı altında; arterlerin, ara kılcal damarlar olmadan kıvrımlı ve genişlemiş venler ile birleşmesi olarak tanımlanmışlardır (12).

1.1- Arteriovenöz Malformasyonlarda Tarihçe

Intrakranyal AVM'ler ile ilgili ilk çalışmalar 1854'te Luscka ve 1863'te Virchow tarafından yapılmıştır. Giordano bundan yaklaşık 30 yıl sonra 1890 yılında ilk cerrahi eksplorasyonu uygulamıştır (14). İlk klinik AVM tanısını 1898'de Hoffman tarafından konulmuştur, 1908'de Fedor Krause AVM'nin besleyici arterini bağlayarak cerrahi olarak tedavi etmeye çalışmıştır. 1927'de Egas Moniz anjiyografiyi klinik uygulamaya koyarak AVM tanısında devrim yapmıştır. 1932'de bir serebral AVM'yi, 1938'de bir serebellar AVM'yi cerrahi olarak tam çıkartan Olivecrona olmuştur (1). Mikrocerrahi tekniklerinin kullanıma girmesini Yaşargil'in 1969'daki 14 vakalık sonuçları mükemmel serisi izlemiştir. Son yıllarda artan cerrahi deneyim sayesinde orta ve küçük boyuttaki AVM'lar minimal morbidite ve mortalite ile çıkarılabilir hale gelmiştir (2).

1.2- Arteriovenöz Malformasyonlarda Embriyoloji

Beynin AVM'leri büyük olasılıkla embriyolojik hayatın 4. haftasının geç somite döneminde gelişen konjenital lezyonlardır. Primer patolojik lezyon arada bir kapiller yatak olmaksızın besleyici arter ve drene edici ven arasında bir veya daha fazla direk bağlantının devam etmesinden meydana gelir (1).

Embriyolojik hayatın 3. haftasında hücreler(anjioblastlar) mezodermden farklılaşmaya başlar, küçük sinsitial adacıkları oluşturur. Sinsitial hücrelerin bu küçük kümeleri hücre grupları arasında bağlantı kurarak sinsitial pleksusu oluşturmak için ince uzantılar verirler. Sinsitial kütleler arasında intrasellüler yarıklar oluşur. Bu yarıklar primitif vasküler lümeni yapmak üzere kaynaşırlar. Bu yarıkları saran sinsitial hücreler yeni damarların endoteli olurlar. Bu endotelin proliferatif büyümesi vasküler lümeni gelişen beynin yüzeyindeki endotelial vasküler ağa bağlıdır (1, 15).

Primordial vasküler pleksus ilk olarak embriyonik beynin daha rostral parçası üzerinde olan afferent, efferent ve kapiller komponentlere diferensiyel olur. Pleksusun daha yüzeysel parçası, sonunda arter ve venlere dönüşen daha büyük vasküler kanalları oluşturur. Daha derin parça kapiller komponenti oluşturur. Beyninde sirkülasyonun başlaması 4. haftanın sonlarındadır. AVM'lerin primitif vasküler pleksusun arteriyel ve venöz tarafları arasındaki kalıcı direk konneksiyondan kaynaklanır ve aralarında kapiller ağ gelişmez (1, 2).

1.3-Arteriovenöz Malformasyonlarda Epidemiyoloji Ve İnsidans

ABD’de 300.000 serebral arteriovenöz malformasyon olgusu bulunduğu ve bu olgularda %12’sinin semptomatik olduğu bildirilmektedir (4). Toplumda bilinen AVM’u olan hastaların yıllık insidansının üst sınırı 10/100000 olarak tahmin edilmektedir ve semptomatik AVM tespit oranı ise yıllık 1/100000 olarak bildirilmektedir. Büyük çoğunluğu 40 yaş çivarında semptomatik hale gelir ve her iki cins arasında eşit oranda görülür (2). Toplumun % 0,1’inde AVM bulunduğu ve bu olguların % 12’sinin semptomatik olduğu bilinmektedir (2, 4). AVM’lar genç insanlardaki travmatik olmayan intraserebral kanamaların önde gelen ve 20 yaş altı hastalardaki en sık nörolojik bozukluk ve ölüm nedenidir (2). Doğal seyrine bırakılan AVM’ların uzun süreli prognozları kötüdür ve her yıl için % 2-4 oranında kanama riski vardır (3).

1.4- Arteriovenöz Malformasyonlarda Patoloji Ve Patofizyoloji

McCormick’in yaptığı patolojik sınıflamaya göre SVM’lar; Arteriovenöz Malformasyonlar(AVM), Kavernöz Anjiomlar, Venöz Anjiomlar ve Kapiller Tlanjiektaziler 4 grupta incelemiştir (1). SSS’nin en sık görülen ve okült vasküler valformasyonların sebebi AVM’lardır (1, 2). AVM’ların çoğu sporadiktir ancak Wybury-Mason ve Osler-Weber-Rendo sendromları ile birliktelik görülebilir. SSS vaskülarizasyonun erken evrelerindeki kapiller yatağın olmadığı dönmede primitif arter-ven şantlarının sebat etmesi ve fetal sirkülasyonun gelişmesi sırasında aberant yerleşim ile ortaya çıkmaktadır. Bazı otörler AVM’ların edinsel postnatal lezyonlar olduklarını düşünürken, diğer bir grup ise in utero oluştuklarına inanmaktadırlar (16). İntrauterin dönmelerde yapılan ultrasonlarda Galen veni malformasyonu kolaylıkla tanımlanırken aynı sayıda AVM’a rastlanmaması ya gözlenemeyecek kadar küçük olmalarını yada bu dönemde yeteri kadar gelişmediklerini düşündürmektedir. Ancak AVM’lara persistan embriyonik venöz drenaj şekillerinin eşlik etmesi en azından bunların in utero geliştiklerinin kanıtı olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür (17).

AVM’lar besleyici arterler, nidus ve drene edici ven olmak üzere 3 ana bileşenden oluşurlar. Nidus ise arter, ven ve kavernöz kanallardan oluşur. Apeksi lateral ventrikülün endimal yüzeyi olmak üzere serebral kortekse uzanan üçgenler şeklindedir(1, 2).

Bir AVM kabaca arada kapiller yatak olmaksızın tek ve multiple muskularis tabakası bulunmayan küçük besleyici arterlerden yüksek akımlı direk arteriyovenöz bağlantıdır. Arterler arasındaki direk anastomoz ve yüksek akım, düşük rezistanslı şantlar meydana gelir. Zamanla bu yüksek akımlı besleyici arterlerin genişlemesine venlerin de genişleme ve kalınlaşmasına neden olur(1, 2). Histolojik olarak arterlerde fibroblast ve bağ doku elemanlarının katılımlarıyla 'fibromusküler yastık' olarak bilinen düz kas hipeplazsisi gösterilmiştir. Cushing ve Bailey nidusu arap şacı olarak tanımlamışlardır. AVM'ların mikroskopik özellikleri değişkendir ve lezyonun hangi kısmın örneklendiğine bağlıdır. Venöz elemanların ince kollejen duvarları varken, arteriyel besleyicilerin musküler elastik duvarları vardır. AVM'ların içinde parankimal elemanlar bulunur. Ancak bunlar gliotik, hemosiderinle boyalı ve işlevsel olmama eğilimindedirler. Bazı lezyonlarda vasküler veya interstisial kalsifikasyon görülebilir. AVM'ların patogeneze ışık tutabilecek kollejen IV, kolljen III, SMA, laminin, fibronektin gibi yapısal proteinler ve VEGF, bFGF ve TGF- α gibi anjiogenik faktörlerin ekspresyonu gösterilmiştir (4).

1.5- Arteriovenöz Malformasyonlarda Klinik Özellikleri Ve Tanı

AVM'ler % 85 supratentoriyal, % 15 infratentoriyal yerleşimli olup % 98 sporadik ve soliterdir. % 7 anevrizma ile birliktelik gösterir (69). Serebral AVM'lerin en sık bulgu intraserebral hemorajidir. Bu lezyonların yıllık kanama insidansı ortalama % 2-4'tür. İlk kanamadan mortalite oranı % 10, ikinci kanamada % 13, üçüncü kanamada ise % 20'dir. Toplam mortalite % 7-14, morbidite ise % 30-50'dir. İkinci sıklıktaki yakınma epileptik nöbet mevcut olup, % 17-40 oranında bildirilmiştir. Çocuklarda kanama riski epileptik nöbete göre 7 kat fazladır. Yenidoğan da kalp yetmezliği bulguları ile karşımıza çıkabilir. Baş ağrısı üçüncü sıklıkta başvuru yakınmasıdır ve serebral AVM'li hastaların % 1-10'u baş ağrısı ile ortaya çıkar (14). Diğer bir yakınma da focal nörolojik defisitlerdir ve % 1-40 arasında görülür. Kanama ilişkisiz focal nörolojik defisit vasküler çalma veya venöz hipertansiyon veya her ikisine bağlı olabileceği düşünülmektedir (1, 2).

AVM'lu hastalarda intrakraniyal kanamaya neden olan risk faktörleri kesin olarak bilinmemektedir. En sık bildirilen risk faktörleri daha önce kanama geçirmiş olmak ve derin venöz drenajdır. Pollock ve ark. önceki kanamanın bağımsız bir risk

faktörü olduğunu bulmuşlar ve tekrarlayan kanama riskini yıllık % 7,5 olarak bildirmişlerdir (19). Derin venöz drenajı olan AVM'lar sıklıkla kanamayla birlikte dirler ve derin venöz drenajın bağımsız bir risk faktörü olduğu bilinmektedir. Yüksek besleyici arter basınçlarının kanama risk ve şiddetiyle doğrudan ilişkili olduğu ve AVM'nun nidus büyüklüğü ile ters ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diğer risk faktörleri venöz anevrizma, çıkış engeli, intranidal anevrizma veya multipl anevrizmalar ve perforan damarlardan beslenme olarak bilinmektedir. Kanamaya bağlı ölüm oranı ilk kanamada % 10, ikinci kanamada %13 ve üçüncü kanamada % 20 olarak bildirilmektedir (1, 2). Forster ve ark. sadece epilepsi ile müracaat eden, ortalama 15 yıl takip süresi olan 35 hastada kanamaya bağlı mortaliteyi % 17 ve morbiditeyi ise % 20 olarak bildirmişlerdir (20).

AVM'ların kesin tanısının konulmasında ve tedavisinin planlanmasında yardımcı olan altın standart radyolojik tetkik serebral anjiyografidir. Konvansiyel anjiyografi üç gerekli bilgiyi verir; besleyici arterler, nidus ve drene edici venler. Manyetik Rezonans Görünümlemede (MRG) siyah "solucan paketi", kontrastsız Bilgisayarlı Tomografide(BT) iso-hiperdens kıvrıntılı damarlar, kontrastlı BT'de beyaz "solucan paketi" şeklinde görülür (69). BT ve MRG, AVM'nun tanısının konulmasında genel bir tarama tekniği olarak kullanılmasının yanı sıra AVM dokusunu yerleşimi hakkında önemli bilgiler vermektedir. Manyetik Rezonans Anjiyografi(MRA) üç boyutlu görüntüleri non-invazif olarak ortaya koyabilsede cerrahi planlamada faydası sınırlıdır (1, 2).

1.6- Arteriovenöz Malformasyonlarda Tedavi Yöntemleri

AVM'ların tedavi şekline karar verirken beklenen klinik seyir, beklenen cerrahi risk oranı, hastanın işi ve gerek duyduğu günlük aktivite ve hastanın yaşı dikkate alınmalıdır (1, 68). 1986'da Spetzler ve Martin nidus büyüklüğü, hassas ve önemli kortekse ilişkili yerleşim ve venöz drenaj tipine dayanan bir AVM derecelendirme skalası geliştirmişlerdir ve 5 grade ayırmışlardır.(Tablo 1) Hastanın derecesini belirlemede üç değişkenin tümünün kullanılmasının en doğru olduğu ve neticeyi önceden söylemek için istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (1, 2).

Kriter	Özellik	Puan
Büyüklik	Küçük (<3 cm)	1
	Orta (3-6 cm)	2
	Büyük (>6 cm)	3
Komşu beyin	Duyarsız	0
duyarlılığı	Duyarlı	1
Venöz drenaj biçimi	Yalnızca yüzeysel	0
	Derin	1

Tablo 1: Spetzler ve Martin AVM gradelendirme sistemi (1).

İleri yaşta olan, nörolojik muayenesi normal, sadece nöbet hikayesi olan ve daha önce geçirilmiş bir kanaması olmayan bir hastanın kümülatif mortalite ve morbidite oranı düşüktür ve konservatif tedavi uygulanabilmektedir (1, 2).

AVM'un anjiyografik olarak da doğrulanan tam çıkarılması erişkin hastalarda kanamalara karşı tam bir koruma sağlarken, çocuklarda bu koruma kesin değildir. Çocuklardaki AVM'ların daha dinamik oldukları ve negatif anjiyografi sonuçlarını takiben rejenerasyon yeteneklerinin olabileceği ileri sürülmekte ve bu durum anjiogenez ile ilişkilendirilmektedir (21). İmmunohistokimyasal ve histolojik analizler anjiyografik olarak tam tromboze AVM'ların olası neovaskülarizasyonun ve açık damarlarının olduğunu göstermiştir (24).

Cerrahi sonuçların gözden geçirildiği bir çalışmada grade 1,2 ve 3 hastalarda cerrahiye bağlı nörolojik morbidite ve mortalitenin düşük olduğu bildirilmiştir. Daha yüksek grade hastalarda, risklerin önemli ölçüde daha yüksek olduğu ve grade 4 hastalarda bu oran % 21,9 ve grade 5 hastalarda ise % 16,7 olduğu bildirilmiştir (22). AVM tedavisinde günümüzde esas sorun teşkil eden hasta grubu Spetzler ve Martin grade 4 ve 5'tir. Bu hasta grubunda her üç tedavi yönteminde önemli risklerinin olduğu bilinmektedir (3, 68).

1.6.1- Arteriovenöz Malformasyonlarda Cerrahi Tedavi

Günümüzde embolizasyon ve radyoşirurji gibi yeni tetkikler de uygulanabilmesine rağmen serebral AVM'lerin uzun süredir uygulanan ve geçerliliği ispat edilmiş kesin tedavi yöntemi tam cerrahi eksizyondur (1-3). Cerrahi tedavinin avantajları tedavinin saatler içerisinde tamamlanabilmesi, kesin sonuç elde edilmesi, nüks ve radyasyonun muhtemel yan etkilerinden hastanın korunmuş olmasıdır. Ayrıca cerrahi tedavi ile önceki epileptik nöbetlerin sıklığı ve şiddeti de azalmaktadır(1, 2). AVM'lerin yönetiminin kararını vermek, en az tedavi etmek kadar zordur ve multidisipliner yaklaşım gerektirmektedir (1,3). AVM'deki arterler kan akımı ve basınç değişikliklerinde otheregölasyonun normal patternini gösteremezler. Boşaltıcı venler tipik olarak dilate ve arteriyel basıncın doğrudan venöz sisteme iletilmesi ile ikincil kalın duvarlı bir görünüm kazanmışlardır. Segmental dilatasyonlar ve venöz anevrizmalar sıktır, genellikle bu venöz varisler direkt nöral kompresyon ile fokal nörolojik defisitlere yol açabildiği gibi beyin-omurilik sıvı(BOS) yollarında tıkanma ve kompresyon ile hidrosetaliye neden olmaktadır (1,2). Serebral AVM'lerin spontan obliterasyonu nadirdir ve bu durum % 1'den azdır. Bu durum tek boşaltıcı venin oklüzyonu ile tam venöz çıkış yolu obstrüksiyonu ve ikincil tromboz ile açıklanmaya çalışılmıştır (23).

Serebral AVM 'ların tedavisinde hedef hastaya zarar vermeksizin AVM nidusunun tamamen ortadan kaldırılmasıdır (1, 3, 68). AVM'nu olan her hasta kendi şartları içerisinde değerlendirilmeli, hastanın yaşı, geçmiş hikayesi, AVM'nun büyüklüğü ve lokalizasyonu göz önüne alınmalıdır (1,3). Genç hastalarda daha agresif bir tedavi düşünülürken, yaşı 60 ın üstünde olanlarda daha konservatif tedavi tercih edilmektedir. AVM'nun daha önce kanayıp kanamadığı ve durudurulamayan nöbetlere yol açıp açmadığı de önemli bir kriterdir. Diensefalon, bazal gangliyon ve beyin sapı AVM'ları kanayarak hayatı tehdit edici bir hematoma yol açmadıkça genellikle inoperable kabul edilir. Yapılan bir çalışmada palyatif tedavinin sonraki dönemde kanama riskini beş kat arttırdığı gösterilmiştir (1).

AVM cerrahisindeki güçlükler, nidus büyüklüğü, venöz drenaj tipi ve lokalizasyonun hassas bölgelerde olup olmaması Spetzler ve Martin tarafından sınıflandırılmıştır.(Tablo1) Hassas bölge olarak kabul edilen başlıca alanlar; motor korteks, Brocca alanı, primer görme alını, talamus, hipotalamus, internal kapsül, beyin sapı ve serebellar pedinküllerdir. Tartışmalı olmakla birlikte bu sınıflamaya göre,

grade 1 ve 2 AVM'lar cerrahi, grade 3 önce embolizasyon ardından cerrahi yapılmasını önerilirken, grade 4 ve 5 tedavisi halen tartışmalıdır. Yüksek gradeli AVM'ların tedavi edilmemesi bir alternatif olarak düşünülmelidir (1, 26, 69).

AVM cerrahisi hayatı tehdit eden bir hematoma olmadıkça elektif şartlarda yapılmalıdır. Ameliyat öncesi hazırlıkta yeterli kan temini, çok sayıda damar yolu, ve nöbet ihtimaline karşı antiepileptik ilaç kullanılması önemlidir. Pozisyon sırasında venöz dönüşün mümkün olduğunca kolaylaşması için baş, kalp seviyesinden mutlaka yukarıda tutulmalıdır. Beynin gerginliğini azaltmak için gerekiyorsa BOS drenajı sağlanmalı, mannitol kullanılmalı, pCO₂ 30 mm/Hg seviyesinde tutulmalıdır. Bu şartlar sağlanamazsa ameliyatın ertelenmesi uygundur (1, 2).

AVM cerrahisinde dikkat edilecek önemli temel cerrahi prensipler vardır. Ameliyat sırasında kan basıncının normalin %15-20 kadar altında tutulmalıdır. Kraniyotomi mümkün olduğunca geniş yapılmalıdır. Dura açılırken dural besleyicilerin olabileceği unutulmamalı ve özellikle dikkat edilmelidir. Dura açıldıktan sonra anjiyografi ve MR bulguları ile nidusun beyin içindeki lokalizasyonu üç boyutlu olarak yeniden değerlendirilmelidir. Genellikle nidus ile beyin arasında iyi sınırlı bir gliotik plan vardır. Bu gliotik plan izlenerek önce arteriyel besleyiciler ortaya konulur ve teker teker yakılarak nidusu beslemeleri engellenir. Bu teknikle nidusun etrafı dönülür ve tabaka tabaka derinleşerek nidus apeksine doğru ilerlenir. Apeksin genellikle ventriküle yakın olduğu ve ependimle sonlandığı unutulmamalıdır. Besleyicilerin yakılması esnasında yakılan arterlerin sadece besleyici olduğundan emin olunmalıdır. Ameliyat esnasında nidus çıkartılmadan drenaj veni kapatılırsa beyinde akut şişme ve kanama meydana gelebilir bu nedenle drenaj veni ameliyat sonuna kadar korunmalıdır. Nidus mutlaka tek parça halinde çıkartılmalıdır. Eksizyondan sonra kan basıncı normalin 15-20 mm/Hg üzerine çıkılarak dikkatli hemostaz yapılmalı ve en az onbeş dakika süre ile beklenmelidir. Eğer teknik imkanlar yeterli ise intraoperatif, değilse postoperatif kontrol anjiyografi yapılarak eksizyonun tam olduğundan emin olunmalıdır(1,2).

Büyük AVM'ların eksizyonundan sonra postoperatif dönemde görülen en önemli iki komplikasyon kanama ve epileptik nöbettir. Kanama büyük olasılıkla nidusun tam olarak çıkarılamamasına bağlıdır. Epileptik nöbetlerin sebebi genellikle çevre dokudaki hiperperfüzyon yani kan akımındaki değişiklikler ve kortikal venlerdeki staz ile trombustur.

AVM'ların %10 unda bir veya birkaç anevrizma mevcuttur. Genel prensip anevrizma kanamışsa önce anevrizmanın, AVM kanamışsa önce AVM'nun ameliyat edilmesidir. Ancak besleyici arter üzerinde bulunan bir anevrizmanın AVM eksizyonundan sonra intravasküler basıncın artması nedeniyle kanama ihtimali olduğundan öncelikle anevrizmanın tedavi edilmesi gerekir.

AVM'ların, doğal seyirlerindeki morbidite ve mortalitenin yüksek oluşu, çoğunlukla genç hastalarda görülmesi gibi nedenlerle, tümüyle ortadan kaldırımları zorunluluğu vardır. İyi değerlendirilmiş ve derecelendirilmiş olgularda, cerrahi girişim, kısa ve uzun sürede kanama riskini ortadan kaldıran, günümüzde de geçerliliğini sürdüren bir yöntemdir (3).

1.6.2- Arteriovenöz Malformasyonlarda Radyocerrahi

Gamma-knife radyocerrahisi (GKR), yerleşimi koordinatlarla kesin olarak belirlenmiş patolojik beyin dokusunun (tümör, damarsal lezyonlar v.b) gamma ışınları ile yok edilmesi veya büyümüsünün durdurulmasını sağlayan tedavi biçimidir. İlk kez 1950 li yıllarda İsveç'li beyin cerrahı Lars Leksell tarafından üretilmiş ve teknolojiye gelişmeler paralelinde bugünkü modern halini almıştır. Gamma-knife 201 Y ışını, Co60'tan elde edilir (1).

Gamma-knife AVM'nu olan hastaların seçim şansını arttırmış, onlara güvenli ve etkin bir tedavi yöntemi sunmuştur. Cerrahi olarak çıkarılamayacak yerleşimdeki veya hastanın sağlık durumunun açık cerrahiye izin vermediği durumlarda önemli bir seçenek haline gelmiştir. GKR'nin AVM üzerindeki etkisinde, endotel hasarına bağlı intimal kalınlaşma, subendotelyal proliferasyon, hyaline depozitleri ve trombus oluşumu sorumludur. Derin yerleşimli 3 cm'den küçük kompakt niduse sahip AVM'ler en uygun lezyonlardır (1-3).

AVM GKR'nde obliterasyon olasılığını nidusun şekli, büyüklüğü, drenaj venlerinin sayısı, marjinal radyasyon dozu, akım patterni ve Spetzler-Martin evresi belirler. AVM'ların GKR'nde genellikle radyasyon dozu 15-25 Gy arasındadır. Bu yöntemin AVM üzerindeki etkisinin oluşması için yaklaşık 2 yıllık bir süre gerekir bu nedenle ilk iki yıl kanama riski aynı kalır (1-3). Ayrıca epilepsi ile başvuran olgularda GKR'nin epilepsiyi %60'a varan oranlarda kontrol altına aldığı bildirilmektedir (1).

Yapılan bir çalışmada, GKR'nin AVM'lardaki anjiogenezisi inhibe ettiğini göstermişlerdir (25).

Lokalizasyon nedeniyle cerrahi morbiditesi yüksek ve çapı 2,5 cm'den küçük olan AVM'larda radyoşirurji (gamma-knife) tercih edilebilir bir yöntemdir. Ancak sonuç alınabilmesi için iki yıl beklenilmesi gerekmektedir. Bu süre içerisinde oluşacak olan endotel proliferasyonu nidus beslenmesini engelleyecektir (1, 3)

GKR'ne bağlı komplikasyonlar %5-9 oranında izlenmekte olup 3-20 ay arasında ortaya çıkmaktadır. Bu komplikasyonlar perilezyonel ödem, radyasyon nekrozu (%3), kranial sinir disfonksiyonu ve fokal nörolojik defisit, hemoraji, kist formasyonu, malign tümör (teorik olarak), epilepsidir. GKR serebral AVM'larda cerrahi tedavinin yanında embolizasyona ciddi bir alternatif oluşturmaktadır(2, 25).

1.6.3- Arteriovenöz Malformasyonlarda Endovasküler Tedavi

AVM'ların tedavisinde endovasküler tedavi yöntemi yaklaşık 40 yıl önce yeni bir umut olarak kullanılmaya başlanmıştır (25). Endovasküler tedavide amaçlanan besleyici arterlerin ve nidusun embolizasyonu ile tam obliterasyondur (2). Embolizasyonda polivinil alkol(PVA), n-butil siyanoakrilat(NBCA), glue, onyx ve koiller gibi embolizan ajanlar kullanılmaktadır (67, 70). Bu tedavi yöntemi primer, preoperatif ve postoperatif uygulanmaktadır. Primer uygulama sonrası anjiogragik olarak tam obliterasyon sağlanamayan olgular, transkraniyal doppler ultrason ile besleyici arter ve arterlerin belirlenip cerrahi uygulanan olgular bildirilmektedir (3). Embolizasyon uygulanan AVM'ların tam olmayan tıkanması, kanama riski göz önüne alındığında, lezyonun doğal seyrini ve kanama riskini azaltmaz ve değiştirmez (3).

Embolizasyon ile tedavi edilen hastalarda erken dönemde anjiografik olarak iyi sonuçlar alınsa da uzun dönemde rekürrensler görülmüştür. Önceleri rekürrensin sebebi rekanalizasyon olarak değerlendirip tekrar embolizasyon uygulanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar da embolizasyonun kalıcı bir oklüzyon sağlamadığı ve kabul edilemez şekilde yüksek komplikasyon oranına sahip olduğu ortaya koymuştur (26). Embolizasyon ile tedavi edilen AVM'ların tam olarak oklüde edilememesi ve rekkürrensin ortaya çıkmasını rekanalizasyon olarak isimlendirilen bir sebebe bağlamışlardır. Rekanalizasyonu ise embolizasyonda kullanılan likid embolik ajanların kendilerine has özelliklerinden dolayı zamanla AVM'daki drene edici venlere

doğru sızması ve buna bağlı olarakta embolizan ajanların ortamdaki uzaklaşarak geliştiği şeklinde açıklamışlardır (25, 26, 67, 70). Son zamanlarda yapılan çalışmalarla desteklenen düşünce ise neovaskülarizasyondur. Neovaskülarizasyonun sebebini ise, embolizasyonla AVM'ü besleyen arterlerin proksimalden kapatılması ve nidusta oklüde edilmemiş kısım kalmasına bağlı olarak yeni damarların gelişmesi, yani yeni besleyicilerin ortaya çıkması sonucudur (25, 26). Rekürrens gösteren AVM'arda yapılan anjiyografik çalışmalar neovaskülarizasyonla gelişen damarları da görüntüleyebilmiştir (26).

Adam S Reig ve ark. yaptığı bir çalışmada 122 serebral AVM'ü olan hastaya embolizasyon uygulanmış ve sadece 18 hastada tam obliterasyon sağlanmış. Bu hastaların uzun dönem takiplerinde 3 hastanın kontrol anjiyografilerinde AVM'un tekrarladığı görülüp cerrahi ile çıkarılmış (26). Başka bir çalışmada yalnız başına embolizasyon AVM'lu hastaların %10'unda tam obliterasyon sağladığı bildirilmiştir. Besleyici arterin proksimal oklüzyonunun AVM rekkürensi ile ilgili olduğu bildirilmiş ve bu durumun da revaskülarizasyon ile ilişkilendirilmiştir (1).

Ancak preoperatif embolizasyon yüksek gradeli AVM'larda ameliyat sırasında kanamayı azaltması açısından kullanılabilecek bir yöntemdir. Seçilmiş vakalarda bu üç yöntem birlikte kullanılabilir(1, 2, 3)

1.7- Arteriovenöz Malformasyon Ve Anjiogenez

AVM'ların statik konjenital lezyonlar olmadığını, tam tersine büyüme, gerileme ve hatta tam rezeksiyon ya da radyocerrahi sonrası de novo beyin AVM'ü olarak tekrar ortaya çıkmak gibi dinamik özelliklere sahip olduklarını ileri sürülmektedir. 1966 ve 1998 yılları arasında literatürde 12 rekürren beyin AVM'ü bildirilmiştir (29). Eğer rekürrens, cerrahi yolla (endovasküler tedavi ile birlikte ya da endovasküler tedavi eşlik etmeden) veya radyocerrahi sonrası yapılan anjiyografi de AVM'un tam olarak kapatıldığı saptandıktan sonra, takiplerde AVM'un tekrar ortaya çıkması olarak tanımlanırsa, bu sayıya 22 vaka daha eklenebilir (30). Bir vakada ise radyocerrahi sonrası, AVM ilk yerleşim yerinden başka bir yerde tekrar ortaya çıkmıştır (31). Bu bilgiler tekrarlayan AVM'ların varlığını gösterse de, uzun süreli takiplerin yetersiz olması nedeniyle rekürrensin tam oranı bilinmemektedir. Beyindeki sporadik bir AVM'un büyümesi ya da küçülmesi; bu malformasyonların statik lezyonlar olduğu

düşüncesine karşı çıkararak, birçok vaka sunumunda bildirilmiştir. 106 vakadan oluşan bir AVM serisinde, girişim olmadan yapılan 8 yıllık takipte, AVM'ların % 50'sinden fazlasında boyut artışı, % 9'unda ise boyutta küçülme olduğu saptanmıştır. Bu lezyonlarda zaman içinde anjiografiik görünümünde de değişiklik olabilir. Bu değişikliklerin nedenini anlamak için, AVM'ların büyümesinde ve davranışlarının şekillenmesinde rol oynayan farklı faktörleri gözden geçirmek gerekmektedir. Henüz fetal beyindeki vaskülogenez ve anjiogenez esnasında, bazı hücrel durumların (apoptosis, migrasyon, differensiasyon ve proliferasyon) vasküler lezyonların gelişimini etkilemesi ile bu faktörler rol almaya başlamıştır (30).

AVM'u çevreleyen hipoksik çevre dokuların önceden bahsedilen tüm anjiogenik faktörlerin salınımını arttırdığı düşünülmektedir. Hem hipoksinin hem de iskeminin VEGF, VEGF reseptörleri ve diğer büyüme faktörlerinin salınımını körüklediği bilinmektedir. Hipoksik ortama maruz kalan astrositlerin VEGF salgıladığı gösterilmiştir. Bu hipoksik ortam, AVM'daki arteriovenöz şanttan dolayı oluşmakta olabilir (30).

VEGF gen promoteri, hipoksik şartlara maruz kaldıktan sonra dakikalar içerisinde VEGF salınımı 30 kat arttıran HIF isminde bir element içermektedir. AVM'larında hipoksik/iskemik anjiogenik stimülasyon düşüncesini desteklemektedir. VEGF ve HIF(Hipoksi İnducible Faktör), embolize edilmiş AVM'ların etraf dokularında, cerrahi yöntemle tedavi edilmiş AVM'lardan çok daha yüksek oranda salındığı gösterilmiştir ve bu durum hipoksinin HIF yoluyla, VEGF stimülasyonuna bağlı olduğu belirtilmiştir (30).

Yine başka bir çalışmada VEGF salınımı en yüksek embolize AVM'da olduğu gösterilmiştir (25). Parsiyel embolizasyon (ya da tıkanma) durumlarında, AVM'un nidusunun tıkanmış bölümünde lokal endotelial hipoksi ortaya çıkabilir. Bahsedilen hipoksik durum, yeni damar oluşumunu tetikleyebilir, bu durum nidusun tam tıkanmasının gerekliliğinin altını çizmektedir. Diğer taraftan, VEGF'ün ve HIF'ün salınımının embolizasyondan bağımsız olarak, diğer mekanizmalar tarafından da arttırılabileceği akılda tutulmalıdır (37). AVM'u çevreleyen dokunun hipoksi tehlikesi altında bulunduğu gerçeği mevcutken, nidusun yüksek akımlı arteriel kan ile çok iyi beslendiği unutulmamalıdır. Nidusun genel olarak herhangi nöronal doku içermemesi ve bu nedenle iskemi riski taşıması sebebiyle, nidus ve çevredeki damar dokunun büyümesini/gerilemesini etkileyen faktörler birbirinden farklıdır.(30)

Endotelyal hücreler, vaskülojenizde, anjiogenezde ve damar remodellinginde merkezi bir role sahiptirler. Doğum sonrası, endotelyal hücreler pasif konumdadır, fakat proliferatif potansiyele sahiptirler. Ki 67 ve proliferatif hücre çekirdek antijeni kullanılan çalışmalarda, beyin AVM'lerinin kontrol gruplarının damarlarına göre çok daha fazla endotelyal turnover'a sahip oldukları, bundan dolayı bu lezyonlarda aktif anjiogenez ve/veya vasküler remodelling varlığı öne sürülmüştür (30).

Hashimoto ve ark., beyin AVM'lerinin endotelyal hücre turnover düzeyinin, normal pasif durumdaki serebrovasküler endotelyal hücrelerle progresif tümörlerdeki endotelyal hücrelerin düzeyi arasında olduğu sonucuna ulaşmışlardır (32).

2- ANJİOGENEZİS VE ANJİOGENİK FAKTÖRLER

Kan damarı oluşumunu ortaya koyan iki mekanizma vardır ve bunlar vaskülojeniz ve anjiogenez olarak adlandırılmaktadır. Vaskülojeniz erken embriyogenezde meydana gelir ve mezoderm'den köken alan vasküler ağın oluşturulmasını ifade eder. Anjiogenez ise var olan kan damarlarından yeni damarların geliştirilmesi işlemi ve hücre bölünmesi, hücre göçü, hücre çoğalması ve kapiller şeklinde yeni damarların oluşmasını sağlayan kompleks bir süreçtir (18, 33, 66).

Anjiogenezin gerçekleşmesi için, endotel hücrelerine, VEGF salınımına, VEGF'ün bağlanabileceği bir reseptöre, intrasellüler mekanizmada sinyallere anjiogenez yönünde cevap veren genetik bir yapıya ve ekstrasellüler matriksin oluşmasına bağlıdır (25).

Vasküler ve sinir sistemleri, vertebralarda en erken gelişen iki sistemdir. Göç eden iki adet nöronal serebral topluluk vardır: radyal ve tanjansiyal. Serebral korteksin vasküler gelişiminin 2 bileşeni vardır, ventrikülopetal (öncelikli) ve ventrikülofugal (daha az öncelikli). İki bileşen de radyal nörojenize paralel ve boyunca gelişirler. Kortikogenezin erken aşamalarında, ventriküler alanda VEGF ailesinin hücre titreleri yüksektir. Bu sentripetal yönelimli damarların göçü için önemli bir faktördür. Moleküler bileşenler, hücrenin kaderi ve damar gelişimi için hayati önem taşırlar. Vaskülojeniz primitif endotelial hücrelerin dizilimidir (VEGF, en erken dönemde ortaya çıkan faktördür). Anjiogenez, prematüre damar ağının "budanması"

aşamasında devam eden morfojenik değişimlerle, yeni damarsal dalların oluşmasıyla ve son aşamada damarların stabilizasyonu ile karakterizedir (30).

Anjiogenez aynı zamanda normal koşullarda karşılaşılan yaralanmalar ve doku hasarlarının iyileştirilmesi için de önemlidir. Ayrıca dişi üreme sisteminde folikül gelişimi, ovülasyon sırasında korpus luteum ve hamilelikte plasenta gelişimi anjiogeneze bağlıdır. Kontrolsüz anjiogenez ise diyabetik retinopati, ateroskleroz ve solid tümör gelişiminde görülür (34, 35). Bunların dışında serebrovasküler malformasyonlarda da anjiogenik faktörlerin anormal şekilde üretildiği görülmektedir (4, 36).

VEGF ve alt tipleri bir tirozin kinaz reseptörü olan VEGFR-1, VEGFR-2 reseptörleri üzerinden etki gösterir ve endotelial hücre replikasyonu, göçü, differansiasyonu, hayatta kalma gibi mekanizmalarda görev alır. Diğer angiogenik faktörler, Basic Fibroblast Growth Faktör (bFGF / FGF-2), FGF-1, FGF-3, FGF-4, Transforming Growth Faktör- α (TGF- α), Epidermal Growth Faktör, Hepatosit Growth Faktör/Scatter Faktör (HGF/SF), Transforming Growth Faktör- β (TGF- β), Tümör Necrosis Faktör - α (TNF- α), Platelet Derived Growth Faktör (PDGF) olup ve etki mekanizmaları tablo 2’te gösterilmiştir (38). Anjiogenik faktörler içinde üzerinde en çok önemsileni VEGF’tür.

Faktör	Etki Mekanizması
Vasküler Endotelyal Growth Faktör (VEGF)	Endotelyal mitojen, Survival faktör, Permeabilite indükleyici
Basic Fibroblast Growth Faktör (bFGF / FGF-2)	Endotelyal mitojen, Anjiyenez indükleyici Survival faktör VEGFR-2 Ekspresyon indükleyici
FGF-1, FGF-3, FGF-4	Endotelyal mitojen Anjiyenez indükleyici
Transforming Growth Faktör- α (TGF- α)	Endotelyal mitojen Anjiyenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Epidermal Growth Faktör	Zayıf endotelyal mitojen VEGF ekspresyonu indükleyici
Hepatosit Growth Faktör / Scatter Faktör(HGF/SF)	Endotelyal mitojen, mitojen Anjiyenez indükleyici
Transforming Growth Faktör- β (TGF- β)	Endotelyal büyüme inhibisyonu Anjiyenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Tümör Necrosis Faktör- α (TNF- α)	Endotelyal mitojen Anjiyenez indükleyici VEGF ekspresyonu indükleyici
Platelet Derived Growth Faktör (PDGF)	Endotelyal mitojen Endotelyal motilite faktörü Anjiyenez indükleyici

Tablo 2: Önemli anjiyogenik faktörler ve etki mekanizmaları (38)

2.1- Vasküler Endotelyal Growth Faktör

Endotel hücrelerine özgül olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ailesi ilk olarak 1983 yılında Senger ve arkadaşları tarafından yüksek düzeyde vaskülarize bir tümörde tanımlandı (39). VEGF 46 kDa ağırlığında, bazik yapıda, heparine bağlanma özelliği olan homodimerik bir glikoproteindir (40). VEGF vaskülotropin olarak da bilinen, çok fonksiyonlu potent bir sitokindir ve esas olarak endotel hücrelerinden salgılanmaktadır. VEGF endotel hücreleri için spesifik bir mitojen ve anjiyogenik faktördür (41). Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur (42). VEGF ailesinin tüm üyeleri; vücutta olagelen birçok fizyolojik (vaskülojenez, anjiyenez veya kemotaksi gibi) ve patolojik olayda (kanser, neovasküler hastalıklar veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi) rol almalarından dolayı son yıllarda oldukça popüler olmuştur (43, 45).

Anjiyogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan VEGF'dür. İlk bulunduğu yıllarda tek bir üyeden oluştuğu düşünülse de yapılan çalışmalarla bunun birçok üyesi olan bir aile olduğu ortaya konuldu. VEGF ailesi VEGF-A (Human- VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF (Plasental büyüme faktörü) ve svVEGF(yılan zehiri VEGF, VEGF-F) adı verilen üyelerden oluşur. (Tablo 3)

Literatürde yer alan çoğu makalede VEGF olarak adlandırılan büyüme faktörü, aslında Human-VEGF' ü ya da diğer adıyla VEGF-A'yı tanımlamaktadır (9). VEGF spesifik bir gen tarafından kodlanır ve yapılarındaki aminoasit sayısına göre belirlenmiş farklı izoformları vardır: VEGF121, VEGF145, VEGF148, VEGF162, VEGF165, VEGF165b, VEGF183, VEGF189, VEGF206. En çok bilinen major izoformlar VEGF121, VEGF165, VEGF189, VEGF206'dır. İnsanlarda en fazla VEGF165 izoformu bulunur, büyük oranda heparine bağlanarak salgılanmaktadır ve anjiyenezde ana rol oynayan formdur (44).

Reseptörler	Büyüme Faktörleri	Biyolojik Etkileri
VEGFR-1	VEGF-A VEGF-B svVEGF PIGF	Hücre-hücre ve hücrematriks ilişkisinin kontrolü, vaskülogenez ve tuzak reseptör, Anjiogenez ve Vasküler devamlılık
VEGFR-2	VEGF-A VEGF-C VEGF-D VEGF-E svVEGF	Anjiogenez, proliferasyon ve migrasyon
VEGFR-3	VEGF-C VEGF-D	Lenfanjiogenez, lenfatik metastaz
sVEGFR-1	VEGF-A VEGF-B svVEGF PIGF	VEGFR-1'in kompetitif inhibitörü
sVEGFR-2	VEGF-A VEGF-C VEGF-D VEGF-E svVEGF	sVEGFR-1'e benzer etki ?

Tablo 3: VEGF reseptörleri, ligandları ve etkileri

2.1.1- Vasküler Endotelial Growth Faktör Reseptörleri

Bu büyüme faktörü ailesinin endotel hücrelerinde etki gösterebilmesi için öncelikle ona bağlanabilmesi gerekir. Bir başka deyişle, endotel hücreleri VEGF'den faydalanabilmek için onun bağlanabileceği özgül reseptörleri sentezlemesi gerekir. Bu reseptörler 5 tanedir: VEGF reseptör-1(VEGFR-1), VEGF reseptör-2(VEGFR-2), VEGF reseptör-3(VEGFR-3), solubl VEGFR-1(sVEGFR-1) ve solubl VEGFR-2(sVEGFR-2). İlk bulunan reseptörler VEGFR-1 ve VEGFR-2'dir. Bunlar ilk olarak embriyogenez sırasında sentezlenirler (46). Bu iki reseptörün aminoasitlerinin %44'ü ortaktır. Bu reseptörler yaklaşık 1300 aminoasitten oluşur ve iki bölüm içerirler. Birinci

bölüm, hücre içinde kalan ve tirozin kinazın etkinlik alanlarını içeren hücre içi bölümdür. İkinci bölüm ise, hücre dışında kalan tek kısa membran köprüleri dizisi ve ligand bağlama bölgeleri içeren 7 adet immünoglobülin benzeri yapıdan oluşan hücre dışı bölümdür (47).

Diğer büyüme faktörlerinin transmembran tirozin kinaz reseptörleri gibi VEGF reseptörleri de, özgül ligandlarına bağlandığında dimerizasyon geçirmekte ve bu da hücre içerisindeki mekanizmaları tetikleyerek cevap oluşturmaktadır. VEGF'ün uyardığı endotel hücre reseptörleri sinyal iletimi sağlayan birkaç proteini fosforile eder. Bu da ikincil habercilerin oluşmasına katkıda bulunarak, mesajın hücre içinde taşınmasını sağlar (48). Heparan sülfat da önemli bir rol üstlenerek VEGF'ün reseptörüne bağlanmasına yardım eder ve bu olayı düzenler (46). VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin farklı sinyal özellikleri olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar VEGFR-1'in hücre-hücre veya hücre-matriks etkileşimlerinin kontrolü ile doku mimarisinin belirlenmesinde ve vaskülojenezde rolünün olduğunu, ancak VEGF'ün etki mekanizmasında önemli olmayıp, aksine tuzak ve yanıltıcı bir reseptör olduğunu göstermiştir. (5).

VEGFR-2 VEGF'ün etkilerine aracılık ederken, VEGFR-1 ise ya yanıltıcı olarak görev yapmakta ya da sinyalizasyonu baskılayarak negatif bir etki göstermektedir (46). (Tablo 3) VEGFR-2; VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve svVEGF'ün etkilerine aracılık eder. Farelerde yapılan bazı çalışmalarda, VEGFR-2'nin noksan veya bozuk ekspresyonunda bu hayvanların hematopoietik prekürsörlere, farklılaşmış endotel hücrelerine ve organize kan damarlarına sahip olmadıkları görülmüştür. Bu da VEGFR-2'nin hem endotelial, hem de hematopoietik öncül hücrelerin gelişimi için zorunlu olduğunu göstermiştir. Bunun aksine; VEGFR-1'in yapımındaki aksaklıklarda, olgun endotel hücreleri oluşabilmesine rağmen, bu damarların aşırı genişlediği ve yapısal bozukluklara sahip olduğu görülür. Bu olay da VEGFR-1'in hücre-hücre veya hücre-matriks etkileşimlerinin kontrolü ile doku mimarisinin belirlenmesinde rolü olduğunu göstermiştir (5).

VEGFR-1, VEGF-A ve PlGF'e yüksek affinite ile bağlanır ama iyi bir proliferasyon ve kemotaktik cevap elde edilemez. Ancak, PlGF'e bağlanmayan ama VEGF'e sıkıca bağlanan VEGFR-2 ile iyi cevap alınır (42). Yapılan bir çalışmada, bu reseptörlerden yoksun domuz aortik endotel hücrelerine sadece VEGFR-2 kodlayan bir plazmid verildiğinde bu hücrelerin mitoz geçirdikleri ve kemotaksiste yer aldıkları gösterilmiştir (43). Bu da bize VEGFR-2'nin mitoz ve kemotaksisten sorumlu

olduğunu gösterir (Tablo 3). İnsan göbek kordonu veninden elde edilen endotel hücre kültüründe serumsuz ortamda VEGFR-2 aktive olduğunda antiapoptotik etkilerin de gerçekleştiği gösterilmiştir (47). PIGF'ün VEGFR-1'e kuvvetle bağlanarak etkisini gösterdiği, VEGFR-2'ye bağlanmadığı görülmüş ve bu nedenle endotel hücrelerinde doğrudan mitojenik ve permeabilite artırıcı etkisinin olmadığı gösterilmiştir (49).

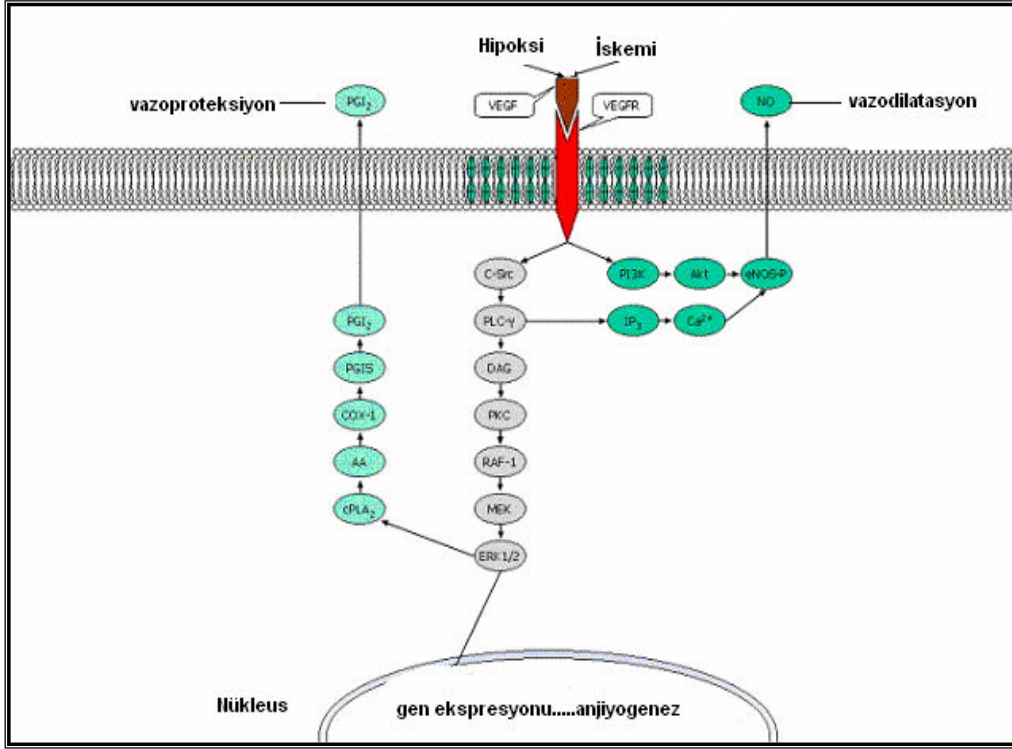
Daha sonraki çalışmalarda, bir başka VEGF reseptörü daha bulundu ve VEGFR-3 adı verildi. Bu reseptörün özellikle lenfatik damarların gelişiminde rol alan VEGF-C ve VEGF-D'nin bağlandığı reseptörler olduğu ve lenfanjiojenizde rol aldığı saptandı (5). Bunun yanı sıra, Malign melanoma ve meme kanseri gibi bazı solid tümörlerde VEGFR-3'e bağlanan VEGFC ve VEGF-D seviyelerinin yükselmesinin lenf bezi metastazı ile birlikte olduğu görüldü (9). Bu üç reseptörün yanı sıra plazmada VEGFR-1'ün 7 tane Ig benzeri bölümünün altısını içeren ve kanda serbest olarak dolaştığı tesbit edilen bir başka reseptöre rastlanmıştır, bunun VEGFR-1'in çözünebilir bir formu olduğu düşünülmüş ve çözünebilir-VEGFR-1 (sVEGFR-1) adı verilmiştir (50). Meme kanseri, beyin iskemisi, preeklamps gibi patolojik durumlarda yapılan çalışmalarda kanda yüksek miktarlarda sVEGFR-1 bulunmuştur. Yine bu hastaların dolaşımdaki VEGF ve PIGF seviyeleri de düşük bulunmuştur (51). Kısa bir süre önce, VEGFR-2'nin de plazmada serbest olarak dolaşan çözünebilir bir formu olduğu tesbit edilmiş, buna da sVEGFR-2 adı verilmiştir (52). Bu reseptörün de sVEGFR-1'le benzer şekilde anjiojenezi engelleyici rol oynadığı düşünülmekte ve çalışmalar bu yönde sürmektedir. (Tablo 3)

2.1.2- Vasküler Endotelial Growth Faktör Sentezi

Endotel hücreleri için önemli bir mitojen olan ve migrasyon etkisine sahip bu faktör, fizyolojik olarak ovülasyondan hemen önce ovaryum folliküllerinden salgılanarak yeni damarların oluşumunu artırırken, ovülasyondan sonra bu salgılama görevini korpus luteum üstlenir. Erken implantasyon döneminde embriyotrofoblastlarınca salgılanır (53). Embriyolojik gelişimin ilk dönemlerinin sonuna doğru VEGF biraz azalırken, organogenez döneminde oldukça yükselir. Yine VEGF yetişkinde akciğer alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde gösterilmiştir (54). Ayrıca, adrenal korteksin tüm hücrelerinde ve testiste testosteron üreten Leydig hücrelerinde VEGF yapımına ait mRNA'ların sentezlendiği gösterilmiştir. VEGF'ün

gösterilmesi için yapılan immunositokimyasal çalışmalarda aktive makrofajlarda, arteriollerini çevreleyen fibroblastlarda, akciğer bronşiyol epitelinde, koroid pleksus epitelinde ve renal glomerül visseral epitelinde varlığı gösterilmiştir. VEGF mRNA'sının transkripsiyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), epidermal büyüme faktörü (EGF), tümör nekrosis faktör- α (TNF- α), transforming büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) ve interlekin- β 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Böylece bu maddelerin mitojenik olmadığı, VEGF salgılanmasına yol açarak mitojeniteyi arttırdıkları gösterilmiştir (42). Ayrıca protein büyüme faktörlerinin haricinde, forbol esterleri ve prostaglandin E2 (PGE2) gibi bazı küçük mediatörlerin de VEGF ekspresyonunu düzenledikleri görülmüştür (55). Hipoksi ve iskemi belki de, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan en etkili stimuluslardan biridir (Şekil 1). Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilebilir. Yine tıkanmış kalp damarlarına bağlı gelişen hipoksi sonrasında da VEGF ekspresyonu artmaktadır. Hipoksinin VEGF'ü artırma mekanizmasının sadece bir kısmı çözülebilmektedir. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir. Hipoksinin yanında azalan pH ve sitokinler ile de VEGF ekspresyonu artmaktadır (46).

VEGF-A, yeni kan damarı gelişimi ve immatür kan damarlarının devamlılığını tirozin kinaz aktivitesine sahip VEGF reseptör-1 ve VEGF reseptör-2'e bağlanarak sağlamaktadır. Her iki reseptör de damar duvarındaki endotel hücrelerinde eksprese edilmektedirler. VEGF bu reseptörlere bağlandığı zaman sinyal kaskadını başlatarak vasküler endotel hücrelerinin büyümesini ve proliferasyonunu başlatmış olur. Tüm bunların sonucunda hedef hücrede gen transkripsiyonu etkilenir. Bu yolun şeması şekil 1'de gösterilmektedir (40).



Şekil 1: Hipoksi ve iskeminin VEGF reseptörlerini indükleyerek anjiogenezisi başlatması (40)

2.1.3- Vasküler Endotelial Growth Faktör Fonksiyonları

VEGF ailesi insanın tüm vücuduna dağılmış, vasküler sistem boyunca dizilmiş endotel hücreleri için bilinen en özgül mitojendir. Vaskülojeniz ve anjiogenezde önemli bir mediatördür (10). Anjiogenez etkilere ek olarak, endotelial hücrelerin migrasyon aktivitesini uyarmaktadır. Bu faktörün geri çekilmesi halinde vaskülarizasyonun gerilediği gözlenmiştir (7). VEGF sayesinde endotel hücreleri proliferasyon yapmak ve bu büyüme faktörüne doğru göç edip dizilerek yeni damarlar için öncü olan tüp formasyonu oluşmasını sağlamaktadır. Dermal yaralanmaları da içeren birçok yaralanmada; normal doku tamirinin ayrılmaz bir parçası olan anjiogenez, yaralanmadan hemen sonra yüzeysel epidermal keratinositler tarafından salgılanan VEGF tarafından indüklenir. Bu sayede bir yanda kan akımının artması gerçekleşirken, diğer yandan yaralanma bölgesinde yeni kan damarları oluşumu tetiklenir ve iyileşme hızlanır. Eksojen olarak verilen VEGF'ün iskemik tavşan ekstremitelerinde ve domuz koroner arterlerinde azalmış kan akımına cevap olarak yeni damar oluşumunu ve perfüzyonu artırdığı gösterilmiştir (56). VEGF'ün bu

anjiojenik etkileri bazı hastalık durumlarında klinik olarak faydalı olabilir. Ayrıca miyokardial iskemilerde ve periferik uzuv iskemilerinde kollateral damar oluşumuna öncülük eder (57). Endokondral kemik oluşumunda da anjiojenezin ve dolayısıyla VEGF'ün önemli rolü vardır. Gelişim sırasında, epifizyal büyüme plaklarındaki hipertrofik kondrositlerin apoptozisi için gerekli sinyallerin gelmesi yeni kan damarları ile olur. Bu amaçla, bölgedeki hipertrofik kondrositler tarafından VEGF salgılanır ve yeni damarların oluşması sağlanır (7). VEGF'ün aynı zamanda osteoblastlar üzerinde de kemotaktik etkileri vardır ve bu etki VEGFR-1 üzerinden yürümektedir (50). VEGF; endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunun yanı sıra, kemik iliğinden endotelial öncü hücrelerin periferik dolaşıma geçmesinde de önemli rol oynar (58). Ayrıca, VEGF'ün endotel hücrelerini apoptozise karşı koruduğu da bilinmektedir (59). Anjiojenez sırasında dokular içine ilerleyen kapillerlerin penetrasyonunu sağlayan kollajenaz ve plazminojen aktivatörlerinin ekspresyonuna da yardımcı olur (50). Literatürde serebral iskemi ve beyin ödemi gibi hipoksi oluşturan durumlarda VEGF salınımının arttığı gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada; VEGF reseptörlerinin beyindeki endotel hücrelerinden başka, nöron ve glia hücrelerinin zarında da bulunması oldukça ilginçtir. Bu bulgu, bize VEGF'ün bu hücreleri de etkileyebildiğini göstermiştir (60). VEGF'ün bir diğer etkisi de; nitrik oksit salınımını ve nitrik oksit aracılı vazodilatasyonu uyararak hipotansif bir etki yaratmasıdır. Vasküler endotel hücrelerin non-mitojenik cevaplarından olan kemotaktik olaylarda VEGF'ün önemli rolü olduğu gösterilmiştir (42). İnflamasyon esnasında vasküler permeabiliteyi; histamin, bradikinin, lökotrien-B₄, lökotrien-C₄ ve lökotrien-E₄'den daha etkili arttırabilir. Bu ise hem inflamasyonun hızlanmasına, hem de yanıtın artmasına yol açmaktadır. Ayrıca, VEGF deriye bir kez intradermal olarak enjekte edildiğinde, 5 dakika içerisinde vasküler bir sızıntı başlatmakta ve 15-20 dakika sonra sızıntı sona ermektedir. Ancak sağlam nöral dokularda doğal olarak eksprese olan VEGF veya onun bu bölgelere intravasküler olarak enjekte edilmesi vasküler sızıntıya neden olmaz. Bu da, vasküler sızıntı oluşumunda VEGF yanında henüz bilinmeyen başka maddelerin de rol aldığını gösterir (54). VEGF bu etkilerine ek olarak, inflamasyonun geç dönemlerinde etkili olan monositler için güçlü bir kemotaksindir. Monosit ve makrofaj kökenli sitokinlerle birlikte endotelial doku faktörünün artışı sağlayarak, koagülasyonun major komponentleri arasına girer. Bunun yanı sıra, granülosit-makrofaj öncül hücrelerin koloni oluşturmalarını sağlar (50).

Patolojik neoanjiyenez olarak sınıflandırılan bazı oküler hastalıklarda oluşan yeni damarların sebebinin artmış VEGF olduğu gösterilmiştir. Bunların tedavisinde anti-VEGF ajanlar verilmektedir (61). Yine romatoid artrit, psöriazis ve kontakt dermatitte VEGF'ün arttığı rapor edilmiştir. Bu çalışmalarla, VEGF'ün bazı hastalıklarda artarak hastalığında ilerlemesine aracılık ettiği gösterilmiştir (9).

3- DENEYSEL SEREBRAL İSKEMİ MODELLERİ

Serebral iskeminin patofizyolojisi temelde deneysel çalışmalara bağlıdır. Klinik uygulamada iskeminin önemi, beyin iskemisi için araştırmacıları deneysel modeller oluşturmaya ve geliştirmeye itmiştir. Uygulanan çeşitli modellerde; tüm ya da bölgesel, tam ya da tam olmayan, kalıcı ya da geçici iskemiler oluşturulmuştur. Deneysel serebral iskemi çalışmalarında yaygın olarak kullanılan ratlarda amaca göre çok çeşitli global ve fokal serebral iskemi modeli oluşturulmuştur. Serebral iskeminin deneysel verilerinin yorumu için verilerin hangi şartlarda ve hangi serebral iskemi modeli ile toplandığı ayrıntılı olarak bilinmelidir. Serebral iskeminin patofizyolojisi göz önüne alındığında kan akımının azaltılması üç ana kategoride oluşturulmaktadır (62, 63). Bugüne kadar yapılan yayınlardan elde edilen bilgilere göre deneysel serebral iskemi modelleri tablo 4'deki gibi sınıflandırılabilir.

Fokal Serebral İskemi	Global Serebral İskemi	Mikroembolizm
İntrakranial Vasküler oklüzyon	Kardiak Arrest	
Mikrosirkülatuar Oklüzyon	Komplet Beyin İskemisi (dört damar oklüzyon modeli)	
Ekstrakranial Vasküler Oklüzyon	İnkomplet Beyin İskemisi (iki damar oklüzyon modeli)	

Tablo 4: Deneysel serebral iskemi modelleri sınıflandırılması

3.1- İki Damar Oklüzyon Modeli

Bu model dört damar oklüzyon modeline alternatif bir model olarak sunulmuştur. İki damar oklüzyon modelinde günümüzdeki uygulama şekli her iki common carotid arterin bağlanması ve yeterli iskemi sağlamak için kontrollü kanama ile kan basıncının 50 mm/Hg'a kadar düşürülmesi şeklinde önerilmektedir. Bu modelde serebral kan akımını 5-15 dakika arasında kesilmesi serebral neokortekste %5 lik bir alan, caudoputamen, hipocampus, singulate korteks'te %15'lik bir alanda ve daha az oranlarda talamus, globus pallidus ve mezensefelonda iskemi oluşturmaktadır. Smith ve ark. 1984'te 2 dk kadar küçük bir iskeminin hipokampus ve subiculumdaki CA4 ve CA1 piramidal nöron hasarına öncülük ettiğini göstermiştir. Neokortikal nöron hasarının olaya katılması iskeminin 4. dk sonrası olmaktadır, caudoputamen ise 8-10 dk sonra hasarlanmaktadır. Özet olarak 2 damar oklüzyon modeli tek aşamalı cerrahi hazırlık yapılmasına müsaade etmesi, yüksek dereceli ön beyin iskemisi yapması, normokarbi ve normoksiden emin olacak şekilde ventilasyon kontrolü sağlanması, serebral resirkülasyonun kolayca sağlanması, uzun süreli sağkalımlar için uygun olması, düşük başarısızlık oranı ve dört damar oklüzyon modelinde görülen yetersiz iskemi derinliği ve erken ölümlerin görülmemesi bu modelin avantajlarıdır. Dezavantajları ise sistemik hipotansiyon yapılmasına ihtiyaç duyulması halinde standartizasyonun sağlanamamasıdır (64).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

1- KULLANILAN DENEKLERİN BAKIM YERİ VE KOŞULLARI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında yetiştirilen, ağırlıkları 230-260 gr arasında değişen, normal motor aktiviteye sahip, 18 adet Wistar Albino türü dişi rat çalışmaya alınmıştır. Denekler, 12 saat gece ve 12 saat gündüz fotoperiyot uygulanan ve adlibitum olarak beslenen standart laboratuvar koşullarında izlenmiştir.

2- KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR

Ketamin (Ketalar, Parke-Davis. Eczacıbaşı, İstanbul)
Ksilazin (Rompun, Bayer, İstanbul)
Polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun)
Sefazolin Sodyum (Sefazol, Mustafa-Nevzat, İstanbul)

3- ANESTEZİ

Cerrahi işlem öncesi tüm gruptaki deneklere intraperitoneal olarak 35 mg ketamin + 5 mg ksilazin uygulanarak anestezi sağlanmıştır.

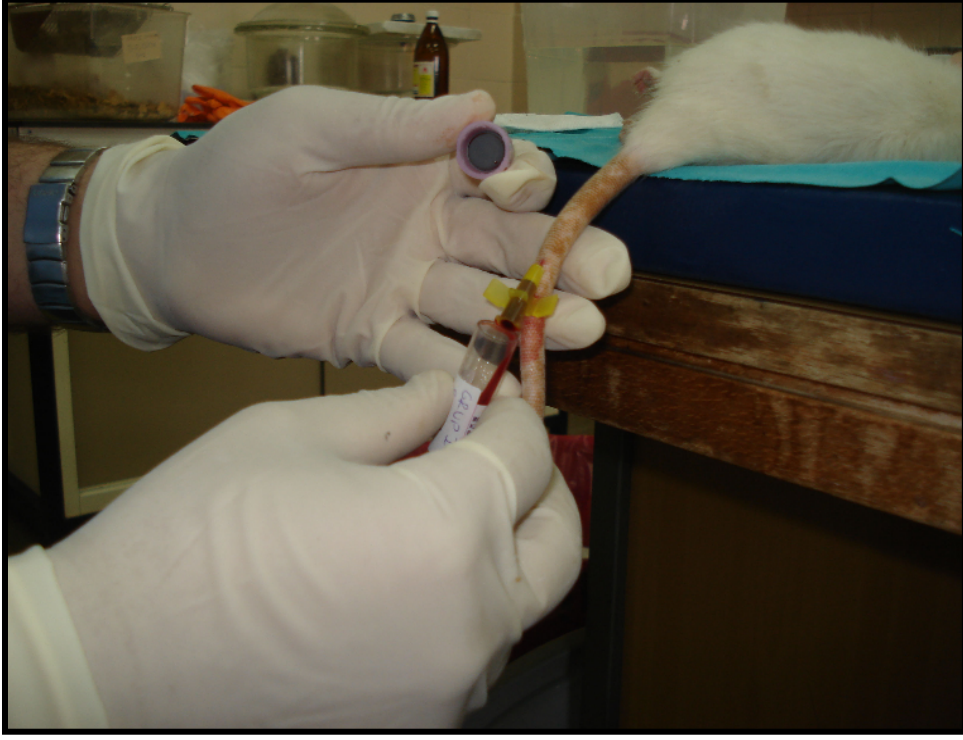
4- DENEY GRUPLARI

Çalışma her grupta 6 adet rat kullanılan 3 ana grup olarak planlanmıştır.

Grup 1 : Cerrahi işlem uygulanmayan grup
Grup 2 : Sadece sağ karotid arteri kapatılan grup
Grup 3 : Sağ karotid arteri kapatılıp ve sol karotid artere 10 dakika geçici klipaj uygulanarak kapatılan grup

5- CERRAHİ İŞLEM

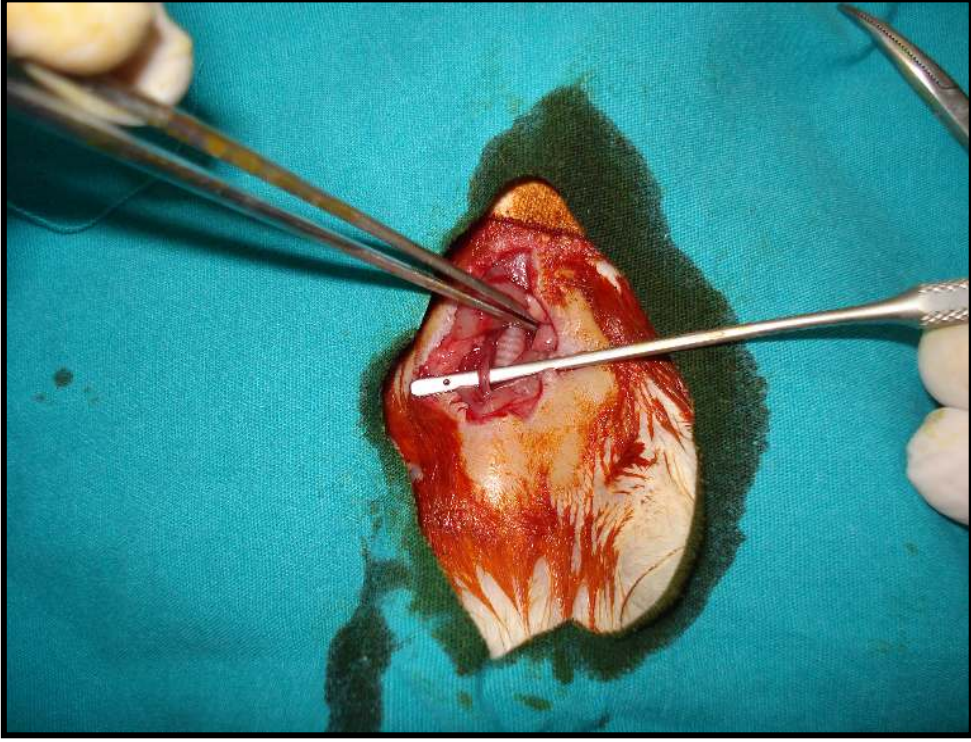
Denekler, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı operasyon salonunda, steril şartlarda opere edildi. Deneklere su içmelerine izin verilecek şekilde aç bırakıldı ve 3 gruba ayrıldı. Her 3 gruptaki denekler kulaklarına kesi ile işaretlenerek 6'ya kadar kod numaraları verildi (denek 1: kesi yok, denek 2: sağ kulakta bir kesi, denek 3: sol kulakta bir kesi, denek 4: sağ kulakta iki kesi, denek 5: sol kulakta iki kesi, denek 6: sağ kulakta bir, sol kulakta bir kesi). Cerrahi işlem öncesi tüm deneklere intraperitoneal olarak 35 mg ketamin + 5 mg ksilazin uygulanarak anestezi sağlandı. Deneklerin kuyruk venlerinden(dorsal 1 ve lateral 2 adet) 2 ml Edta'lı tüpe (BD Vacutiner) kan alındı (Resim 1) ve alınan kanlar Biyokimya A.D'ına teslim edildi. Daha sonra denekler sırtüstü pozisyonda 4 ekstremitesi ve başı hafif ekstansiyonda tespit edildi. Tüm deneklerin genel anestezi altında boyun bölgesi traş edilerek Polyvidon iyot ile lokal antisepsi sağlanarak pretrakeal orta hat insizyonu yapıldı (Resim 2). Cilt, cilt altı dokuların geçilmesini takiben orta hatta trakea görüldükten sonra bilateral posterolateralde karotid arterler görüldü ve künt disseksiyonla etraf dokulardan serbestleştirildi (Resim 3). Grup 1'de bu işlem sonrası operasyona son verilerek katlar usulüne uygun olarak kapatıldı. Grup 2'de sağ karotid arter 3/0 ipek ile proksimal ve distal uçtan bağlandıktan (Resim 4) sonra kesilerek total oklüde edildi (Resim 5). Grup 3'te ise sağ karotid artere aynı işlemin uygulanmasını takiben Yaşargil anevrizma klibi ile sol karotid arter 10 dakika boyunca geçici olarak oklüde edildikten sonra klip kaldırılarak cerrahi işleme son verildi (Resim 6). Bu işlemler yapılırken deneklerin karotid arterlerin zedelenmemesine dikkat edildi. Standartizasyon amacıyla 63 gramlık kuvvet uygulayan Yaşargil anevrizma klibi (Aesculap FE 721 K) ile karotid arterleri çepeçevre saracak şekilde 10 dakika süreyle klipaj uygulandı (Resim 5). Çalışmada 2 damar oklüzyon modeli uygulandı (64).



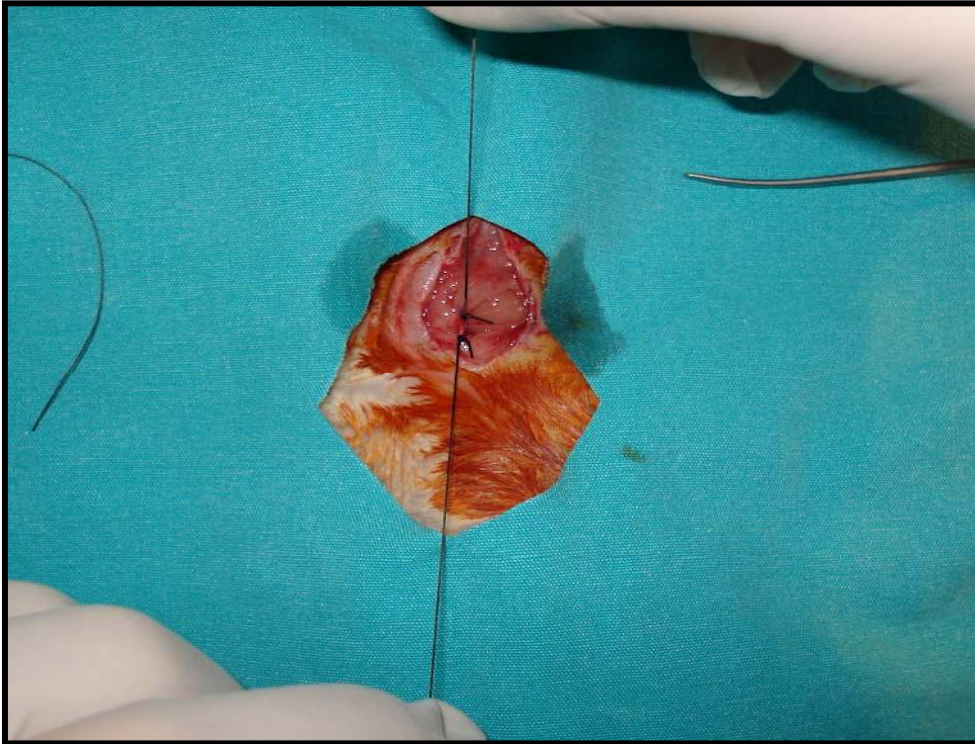
Resim 1: Deneklerin kuyruk venlerinden kan alınması



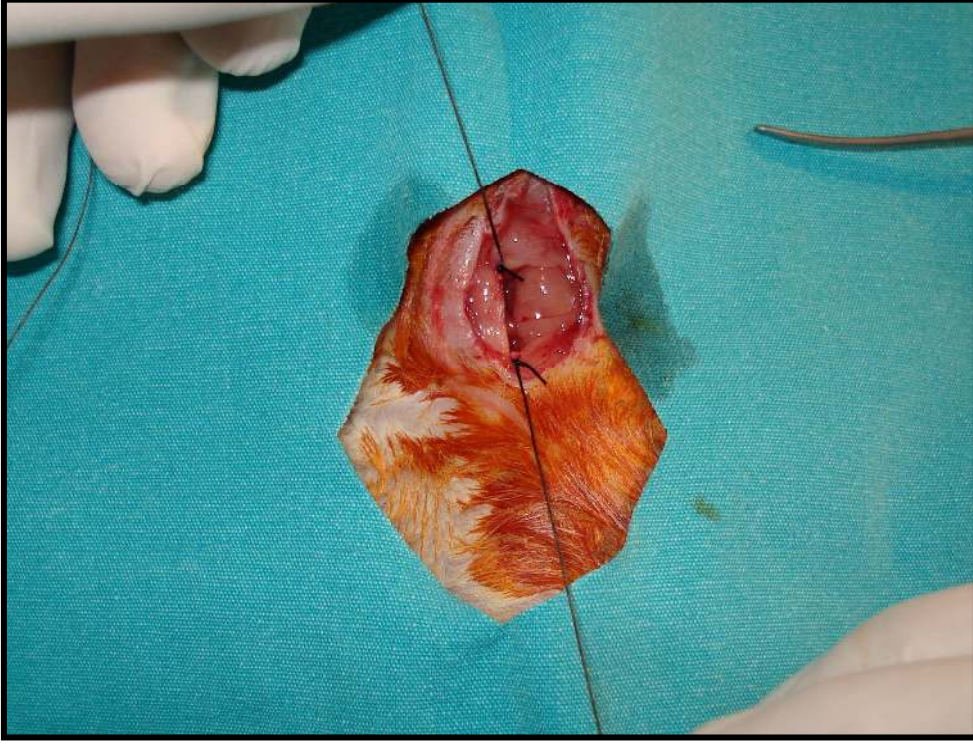
Resim 2: Pretrakeal orta hat cilt insizyonu



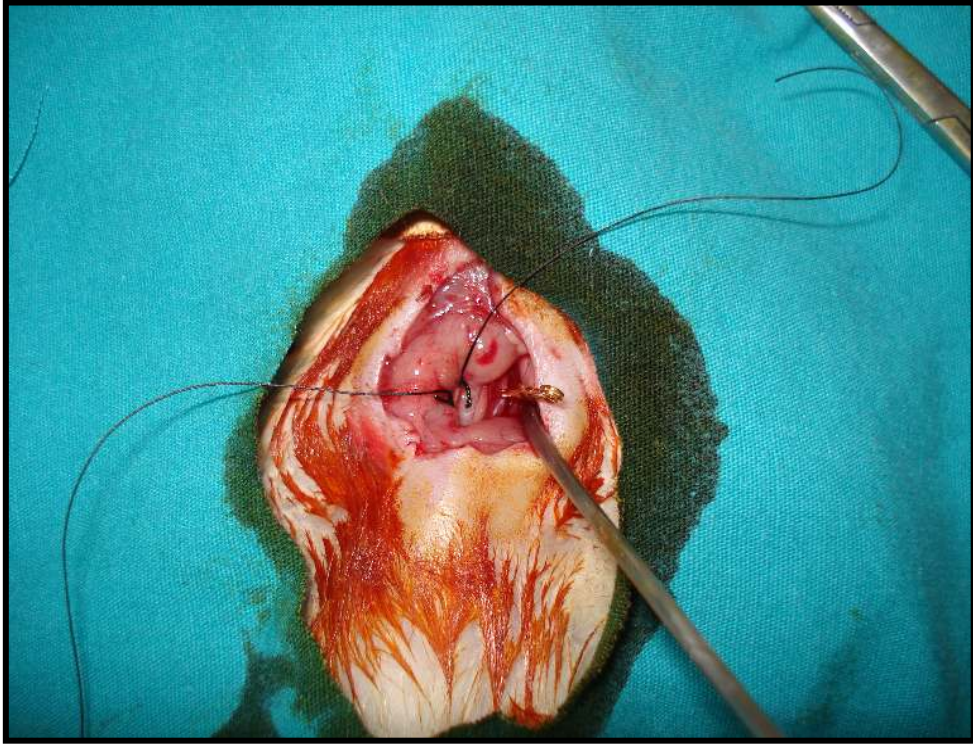
Resim 3: Trakea posterolateralinde sağ karotid arterin etraf dokudan disseksiyonu



Resim 4: Sağ karotid arterin 3/0 ipek sütür ile bağlanması



Resim 5: Sağ karotid bağlandıktan sonra kesilerek total oklüzyonu



Resim 6: Sağ karotid arterin oklüzyonu sonrası sol karotid artere geçici klipaj uygulanması

6- DENEY HAYVANLARININ POSTOPERATİF İZLEMLERİ VE SAKRİFİKASYONU

Tüm denekler postoperatif dönemde, derlenme sürelerinin sonunda kafeslerine yerleştirildi ve serbestçe beslenmelerine izin verilerek, takip süreleri boyunca günde bir kez pansuman yapıldı. Tüm deneklere cerrahi saha enfeksiyonundan korunmak amacı ile ilk 3 gün intraperitoneal 40 mg/kg/gün sefazolin sodyum (Cefamezin, Eczacıbaşı İlaç San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye) uygulandı. Denekler çalışma sonrası 10 günlük izlemi takiben intravenöz 100mg/kg fenobarbital uygulanarak sakrifiye edildi.

7- BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

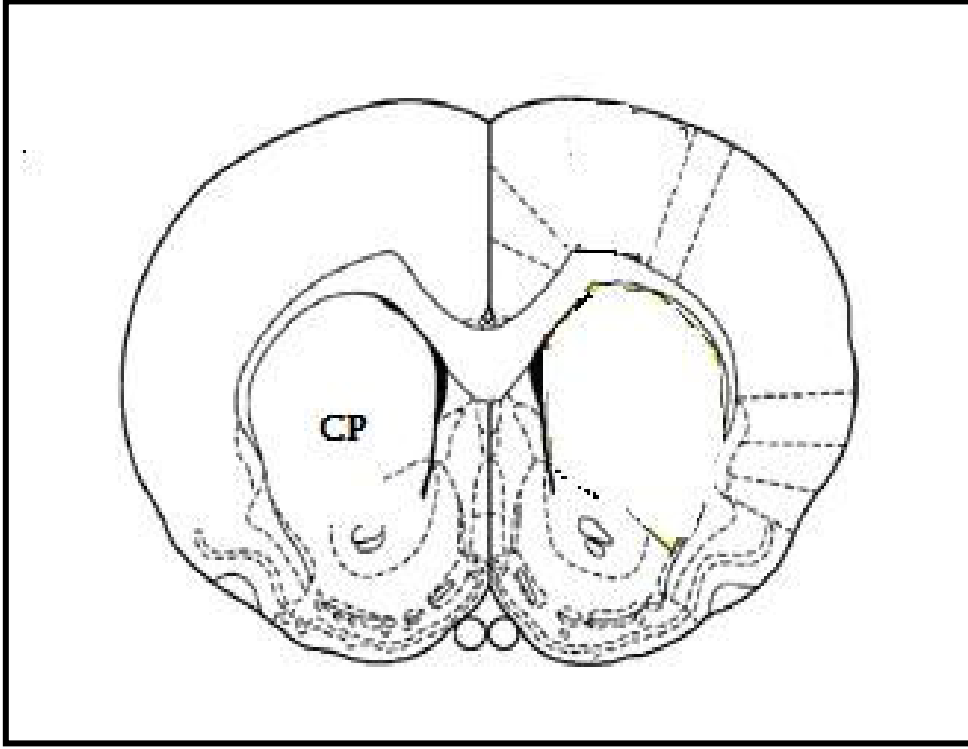
Denekler cerrahi işlem sonrası(10. gün) tüm gruplardan genel anestezisi altında kuyruk venlerinden 2 ml kan Edta'lı tüpe (BD Vacutiner) alındı. Cerrahi işlem öncesi(0. gün) alınan kan örnekleriyle birlikte bütün kan örnekleri Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında gruplara uygulanan işlemleri bilmeyen bir Biyokimya uzmanı tarafından değerlendirmeye alındı. Kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edilip serumlar ayrıldı ve çalışmaya alınincaya kadar tüm örnekler -80 °C'de saklandı. Serumda sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 konsantrasyonları ELISA yöntemiyle, sandviç antijen-antikor reaksiyonu kullanılarak, spektrofotometrik olarak Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Öğrenme Kaynakları Merkezi Araştırma Laboratuvarında(ARLAB) çalışıldı. (Uscn Life Science Inc. Wuhan, P.R. China). Deteksiyon limiti sVEGFR-1 için 0,039ng/mL, sVEGFR-2 için 0.081ng/mL kabul edildi.

8- HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

Denekler 10. gün sonunda tüm gruplara intravenöz 100 mg/kg fenobarbital uygulanarak sakrifiye edildi ve beyin (Resim 8, 9) hızlıca çıkarılarak ve beyin dokularına kod numaraları verilerek fiksasyon sağlamak amacıyla içerisinde %10'luk formaldehit solüsyonu bulunan kaplara konuldu. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda görevli, gruplara uygulanan işlemleri bilmeyen bir Patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmeye alındı.

8.1- Hematoksilen-Eozin İle Boyama Ve Işık Mikroskopisi

Formaldehit solusyonu içerisinde bulunan dokular musluk suyunda yıkandı ve dehidratasyon için sırasıyla %70'lik, %80'lik , %90'lık ve %96'lük alkol serilerinden geçirildi. Bir sonraki aşamada ise şeffaflaştırma amacıyla ksilol serilerinden geçirildi. Son olarak 60 °C'lik etüvde parafinde bekletilerek parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklardan çoklu, sıralı ve 2 µ kalınlığında koronal düzlemde bregmanın 0,2 mm önünden caudaputaminal bölge hedeflenerek kesitler alınarak 60 °C'deki etüvde 45 dk bekletildi. Daha sonra 2 kez ksilolden, 4 kez de dereceli alkol serilerinden geçirildi (sırasıyla %96, %90, %80, %70), musluk suyunda yıkandı ve 30 sn hematoksilen ile boyanıp asit alkole daldırıldı. Ardından 1 dk. Eozin ile boyandı, tekrar yıkandı ve alkol serilerinden geçirilerek ksilol ile muamele edildi. En son aşamada da entellan (Merc) damlatılarak lamelle kapatıldı. Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyanan kesitler sağ hemisferde caudaputaminal bölgede iskemik alan görüldükten sonra o bölgeden immunohistokimyasal değerlendirme yapmak için hazırlandı. (Şekil 2) (Resim 7, 10)



Şekil 2: Rat beyin koronal düzlemde caudoputaminal (CP) bölgenin şematik olarak görülmekte (65).

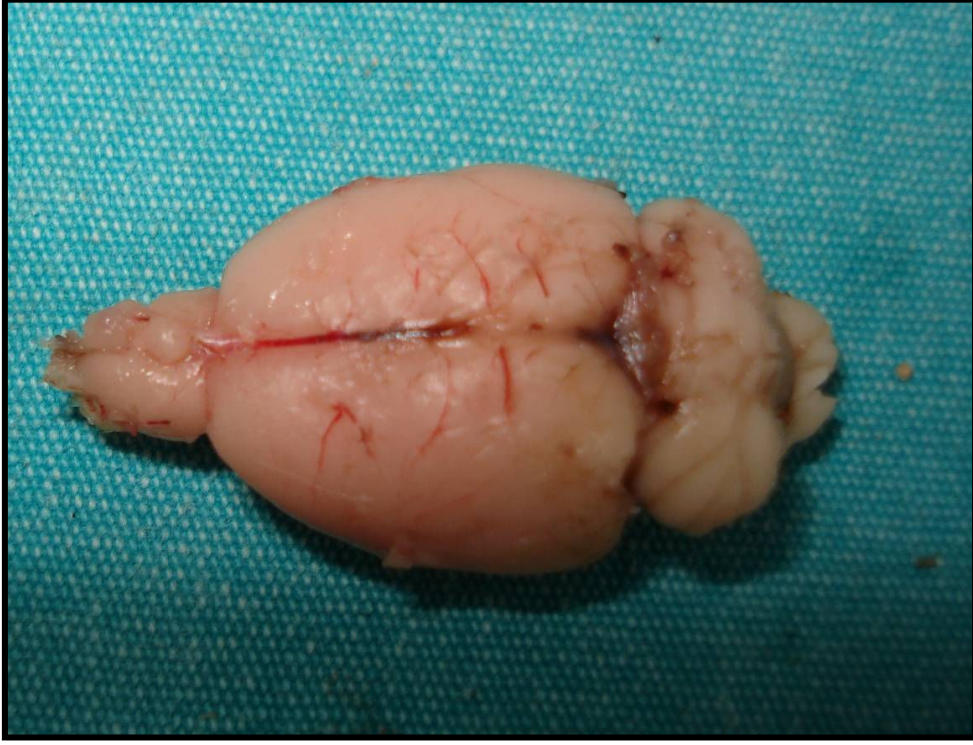


Resim 7: Rat beyin koronal düzlemde alınan kesite ait görünüm (H&E)

8.2- İmmunohistokimyasal Boyama

Parafine gömülen doku 12 saat bekledikten sonra 2 mikronluk kesitler lizinli lama alınarak 1 saat 70 ° C etüvde bekletildi. Etüvden çıkartılan kesitler 20 dakika ksilolde bekledildikten sonra azalan alkol seviyelerinden(%96, %90, %80, %70) geçirildikten sonra musluk suyunda yıkandı. Kesitler Edta-Bufferla 7 dakika kaynatıldıktan sonra tris sıvısına alınıp 5 dakika bekletildi. Tristen çıkarılan kesitlerin üzerine H₂O₂ damlatılıp 15 dakika bekletildi. Tekrar tiste yıkanıp UV blok solusyonu damlatılıp 5 dakika bekledildikten sonra silkelenip VEGF antikoru (1:100 dilüsyon oranında, Santa Cruz Biotechnology) damlatılıp 1 saat bekletildi. Tris yıkama solusyonundan geçirilen kesitler anti-rabbit(sarı renk) damlatılıp 20 dakika bekletilip tris ile yıkadıktan sonra HRP(Horseradish Peroxidase)(kırmızı renk) damlatılıp 20 dakika bekletildi. Tekrar tristen geçirilen kesitler DAB(diaminobenzidine) (Santa Cruz Biotechnology) ile 7 dakika sonra suda yıkandıktan sonra kesitler kahverengine dönüştü. Daha sonra H&E Mayer'de 5 saniye bekletildikten sonra bol su ile yıkandı. Kesitler yükselen alkol seviyelerinden(%70, %80, %90, %96) geçirildikten mikroskopide şeffaf görünmesi için ksilol içerisinde 5 dakika bekletilip 1 damla entellan(Merc) damlatılıp 45 derece açıyla lamel ile kapatıldı ve kesitler immunohistokimyasal incelemeye hazır hale getirildi. İmmunboyamanın sonuçları her örnek için ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Alternatif kesitlerde rutin boyama işlemi yapıldığında primer antikor yokluğunda immün boyama gözlenmemiştir.

Boyamada skorum: boyanma yok (-), boyanma var; hafif 1(+), orta 2(+) , şiddetli 3(+) olacak şekilde değerlendirilmiştir (14).



Resim 8: Çıkarılan rat beyin üstten görünümü



Resim 9: Çıkarılan rat beyinin alttan görünümü

9- İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

İstatistiksel analizde SPSS programının 15.0 versiyonu kullanıldı ve sonuçlar ortalama±standart sapma biçiminde verildi.

Gruplar arası karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis ve bunu izleyen Mann-Whitney U testleri ve Wilcoxon Signed Ranks Test kullanıldı. $P < 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Her grupta 6 denek olmak üzere, üç grupta toplam 18 denek kullanıldı. Çalışmadan çıkarılan denek olmadı.

1- VÜCUT AĞIRLIKLARI

Vücut ağırlıklarının ortalamaları karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,864$)

VÜCUT AĞIRLIKLARI	
GRUP 1	237,32 ± 8.49 gr
GRUP 2	240,01 ± 6.87 gr
GRUP 3	239,15 ± 7.52 gr

Tablo 5: Deneklerin vücut ağırlık ortalamaları (ort±SS)

2- BİYOKİMYASAL SONUÇLAR

Tablo 6’da grublara ait cerrahi işlem öncesi(0. gün) ve cerrahi işlem sonrası(10. gün) elde edilen sVEGFR-1 değerleri gösterilmiştir.

	Grup 1	Grup 1	Grup 2	Grup 2	Grup 3	Grup 3
	0. gün	10. gün	0. gün	10. gün	0. gün	10. gün
Denek 1	2,075	1,516	1,432	1,375	2,685	1,566
Denek 2	0,665	1,690	1,359	1,359	1,924	1,092
Denek 3	1,210	0,854	1,524	2,030	2,709	1,314
Denek 4	1,617	1,166	1,432	1,767	1,849	1,902
Denek 5	1,545	1,054	2,121	1,495	0,985	0,806
Denek 6	1,363	1,441	1,693	1,495	2,107	0,880

Tablo 6: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerleri (değerler: ng/mL)

Grupların cerrahi işlem öncesi ve sonrası sVEGFR-1 değerleri karşılaştırıldığında cerrahi işlem öncesi sVEGFR-1 değerleri ile cerrahi işlem sonrası sVEGFR-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. ($P=0,044$)

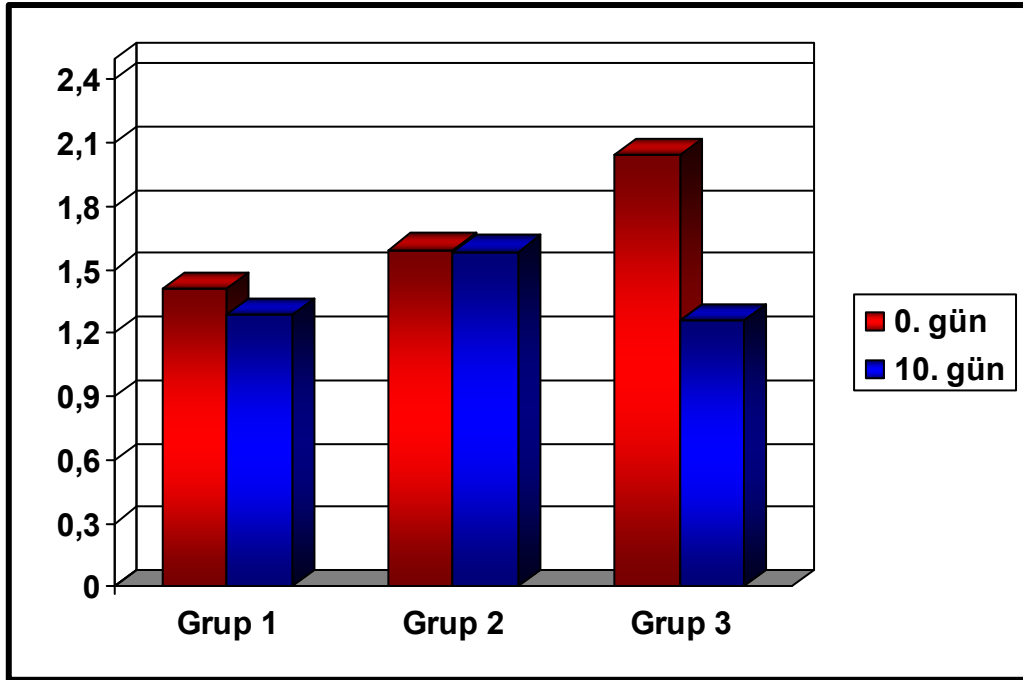
Gruplar arası değerlendirime yapıldığında ise üç grubun cerrahi işlem öncesi ve sonrası elde edilen sVEGFR-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)

Grup 3’te cerrahi işlem öncesi bakılan sVEGFR-1 değerleri, cerrahi işlem sonrasında 6 denek’in 5’inde azalma olduğu tespit edilmiştir. Grup 1 ve 2’de cerrahi işlem öncesi ve sonrası değerlerde belirgin bir fark izlenmemiştir. Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerlerinin ortalaması tablo 7’de gösterilmiştir.

	sVEGFR-1 0. gün	sVEGFR-1 10. gün
Grup 1	1,412±0,003	1,286±0,004
Grup 2	1,593±0,0004	1,586±0,004
Grup 3	2,043±0,001	1,260±0,0005

Tablo 7: sVEGFR-1'in ortalama değerleri (ort±SS)

Gruplar arası sVEGFR-1 değerlerinin ortalaması alınarak yapılan değerlendirmede grup 1 ve 2'de belirgin bir fark olmadığı, iki serebral arteri kapatılan Grup 3'te cerrahi işlem sonrası bir azalma olduğu görölmektedir. Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerlerinin ortalaması grafik 1'de gösterilmiştir.



Grafik 1: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-1 değerlerinin ortalaması

Tablo 8'de grublara ait cerrahi işlem öncesi(0. gün) ve cerrahi işlem sonrası(10. gün) elde edilen sVEGFR-2 değerleri gösterilmiştir.

	Grup 1	Grup 1	Grup 2	Grup 2	Grup 3	Grup 3
	0. gün	10. gün	0. gün	10. gün	0. gün	10. gün
Denek 1	0,631	0,385	0,553	0,395	0,295	0,709
Denek 2	2,481	1,102	0,380	0,624	0,675	0,435
Denek 3	0,348	0,460	0,500	1,068	0,430	0,868
Denek 4	0,438	0,235	0,379	2,921	0,316	1,051
Denek 5	0,390	0,451	0,487	0,592	0,709	0,645
Denek 6	0,438	0,553	0,295	0,641	1,004	0,631

Tablo 8: 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerleri (değerler: ng/mL)

Gruplar arası değerlendirime yapıldığında üç grubunda, cerrahi işlem öncesi ve sonrası elde edilen sVEGFR-2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($p>0,05$)

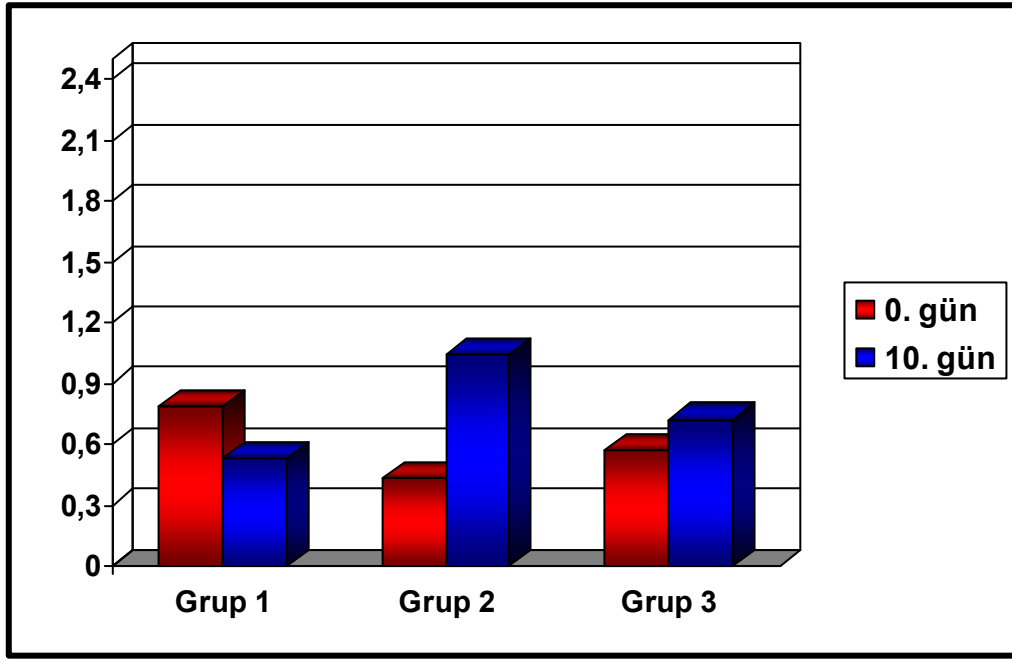
Grupların cerrahi işlem öncesi sVEGFR-2 değerleri ile cerrahi işlem sonrası sVEGFR-2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerlerinin ortalaması tablo 9'de gösterilmiştir.

	sVEGFR-2	sVEGFR-2
	0. gün	10. gün
Grup 1	0,787±0,003	0,531±0,001
Grup 2	0,432±0,0015	1,040±0,0005
Grup 3	0,571±0,0025	0,723±0,0005

Tablo 9: sVEGFR-2'in ortalama değerleri (ort±SS)

Gruplar arası sVEGFR-2 değerlerinin ortalamasına bakıldığında, Grup 1’de cerrahi işlem sonrası bir azalma, serebral arter kapatılan grup 2 ve 3’te bir artma olduğu görülmüştür. Grafik 2’de grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerlerinin ortalaması gösterilmiştir

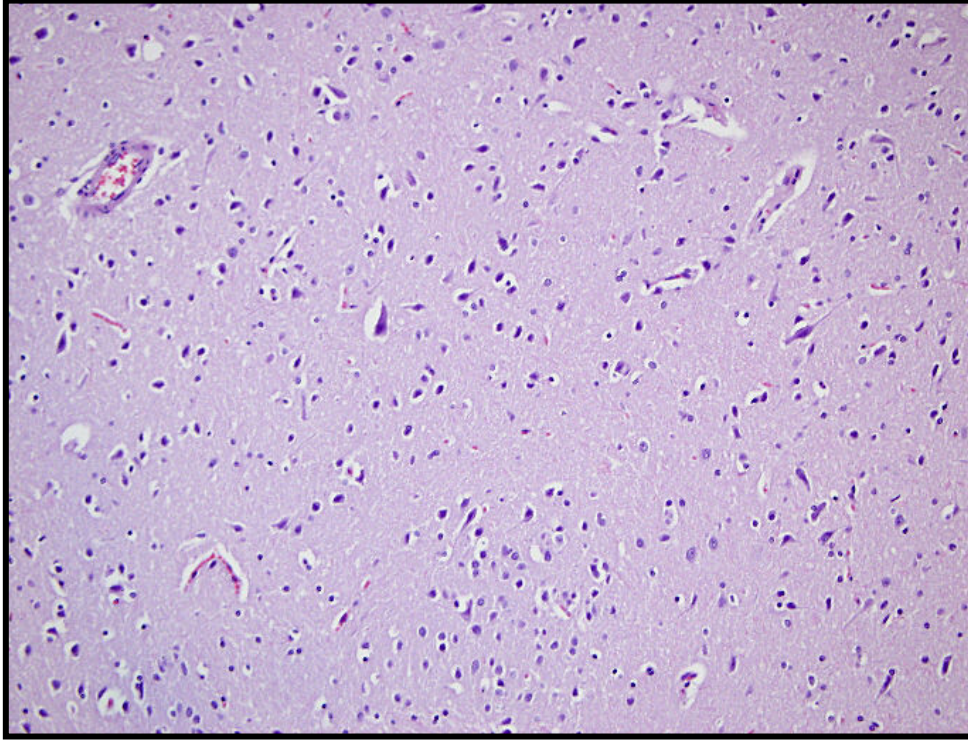


Grafik 2: Grupların 0. gün ve 10. gün sVEGFR-2 değerlerinin ortalaması

Her üç grupta cerrahi işlem öncesi ve sonrası elde edilen sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 değerlerinde grup içi karşılaştırma yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($P>0,05$)

3- PATOLOJİK SONUÇLAR

Her üç grupta yapılan H&E boyama ile ışık mikroskopisindeki değerlendirmesi, bregmanın 0,2 mm önünde (65) caudoputaminal bölgeden alınan kesitlerle yapıldı. Grup 2 ve grup 3'te damar yapıları ve sayıları artmış olması, arada iri görünümlü iskemik nöronlar, iskemik nöronlarda Nissl substance kaybı, sitoplazmik eosinofili artışı ve piknotik homojen nükleus varlığı görülerek patoloji tarafından iskemik bölge olarak değerlendirildi. (Resim 10) serebral arterleri kapatılan grup 2 ve 3'te birer denekte VEGF ekspresyonu İHK olarak gösterilmemiştir ancak H&E boyama ile yapılan incelemede iskeminin geliştiği görülmüştür.(Resim 10)



Resim 10: Grup 3'deki VEGF (-) olan denek'in Işık mikroskopisinde caudoputaminal bölgedeki iskemik alanın görüntülenmesi. (H&E)

3.1- İmmunohistokimyasal Değerlendirme

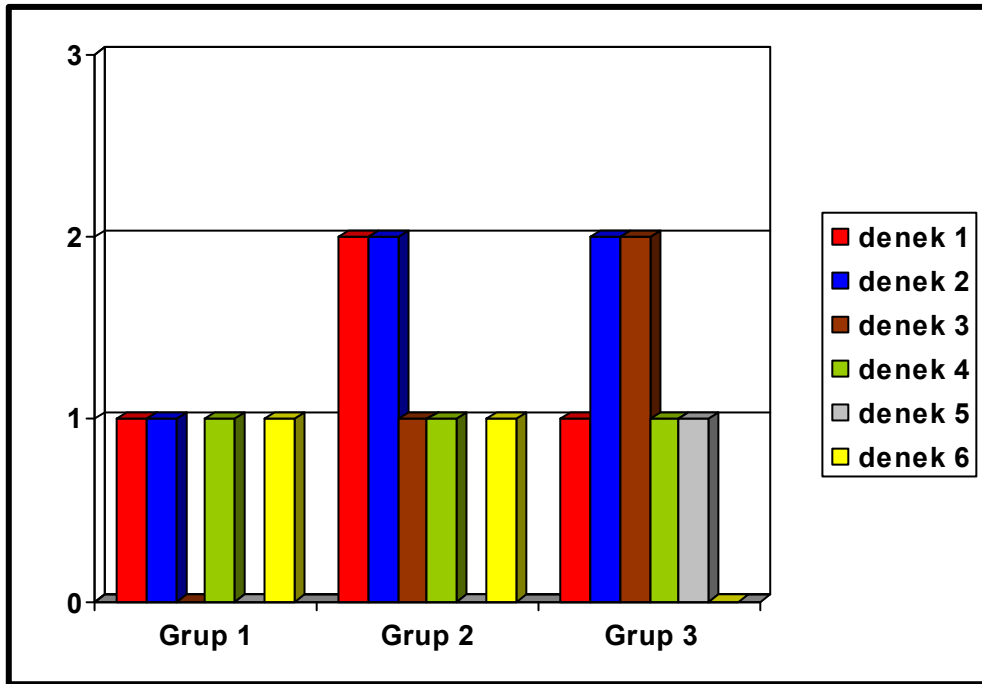
Grupların beyin dokularında belirlenen caudaputaminal bölgenin immunohistokimyasal boyama yöntemiyle elde edilen VEGF değerlendirilmesi tablo 8’de gösterilmiştir.

İmmunohistokimyasal(İHK) değerlendirme skorlaması; boyanma olmaması negatif (-), hafif düzeyde boyanma +, orta düzeyde boyanma ++, şiddetli düzeyde boyanma +++ pozitif olacak şekilde belirlenmiştir (66). (Resim 11, 12, 13,14). Boyanma endotel hücrelerinin stoplazmalarını kahverengi renkte şeklinde gerçekleşmiştir.

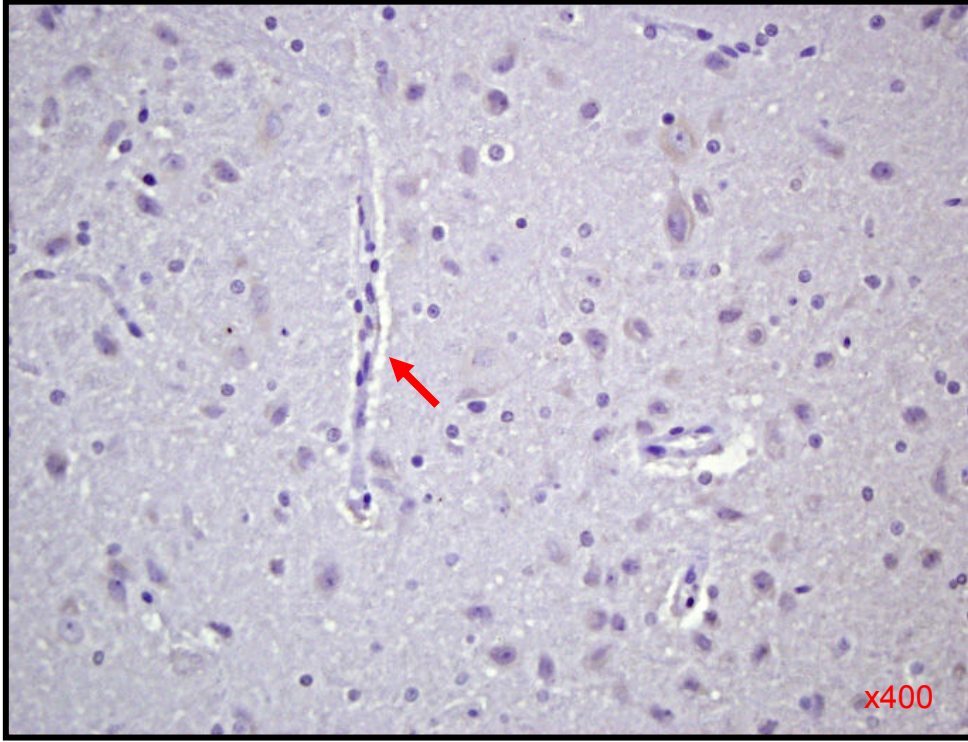
	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Denek 1	1 (+)	2(+)	1 (+)
Denek 2	1 (+)	2(+)	2(+)
Denek 3	—	1 (+)	2(+)
Denek 4	1 (+)	1 (+)	1 (+)
Denek 5	—	—	1 (+)
Denek 6	1 (+)	1 (+)	—

Tablo 10: Grupların beyin dokusundaki İHK boyama ile VEGF ekspresyonu skorlaması (Skorlama: boyanma yok(-), boyanma var (+, ++, +++).

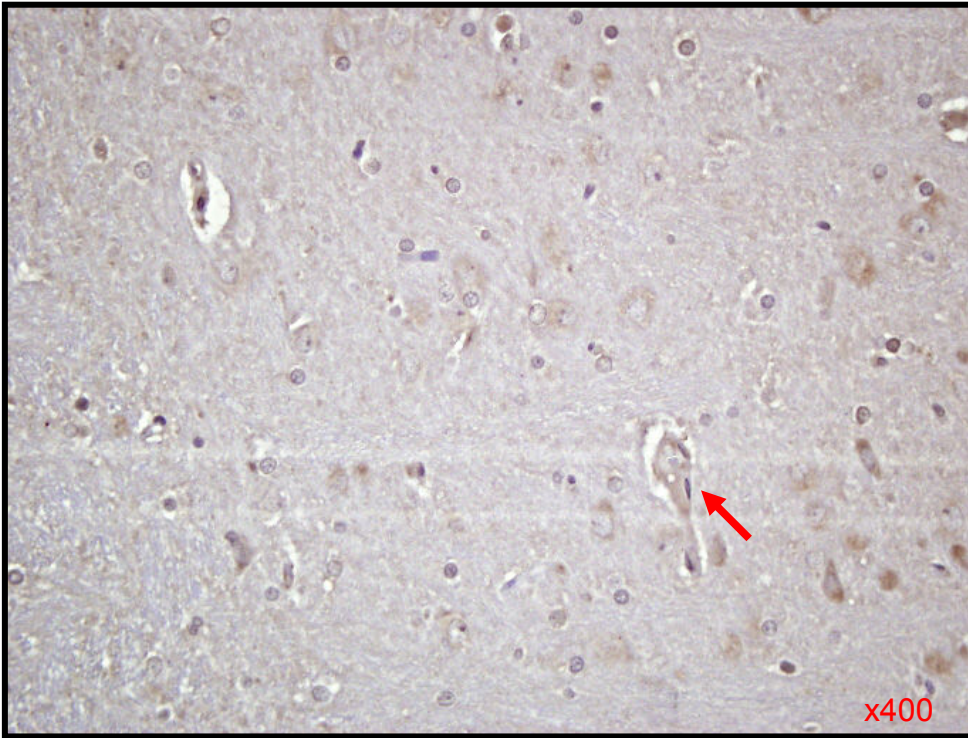
Çalışmamızda grup 1'deki deneklerde İHK değerlendirmede (-) ve 1(+) şeklinde boyanma göstermiştir. Serebral arterleri kapatılan grup 2 ve 3'te ise 2(+) boyanma tespit edilmiş, 3(+) boyanma tespit edilememiştir. Başka bir deyişle serebral arterleri kapatılan bu iki grupta VEGF ekspresyonu, serebral arteri kapatılmayan gruba göre daha anlamlı olduğu düşünülmüştür. Ancak elde edilen immunohistokimyasal skorlar gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.($P>0,05$)



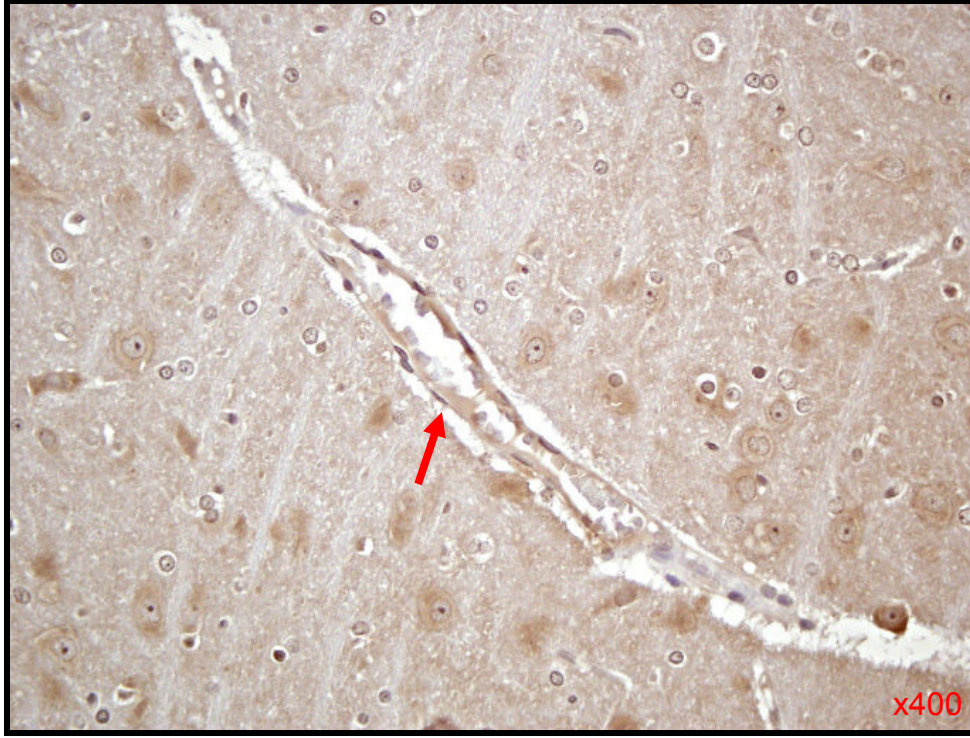
Grafik 3: İmmunohistokimyasal olarak VEGF ekspresyonu



Resim 11: Grup 1'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu (-).(İHK boyama)



Resim 12: Grup 2'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu 1(+).(İHK boyama)



Resim 13: Grup 3'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu 2(+).(İHK boyama)



Resim 14: Grup 3'deki bir denek'in beyin dokusundaki endotel hücrelerinde VEGF ekspresyonu 2(+). (İHK boyama)

TARTIŞMA

Bu çalışmada ratlarda serebral arterlerden karotid arterlerin kapatılarak beslediği alanda en önemli anjiogenik faktör olan VEGF ekspresyonunu ve kandaki reseptörleri sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 değerleri kullanılarak anjiogenik aktivite araştırılmış, arteriovenöz malformasyonun tekrarlamasında tedavide kullanılan emobilizasyon veya cerrahi yöntemle sadece besleyici arterin kapatılması sonrası gelişen durumun rekanalizasyon değil revaskülarizasyon olduğunun gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda serebrovasküler anatomi ve fizyoloji açısından insan beynine çok yakın benzerlik göstermesi, serebrovasküler çalışmalarda ve serebral vasküler malformasyonların etiyopatogenezinde önemli rol aldığı bilinen anjiogenik faktörleri araştırılmasında sıkça kullanılması, kolay bulunabilir ve ucuz olması(62, 63) nedeniyle rat kullanmayı tercih edilmiştir.

Çalışmamızda serebral besleyici arterlerin kapatılarak serebral kan akımının azalmasıyla hipoksi ve iskemiye indükleyerek ve kapatılan serebral arterlerin distalindeki anjiogenik aktiviteyi göstermede, AVM tedavisinde kullanılan besleyici arterlerin kapatılmasına benzerlik göstermesi nedeniyle iki damar oklüzyon modelini tercih edilmiştir. İki damar oklüzyon modelinin, tek aşamalı cerrahi hazırlık yapılmasına müsaade etmesi, yüksek dereceli iskemisi yapması, normokarbi ve normoksiden emin olacak şekilde ventilasyon kontrolü sağlanması, serebral resirkülasyonun kolayca sağlanması, uzun süreli sağkalımlar için uygun olması, düşük başarısızlık oranı ve erken ölümlerin görülmemesi gibi birçok avantajı vardır (64).

Serebral arteriovenöz malformasyonlar, gerek intraserebral kanama, gerekse epilepsi ya da fokal nörolojik defisit oluşturan patolojiler olarak, nöroşirürji pratiğinde önemli bir yer tutarlar (3). AVM'lar genç insanlardaki travmatik olmayan intraserebral kanamaların önde gelen ve 20 yaş altı hastalardaki en sık nörolojik defisit ve ölüm nedenidir (2). İntraserebral kanama ile gelen hastalarda yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahiptir. Doğal seyrine bırakılan AVM'ların uzun süreli prognozları kötüdür ve her yıl için % 2-4 oranında kanama riski vardır (3). Bu nedenle 200 yılı aşan bir sürede tanı ve tedavisi için birçok çalışma vardır. Günümüzde AVM tanısı BT, MRG ve serebral anjiografik tanı yöntemleri ile kolaylıkla konulabilmektedir. AVM

tedavisinde mikroşirurjikal rezeksiyon, endovasküler yolla embolizasyon ve radyocerrahi kullanılmaktadır. Embolizasyonla veya cerrahi olarak, besleyici arterlerin kapatılması AVM'lerin tekrar kanamalarına ve tekrarlamasına neden olmuştur. Bizde çalışmamızda serebral besleyici arterlerin kapatılarak AVM'un tekrarlamasında suçlanan revaskülarizasyonun ve bunun nedeni olan anjiogenezi, anjiogenik faktörleri kullanarak araştırdık.

Adam S Reig ve ark. yaptığı bir çalışmada 122 serebral AVM'u olan hastaya embolizasyon uygulanmış ve uzun dönemde sadece 18 hastada tam obliterasyon sağlanmış. Yani % 85 hastada AVM tekrarlamış veya tam obliterasyon sağlanamamıştır. Embolizasyon sonrası oluşan AVM rekkürensini iki nedenle açıklamışlardır. Birincisi likid embolik ajanların kendilerine has özelliklerinden dolayı zamanla AVM'daki drene eden venlere doğru sızmasına ve damarların tekrar açılması yani rekanalizasyonun olduğu düşünmüşlerdir. İkinci ve daha önemsedikleri nedeni ise, besleyici arterin proksimalden kapatılması ve buna bağlı olarak nidusta oklüde edilmemiş kısım kalması yeni besleyicilerin ortaya çıkmasına yani revaskülarizasyona bağlamışlardır (26). Bu çalışma bize embolizasyonun AVM tedavisinde başarısız olduğu ve bunun nedeninde revaskülarizasyon olduğunu göstermektedir.

Akakin A. ve ark. yaptığı bir çalışmada rat kornealarına embolize edilmiş, sadece cerrahi ile çıkarılmış ve radyocerrahi(GKR) uygulanmış AVM dokuları ekilerek rat kornea AVM modeli oluşturmuştur. Daha sonra bu dokularda anjiogenik faktörlerden üzerinde en çok durulanı VEGF'ün ekspresyonunu incelemişlerdir. VEGF ekspresyonu en yüksek embolize edilmiş AVM modelinde, daha düşük oranda cerrahi ile çıkarılmış AVM modelinde, en düşük oranda ise radyocerrahi uygulanmış AVM dokusunda tespit edilmiştir. Sonuç olarak embolizasyonun AVM'u indüklediği, GKR'nin ise inhibe ettiği bildirmişlerdir (25). Bu çalışma da bize embolizasyonun AVM tedavisinde primer olarak kullanılmaması gerektiğini göstermektedir. Gelecekte anjiogenezin mekanizmaları daha net aydınlatıldıktan sonra, antianjiogenetik ajanların geliştirilip, direkt infüzyonu veya antianjiogenetik ajanlarla güçlendirilmiş materyallerle embolizasyon yapılması AVM tedavisinde yeni bir umut olabileceği öngörülmüştür.

AVM'nu olan hastalarda genetik olarak anjiogeneze yatkın olması, AVM hastalarında yüksek oranda anjiogenik aktivitenin olması, embolizasyon uygulanmasının anjiogenik faktörlerin salınımını artırarak anjiogenezi uyarması ve

embolizasyonu takiben besleyici arterlerin kapatılarak beyinde hipoksik/iskemik ortamın devam etmesi anjiogenezi devamlı kılarak ve neovaskülarizasyon oluşumunu sağlayacaktır.

Vasküler malformasyonların patogenezinde 900'den fazla gen rol almaktadır. Belki de, serebral vasküler malformasyonlarda 300'den fazla gen upregülasyona uğrarken, hemen hemen 560 kadarı downregülasyona maruz kalmaktadır. Bundan dolayı bu lezyonların moleküler karakteristiklerini ve büyüme davranışlarını anlamak zordur. Beyin AVM'leri üzerine olan çalışmaların çoğu, immunohistokimyasal çalışmalarla kısıtlıdır. Bundan dolayı, sonuçlar biyolojik olarak inaktif bir sisteme kısıtlı kalmıştır. Endotelial hücre kültürleri ve AVM'lerden alınmış fibrosit kültürleri gibi dinamik in vivo modeller, potansiyel araştırma alanlarıdır (30). Anjiogenezin gerçekleşmesi için, endotel hücrelerine, VEGF salınımına, VEGF'ün bağlanabileceği bir reseptöre, intrasellüler mekanizmada sinyallere anjiogeneze yönünde cevap veren genetik bir yapıya ve ekstrasellüler matriksin olmasına bağlıdır (25). Çalışmamızda kullanılan ratların intrasellüler mekanizmada sinyallere anjiogeneze yönünde cevap veren genetik bir yapıya sahip olmadığı düşünülmüş, bu nedenle serebral arterleri kapatılan gruplarda VEGF ekspresyonu beklenildiği kadar yüksek bulunamıştır. Bu nedenle bu tip çalışmaların deneysel AVM modellerinde veya AVM'li olan hasta gruplarında yapılması daha anlamlı sonuçlar vereceğini bize düşündürmüştür.

AVM'un etrafını saran hipoksik/iskemik çevre dokuların önceden bahsedilen tüm anjiogenik faktörlerin salınımını arttırdığı düşünülmektedir. Hem hipoksinin hem de iskeminin VEGF, VEGF reseptörleri ve diğer büyüme faktörlerinin salınımını artırdığı bilinmektedir. Hipoksik ortama maruz kalan astrositlerin VEGF salgıladığı gösterilmiştir. VEGF gen promoteri, hipoksik şartlara maruz kaldıktan sonra dakikalar içerisinde VEGF salınımı 30 kat arttıran HIF-1(hipoksi inducible faktör) isminde bir element içermektedir. Bu hipoksik ortam, AVM'deki arteriovenöz şanttan dolayı da oluşabileceği bildirilmiştir (30). Ayrıca AVM tedavisinde kullanılan embolizasyon yönteminde, embolizasyon sonrası reflü ya da anastomozlar yolu ile normal dokuları besleyen damarlarda tıkanma ile AVM'nin etrafındaki dokularda kan akımının azalarak iskemi olduğu bilinmektedir (67). Sure, U. ve ark. yaptığı bir çalışmada yetersiz embolizasyon sonrası cerrahi yöntemle tedavi edilen AVM'lerin %75'inde VEGF ve VEGFR-1 salınımı patolojik çalışmalarla gösterilmiştir; diğer taraftan embolize edilmemiş AVM'lerde bu oran %25 olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular, kısmen kapatılmış AVM'lerin neden tekrarladığını açıklamaya yardımcı olabilir. AVM'lerin

çevresindeki dokularda, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 reseptör düzeylerinde artış bulunmuştur (28). Bu nedenle bizde çalışmamızda serebral besleyici arterleri kapatarak, iskeminin anjiogenik faktörlerin salınımında ve anjiogenezdeki etkisini değerlendirdik.

Anjiogenez, var olan kan damarlarından yeni damarların geliştirilmesi işlemidir. Hücre bölünmesi, hücre göçü, hücre çoğalması ve kapiller şeklinde yeni damarların oluşmasını sağlayan kompleks bir süreçtir (18, 66). Anjiogenezin gerçekleşmesi için, endotel hücresine, VEGF salınımına, VEGF'ün bağlanabileceği bir reseptöre, intrasellüler mekanizmada sinyallere anjiogenez yönünde cevap veren genetik bir yapıya ve ekstrasellüler matriksin oluşmasına bağlıdır (25).

VEGF endotel hücreleri için spesifik bir mitojen ve anjiogenik faktördür (41). Endotel hücresinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur (46). Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulan VEGF'dür (97). VEGF, AVM nidusundaki endotel hücrelerinden ve AVM'un komşuluğundaki astroglialar tarafından salgılanmakta ve AVM'un büyümesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (30, 66). VEGF vücutta olagelen birçok fizyolojik (vaskülojenez, anjiogenez veya kemotaksi gibi) ve patolojik olayda (kanser, neovasküler hastalıklar veya kronik inflamatuvar hastalıklar gibi) rol almalarından dolayı son yıllarda oldukça popüler olmuştur (45). Endotel hücreleri VEGF'den faydalanabilmesi için onun bağlanabileceği özgül reseptörleri sentezlemesi gerekir. Bu reseptörler VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 olmak üzere 5 tanedir (96). sVEGFR-1 ve sVEGF-2, VEGFR-1 ve VEGFR-2'nin kanda çözünebilir formudur (66). Biz de bu nedenle çalışmamızda, beslenmesi bozulan beyin dokusunda anjiogeneziste en önemli molekül olan immunohistokimyasal olarak VEGF'ün ekspresyonunu ve periferik kanda basitçe bakılabilecek sVEGFR-1 ve sVEGFR-2 kan düzeylerinin anjiogeneze etkisini incelenmiştir.

Hai ve ark., yaptığı bir çalışmada VEGF salınımı 24. saatte anlamlı derecede yüksek bulunmuştur, 7. günde pik yapıp, 21. günde düşmüş, 90. günde bazal seviyeye geldiği bildirilmiştir (66). Bizde çalışmamızda birinci haftadan itibaren en yüksek düzeylerine ulaşan VEGF ekspresyonu 10. günde incelenmiştir. Çalışmamızda serebral besleyici arterleri kapatılan gruplarda VEGF ekspresyonu, serebral besleyici arterleri kapatılmayan gruba göre daha yüksek oranda görülmüştür. Yine grup 1'de VEGF ekspresyonu bazı deneklerde 1 (+) olması anjiogenik faktörlerin normal dokularda da üretildiğini göstermektedir. Grup 2 ve 3'te

VEGF 2 (+) boyanması iskemik dokuda daha fazla miktarda üretildiğini göstermektedir. Çalışmamızda VEGF ekspresyonu 3(+) boyanma göstermemesi beklide serebral besleyici arterleri kapatılma süresinin yeterli olmamasına ya da serebral besleyici arterleri kapatılan deneklerin daha uzun yaşam sürelerinin deneyde yapılmamasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda VEGF ekspresyonu, grup 2 ve 3'te daha yüksek oranda bulunması, serebral besleyici damarların kapatılması ve iskeminin anjiogenik aktiviteyi arttırdığı yönde etkisi olduğunu düşündürmüştür. Bu sonuçta daha önce yapılan birçok çalışma ile paralellik göstermektedir

Literatüre göre sVEGFR-1, VEGFR-1'in kompetitif inhibitörü olduğu bilinmektedir. Bu kompetitif reseptör anjiogenik ortamda kontrolsüz anjiogenezi durdurmaya çalışmaktadır. sVEGFR-1 anjiogenezisi engelleyici etkisi olduğu saptanmış ve oluşturulan iskemi modellerinde düzeyleri yüksek bulunarak anjiogenezisi engelleyici etki oluşturduğu gösterilmiştir (66). Bizim çalışmamızda grupların cerrahi işlem öncesi ve sonrası sVEGFR-1 kandaki değerleri karşılaştırıldığında cerrahi işlem öncesi sVEGFR-1 değerleri ile cerrahi işlem sonrası sVEGFR-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. sVEGFR-1 değerleri özellikle grup 3'te belirgin olarak azalma görülmüştür. Buna bağlı olarakta VEGF ekspresyonunu engelleyememiş dokuda yüksek oranda bulunmasına neden olmuştur. Bu sonuç literatür ile uyumlu olarak bulunmuştur.

Literatürde sVEGFR-2'nin anjiogenezde ne yönde etki yaptığı (bazı çalışmalar sVEGFR-1'e benzer olduğu yönündedir) araştırma aşamasında olduğu bildirilmektedir (52). Çalışmamızda sVEGFR-2 kan değerleri, gruplar arası ve cerrahi işlem öncesi ve sonrası yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı fark bulunmamıştır. Ancak sVEGFR-2 kan değerlerinin ortalaması alındığında serebral damarları kapatılan gruplarda işlem sonrasında bir yükselme göstermiştir. Bu solubl reseptörün anjiogenik ortamda salınımının arttığı düşündürmüştür. Çalışmamızda daha fazla denek sayısı, daha uzun iskemi ve iskemi sonrası yaşam süreleri uygulanan gruplar çalışmaya eklenerek planlanacak deneylerde daha fazla veri elde edilebileceği öngörülmüştür.

SONUÇLAR

Çalışmamızda serebral besleyici arterlerin kapatılmasıyla oluşturulan gruplarda VEGF ekspresyonunu, besleyici arterleri kapatılmayan gruba göre daha yüksek oranda bulunduğu gösterildi.

sVEGFR-1'in kan değeri serebral besleyici arterlerin kapatılması sonrasında anlamlı düştüğü gösterildi.

sVEGFR-2'nin kan değeri serebral besleyici arterlerin kapatılması sonrasında yükseldiğı gösterildi.

Benzer çalışmaların daha fazla denek sayısı, daha uzun serebral arter kapatılma süresi ve daha uzun yaşam süreleri uygulanan gruplar çalışmaya eklenerek planlanacak deneylerde daha anlamlı sonuçlar ve daha fazla veri elde edilebileceğı öngörülmüştür.

Serebral besleyici arterlerin kapatılması sonrası distalinde salınan anjiogenik faktörlerin anjiogenezi uyarması ve yeni damar oluşumunun kanıtlarının bulunması AVM'larda endovasküler veya cerrahi yöntemlerle sadece besleyicilerin kapatılmasının tedavide yeterli olmadığını ve AVM'ların tekrarlamasında rekanalizasyonun değil revaskülarizasyonun sorumlu tutulması gerektiğı ve embolizasyon ile AVM'un tedavi edilemeyeceğı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Boyacı, S., Aksoy, K., Beyin'in Arteriyovenöz Malformasyonları. Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2006, 2(16):82-88
2. Kocaeli, H., Şahin S., Temel Nöroşirürji cilt 1. Kısım 3. Kraniyal Vasküler Hastalıklar. Arteriovenöz Malformasyonlar Ve Cerrahi Tedavisi. 2005; 519-530
3. Arda, M.N., Acıduman, E., Şenveli, H., Koçak, Z. et al., Cerebral Arteriovenous Malformations. Türk Nöroşirürji Dergisi 9: 1 - 6, 1999
4. Kılıç T, Pamir MN, Kullu S, Eren F, Özek MM, Black PMcL: Expression of structural proteins and angiogenic factors in cerebrovascular anomalies. Neurosurgery 46: 1179-1192,2000
5. Risau, W., Mechanisms of angiogenesis. Nature, 1997. 386(6626): p. 671-4.
6. Klagsbrun, M. and P.A. D'Amore, Vascular endothelial growth factor and its receptors. Cytokine Growth Factor Rev, 1996. 7(3): p. 259-70.
7. Ferrara, N., Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. Am J Physiol Cell Physiol, 2001. 280(6): p. C1358-66.
8. Folkman, J. and M. Klagsbrun, Angiogenic factors. *Science*, 1987. 235(4787): p. 442-7.
9. Yazır, Y., Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (Vegf): Reseptörleri ve Fonksiyonları. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 2007. 29(3): p. 128-136.
10. Lecouter, J., R. Lin, and N. Ferrara, EG-VEGF: a novel mediator of endocrine specific angiogenesis, endothelial phenotype, and function. Ann N Y Acad Sci, 2004. 1014: p. 50-7.

11. Gault, J., et al., Pathobiology of human cerebrovascular malformations: basic mechanisms and clinical relevance. *Neurosurgery*, 2004. 55(1): p. 1-16; discussion 16-7.
12. Yaşargil M: History, in *Microneurosurgery*. New York: Thieme, 1987, pp 3–21
13. Croll, S.D., J.H. Goodman, and H.E. Scharfman, Vascular endothelial growth factor (VEGF) in seizures: a double-edged sword. *Adv Exp Med Biol*, 2004. 548: p. 57-68.
14. Bilge, T., et al., Microsurgical Excision of Cerebral Arteriovenous Malformations: Analysis of 42 Patients. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 2007, Cilt: 17, Sayı: 3, 155-161
15. Moore, KL., *The Developing Human. Clinically Oriented Embryology*. 3 ed. Philadelphia: Saunders; 1982
16. Yaşargil M: History, in *Microneurosurgery*. New York: Thieme, 1987, pp 138
17. Mullan S., et al., Embryologic basis of some aspects of cerebral vascular fistulas and malformations. *J. Neurosurg.* 1996;85: 1-8
18. Kılıç T., Glial Tümörlerin Anjiogenezi. *Türk Nöroşirürji Dergisi*, 2005, Cilt: 15, Sayı: 1, 1-9
19. Pollock BE., et al., Repeat stereotactic radiosurgery of arteriovenous malformations: Factors associated with incomplete obliteration. *Neurosurgery* 1996;38: 318-324.
20. Forster, DMC., et al., Arteriovenous malformations of the brain. A long-term clinical study. *J Neurosurgery* 1972;37: 562-570.
21. Kader, A., et al., Recurrent cerebral arteriovenous malformations after negative postoperatif angiograms. *J Neurosurgery* 1996; 85: 14-8

22. Hamilton, MG., Spetzler RF., The prospective application of a grading system for arteriovenous malformations. *Neurosurgery*. 1994;34: 2-6.
23. Spetzler RF., et al., Relationship of perfusion pressure and size to risk of hemorrhage arteriovenous malformations. *J Neurosurgery* 1992;76: 918-23
24. Abdulrauf SI., et al., Spontaneous angiographic obliteration of cerebral arteriovenous malformation. *Neurosurgery*. 1999;44: 280-8.
25. Akakin A, Ozkan A, Akgun E, Koc DY, Konya D, Pamir MN, Kilic T., Endovascular Treatment Increases but Gamma Knife Radiosurgery Decreases Angiogenic Activity of Arteriovenous Malformations: An in Vivo Experimental Study Using a Rat Cornea Model. *Neurosurgery* 66:121-130, 2010
26. Reig AS, Rajaram R, Simon S, et al. Complete angiographic obliteration of intracranial AVMs with endovascular embolization: incomplete embolic nidus opacification is associated with AVM recurrence. *J NeuroIntervent Surg* (2010). doi:10.1136/jnis.2009.001636
27. Koizumi T, et al., Expression of vascular endothelial growth factors and their receptors in and around intracranial arteriovenous malformations. *Neurosurgery* 2002;50: 11724.
28. Sure U, Butz N, Schlegel J, Siegel AM, Wakat JP, Mennel HD, et al: Endothelial proliferation, neoangiogenesis, and potential de novo generation of cerebrovascular malformations. *J Neurosurg* 94: 972–977, 2001
29. Hashimoto N, Nozaki K: Do cerebral arteriovenous malformations recur after angiographically confirmed total extirpation? *Crit Rev Neurosurg* 9: 141–146, 1999
30. Parham, Moftakhar. Et al., Cerebral arteriovenous malformations. Part 1: cellular and molecular biology *Neurosurgical Focus* May 2009 Volume 26, Number 5

31. Rodriguez-Arias C, Martinez R, Rey G, Bravo G: Recurrence in a different location of a cerebral arteriovenous malformation in a child after radiosurgery. *Childs Nerv Syst* 16: 363-365, 2000.
32. Hashimoto T, Mesa-Tejada R, Quick CM, Bollen AW, Joshi S, Pile-Spellman J, et al: Evidence of increased endothelial cell turnover in brain arteriovenous malformations. *Neurosurgery* 49: 124–131, 2001
33. Padgett DH., The development of the cranial arteries in the human embryo. *Contrib Embryol*, 32:207-262, 1948
34. Pepper MS, Mandriota SJ. Regulation of vascular endothelial growth factor receptor-2 (flk-1) expression in endothelial cells. *Exp Cell Res* 241: 414-425, 1998.
35. Waggener JD, Beggs JL: Vasculature of neural neoplasms. *Adv Neurol* 15: 27-49, 1976.
36. Hashimoto T, Emala CW, Joshi S, Mesa-Tejada R, Quick CM, Feng L, Libow A, Marchuk DA, Young WL: Abnormal Pattern of Tie-2 and Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Expression in Human Cerebral Arteriovenous Malformations. *Neurosurgery* 47: 910-918, 2000.
37. Kılıç K, Konya D, Kurtkaya O, Sav A, Pamir MN, Kilic T: Inhibition of angiogenesis induced by cerebral arteriovenous malformations using gamma knife irradiation. *J Neurosurg* 106:463–469, 2007
38. Güllü İ., Anjiyenez ve antianjiyjenik tedaviler. XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, 18-22 Mayıs 2004
39. Sarah X. Zhang, Jian-xing M. Ocular neovascularization: Implication of endogenous angiogenic inhibitors and potential therapy. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2007; 26; 1–37

40. Clauss M, Molecular biology of the VEGF and VEGF receptor family. *Semin Thromb Hemost* 2000, 26(5):561-569
41. BY Dimitri T. Azar MD. Corneal Angiogenic privilege: Angiogenic and antiangiogenic factors in corneal avascularity, vasculogenesis and wound healing. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2006;104: 264-302
42. Thomas KA. VEGF, a potent and selective angiogenic agent. *J Biol Chem* 1996; 271: 603- 6.
43. Shibuya M, Yamaguchi S, Yamane A, Ikada T, TojoT, Matsushime H, et al. Nucleotide sequence and expression of a novel human receptor-type tyrosine kinase (flt) closely related to the fms family. *Oncogene* 1990; 8: 519-24.
44. Ishida S, Usui T, Yamashiro T, Kaji Y, Ahmed E. VEGF164 Is Proinflammatory in the Diabetic Retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003;44: 2155–2162
45. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8
46. Bikfalvi A. Recent developments in the inhibition of angiogenesis: examples from studies on platelet factor-4 and the VEGF/VEGFR system. *Biochemical Pharmacology* 2004; 68: 1017-21
47. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-76.
48. Millauer B, Shawver LK, Plate KH, Risau W, Ullrich A. Glioblastoma growth inhibited in vivo by a dominant-negative Flk-1 mutant. *Nature* 1994; 367: 576-9.
49. Frank S, Hubner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalg DG, Werner S. Regulation of VEGF expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem* 1995; 270: 12607-13

50. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25
51. Toi M, Bando H, Ogawa T, Muta M, Hornig C, Weich HA. Significance of vascular endothelial growth factor (VEGF)/soluble VEGF receptor-1 relationship in breast cancer. *Int J Cancer* 2002; 98: 14-8.
52. Ebos JM, Bocci G, Man S, Thorpe PE, Hicklin DJ, Zhou D et al. A naturally occurring soluble form of vascular endothelial growth factor receptor 2 detected in mouse and human plasma. *Mol Cancer Res* 2004; 2: 315-326
53. Tamanini C, De Ambrogi M. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest Anim* 2004; 39: 206-16.
54. Monacci WT, Merrill MJ, Oldfield EF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in normal rat tissues. *Am J Physiol* 1993; 264:C995-C1002
55. Harada S, Nagy JA, Sullivan KA, Thomas KA, Endo N, Rodan GA, et al. Induction of vascular endothelial growth factor expression by prostaglandin E2 and E1 in osteoblasts. *J Clin Invest* 1994; 93: 2490-6.
56. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359: 843-5.
57. Asahara T, Chen D, Tsurumi Y, Kearney M, Rossow S, Passeri J et al. Accelerated restitution of endothelial integrity and endothelial-dependent function after phVEGF165 gene transfer. *Circulation* 1996; 94: 3291-302.
58. Xie K, Wei D, Shi Q, Huang S. Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 297-324

59. Kleespies A, Guba M, Jauch KW, Bruns CJ. Vascular endothelial growth factor in esophageal cancer. *J Surg Oncol* 2004; 87: 95-104.
60. Croll SD, Goodman JH, Scharfman HE. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in seizures: a double-edged sword. *Adv Exp Med Biol* 2004; 548: 57-68.
61. Özcura F, Helvacı MR. Ödem ve neovaskülarizasyonla seyreden hastalıklarda tedavi anti vegf ajanlar Türkiye Klinikleri *J Ophthalmol* 2006; 15: 132-9.
62. Molinari G.F., Lauremt JP.: A Classification of Experimental models of Brain Ischemia. *Stroke* 7: 14-17, 1976
63. Bederson B J. Pitts H.L.: Rat Middle Cerebral Artery Occlusion; Evaluation of the Model and Development of a Neurologic Examination. *Stroke* 17: 472-476, 1986.
64. Myron D. Ginsberg, Cerebral ischemia and resuscitation. Chapter 1. Models of cerebral ischemia in the rodent 5-6. 1990.
65. Gozzi, Alessandro, et al., Region-Specific Effects of Nicotine on Brain Activity: A Pharmacological MRI Study in the Drug-Naïve Rat. *Neuropsychopharmacology* (2006) 31, 1690–1703
66. Hai, J., et al., Vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis induced by chronic cerebral hypoperfusion in rat brain. *Neurosurgery*, 2003. 53(4): p. 963-70; discussion 970-2.
67. Yağcı, C., Şanlıdilek, Umman., Nöroradyolojide Embolizasyon. *Türk Nöroşirürji Dergisi* 3: 181-187. 1992.
68. Kılıç, T., Combination of Embolization and Gamma-Knife Radiosurgery in the Treatment of Large Arteriovenous Malformations. *Türk Nörosirürji Dergisi* 13: 157-164, 2003

69. Midi, Ahmet, et al., Pathogenesis of Cerebrovascular Malformations and Anti-Ki-67 (MIB-1) Proliferating Index. Journal of Neurological Sciences [Turkish] 22:(3)# 40; 283-291, 2005

70. Yavuz K., Geyik S., Saatci I., Çekirge S., Endovascular treatment in cerebral pial arteriovenous malformations: new endovascular treatment philosophy approachment with “hacettepe onyx injection technique” which is a kind of revolution in this field. Turkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2006;2(16):97-103