



**T.C. MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF
CERRAHİ ANABİLİM DALI**



**SPİNAL KORD ANOMALİLERİNE EŞLİK EDEN
MAKÜLER LEKELERİN STRÜKTÜREL YAPISININ
ANALİZİ**

**Dr. Necmettin TÜTÜNCÜ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şakir ÜNAL**

MERSİN - 2007



**T.C. MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK ve REKONSTRÜKTİF
CERRAHİ ANABİLİM DALI**



**SPİNAL KORD ANOMALİLERİNE EŞLİK EDEN
MAKÜLER LEKELERİN STRÜKTÜREL YAPISININ
ANALİZİ**

**Dr. Necmettin TÜTÜNCÜ
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Şakir ÜNAL**

**Bu tez, BAP-TF-CTB (ŞÜ) 2006-3 kodlu proje olarak
Mersin üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından desteklenmiştir.**

MERSİN – 2007

TEŐEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında yapıcı ve bilimsel eleştirilerini esirgemeyen, hekimliğini örnek aldığım değerli insan ve tez danışmanım hocam Sayın Doç. Dr. şakir ÜNAL'a, araştırma görevliliğim süresince tüm sorunlarımıza anlayışla yaklaşan bilgi ve birikimlerini bizden esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Ferit DEMİRKAN'a, Sayın Doç.Dr. Emrah ARSLAN'a, Sayın Yrd.Doç.Dr. Yavuz BAŐTERZİ'ye ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Alper SARI'ya, teőekkürü borç bilirim.

Birlikte çalıştığım ve yardımlarını esirgemeyen tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma,

Spinal kord anomali'li hastalarda lokal anomalilerin düzeltilmesi ve dura tamirini yapan Mersin Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroşirurji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Celal BAĐDATOĐLU'na, Sayın Yrd.Doç.Dr. Hikmet ÇELİKBAŐ'a, Sayın Yrd.Doç.Dr. Aslıhan KÖSEOĐLU'na ve tüm asistan arkadaşlarıma

Histopatolojik incelemeleri ve değerlendirmeleri yapan Mersin Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd.Doç.Dr. ř.Necat YILMAZ'a, Sayın Doç.Dr. Banu ÇOŐKUNYILMAZ'a ve araştırma görevlisi Dr. Sinem H. ÖZTUNA'ya

İstatistiksel analizleri yürüten Mersin Üniversitesi Tıp Fakóltesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç.Dr. Arzu KANIK ve öğretim görevlisi Sayın Semra ERDOĐAN 'a

Çalışma azmini ve disiplinini örnek aldığım sevgili babam Murat TÖTÖNCÖ'ye, sevgisinden güç aldığım annem Fadime TÖTÖNCÖ'ye, çok sevdiğim kardeşim Halim TÖTÖNCÖ'ye ve ihtisasım sürecince bana inanılmaz anlayış gösteren, desteğini ve sevgisini esirgemeyen sevgili eşim Ayşegöl TÖTÖNCÖ 'ye teőekkürü borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ VE AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	10
Spinal Disrafizm	10
Vasküler Anomaliler	12
Hemanjiomlar	12
Epidemiyoloji	12
Patofizyoloji	13
Patogenez	14
Anjiogenezin Bozulması Teorisi	14
Anjioblast Orjinli Gelişim Teorisi	15
Plasental Orjinli Gelişim Teorisi	15
Sitokin Düzenleyici Yolakta Mutasyon Teorisi	16
Gelişimsel Alan Defekti Teorisi	16
Klinik Özellikler	17
Vasküler Malformasyonlar	17
Kapiller Malformasyon (Port-wine stain)	18
GEREÇ VE YÖNTEMLER	20
Etik Kurul Onayı	20
Gereç-Yöntem	20
Değerlendirme	21
Histolojik Değerlendirme	21
Işık Mikroskopik Değerlendirme	21
Elektron Mikroskopik Değerlendirme	21
İmmünohistokimyasal Değerlendirme	22
Biyokimyasal Değerlendirme	23
Klinik Değerlendirme	24
İstatistiksel Değerlendirme	24

BULGULAR	25
Demografik Özellikler	25
Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi	25
Işık Mikroskobik Bulguların Değerlendirilmesi	25
Elektron Mikroskobik Bulguların Değerlendirilmesi	27
İmmünohistokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	31
Von-willebrand Faktör (Faktör 8)	31
Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF)	34
Östrojen Reseptör β	36
Doku İnhibitör Matriks Metalloproteinaz-1(TIMP-1)	37
Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi	38
Klinik Bulguların Değerlendirilmesi	38
TARTIŞMA	43
SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	53
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	62
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	63
TABLolar DİZİNİ	65

ÖZET

Spinal disrafizm'li olguların doku defekti tamirinde çevre yumuşak dokudaki renk değişikliği bölgesi önem arz eder. Bu alanın deri kalitesi kötü olarak değerlendirilmekte ve birçok cerrah tarafından eksize edilmektedir. Bunun sonucunda defekt büyümekte ve rekonstrüksiyon işlemi zorlaşmaktadır. Bu çalışmada amacımız; spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin hemanjiom ya da düşük akımlı kapiller malformasyonlar ile bağlantısı olup olmadığını ve strüktürel yapısının ne olduğunu araştırmaktır.

Çalışmaya spinal kord anomalisine sahip 17 olgu alındı. Hastalardan spinal defekt tamiri ameliyatları esnasında kan ve doku örnekleri alındı.

Doku örnekleri; defekt alanı kenarındaki renk değişikliği olan bölgeden ve tasarlanan flebin 'back-cut' yapıldığı normal cilt dokusu bölgesinden alındı. Alınan bu doku örnekleri ışık mikroskopisi ile histolojik, elektron mikroskopisi ile ultrasütrüktürel incelemeye tabi tutuldu. Ayrıca bu dokularda immünohistokimyasal olarak östrojen reseptör düzeyi, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), faktör 8 ve doku inhibitör matriks metalloproteinaz-1 (TIMP-1) düzeyi araştırıldı. Kan örneklerinde östradiol seviyesi araştırıldı.

Çalışmanın sonunda, normal deri ile maküler bölge arasında; mast hücre sayısının değişmediği, östrojen reseptör β 'nın ve kan östradiol seviyesinin normal olduğu, VEGF salınımının değişmediği, TIMP-1 salınımının aynı kaldığı ve Von-willebrand faktörü ile işaretli endotel hücre ve damar sayılarında artış olduğu tespit edildi. Elektron mikroskopik incelemede ise renk değişikliği bölgesinde hemanjiyom varlığını destekleyebilecek bulgular olan endotelial proliferasyon, bazal membranda multilaminasyon ya da perisit ve makrofaj birikimi gözlenmedi. Işık mikroskopik incelemede ise renk değişikliği bölgesinde düşük akımlı kapiller malformasyonlar varlığını destekleyecek bulgular olan damar sayısında artış ve damarlarda belirgin dilatasyon gözlemlendi.

Bu bulgular, spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerinin düşük akımlı kapiller malformasyonlar olabileceğini destekler niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Düşük akımlı kapiller malformasyon, hemanjiom, maküler lekeler, meningomiyelose, spinal disrafizm

ABSTRACT

Analysis of The Structure of Macular Lesions Accompanying Spinal Cord Abnormalities

In the repair of tissue defects in patients with spinal dysraphism, colour differences of the surrounding tissue is very important. Most of the surgeons apply excision for this region thinking that this region has a low dermis quality. As a result, the tissue defect gets larger and then the reconstruction becomes more difficult. The aim of this study analysis of the structure of macular lesions accompanying spinal cord abnormalities relationship with hemangioma or low flow capillary malformations

17 patients with spinal cord anomalies were enrolled for this study. Blood samples and tissue specimens were taken during the operations.

Specimens were taken both from macular lesions edge of the defect and the 'back cut' region of flap. A light microscope and an electron microscope were used to examine specimens. We also examined estrogen receptor level, vascular endothelial growth factor (VEGF), tissue inhibitor matrix metalloproteinase 1 (TIMP-1) and factor 8 levels. We detected estradiol levels in blood samples.

When we compared the normal region to macular lesions, we found that the number of mast cells were same, estrogen receptor numbers and blood estradiol levels were normal. VEGF release did not change, TIMP-1 release was same. The number of Von-willebrand marked endothel cells and vessels increased in macular lesion region. In electron microscope examination we observed that there was no endothelial proliferation, multilamination of basal membrane in the macular lesion region and the number of pericyts and macrophages did not increase. In light microscope examination, we observed that in macular lesion region, the number of vessels increased and there was a significant dilatation.

These findings suggest that, macular lesions accompanying spinal cord abnormalities could be low flow capillary malformations.

Key words: Low flow capillary malformations, hemangioma, macular stains, meningomyelocele, spinal dysraphism

GİRİŞ VE AMAÇ

Vertebral kanalın orta hat birleşme defektlerine spinal disrafizm denir. Görülme sıklığı % 1'den (ABD) 9'a (İrlanda) kadar değişir¹.

Orta hat yerleşimli damarsal lekeler altta başka bir patoloji olduğunun habercisi olabilir. Örneğin oksipital bölgedeki bir kapiller lekenin kraniospinal defektle birlikteliği yüksektir. Spina bifida okkültada deri düzeyindeki klinik bulgular; lipom, spinal anomalinin olduğu bölgede anormal kıllanma-kapiller lekeler, skin tag, hipo-hiperpigmente deri alanları ve gluteal katlantı şeklinde görülebilir²⁻⁶. Hemanjiom ve port-wine stain gibi vasküler lezyonlar sıklıkla baş-boyun bölgesinde lokalize olmakla birlikte doğumda farklı lokalizasyonlarda olabilir^{7,8}. Eğer bu lezyonlar lumbosakral bölgede orta hatta lokalize ise beraberinde bu çocuklarda spina bifida okkültada olabileceği dikkate alınmalıdır²⁻⁶. Lomber bölge yerleşimli hemanjiom olgusuna spina bifida okkültada, lipomeningosel, diastematomyelia, akrokordon ve diğer kord anomalileri eşlik edebilir⁹. Bu yüzden tedavi ettiğimiz spinal kord anomalili hastaların defekt alanı çevresindeki maküler lekelerin bir hemanjiom ya da düşük akımlı kapiller malformasyona ait olabileceği düşünülerek bu araştırma planlanmıştır.

Doğumda hemanjiomlara ait prekürsör lezyon telanjiektazi ya da eritematöz plak şeklinde mevcut olabilir. Hemanjiomlar tipik olarak yenidoğan döneminde hızla büyür ve takip eden yıllarda involüsyona uğramaktadırlar¹⁰. 5 yaşında hemanjiomların %50'si 9 yaşında ise %90'ı involüsyona uğrar. Özellikle yüzeysel yerleşimli olanlar yerini fibroz dokuya, eriteme ya da pigmentasyon bozukluğuna bırakır. Hemanjiomların etiyojisi hakkında kabul gören tek bir görüş olmamakla birlikte, son yıllarda yapılan hücresel ve genetik düzeydeki çalışmalardan sonra anjioblast orjinli, plasental orjinli, sitokin düzenleyici yolakta mutasyon, anjiogenezin bozulması ve gelişimsel alan defekti teorileri sorumlu tutulmaktadır¹⁰. Günümüzde anjiogeneze bağımlı olabileceği görüşü hakimdir. Anjiogenezin anahtar büyüme faktörleri vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) dir. Bu anjiogenetik faktörler endotelial hücreleri sürekli stimule ederler ve endotel hücrelerinde hiperplazi ve mitoz hızlı bir şekilde artmaya başlar¹¹.

Gelişimsel alan defektleri morfogenetik gelişimdeki bozukluğun sonucu olarak görülürler ve morfogenetik süreçte bağımlı olarak dokuları etkiler. Bunun

ana özelliği heterojenite göstermesidir. Bir organ ve sistemi etkileyebileceği gibi iki ya da daha fazla sistemide etkileyebilir. Hemanjiomlardaki klinik bulguların çeşitli defektlerle birlikte görülmesi gelişimsel alan defekti hipotezini destekler ve hemanjiomlar gelişimsel alan defekti içinde gruplandırılabilir¹². Gelişimsel alan içindeki anormal sinyaller anjiogenezde bozulmaya yol açabilir. Bunun sonucunda gelişimsel alan defektleri ile birlikte hemanjiom görülme insidansı artar ve beraberindeki bir lomber hemanjiom altta başka bir patolojinin habercisi olabilir¹⁰.

Vasküler malformasyonlar vasküler morfogenez esnasında ortaya çıkan bölgesel defektler sonucu ortaya çıkar ve genellikle vücudun belli alanında sınırlı sayıda damarları etkiler¹³. Bu lezyonlar doğum sırasında var olmalarına rağmen, pek belirgin değildirler. Lezyondaki büyüme, çocuktaki büyüme ile paralellik gösterir ve lezyonda gerileme görülmez¹⁴. Port-wine stain (PWS) olarak da tariflenmiş olan vasküler malformasyon aslında düşük akımlı bir kapiller malformasyondur. Derinin dermis ve dermis altı bölgelerindeki kapillerlerin normalden aşırı miktarda genişleyerek çok yoğun kümeler oluşturmasıyla meydana gelir. Çocuk doğar doğmaz renk değişikliği belirgindir⁷. Sıklıkla baş-boyun bölgesinde yerleşirler. Ancak farklı lokalizasyonlarda da olabilir⁸. Lumbosakral bölgede lokalize olduğunda alttaki bir patolojinin habercisi olabilir^{15,16}.

Spinal kord anomalilerinin onarımında iki temel amaç vardır. Bunlar nöral dokuya hasar verilmemesi ve defekt alanın gerginlik olmadan kapatılmasıdır¹⁷⁻¹⁹. Defekt alanını kapatmak için literatürde birçok farklı metod tanımlanmıştır. Bunlar primer kapama, deri grefti, kutanöz flepler, myokutanöz flepler, perföratör flepler, allojenik materyaller ve intrauterin kapama yöntemleridir²⁰⁻³³. Deri grefti uygulaması basit bir işlemdir ve pek çok klinik uygulamada düşük komplikasyon oranına sahiptir^{34,35}. Ancak enfeksiyon, ülserasyon, sekonder cerrahi girişim gibi geç komplikasyonlara yol açabilir³⁶⁻³⁸. Bu nedenle sıklıkla defekt alanını kapatmak için deri fleplerinin değişik tipleri (rotasyon flepleri, bipediküllü flepler, V-Y flepler v.b) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Spinal kord anomalilerinin tedavisinde defektin rekonstrüksiyonu en az kord tamiri kadar önemlidir. Defektin boyutu arttıkça rekonstrüksiyon zorlaşmakta ve komplikasyon oranı da artmaktadır. Spinal kord anomalili hastaların defekt alanı çevresindeki maküler lekeye sahip alan eksizyona dahil

edildiğinde defekt doğal olarak daha da büyümektedir. Bunun sonucunda rekonstrüksiyon işlemi de zorlaşmaktadır. Maküler lekeli alanın eksize edilmeden planlanan flebe dahil edilmesi halinde, flep beslenmesinin olumsuz yönde etkileneceği endişesi oluşmaktadır. Bu nedenle spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin sütrüktürel yapısını araştırmayı amaçladık.

Bu konu ile ilgili olarak literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır.

GENEL BİLGİLER

Spinal Disrafizm

Vertebral kanalın orta hat birleşme defektlerine spinal disrafizm denir. Bu kapanma defektleri vertebra arka elemanlarını içerdiği takdirde spina bifida ismini almaktadır. Spina bifida geniş bir konjenital malformasyonlar yelpazesinden oluşmaktadır. Bu malformasyonları iki ana grupta sınıflandırmak mümkündür^{39,40}.

1- Spina bifida okkulta

2- Spina bifida aperta veya kistika (Meninks ve/veya nöral dokuların açıkta veya bir kese içinde olması).

Meningomiyelose

Meningose

Myeloşizis

Hemimyelomeningose

Siringomyelomeningose

Spinal disrafizm gestasyonun 4. haftasına kadar nöral tüpün kapanmasındaki yetersizlik sonucu gelişir. Etyolojisinde; genetik faktörler, coğrafik faktörler, düşük sosyo-ekonomik seviye ve folik asit yetersizliği ileri sürülmüştür⁴¹. En sık lomber ve lumbosakral bölgede görülmektedir. Nörolojik defisit malformasyonun seviyesine bağlıdır²⁰.

Spinal disrafizmin en sık görülen formu meningomiyelosedir¹⁸. Görülme sıklığı ‰ 1'den (ABD) 9'a (İrlanda) kadar değişir¹. Meningomiyelosedde, omurilik ve sinir kökleri vertebra defektinden dışarı çıkarak meninksleri de içeren bir kese içinde yer alabildikleri gibi herhangi bir meninks veya ciltle örtülmeden açık olarak da görülebilir⁴².

Spina bifida okkulta; nöral dokuların veya vertebral patolojilerin açıkta olmadığı, cildin intakt olduğu ancak hipertrikoz ve hiperpigmentasyon gibi bazı kütanöz belirtilerin olduğu malformasyondur⁴. Spina bifida okkültada deri düzeyindeki klinik bulgular; lipom, spinal anomalinin olduğu bölgede anormal kıllanma-kapiller lekeler, sking tag, hipo-hiperpigmente deri alanları ve gluteal katlantı şeklinde görülebilir²⁻⁶. Hemanjiom ve Port-wine stain gibi vasküler lezyonlar sıklıkla baş-boyun bölgesinde lokalize olmakla birlikte, doğumda farklı lokalizasyonlarda görülebilir^{7,8}. Bu lezyonların lumbosakral bölgede orta hatta

görülmeleri akla spina bifida okkulta olma ihtimalini getirmelidir²⁻⁶. Lomber bölge yerleşimli hemanjiom olgusuna spina bifida okkulta, lipomeningosel, diastematomyelia, akrokordon ve diğer kord anomalileri eşlik edebilir⁹. Bu yüzden spinal kord anomalili hastaların defekt alanı çevresindeki maküler alanın bir hemanjiom ya da düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceği düşünülür.

Spinal disrafizm'li hastaların tedavisi cerrahidir. Fakat tek başına spina bifida'sı olan olgularda cerrahi tedavi gerekmez. Spinal defektin mümkün olan en kısa zaman içerisinde kapatılması lazımdır⁴³. Bu olgularda yumuşak doku defekti onarımında iki temel amaç vardır. Bunlar; nöral dokuya hasar verilmemesi ve yumuşak dokudaki defekt alanın gerginsiz kapatılmasıdır¹⁷⁻¹⁹. Hastaların çoğunda nöral tüp ve dura tamiri yapıldıktan sonra, açıkta kalan duranın üzerini örtmek için yeterli miktarda yumuşak doku örtüsü bulunduğundan dolayı defekt alanın primer kapama yapılabilir. Ancak yumuşak doku defekti geniş olan hastalarda ya da lezyon etrafındaki derinin kalitesinin kötü olduğu olgularda farklı metodlar tanımlanmıştır. Bunlar; deri grefti, kutanöz flepler, myokutanöz flepler, perföratör flepler, allojenik materyaller ve intrauterin kapama yöntemleridir²⁰⁻³³. Deri grefti uygulaması basit bir işlemdir ve pek çok klinik uygulamada düşük komplikasyon oranına sahiptir^{34,35}. Ancak enfeksiyon, ülserasyon, sekonder cerrahi girişim gibi geç komplikasyonlara yol açabilir³⁶⁻³⁸. Bu nedenle sıklıkla defekt alanını kapatmak için farklı deri flepleri (rotasyon flepleri, bipediküllü flepler, V-Y flepler v.b) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Deri flepleri ile kapama yöntemlerinin avantajları arasında basit bir teknik olması, operasyon zamanının kısa olması, ek deri gereksinimi olmadan tam kalınlıkta primer kapama sağlayarak donör saha morbiditesinin minimal olması, cerraha defekt alana göre farklı seçenekler sunması, flep içerisinde kan damarlarının minimal distorsiyona uğraması ve gerginlik olmadan defekt alan kapamasına olanak sağlaması sayılabilir⁴⁴. Deri flebi uygulamasında spinal kord anomalili hastaların defekt alan çevresindeki maküler sahanın yapısı önem arz eder (Resim 1). Bu alan eksizyona dahil edildiğinde defekt genişleyeceğinden dolayı rekonstrüksiyon işlemi zorlaşacaktır. Maküler lekeli alanın eksize edilmeden planlanan flebe dahil edilmesi halinde, flep beslenmesinin olumsuz yönde etkileneceği endişesi oluşmaktadır.



Resim 1. Spinal kord anomalili olgunun defektli alan çevresindeki maküler alanın görüntüsü (oklar; maküler bölgeleri göstermektedir).

Vasküler Anomaliler

Vasküler lezyonların sınıflandırılmasında uzun süre standart bir terminoloji kullanılmamış, değişik etyolojiye ve klinik davranışa sahip birçok lezyon hemanjiom adı altında değerlendirilmiştir. Mulliken ve Glowacki¹⁴ tarafından vasküler lezyonlar klinik davranışa ve endotelial hücre karakteristiklerine göre sınıflandırılarak hemanjiomlar ve vasküler malformasyonlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Hemanjiomlar

Hemanjiomlar çocukluk çağında en sık görülen vasküler lezyonlardır. Vasküler endotel hücrelerinin çoğalması ile ortaya çıkıp, doğum esnasında nadiren rapor edilmektedirler. Çoğu doğumdan 1-4 hafta sonra belirgin hale gelmektedir⁴⁵.

Epidemiyoloji

Zamanında doğmuş bebeklerin %1.1-2.6'sında hemanjiom görülmektedir. Bir yaşındaki bebeklerde hemanjiom prevalansı %10-12 olarak

saptanmıştır⁴⁶. Prematüre ve 500-1000 gr ağırlıktaki bebeklerde %22.9 oranında görüldüğü bildirilmiştir⁴⁷. Hemanjiomlar, kızlarda daha fazla saptanmıştır ve kız erkek oranı 3:1 dir⁴⁸.

Patofizyoloji

Hemanjiomlar tipik olarak yaşamın erken yıllarında büyüme eğiliminde olup beş-altı yaşları arasında duraklama ve sonrasında küçülme eğilimi gösterirler. Yaşamın ilk yıllarında lezyonun büyüdüğü dönem proliferatif faz, küçüldüğü dönem ise involusyon fazı olarak bilinir¹⁰.

Erken dönemdeki lezyonlar histolojik olarak incelendiğinde endoteliumda yoğun şekilde hücresel yumaklar gözlenmektedir. İlk aşamada endoteliumda lümen olmamakla birlikte yavaş yavaş vasküler yapı gelişimi izlenmektedir^{14,49-51}. Mikroskopik olarak kontrol edilemeyen endotelial proliferasyon vardır. Ayrıca bazal membranda multilaminasyon, perisit, makrofaj ve mast hücre birikimi mevcuttur. Özellikle mast hücreler çok sayıda bulunur^{14,52-55}. Bu hücreler damarlar boyunca dizilmiş halde görülürler⁵⁰. Proliferatif fazda mast hücrelerinden salınan bFGF güçlü bir anjiogenetik polipeptittir. Ayrıca bu bFGF salınımı mast hücrelerinden VEGF salınımını artırır. Hemanjiomların yaşam siklusunda mast hücreleri kompleks rol oynar. Proliferatif fazda anjiogenezi stimüle ederken, involüsyon fazında anjiogenezi inhibe eder⁵¹⁻⁵⁴.

Büyüyüp kubbeleşen endotelial hücreler, 6-10 ay sonra düzleşir. İlk aşamada histolojik muayenede endotelial hücrelerde azalma ve fibröz dokuda artış ortaya çıkmaktadır. Lezyonda eozinofilik granüositlerde artış gözlenir. Vasküler içeriğin arttığı alanlarda endotelial hücre çeperinde incelme olur. Endotelial ve stromal hücrelerin apoptozundaki artış involusyonel faza rastlar⁵⁶⁻⁵⁸. Proliferasyon ve involusyon dönemleri kişiye özel değildir. Bu aşamalar hemanjiomların tümünde benzer zamanlarda görülür^{14,58,59}.

Hemanjiomlar hormonal etkilenme göstermektedirler. Hemanjiomlarda serum 17- β östradiol seviyeleri, diğer vasküler malformasyonlu hastalar ile karşılaştırıldığında yüksek seviyede bulunmuştur. Sasaki ve arkadaşları⁶⁰ hemanjiomların hormonal etkilerini araştırmış ve hemanjiom patogenezinde östrojen reseptör- β ve serum östradiol seviyelerinin artmış olduğu tespit

etmişlerdir. Ayrıca normal doku ile kıyaslandığında hemanjiomlarda östrojen reseptör seviyeleri belirgin olarak yüksek bulunmuştur⁵⁷.

5-6 yaşlarında hemanjiomların %50'si gerileyerek 9 yaşında %90'ı involüsyona uğrar. Özellikle yüzeysel yerleşimli olanlar yerini fibroz dokuya, eriteme ya da pigmentasyon bozukluğuna bırakır¹⁰.

Patogenez

Hemanjiomların etiyolojisi hakkında henüz bir konsensus sağlanamamakla birlikte, son yıllarda yapılan hücresel ve genetik düzeydeki çalışmalar bize farklı birkaç teoriyi gündeme getirmiştir. Bunlar; sitokin düzenleyici yolakta gözlenen mutasyon teorisi, anjiogenezis'in bozulması ve gelişimsel alan defekti teorileri ile hemanjiomların anjioblast ve plasental kaynaklı olabilecekleri teorileri olarak sıralanabilir¹⁰. Günümüzde anjiogenezise bağımlı olabileceği görüşü hakimdir.

Anjiogenezin Bozulması Teorisi

Folkman¹¹ anjiogenezdeki dengenin ya da anjiogenetik ve anjiostatik faktörler arasındaki dengenin bozulmasının hemanjiomların oluşumuna neden olduğunu bildirmiştir.

Anjiogenezde anahtar büyüme faktörleri VEGF ve bFGF'dür. Bu anjiogenetik faktörler entotel hücrelerini sürekli stimule ederek bu hücrelerde hiperplazi ve mitozu artırır¹¹. bFGF 146 aminoasitlik bir polipeptittir⁶¹. bFGF'ün doku kültürlerinde endotelial hücrelerin proliferasyonuna ve migrasyonuna yol açtığı görüldü⁶². VEGF 121-206 aminoasitten oluşan bir proteindir⁶³. Bu proteinin vasküler permeabiliteyi ve anjiogenezi artırarak entotelial hücreleri stimule ettiği bilinmektedir⁶⁴. Her iki büyüme faktörü endotel hücreleri ve perisitlerin sitoplazmasında lokalizedir⁵².

VEGF ve bFGF embriyonik gelişim-farklılaşma, yara iyileşmesi ve plasenta oluşumu gibi fizyolojik anjiogenezde anahtar rol oynar. Proliferatif hemanjiomlarda bu faktörlerin regülasyonu artmıştır⁶⁵.

Doku inhibitör matriks metalloproteinaz-1 (TIMP-1) anjiogenezi inhibe eden faktördür. İnvolyonel hemanjiomlarda salınımı artarken proliferatif hemanjiomlarda salınmadığı görülmektedir⁵¹. Ayrıca TIMP-1'in involyonel fazda mikrodamarların perisit sitoplazmasında dominant olarak lokalize

boyandığı fakat proliferatif fazda boyanmanın olmadığı belirlenmiştir⁵¹. Endotel bağımlı proteazların aktivasyonu ile hücre dışı matriks içinde bulunan anjiogenetik faktörler salınır. Bu faktörlerin salınımı hemanjiomun başlangıç kaskatı oluşumuna yol açar. TIMP-1'in bu proteazları inhibe ederek bu kaskatın oluşumunu engellediği ifade edilmektedir⁶⁶.

Anjioblast Orjinli Gelişim Teorisi

Klasik hipotezde güçlü anjioblastik hücrelerin embriyonik salınımı sonucu hemanjiomların geliştiği ifade edilmektedir. Bu teoriye göre hemanjiom gelişimi ve normal vasküler sistemdeki yetersizlikler anjioblastik hücrelerle bağlantılıdır⁶⁷. Smoller ve arkadaşlarının⁶⁸ çalışmasında değişik hücrelerin erken dönemlerinde farklılaşma eğilimleri sonucu gözlenen tümöral oluşumu sonucu hemanjiomların gözlenebileceği ifade edilmektedir. Bu bulgu; hemanjiomların hücresel elementlerinin farklılık göstermesini ve farklı antijenik profiller sergilemesini izah edebilir⁶⁸.

Von-willebrand faktör (faktör 8) ve CD 34 vasküler endotel için belirleyicidir. Bunlar proliferatif hemanjiomda fazla miktarda salınır. Bu işaretleyiciler endotelial progenitör hücreleri tespit ettiğinden dolayı, ortamda fazla miktarda bulunmaları hemanjiomları destekler, aynı zamanda hemanjiomların büyümesinde ve patogeneizde rol oynar⁶⁵.

VEGF reseptörleri de endotelial hücreler için belirleyicidir. Hemanjiomların gelişiminde endotel hücrelerinden VEGF reseptörlerinin fazla salınımı hemanjiom patogenezinde endotelial progenitör hücrelerin rol oynadığı hipotezini desteklemektedir⁶⁵.

Plasental Orjinli Gelişim Teorisi

Eritrosit tip glikoz taşıyıcı molekül-1 (GLUT-1) yalnızca birkaç doku tipinden sınırlı şekilde salınır. Bu dokular santral sinir sisteminin kan-doku bariyerindeki mikrodamarların endoteli ve plasental trofoblastlardır. GLUT-1 deri ve derialtı dokusunun damarlarında mevcut değildir, fakat hemanjiomun kapiller endotelinden yüksek miktarda salınmaktadır¹⁰. Vasküler malformasyonlarda ve diğer iyi huylu vasküler tümörlerde GLUT-1 salınımı görülmemektedir⁶⁹. GLUT-1'in yüksek salınımı hemanjiomun anatomik lokalizasyonuna, fazına ya da mitotik aktivitesine bakılmaksızın genel özelliğidir. Diğer plasenta bağımlı

vasküler antijenlerin salınımı (örneğin Lewis Y antijeni) hemanjiomlarda görülmemiştir⁷⁰.

Sitokin Düzenleyici Yolakta Mutasyon Teorisi

Yapılan çalışmalarda hemanjiom sıklığında heredite görülmediği tespit edilmiştir⁷¹. Zıt olarak hemanjiomun ailesel görüldüğü ve bu hemanjiomların otozomal dominant kalıtsal geçişini destekleyen bulgular da tespit edilmiştir⁷². Ailesel hemanjiomlu 5 vakanın üçününün 5q kromozom alanı ile bağlantılı olduğu saptanmış olup bu alanın damarların büyümesi ile ilişkili üç geni içerdiği tespit edilmiştir. Bunlar ; trombosit bağımlı büyüme faktör reseptör beta (PDGFR-β), fibroblast büyüme faktör reseptör-4 (FGFR-4) ve vasküler endotelial büyüme faktör reseptör-3'tür (VEGFR-3)⁷³.

Hemanjiomlarda gözlenen proliferasyonun, VEGF ve bFGF regülasyonundaki düzensizlik sonucu olduğu bilinmektedir⁷⁴. Hemanjiomda anormal damar büyümelerinin olası nedeni bu genlerin mutasyonu olabilir.

Gelişimsel Alan Defekti Teorisi

Gelişimsel alan defektleri morfogenetik gelişimdeki bozukluğun sonucu olarak görülürler ve morfogenetik süreçlere bağlı olarak dokuları etkilerler. Bunun ana özelliği heterojenite göstermesidir. Bir organ ve sistemi etkilemişse monotipik, iki ya da daha fazla sistemi etkilemişse politipik olarak değerlendirilir. Hemanjiomlardaki klinik bulguların çeşitli defektlerle birlikte görülmesi gelişimsel alan defekti hipotezini destekler ve hemanjiomlar gelişimsel alan defekti içinde gruplandırılabilir¹².

Sakral hemanjiomlar multipl sakral ve genitoüriner anomaliler ile birlikte olabilir (imperfore anüs, renal anomaliler, genital anomaliler, lipomeningomyelosel, tethered spinal kord ve pelviste kemik deformiteleri)^{12,75}. Lomber hemanjiomlar tethered spinal kord ile birlikte görülebilir⁹.

PHACES sendromunun (P; posterior fossa malformasyonu, H; hemanjioma, A; arteriyel anomaliler, C; kardiyak defektler, E; göz anomalileri, S; sternal defektler) politipik alan defekti olduğu anlaşılmıştır^{2,76}. Bir organ morfogenezindeki bozukluk, yakınındaki organın embriyogenezini de etkiler. Hemanjiomlar gelişimsel alan defektinin etkileri sonucunda multipl malformasyonlarla birlikte olabilir. Gelişimsel alan içindeki anormal sinyaller

angiogenezde bozulmaya yol açabilir. Bunun sonucunda gelişimsel alan defektleri ile birlikte hemanjiom görülme insidansı artarken, beraberinde gözlenen lomber hemanjiom altta yatan başka bir patolojinin habercisi olabilir¹⁰.

Klinik Özellikler

Doğumda hemanjiomlara ait prekürsör lezyonlar telanjiektazi ya da eritematöz plak şeklinde mevcut olabilir Hemanjiomlar tipik olarak yenidoğan döneminde hızlı büyür ve takip eden yıllarda involüsyona uğrarlar¹⁰. 5-6 yaşında hemanjiomların %50'si geriler ve 9 yaşında %90 'ı involüsyona uğrar. Özellikle yüzeysel yerleşimli olanlar yerini fibroz dokuya, eriteme ya da pigmentasyon bozukluğuna bırakabilir. Hemanjiomların %60'ı baş-boyun bölgesinde, %25'i gövdede, %15'i ekstremitelerde görülür⁷⁷.

Hemanjiomlar yaşamın ilk yıllarında proliferatif bir faz gösterirler (1 yaşına kadar). Ardından involüsyon fazına girerler (1-5 yıl). İnvölüsyon fazından sonraki 5-12 yıl arası tümörün tamamen gerileyebileceği bir dönem olarak kabul edilmektedir^{78,79}.

Hemanjiomların %50-60' ı yüzeysel, %15'i derin, %25-35'i hem yüzeysel hem de derin (karma) tipte yerleşim gösterirler. Yüzeysel hemanjiomlar canlı kırmızı, keskin sınırlı plak veya nodüler şekilde olup basmakla kısmen solarlar. Derin hemanjiomlar normal cilt renginde veya hafif mavi-mor, sınırları tam belirgin olmayan lezyonlardır. Yüzeysel hemanjiomları besleyen veya drene eden damarlar fark edilebilir. Bu tip hemanjiomlarda bebek ağladığında renk koyulaşması ve çap artışı görülebilir^{78,80,81}.

Vasküler Malformasyonlar

Vasküler malformasyonlar vasküler morfogenez esnasında ortaya çıkan bölgesel defektler sonucu ortaya çıkar ve genellikle vücudun belli alanında sınırlı sayıda damarları etkiler¹³. Bu lezyonlar doğum sırasında var olmalarına rağmen, pek belirgin değildir. Lezyondaki büyüme, çocuktaki büyüme ile paralellik gösterir ve lezyonda gerileme görülmez¹⁴.

Mulliken ve Glowacki¹⁴ vasküler malformasyonları hemodinamisine göre ;

1. Düşük akımlı
Kapiller malformasyonlar
Telenjiektaziler

- Lenfatik malformasyonlar
- Venöz malformasyonlar
- 2. Yüksek akımlı
 - Arteriyel malformasyonlar
 - Arteriyo-venöz malformasyonlar
 - Arteriyo-venöz fistüller
- 3. Her iki şekilde kombine olan malformasyonlar şeklinde sınıflandırmıştır.

Vasküler malformasyonlarda endotelial hücrelerde hiperplazik bir durum gözlenmez. Histolojik olarak normal endotelial hücreler ve dilate kan damarları görülür. Anjiyografik görüntüleme dilatasiyon gösteren damar ağları bulunur^{14,82}. Vasküler malformasyonlar dilate kanallar ve gevşek parankim nedeniyle yumuşak kıvamlıdır. Çocukla beraber büyür, basınçla küçülür ve rengi sıklıkla değişmez. Kız ve erkeklerde eşit oranda görülür⁸³.

Vasküler malformasyonlarda mast hücrelerinde artış mevcut değildir⁸⁴. İmmünohistokimyasal olarak yapılan araştırmada vasküler malformasyonların değişik tiplerinde; VEGF ve bFGF çok az gözlenir ya da hiç gözlenmez. Von-willebrand faktör hepsinde pozitif immün boyanma göstermektedir⁵¹.

Düşük akımlı vasküler malformasyonlarda sıklıkla diffüz iskelet hipertrofisi, distorsiyonu ve uzaması olabilir. Yüksek akımlı vasküler malformasyonlarda destrüktif değişiklikler görülebilir⁸.

Vasküler malformasyonlarla birlikte birçok sendrom tanımlanmıştır. Bunlar; Osler-Weber-Rendu, Parkes-Weber, Sturge-Weber-Krabbe, Bannayan's, Klippel-Trenaunay, Servelle-Martorell ve Maffucci's sendromlarıdır⁸⁵.

Kapiller Malformasyon (Port-wine stain)

Port-wine stain olarak da tariflenmiş vasküler malformasyon aslında düşük akımlı bir kapiller malformasyondur. Yeni doğanların %0.3-0.5 'inde gözlenir^{7,86}. Port-wine stain vasküler anomalilerin diğer türleri ile birlikte kombinasyon içinde yer alabilir.

Kapiller malformasyonlar derinin dermis ve dermis altı bölgelerindeki kapillerlerin normalden fazla miktarda genişleyerek çok yoğun kümeler oluşturmasıyla meydana gelir. Renk değişikliği çocuk doğar doğmaz belirgindir⁷.

Sıklıkla baş-boyun bölgesinde yerleşirler. %85'i tek taraflı ve sinir dermatomu üzerinde bulunur. Bu lokalizasyonun %57'si 5.kranial sinirin (N. Trigemini) maksillar dalının (V2) dermatomu üzerinde yer alır⁸⁷. Ancak farklı lokalizasyonlarda da gözlenebilir⁸. Lumbosakral bölgede lokalize olduğunda altta yatan bir patolojinin habercisi olabilir^{15,16}.

Lezyonlar kırmızıdan pembeye kadar değişen bir renk dağılımı gösterir. Çocuk ağladığında, ateşi çıktığında ve çocuğun gelişimi ile PWS lekelerinin rengi mavi-mor bir hal alır. Adölesan çağına geldiğinde PWS lekelerinin üzeri nodüler bir şekil alır ve düzensizleşir⁸⁸.

Kapiller malformasyonlar sıklıkla sporadik olmasına rağmen ailesel olan olgular da olduğu ve otozomal dominant kalıtıldığı bildirilmiştir. Bu geçişin de 5q kromozomu üzerinde olduğu gösterilmiştir⁸⁹.

Mikroskopide papiller ve retiküler dermis katmanlarında sayıca artmış dilate kan damarları mevcuttur. Ancak erken lezyonlarda bu değişim görülmeyebilir⁹⁰. Dilate damarların normal morfolojide olduğu ve immünohistokimyasal analizde, majör yapısal komponentlerin (Tip 4 kollojen-fibronektin) normal seviyede olduğu görülmüş⁹¹. Bununla birlikte damar etrafındaki sinir sayısında azalma olduğu ve ilerleyici dilatasyonun bunun sonucunda gözlemlendiği rapor edilmiştir⁹².

Bütün bu bilgiler ışığında planladığımız klinik çalışmamızda; spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin hemanjiom ya da düşük akımlı kapiller malformasyon ile bağlantısı olup olmadığı ve strüktürel yapısının ne olduğunu araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Etik Kurul Onayı

Çalışma, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay alındıktan sonra (30.06.2006 tarih, 06/02 sayılı onay belgesi) ME Ü.T.F.Hastanesi'nde yapılmıştır.

GEREÇ-YÖNTEM

Çalışmaya 2005 -2007 yılları arasında hastanemizde takip ve tedavi edilen spinal kord anomalisine sahip 17 olgu dahil edildi. Olguların yaş, cinsiyet ve anomalinin lokalizasyonları gibi demografik verileri kaydedildi. Hastalardan kan ve doku örnekleri alındı.

Doku örnekleri hastalardan spinal defekt tamiri ameliyatları esnasında iki farklı bölgeden alındı ve elde edilen bu doku örnekleri iki gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=17): Defekt alanı kapatmak için tasarlanan flebin 'back-cut' yapıldığı normal cilt dokusu bölgesinden ya da primer kapatılan olgularda defekt alan kenarındaki renk değişikliği bölgelerine en uzak noktada olan normal cilt dokusundan alınan örnekler.

Grup 2 (n=17): Defekt alanı kenarındaki renk değişikliği olan bölgelerden alınan örnekler.

Alınan dokular ışık mikroskopik inceleme amacıyla oda ısısında %10'luk formaldehit solüsyonuna ve elektron mikroskopik inceleme yapılması amacıyla %2.5 soğuk glutaraldehit solüsyonuna konularak saklandı. Alınan bu doku örnekleri ışık mikroskopisi ile histolojik, elektron mikroskopisi ile ultrasükrüktürel incelemeye tabi tutuldu. Ayrıca bu dokularda immünohistokimyasal olarak östrojen reseptör düzeyi, vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF), faktör 8 (Von-willebrand Faktör) ve doku inhibitör matriks metalloproteinaz-1 (TIMP-1) düzeyi araştırıldı. Hastalardan alınan kan örneklerinde östradiol seviyesi biyokimya laboratuvarı'nda araştırıldı.

DEĞERLENDİRME

Histolojik Değerlendirme

Işık Mikroskopik Değerlendirme

Elde edilen dokular %10'luk nötral formalin ile fikse edildi. Tüm dokular rutin ışık mikroskopik doku takip protokolüne göre takip edildi. Örnekler parafin bloklar haline getirildi ve mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Bu bloklardan hazırlanan kesitler toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Toluidine Mavisi ile Histokimyasal Boyama Yöntemi:

Parafin bloklardan hazırlanan 5 mikron kalınlığındaki kesitler 0.5 gr toluidin mavisi, 100 cc distile su ve pH 3 olarak hazırlanan toluidin mavisi solüsyonunda 15 dakika bekletildi, çeşme suyunda yıkandı ve kapatıldı.

Toluidin mavisi ile boyalı kesitler Olympus BX50 ışık mikroskobu ile incelendi. Dermiste mast hücresi sayımı için, her kesitte rastgele seçilmiş 10 farklı alanda x400 büyütmedeki mast hücreleri sayıldı ve Nikon Coolpix 5000 dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

Elektron Mikroskopik Değerlendirme

Elektron mikroskopik inceleme için alınan 1 mm³'lük doku örnekleri %2.5'lik soğuk gluteraldehit ile fikse edildi. %1'lik Osmium Tetraoksit (OsO₄) ile postfiksasyon yapıldı. Dehidrasyon işlemi yükselen derecelerde alkol kullanılarak gerçekleştirildi. Propilen oksitle şeffaflandırma ve resine alıştırma aşamalarından sonra, dokular resine (Araldite, EMS) gömüldü. 24 saatlik polimerizasyon işleminden sonra, bloklardan Leica Ultracut UCT-125 ile öncelikle 1 µm kalınlığında yarı ince, sonra da 50-70 nm kalınlığında ince kesitler alındı. Yarı ince kesitler toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi ve hangi alandan ince kesit alınacağı belirlendi. İnce kesitler ise uranil asetat-kurşun sitrat ile kontrastlandı. Kesitler JEOL-JEM 1011 elektron mikroskobunda incelendi. Mikroskoba eklenmiş dijital kamera ile fotoğrafları çekildi.

Elektron mikroskobisinde endotelial proliferasyon, bazal membranın yapısı, kollojen liflerinin çap ortalaması değerlendirildi. Dermisteki kollajen

liflerin çapı, X 50.000 büyütmede rastgele seçilmiş bir alandaki 100 enine kollajen lifin elektron mikroskobuna bağlı digital kamera ile fotoğrafı çekilerek, özel bir bilgisayar yazılımı ile ölçüldü.

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Işık mikroskopik inceleme için hazırlanmış bloklardan alınacak kesitlerde yeni damarlanmanın ortaya konulabilmesi amacıyla Von-willebrand faktör ve VEGF immünohistokimyasal boyama yapıldı. Ayrıca östrojen reseptör β ve doku inhibitör metalloproteinaz-1 düzeyi immünohistokimyasal olarak araştırıldı.

İmmünohistokimyasal çalışma için biyopsilerin parafin bloklarından hazırlanan histolojik kesitlere Strept Avidin-Biotin immünperoksidaz boyama yöntemi uygulandı.

Strept Avidin-Biotin Boyama Yöntemi;

1. 5 μ m kalınlığında alınan kesitler adheziv poli-L-lizin kaplı lamlara alındı.
2. Kesitlerin lamlara daha iyi tutunmasını sağlamak amacıyla, lamlar, oda ısısında bir gece bırakıldı.
3. Daha önce 60^olik etüve konmuş sıcak ksilol içinde 15 dakika bekletildi.
4. Ek olarak, oda ısısında 5'er dakikadan 3 kez ksilolde bekletildi.
5. Rehidratasyon aşaması için, derecesi giderek düşen alkollerde (sırasıyla %96, %90, %80) oda ısısında, 3'er dakika bekletildi.
6. Distile su ile yıkama aşamasından sonra kesitlerin kurumamasına dikkat edildi. Kesitlerin çevresi kurularak hidrofobik bir bariyer oluşturmak amacıyla pap-pen ile çizildi.
7. Dokular, antijen geri kazanımı amacıyla, 0,01 M Sitrat Tamponunda 10 dakika 700 Watt' da ısıtıldı.
8. pH'sı 7.4 olan PBS'de (Phosphate Buffer Saline) 5'er dakikadan 3 kez yıkandı.
9. Kesitler, distile su içerisinde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksit ile oda ısısında 10 dakika inkübe edildi.
10. PBS'de 5'er dakikadan 3 kez yıkandı. Kesitlerin çevresi kurulandı.
11. Nonspesifik antikor bağlanmasını yok etmek için oda ısısında blok solüsyonu (Ultra V Block, Lab Vision, Cat # TA-125-UB) ile 10 dakika inkübe edildi.

12. Bu aşama ile primer antikorun konulması arasında PBS ile yıkama yapılmadı.
13. Daha önceden 100 cc PBS içinde 0,5 gram sığır serum albumini (BSA) çözülerek PBS-BSA hazırlandı. Dokular, bu PBS-BSA içerisinde hazırlanmış 1/30 dilüsyondaki Mouse anti-Faktor VIII primer antikorunu (Diagnostic Biosystem, Clone F8/86, Cat # Mob- 196), Mouse anti-Timp1 (Diagnostic Biosystem, Clone 102D1, Cat # Mob- 317) ve 1/500 dilüsyonda tavşan poliklonal Anti-Estrogen Reseptör β (upstate, Cat # 06-626) damlatıldı ve +4 °C'de 1 gece bekletildi.
14. Negatif kontrol için ayrılan kesitler üzerine bu aşamada sadece PBS-BSA konuldu.
15. PBS'de 5'er dakikadan 3 kez yıkandı. Kesitlerin çevresi kurulandı.
16. Kesitler biotin ile bağlanmış sekonder antikorla (Lab Vision, Cat # TP-125-BN) 10 dk oda ısısında inkübe edildi.
17. PBS'de 5'er dakikadan 3 kez yıkandı. Kesitlerin çevresi kurulandı.
18. Streptavidin peroksidaz (Lab Vision, Cat # TS-125-HR) solüsyonu dokular üzerine damlatıldı ve 20 dakika inkübe edildi.
19. PBS'de 5'er dakikadan 3 kez yıkandı. Kesitlerin çevresi kurulandı.
20. Diaminobenzidine (DAB) kromojeni kesitler üzerine damlatılır; 3-10 dakika arasında inkübe edildikten sonra renk tayin işlemi, mikroskop ile takip edildi.
21. Distile su ile 3–5 dakika yıkama yapıldı.
22. Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı (5 sn).
23. Kesitler, akarsuda, su berraklaşana kadar yıkandı.
24. Dehidratasyon aşaması için, derecesi giderek artan oranlarda alkollerde (sırasıyla %80, %90, %96) oda ısısında, 3'er dakika bekletildi.
25. Kesitler havada kurutulduktan sonra 2 kez 5'er dakika süreyle ksilolde tutuldu.
26. Lamlar entellan kullanılarak kapatıldı.

Biyokimyasal Değerlendirme

Hastalardan alınan kan örneklerinde östradiol seviyesi biyokimya laboratuvarı'nda araştırıldı.

Klinik Değerlendirme

Hastaların rutin olarak operasyon öncesi, operasyon esnasında ve operasyon sonrasında belirli aralıklarla fotoğrafları çekilerek takip işlemleri yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

Veri girişı ve analizi bilgisayar ortamında SPSS 11.5 istatistik paket programında yapıldı. Değişkenlerin tümünün normal dağılıp dağılmadığını belirleyebilmek için Shapiro-Wilks ve Kolmogorov–Smirnov testleri kullanıldı. Verilerin normal dağılım gösterdiği belirlendikten sonra, gruplar arasında fark olup olmadığı student-t testi (Independent Samples T testi) kullanılarak araştırıldı. Değişkenler arasındaki ilişkinin istatistiksel anlamlılığının belirlenmesinde p değeri <0.05 ise 'istatistiksel olarak anlamlı ilişki var', p değeri >0.05 ise 'istatistiksel olarak anlamlı ilişki yok' şeklinde değerlendirildi. Grafikler STATISTICA 6.0'da elde edildi.

BULGULAR

Demografik Özellikler

Çalışmaya spinal kord anomalisine sahip 17 olgu dahil edildi. Olguların 10'u erkek 7'si kadın idi. Olguların yaş ortalaması 4.6 ± 1.3 ay (Dağılım aralığı 2 gün-4.5 yaş) olarak bulundu. Olguların %82.4'nin (n=14) meningomiyelosele %17.6'sının (n=3) meningosele olduğu tespit edildi. Defekt alanların %76.4'ünün (n=13) lumbosakral, %11.8'inin (n=2) lomber ve %11.8'nin de (n=2) torakolomber yerleşimli olduğu görüldü. Defekt alanların %70.6'sı (n=12) flep ile %29.4'i (n=5) ise primer rekonstrükte edildi.

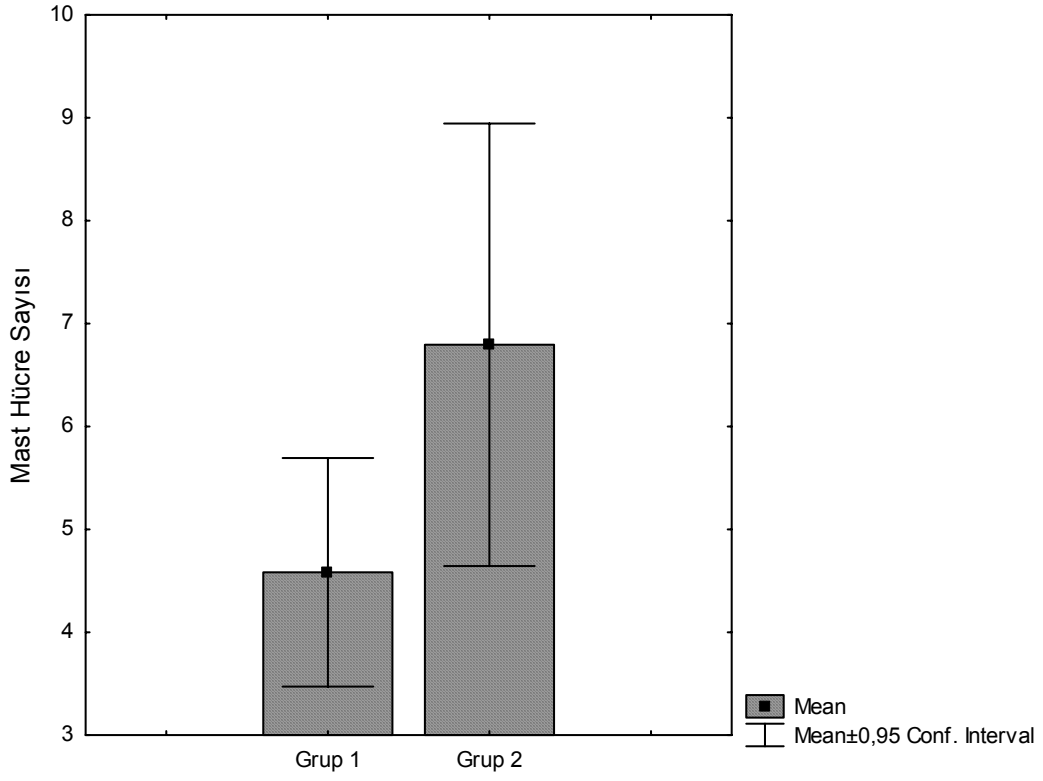
Histolojik Bulguların Değerlendirilmesi

Işık Mikroskopik Bulguların Değerlendirilmesi

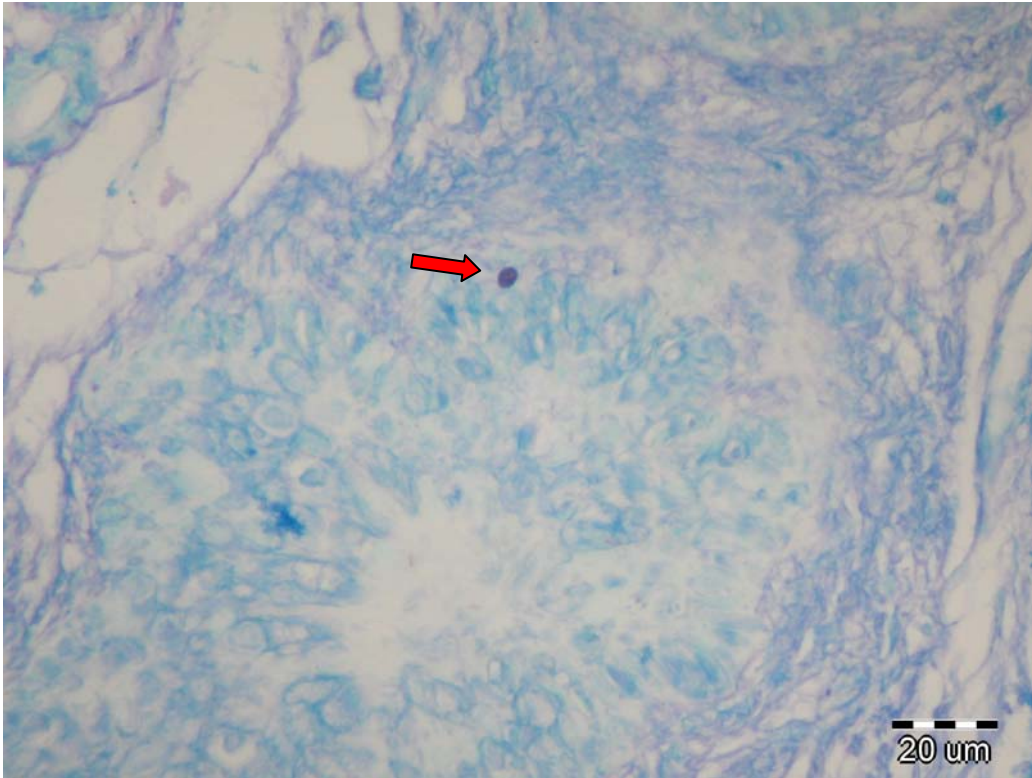
Normal deri (Grup 1) ve renk değişikliği grubu (Grup 2) arasında mast hücre boyanma değerleri 4.58 ± 2.15 ve 6.79 ± 4.18 olduğu saptandı (Tablo 1). Fakat her iki grup arasında mast hücreleri sayısında istatistiksel bir değişiklik ortaya çıkmadığı görüldü (student-t testi, $p=0.062$), (Şekil 1). Bu bulgu mast hücre sayısının her iki grupta da benzer olduğunu göstermektedir. Grup 1 ve grup 2 bölgesinin ışık mikroskopik incelemede mast hücre boyanma özellikleri Resim 2-3'de gösterilmiştir .

Tablo 1. Grup 1 ve grup 2 arasında mast hücre sayılarına ait tanımlayıcı değerler.

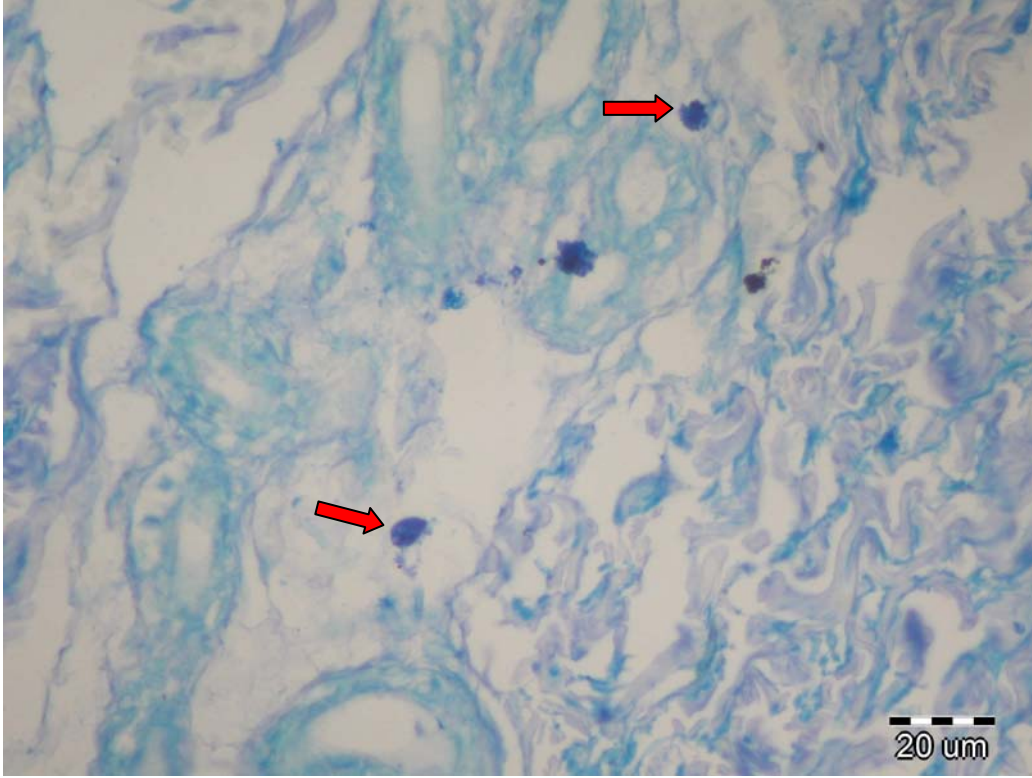
Mast Hücre	Ortalama \pm Standart sapma	P
Grup 1 (n=17)	4.58 ± 2.15	0.062
Grup2 (n=17)	6.79 ± 4.18	



Şekil 1. Normal deri (Grup 1) ve renk değişikliği olan grup (Grup 2) arasında mast hücre sayısındaki değişiklikler.



Resim 2. Grup 1'in mast hücre boyanma özellikleri (ok-mast hücresi,Toluidin mavisi, x400).



Resim 3. Grup 2'nin mast hücre boyanma özellikleri (oklar-mast hücresi, Toluidin mavisi, x400).

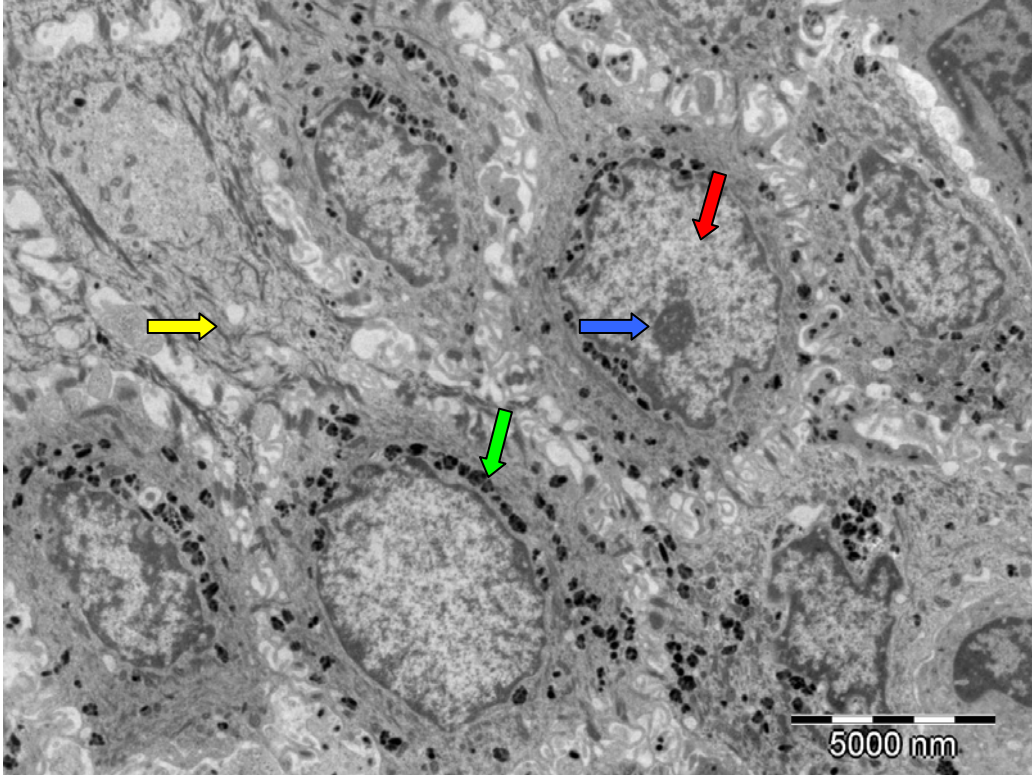
Elektron Mikroskopik Bulguların Değerlendirilmesi

Grup 1'in elektron mikroskopik incelemesinde normal görünümlü; nükleus, nükleolus, mitokondri, melanin granülleri mevcudiyeti, hücreler arası bağlantı kompleksinin sağlam ve normal boyutta olduğu gözlemlendi (Resim 4-5).

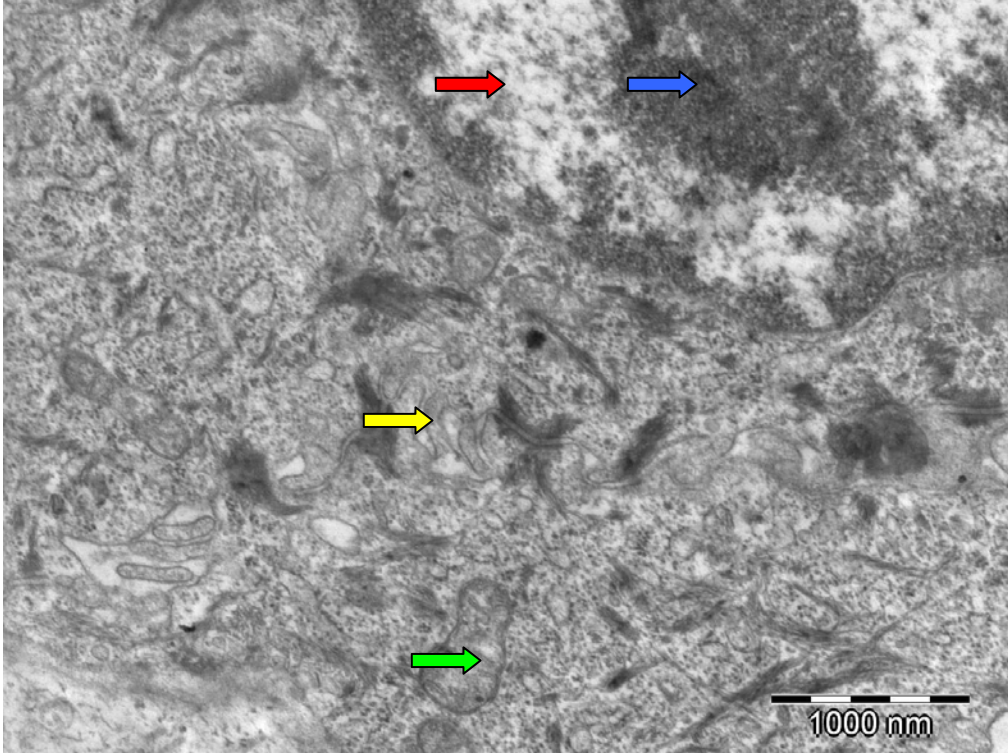
Elektron mikroskopik incelemede grup 2'de endoteliyal proliferasyon, bazal membranda multilaminasyon, perisit ve makrofaj birikimi gözlenmedi. Grup 1'e göre keratinositler arası mesafenin çok arttığı, hücreler arasında ödem olduğu görüldü. Keratinosit sitoplazması içinde oldukça büyük, yer yer nükleusu kenara iten vakuoler yapılar mevcuttu. Çok sayıda keratinosit nükleusunda apoptozu gösterir şekilde, organellerde yer yer dejenerasyon ve bu hücrelerin nükleuslarında periferik heterokromatin yoğunlaşmasına rastlandı. Ayrıca keratinositlerin melanin granüllerini kaybetmiş olduğu gözlemlendi (Resim 6-7).

Grup 1 ve grup 2 arasında dermisteki kollajen liflerin çap değerlerinin 0.67 ± 0.19 ve 0.65 ± 0.09 olduğu saptandı (Tablo 2). Fakat her iki grup arasında kollojen liflerin çap olarak farklılık göstermediği belirlendi (student-t testi,

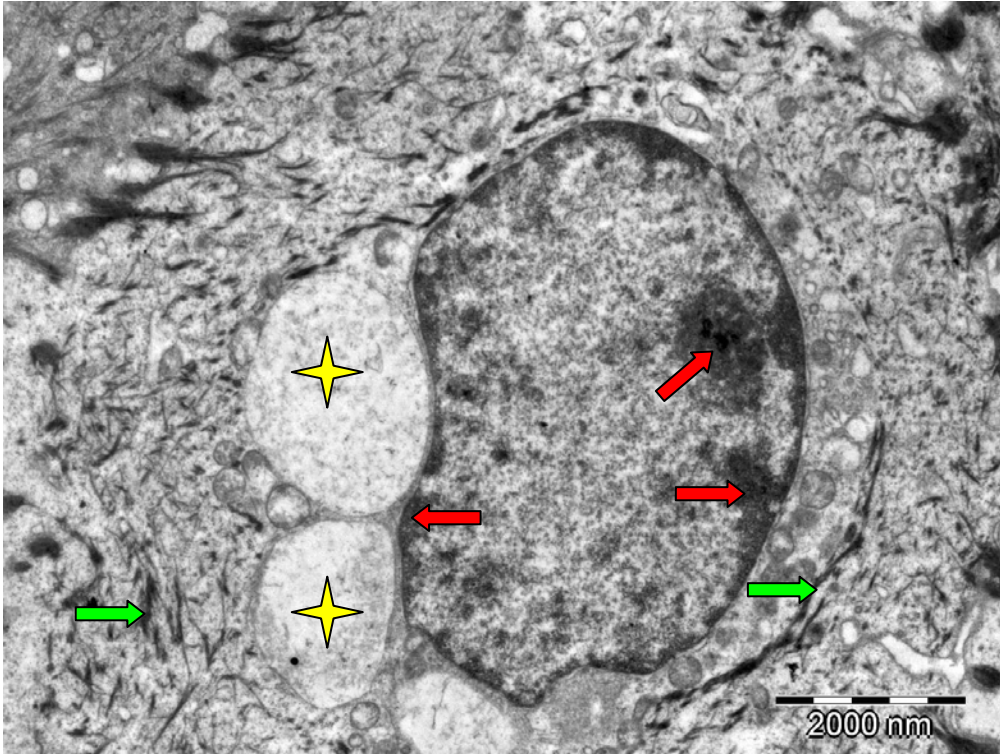
p=0.740),(Şekil 2). Bu bulgu kollojen sentezinin her iki grupta da benzer olduğunu göstermektedir.



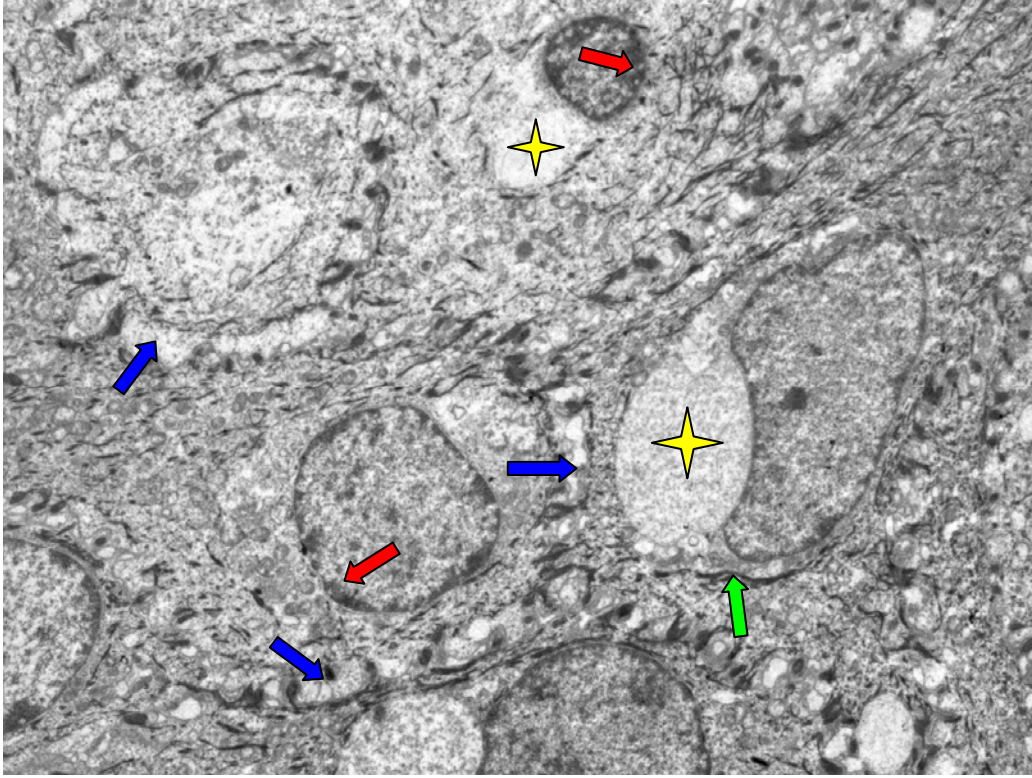
Resim 4. Grup 1'in elektron mikroskobik görünümü (kırmızı ok-nükleus, mavi ok- nükleolus, yeşil ok- melanin granülleri, sarı ok- hücreler arası bağlantı kompleksi x5000).



Resim 5. Grup 1'in elektron mikroskobik görünümü (kırmızı ok-nükleus, mavi ok- nükleolus, yeşil ok- mitokondri, sarı ok- hücreler arası bağlantı kompleksi x12000).



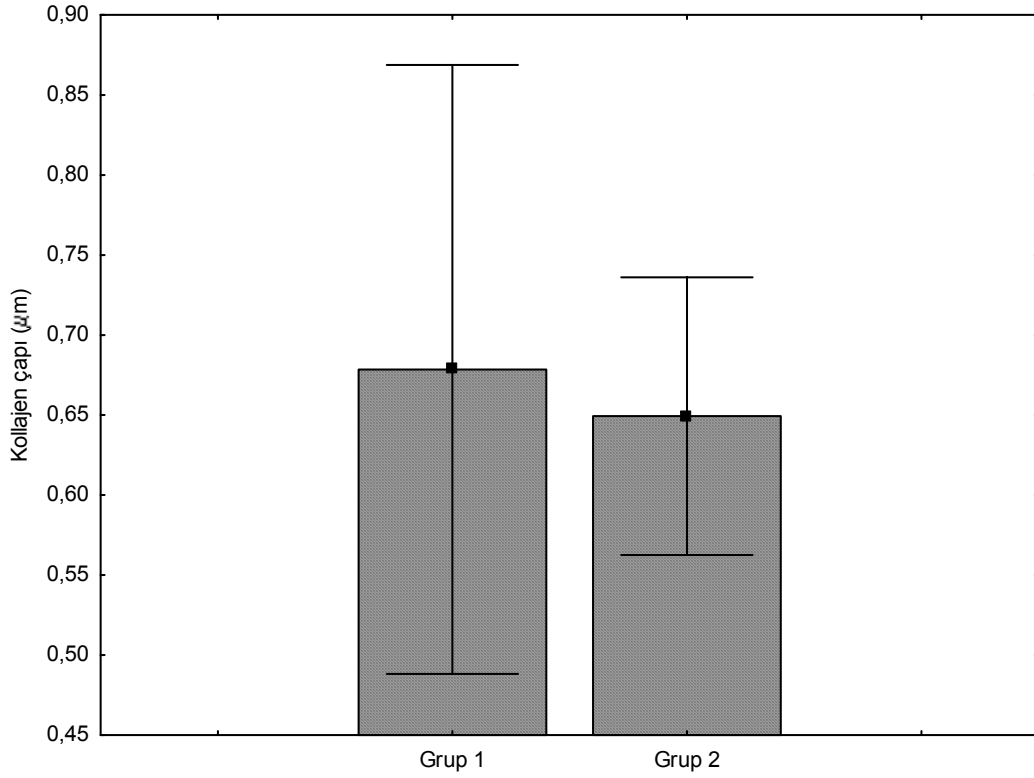
Resim 6. Grup 2'nin elektron mikroskobik görünümü (kırmızı ok- hücre nükleusunda periferik heterokromatin yoğunlaşması, yeşil ok-tonoflaman demetleri, yıldız-geniş vakueller x12000).



Resim 7. Grup 2'nin elektron mikroskobik görünümü (kırmızı ok- hücre nükleusunda periferik heterokromatin yoğunlaşması, yeşil ok- tonoflaman demetleri, mavi ok- hücreler arası mesafede artış, yıldız-geniş vakueller x5000).

Tablo 2. Grup 1 ve grup 2 arasında dermisteki kollajen liflerin çap özelliklerine ait tanımlayıcı değerler.

Kollajen Liflerin Çapı (µm)	Ortalama ± Standart sapma	P
Grup 1 (n=17)	0.67±0.19	0.740
Grup 2 (n=17)	0.65±0.09	



Şekil 2. Normal deri (Grup 1) ve renk değişikliği olan grup (Grup 2) arasında dermisteki kollajen liflerin çap değişiklikleri

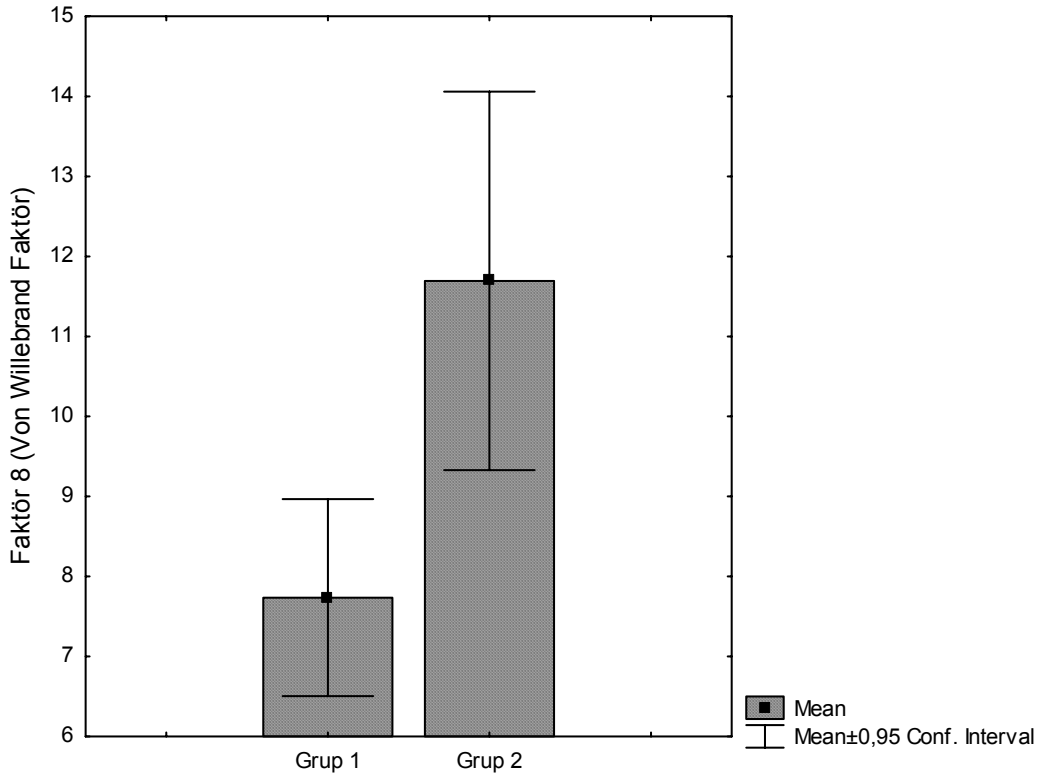
İmmünohistokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

Von-willebrand Faktör (Faktör 8)

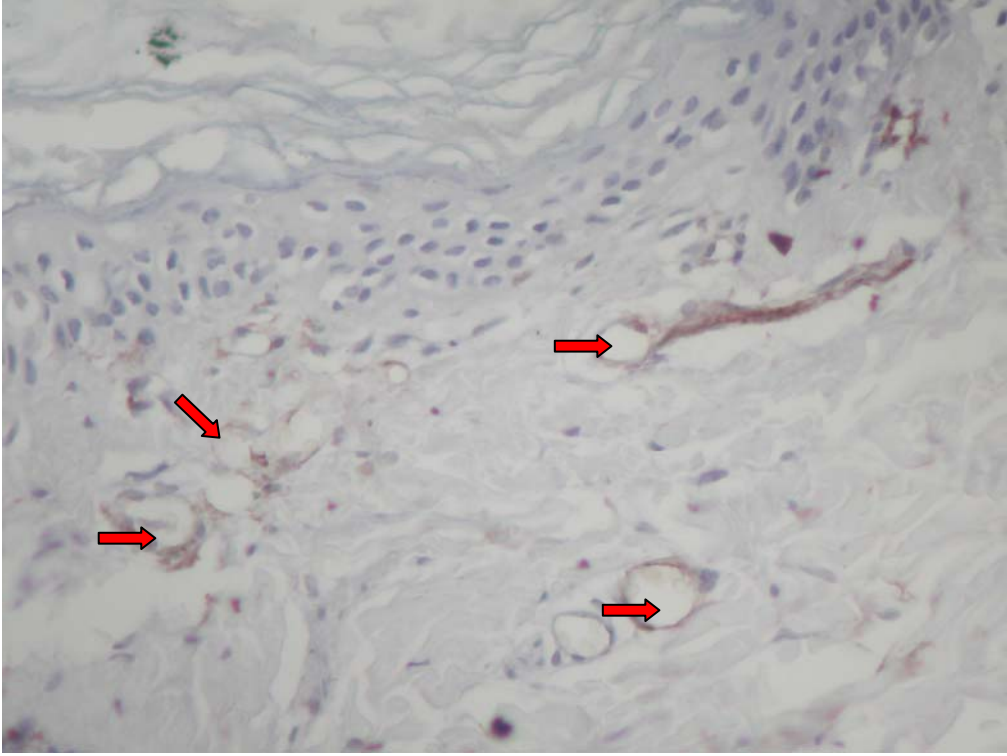
Grup 1 ve grup 2 arasında Von-willebrand faktör ile immünohistokimyasal boyanma değerleri 7.74 ± 2.40 ve 11.69 ± 4.60 olduğu saptandı (Tablo 3). Von-willebrand faktör ile işaretli endotel hücre ve damar sayılarında, grup 1 ile kıyaslandığında, grup 2'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü (student-t testi, $p=0.004$), (Şekil 3). Ayrıca grup 2'de damarlarda belirgin dilatasyon ve endotel hücrelerin normal görümlü olduğu saptandı. Grupların ışık mikroskopik incelemede Von-willebrand faktör ile immünohistokimyasal boyanma özellikleri Resim 8-9'da gösterilmiştir.

Tablo 3. Grup 1 ve grup 2 arasında Von-willebrand faktör ile işaretli damar sayılarına ait tanımlayıcı değerler.

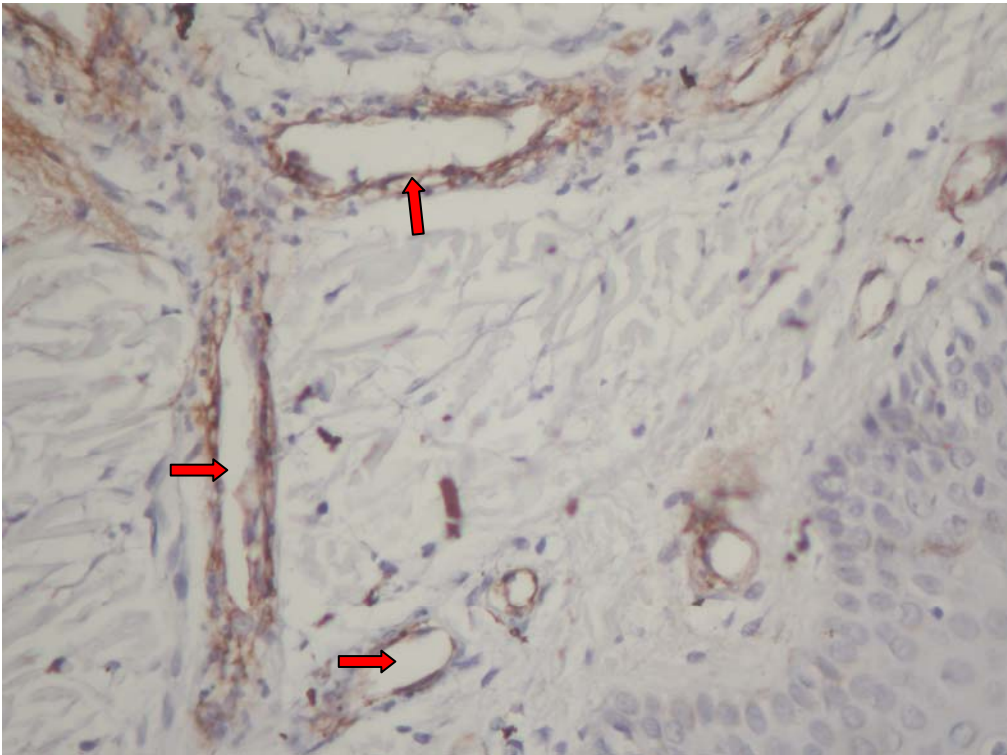
Von-willebrand faktör (faktör 8)	Ortalama \pm Standart sapma	P
Grup 1 (n=17)	7.74 \pm 2.40	0.004
Grup 2 (n=17)	11.69 \pm 4.60	



Şekil 3. Normal deri (Grup 1) ve renk değişikliği olan grup (Grup 2) arasında Von-willebrand faktör ile işaretli damar sayılarına ait değerler



Resim 8. Grup 1'in Von-willebrand faktör ile immünohistokimyasal boyanma özelliği (oklar-normal damar yapıları x600).



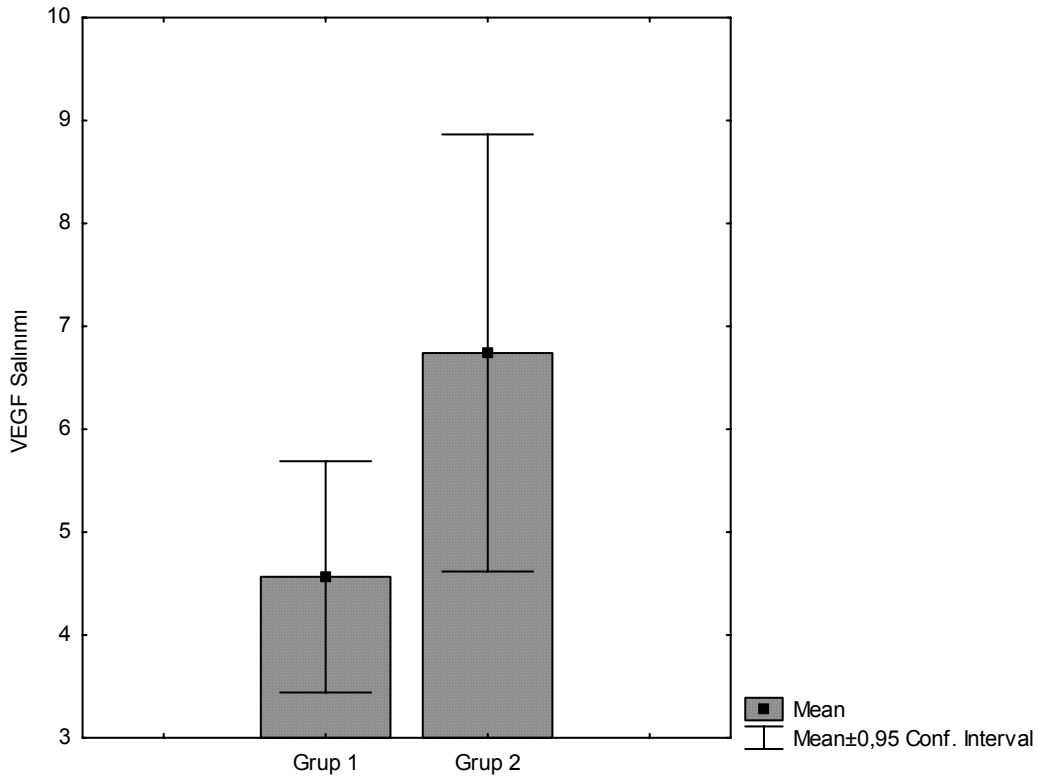
Resim 9. Grup 2'nin Von-willebrand faktör ile immünohistokimyasal boyanma özelliği (oklar-dilatasyon gösteren damarlar x1200).

Vasküler Endotelial Büyüme Faktör (VEGF)

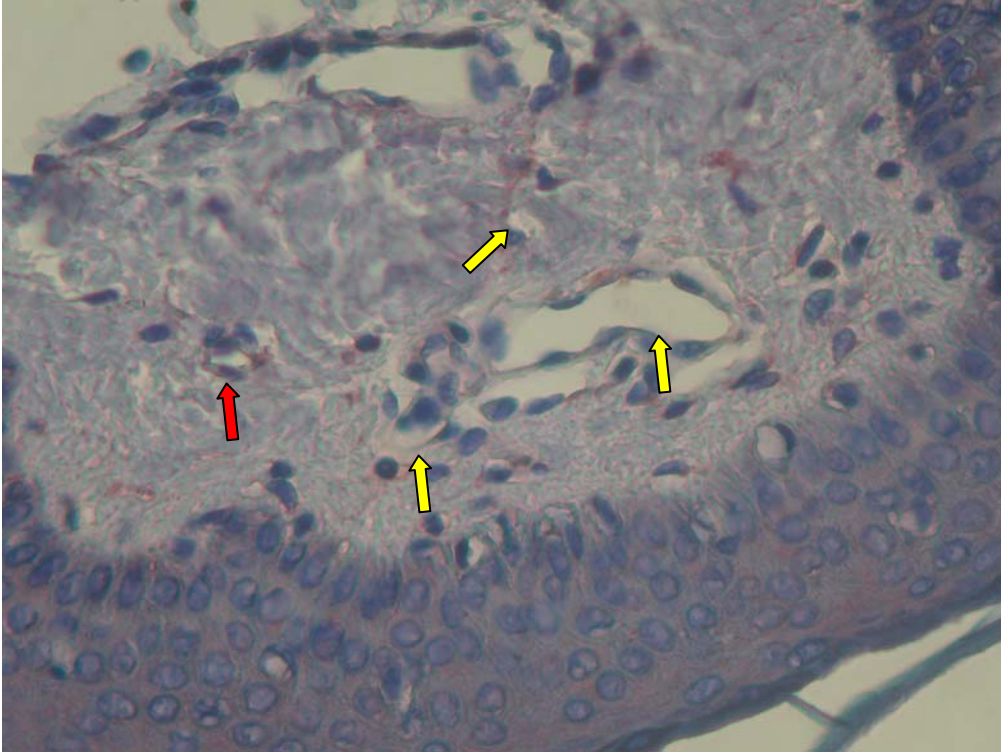
Grup 1 ve grup 2 arasında VEGF salınımına ait değerlerin 4.56 ± 2.19 ve 6.74 ± 4.13 olduğu saptandı (Tablo 4). Fakat her iki grup arasında VEGF salınımı açısından istatistiksel bir değişiklik ortaya çıkmadığı görüldü (student-t testi, $p=0.064$), (Şekil 4). Bu bulgu VEGF salınımı her iki grupta da benzer olduğunu göstermektedir. Grup 1 ve grup 2'nin ışık mikroskopik incelemede VEGF salınımına ait boyanma özellikleri Resim 10-11'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Grup 1 ve grup 2 arasında VEGF salınımına ait tanımlayıcı değerler.

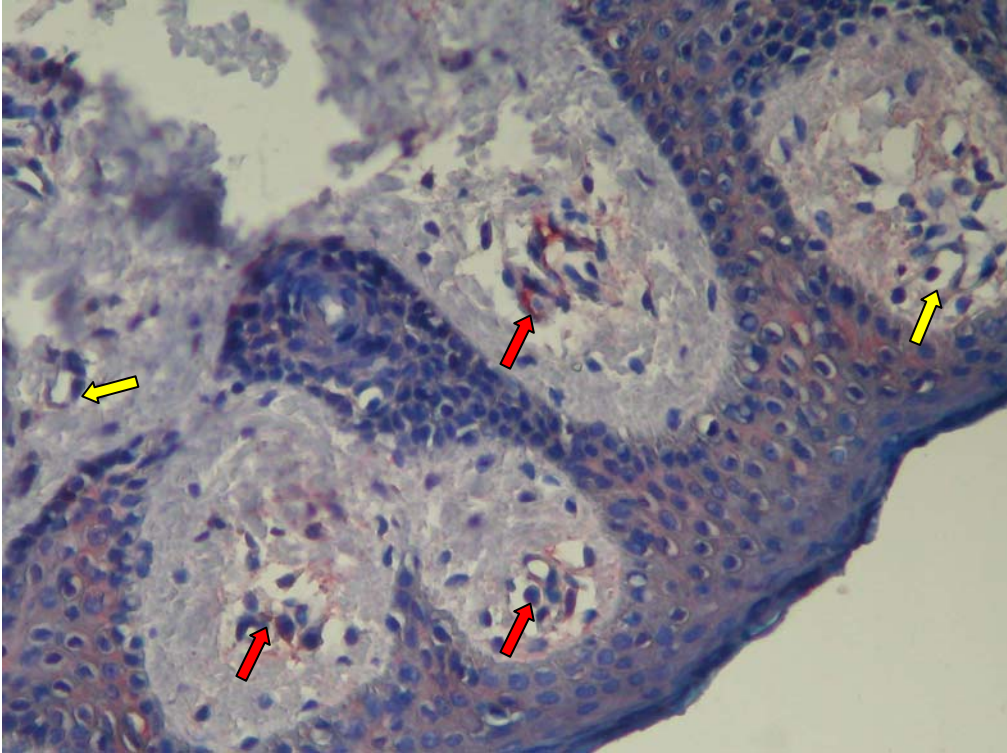
VEGF Salınımı	Ortalama \pm Standart sapma	P
Grup 1 (n=17)	4.56 ± 2.19	0.064
Grup 2 (n=17)	6.74 ± 4.13	



Şekil 4. Normal deri (Grup 1) ve renk değişikliği olan grup (Grup 2) arasında VEGF salınımına ait değerler.



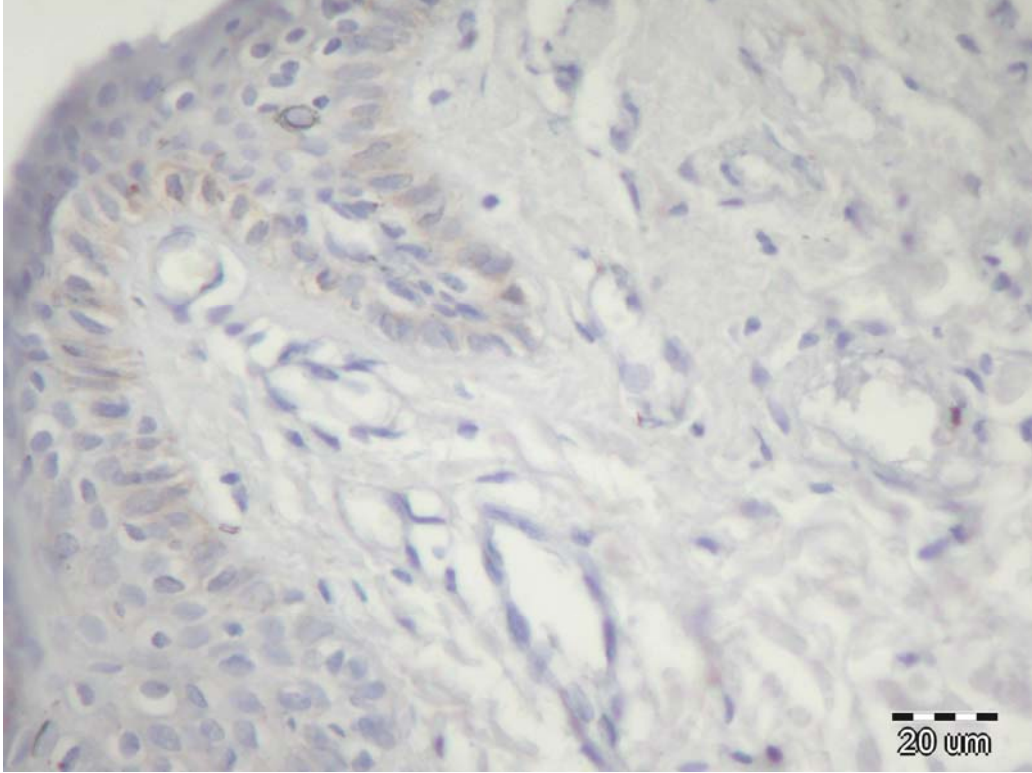
Resim 10. Grup 1'de VEGF salınımına ait immünohistokimyasal boyanma özelliği (kırmızı ok VEGF'le boyanan damar, sarı oklar boyanma göstermeyen damarlar x1200)



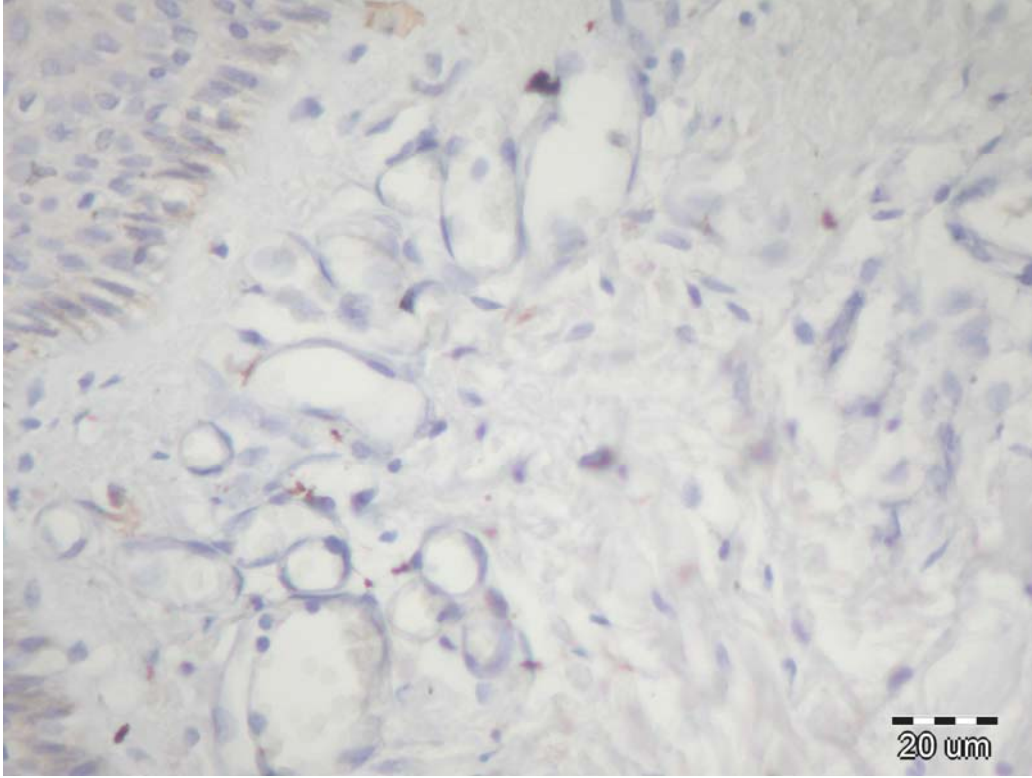
Resim 11. Grup 2'de VEGF salınımına ait immünohistokimyasal boyanma özelliği (kırmızı oklar VEGF'le boyanan damarlar, sarı oklar boyanma göstermeyen damarlar x1200)

Östrojen Reseptör β

Işık mikroskopik incelemede grup 1 ve grup 2 arasında östrojen reseptör β 'nin immünohistokimyasal boyanma göstermediği izlendi (Resim 12-13).



Resim 12. Grup 1'in östrojen reseptör β ile immünohistokimyasal boyanma özelliği



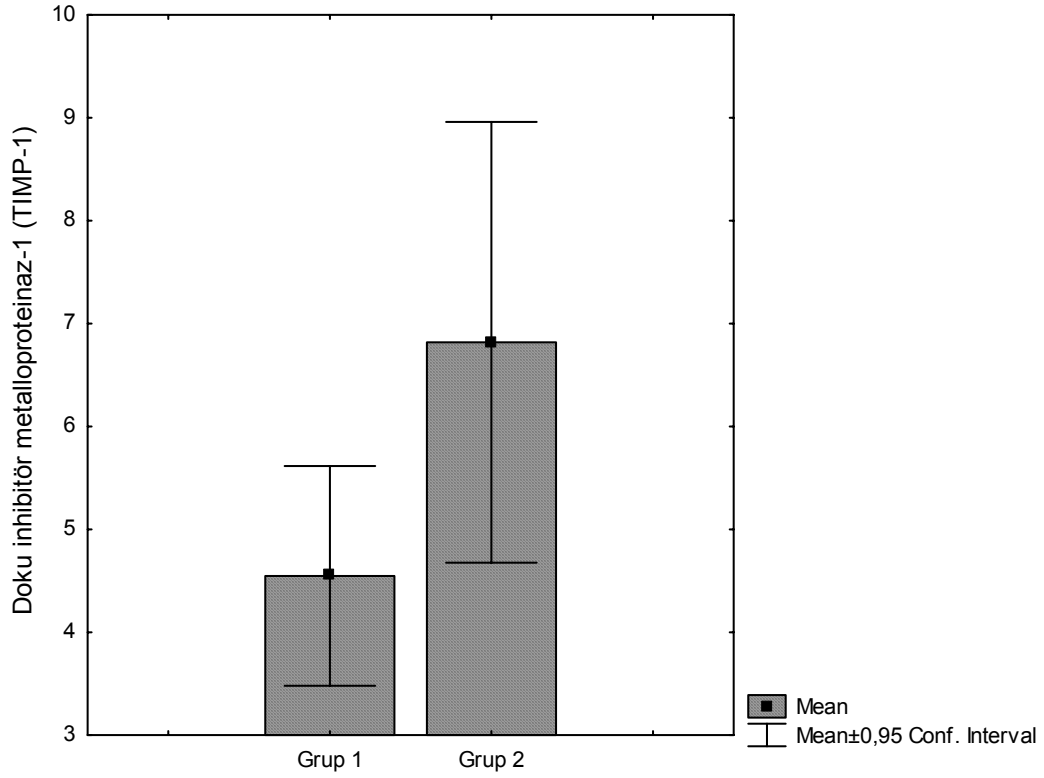
Resim 13. Grup 2'nin östrojen reseptör β ile immünohistokimyasal boyanma özelliği

Doku İnhibitör Matriks Metalloproteinaz-1(TIMP-1)

Grup 1 ve grup 2 arasında TIMP-1'e ait immünohistokimyasal boyanma değerleri 4.54 ± 2.07 ve 6.81 ± 4.16 olduğu saptandı (Tablo 5). Her iki grup arasında TIMP-1'e ait immünohistokimyasal boyanma özelliğinde istatistiksel bir değişiklik ortaya çıkmadığı görüldü (student-t testi, $p=0.053$), (Şekil 5). Bu bulgu TIMP-1 sekresyonunun her iki grupta da benzer olduğunu göstermektedir.

Tablo 5. Grup 1 ve grup 2 arasında TIMP-1'e ait tanımlayıcı değerler.

TIMP-1	Ortalama \pm Standart sapma	P
Grup 1 (n=17)	4.54 ± 2.07	0.053
Grup 2 (n=17)	6.81 ± 4.16	



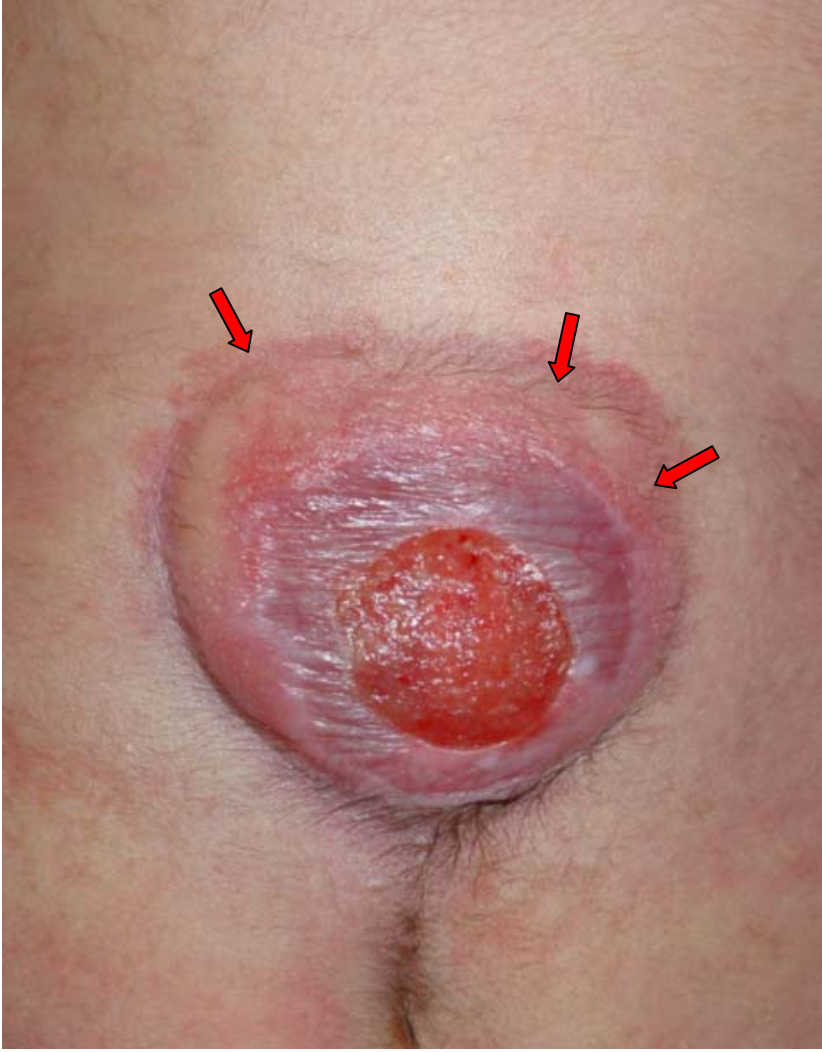
Şekil 5. Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği (Grup 2) olan gruplar arasında TIMP-1'in sekresyon değerleri.

Biyokimyasal Bulguların Değerlendirilmesi

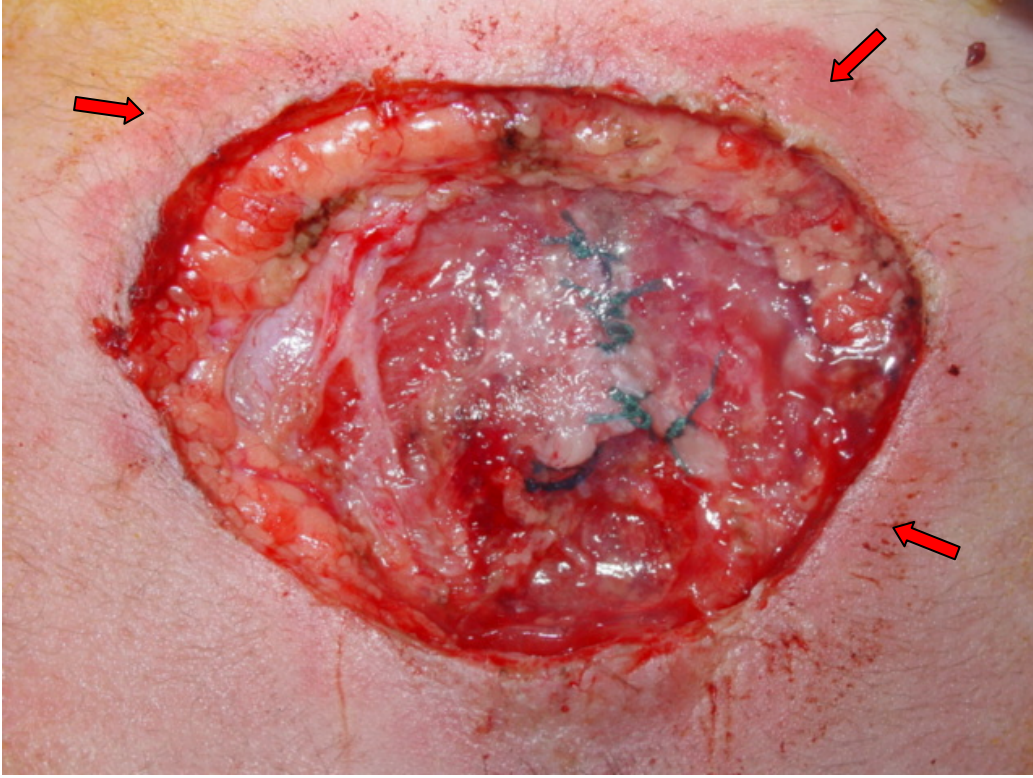
Hastalardan alınan kan örneklerinde östradiol seviyesinin ortalama 16.4 pg/mL (dağılım aralığı 13.5-59.5 pg/mL) olduğu saptandı.

Klinik Bulguların Değerlendirilmesi

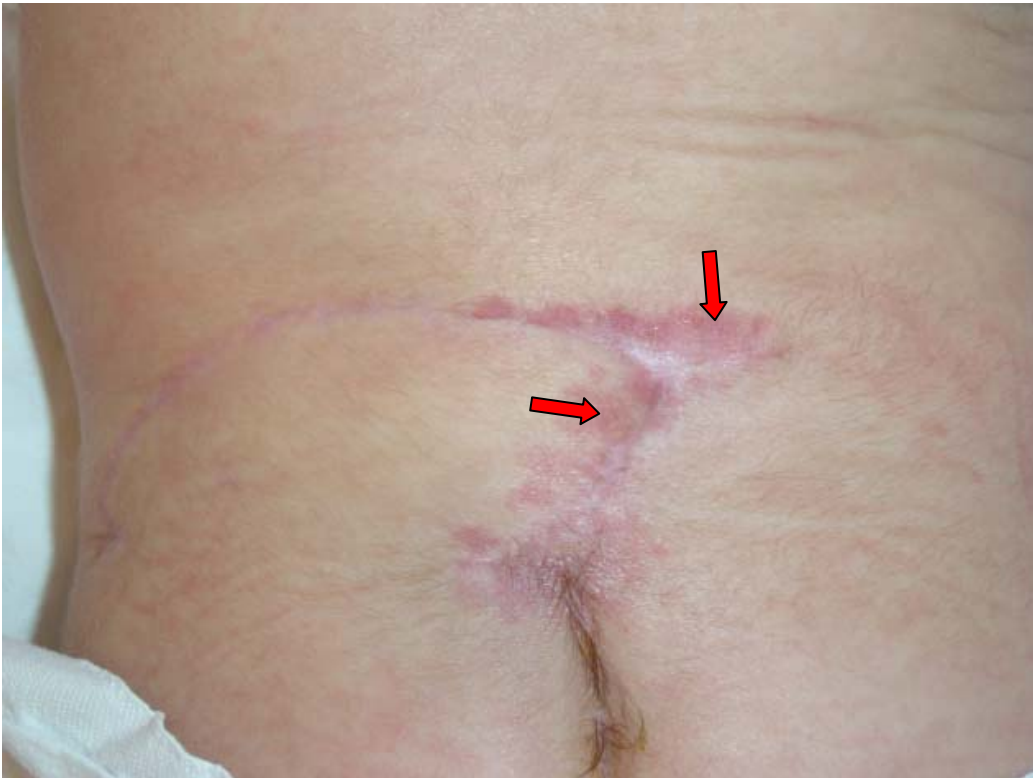
Hastaların rutin takiplerinde spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin operasyon sonrası 3. yıl'da da mevcudiyetini koruduğu gözlemlendi (Resim 14-20).



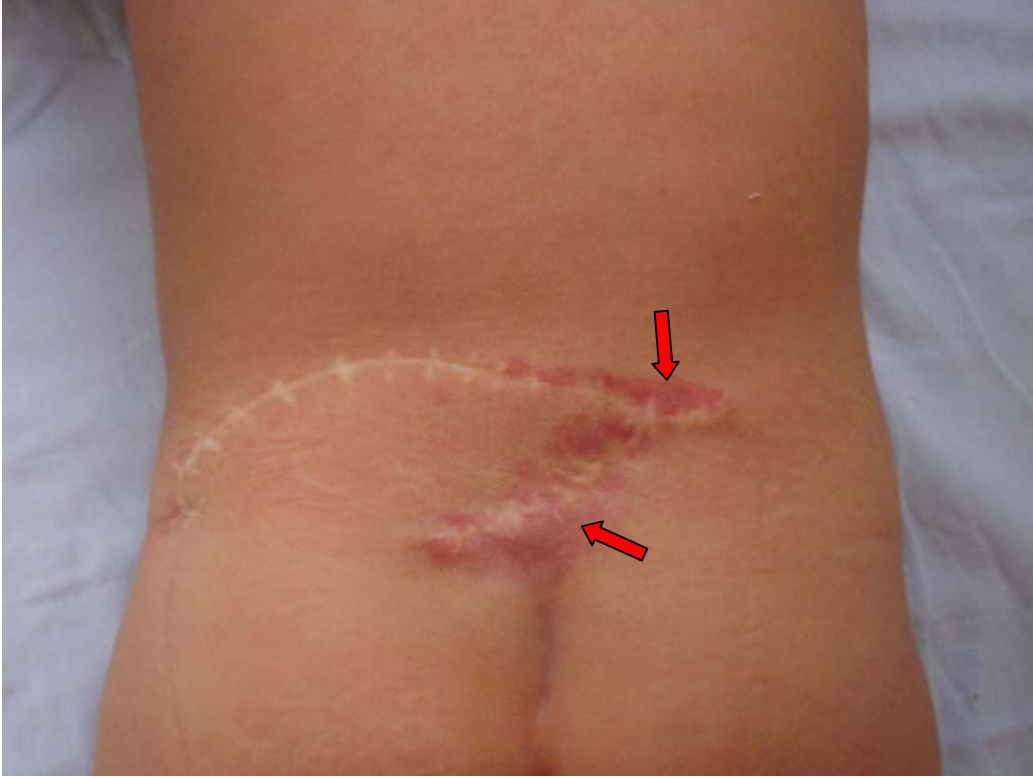
Resim 14. Olgunun operasyon öncesi görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 15. Olgunun operasyon anındaki görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 16. Olgunun operasyon sonrası 3.ay'daki görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 17. Olgunun operasyon sonrası 12.ay'daki görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 18. Olgunun operasyon sonrası 24.ay'daki görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 19. Olgunun operasyon sonrası 36.ay'daki görünümü (oklar- maküler bölgeler).



Resim 20. Defekt alanı primer kapatılan olgunun operasyon sonrası 12. ay'daki görünümü (oklar- maküler bölgeler).

TARTIŞMA

Spinal kord anomalileri düşük sosyoekonomik düzeye sahip toplumlarda sık olarak görüldüğü bilinmektedir. Bu anomali grubu özellikle kırsal bölgelerde olmak üzere ülkemizde de sosyal bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun nedenleri arasında beslenmedeki yetersizlikler, kalıtsal faktörler ve doğum öncesi tarama programlarının yetersizlikleri sayılabilir. Sonuç olarak ebeveynler bu deformiteye sahip bir çocukla doğumda karşılaşmakta ve bu da ailede bir anksiyete yaratmaktadır.

Spinal kord anomalili çocuk doğumdan sonra sıklıkla nöroşirurji kliniklerine başvurmakta ve burada tedavi edilmektedir. Primer kapatılmayan lezyonlar da rekonstrüksiyon basamakları düşünülerek tedavi edilmektedir. İşte bu noktada önemli olan bir konu lezyon etrafındaki renk değişikliğine sahip olan bölgenin eksizyon sınırına dahil edilip edilmeyeceğidir. Normal cilt dokusuna ulaşana kadar bu maküler renk değişikliği olan bölge eksizyona dahil edildiğinde defekt alan genişleyecek, hatta primer kapama yapılabilecekken flep gereksinimi ortaya çıkacaktır. Bu renk değişikliği olan bu bölgelerin eksize edilmeyerek defekt alanı kapatmak için planlanan flebe dahil edilebileceğini ve flep beslenmesinde herhangi bir sorun teşkil etmeyeceğini klinik olarak gözlemledik. Bu gözlemlerimiz sonucunda ülkemizde de sık gözlenen ve sosyal bir problem olan spinal kord anomalili hastaların rekonstrüksiyonlarını zora sokan bu bölgenin yapısını ortaya koymak, vasküler durumunu değerlendirmek, lezyonun ne tip bir vasküler patolojiye ait olduğunu belirlemek amacıyla bu bölgeyi histolojik ve immünohistokimyasal olarak inceledik.

Spinal disrafizm'li olgularının tedavisinde öncelikli amaç, nöral tüp ve dura tamiri yapıldıktan sonra sinir elemanlarının üzerini kısa sürede güvenli bir şekilde kapatmaktır. Defekt alanını kapatmak için literatürde birçok farklı metodlar tanımlanmıştır. Bunlar primer kapama, deri grefti, kutanöz flepler, myokutanöz flepler, perföratör flepler, allojenik materyaller ve intrauterin kapama yöntemleridir²⁰⁻³³. Deri grefti uygulaması basit bir işlemdir ancak enfeksiyon, ülserasyon, sekonder cerrahi girişim gibi geç problemlere yol açabilir³⁶⁻³⁸. Bu nedenle sıklıkla defekt alanını kapatmak için deri fleplerinin değişik tipleri (rotasyon flepleri, transpozisyon flepleri, bipediküllü flepler, V-Y flepler v.b) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Deri flepleri ile kapama yöntemleri kas fonksiyonlarında bozukluğa yol açmaksızın, dural onarımın üzerini örten iyi vaskülarize, basit, operasyon zamanı kısa ve gerginsiz bir kapama sağlar⁴⁴. Flep ile rekonstrüksiyon uygulamasında spinal kord anomalili hastaların defekt alanı çevresindeki maküler alanın yapısı önem arz eder. Bu alan lezyonun kenarında olabildiği gibi bazen normal cilt dokusu sonrasında da olabilmektedir. Bu yüzden maküler alanın tamamı çıkartılırsa normal cilt dokusunda çıkartılmış olacak ve defekt doğal olarak daha da büyüyecektir. Bunun sonucunda rekonstrüksiyon işlemi zorlaşmakta ve flep tasarımında ve seçiminde değişikliğe neden olmaktadır. Maküler lekeli alanın eksiz edilmeden planlanan flebe dahil edilmesi halinde, flep beslenmesinin olumsuz yönde etkileneceği endişesi oluşmaktadır.

Bu çalışmada, spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin hemanjiom ya da düşük akımlı kapiller malformasyonlar ile bağlantısı olup olmadığı ve strüktürel yapısının ne olduğu araştırıldı.

Mulliken ve Glowacki¹⁴ tarafından vasküler lezyonlar daha iyi anlaşılması için hemanjiomlar ve vasküler malformasyonlar olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Vasküler malformasyonlar da hemodinamisine göre; düşük akımlı, yüksek akımlı ve her iki şekilde kombine olan malformasyonlar şeklinde sınıflandırmıştır¹⁴.

Hemanjiomlar angiogenez artışı ile karakterize mikrodamarların lezyonlarıdır. Hızlı proliferasyonu takiben yeni oluşan damarların regresyonu ve spontan inhibisyonu ile hücresel parankim yavaş yavaş yerini fibroz dokuya bırakır^{14,51,84}.

Vasküler malformasyonlar ise yapısal anomalilerdir ve doğumdan itibaren mevcuttur. Lezyondaki büyüme, çocuktaki büyüme ile paralellik gösterir ve lezyonda gerileme görülmez¹⁴.

Yapılan histolojik çalışmalar sonucunda, hemanjiomlarda endotelial proliferasyon, bazal membranda multilaminasyon, perisit, makrofaj ve mast hücre birikimi gözlemlenmiştir^{14,52-55}. Bizim çalışmamızda elektron mikroskopik incelemede renk değişikliği bölgesinde endotelial proliferasyon, bazal membranda multilaminasyon, perisit ve makrofaj birikimi gözlenmedi. Normal cilt dokusuyla kıyaslandığında keratinositler arası mesafenin çok arttığı, hücreler arasında ödem olduğu gözlemlendi. Ayrıca ilginç olarak keratinositlerin melanin

granüllerini kaybetmiş olduğu tespit edildi. Bu bulgular renk değişikliği olan bölgenin hemanjiyom ile bağlantılı olabileceğini desteklememektedir.

Farklı çalışmalar sonucunda düşük akımlı kapiller malformasyonlarda normal endotelial hücreler, damar sayısında artış ve damarlarda dilatasyon olduğu gözlemlenmiştir^{14,82}. Barsky ve ark.⁹³ yaptığı çalışmada kapiller malformasyonlarda ektatik damar sayısında artış olduğu fakat endotel hücrelerinin normal görünümü olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Burrows ve ark.⁹⁴ yaptığı çalışmada da kapiller malformasyonlarda ektatik damar sayısında artış olduğu tespit edilmiş. Karşıt bir çalışma olan Smoller ve Rosen'in⁹² yaptığı çalışmada ise normal deri ile kapiller malformasyon arasında damar sayısı bakımından fark olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda ışık mikroskopik incelemede renk değişikliği bölgesinde damar sayısında artış ve damarlarda belirgin dilatasyon olduğunu saptadık. Bu bulgu maküler renk değişikliği olan bölgenin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceğini destekler niteliktedir.

Daha önceden yapılan strüktürel çalışmalarda kapiller malformasyonunun erken çocuklukta gözlenen lezyonlarında, damarlardaki dilatasyonun belirgin olmadığı, ancak yaş ilerledikçe damarlarda belirgin bir ektatik görünüm aldığı bildirilmiştir⁹⁰. Çalışmamızda olguların yaş ortalaması 4.6 ± 1.3 ay (dağılım aralığı 2 gün-4.5 yaş) olarak tespit edildi. Ayrıca bütün olgularda renk değişikliği bölgesinde damarlarda dilatasyon bulgusuna rastladık. Elde ettiğimiz bu veriler maküler renk değişikliği olan bölgenin düşük akımlı kapiller malformasyon olma ihtimalini çürütür niteliktedir.

Mast hücreleri birçok organda mikrodamarlara yakın olarak bulunmaktadır. Özellikle dermiste kan damarlarının sayısı ve mast hücresi yoğunluğu arasında korelasyon olduğu gözlemlenmiştir⁵⁴. Daha önceden yapılan çalışmalarda, hemanjiomlarda mast hücrelerin çok sayıda olduğu tespit edilmiş⁵²⁻⁵⁵ olup normal doku ile karşılaştırıldığında 30-40 kat daha fazla olduğu görülmüştür⁵⁰. Pasyk ve ark.⁹⁵ yaptığı çalışmada hemanjiomların fibröz bölgelerinde mast hücre sayısının artmış olduğu ve bu hücrelerin fibroz yapı oluşumuna katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Tersine vasküler malformasyonlarda mast hücrelerinde bir artış olmadığı tespit edilmiştir⁸⁴. Çalışmamızda ise normal deri ile maküler bölge arasında mast hücre sayısında

bir değişiklik saptanmadı. Bu bulgu bizi hemanjiomdan uzaklaştıırarak düşük akımlı kapiller malformasyon olma ihtimaline yaklaştıırmaktadır.

Vücutta yeni sentezlenen kollojen liflerinin çapı incedir. Tan ve ark.⁵² yaptığı çalışmada hemanjiomlarda multilaminasyon gösteren bazal membranda, perivasküler ve stromal bölgede kollojen artışı olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle kollojen III ve IV'te artışın daha belirgin olduğunu bulmuşlardır. Finley ve ark.⁹¹ tarafından yapılan çalışma da immünohistokimyasal olarak normal deri ile kapiller malformasyonlu lezyon karşılaştırıldığında majör yapısal komponentler arasında (Tip IV kollojen-fibronektin) fark olmadığını görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda normal deri ile renk değişikliği bölgesinde kollojen liflerinin çapı açısından fark olup olmadığı değerlendirildi ve iki grup arasında bir fark olmadığı gözlemlendi. Bu bulgu da renk değişikliği bölgesinde kollojen sentezinin normal olduğunu göstermektedir. Bu sonuç da maküler bölgenin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceğini desteklemektedir.

Sasaki ve arkadaşları⁶⁰ tarafından hemanjiomların hormonal etkileri araştırılmış ve hemanjiom patogenezinde östrojen reseptör- β ve serum östradiol seviyelerinin artmış olduğunu saptamışlar. Hemanjiomlarda östrojen reseptör seviyelerinin normal dokulardan belirgin olarak yüksek olduğunu ve tedavide kullanılan steroidlere klinik yanıtta serum 17- β östradiol seviyesindeki azalmanın paralellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca normal deri ve kapiller malformasyonda östrojen reseptör seviyesinin minimal olduğunu gözlemlemişlerdir⁶⁰. Biz östrojen reseptör β 'nin normal deri ve renk değişikliği olan bölge arasında bir fark göstermediğini saptadık. Ayrıca hastalardan alınan kan örneklerinde östradiol seviyesinin normal olduğunu saptadık. Elde edilen bulgular hemanjiom patofizyoloji ile uyuşmamakla birlikte düşük akımlı kapiller malformasyonu destekler niteliktedir.

Folkman¹¹ angiogenezdaki dengenin bozulmasının, hemanjiomların oluşumuna neden olduğunu bildirmiştir. Angiogenez uyarıcıları ve inhibitörlerinin anormal seviyede bulunması endotelial proliferasyon artışının nedeni olabileceğini ifade etmiştir. Vasküler endotelial büyüme faktörü ve bazik fibroblast büyüme faktörü'nün angiogenezi uyardığı bilinmektedir. Bu angiogenetik faktörler endotelial hücreleri sürekli stimüle ederler ve endotel hücrelerinde hiperplazi ve mitoz hızlı bir şekilde artmaya başlar¹¹. Takahashi ve ark.⁵¹ tarafından hemanjiomların immünohistokimyasal analizinde VEGF ve

bFGF'in artmış seviyede olduğu dokümente edilmiştir. Her iki büyüme faktörünün endotel hücreleri ve perisitlerin sitoplazmasında lokalize olduğu tespit edilmiş. Tersine vasküler malformasyonlarda bu büyüme faktörlerinin düşük seviyede ya da hiç olmadığı gösterilmiştir⁵¹. Tan ve ark.⁵² yaptığı çalışmada ise hemanjiomlarda VEGF ve bFGF'in artmış seviyede olduğu görülmüş ve bu sonuçların daha önceki yapılan çalışmaları desteklediği ortaya konmuştur. Çalışmamızda maküler renk değişikliği olan bölgede VEGF salınımında bir değişiklik olmadığı tespit edildi. Ayrıca hemanjiomların proliferatif fazında mast hücrelerden bFGF güçlü bir şekilde salındığı ve bu salınımın mast hücrelerinden hızlıca VEGF salınımını desteklediği daha önceki yapılan çalışmalardan bilinmektedir⁵¹⁻⁵⁴. Bizim çalışmamızda da maküler bölgede mast hücre sayısında ve VEGF salınımında bir değişiklik olmadığı saptandı. Bu bulgu da renk değişikliği bölgesinin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceği ihtimalini artırırken, hemanjiom olma ihtimalini azaltmaktadır.

Von-willebrand faktör (faktör 8), CD 34 ve CD 31 vasküler endotel için belirleyicidir. Bunlar proliferatif hemanjiomda fazla miktarda salgınır⁶⁵. Takahashi ve ark.⁵¹ vasküler malformasyonların hepsinde Von-willebrand faktörün immunreaktif olduğunu gözlemlemişler. Ancak venöz malformasyonlarda CD 31 antijeninin olmadığını tespit etmişler. Çalışmamızda Von-willebrand faktör ile işaretlenen endotel hücrelerinde damar sayıları normal deriyle kıyaslandığında, maküler renk değişikliği olan bölgede istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldüğü saptandı. Bu bulgu maküler bölgede bir damarlanma artışının olduğunu göstermektedir. Ayrıca ışık mikroskopik incelemede damarlarda belirgin dilatasyona rastlandı. Bu bölgede damarlarda belirgin dilatasyon görülmesinden dolayı renk değişikliği bölgesinin düşük akımlı kapiller malformasyon olma ihtimaline yaklaştırırken hemanjiomdan uzaklaştıran diğer bir bulgudur.

Doku inhibitör matriks metalloproteinaz-1(TIMP-1) anjiogenezi inhibe eden faktördür. Takahashi ve ark.⁵¹ tarafından TIMP-1'in involusyonel hemanjiomlarda mikrodamarların perisit sitoplazmasında lokalize olduğu görülmüş ve involusyonel hemanjiomlarda salınımı artarken proliferatif hemanjiomlarda salınmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca vasküler malformasyonların değişik tiplerinde; TIMP-1 çok az ya da hiç immunreaktif boyanmadığı

görülmüştür⁵¹. Normal deri ve renk değişikliği olan grup arasında TIMP-1'e ait immünohistokimyasal boyanma özelliğinde istatistiksel bir değişiklik olmadığını gördük. Bu da maküler bölgede TIMP-1'in normal ya da hiç salınımının olmadığını göstermektedir. Bu bulgu maküler bölgenin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceği gibi involüsyonel hemanjiom safhasını da destekler niteliktedir.

Melanin granüllerinin yokluğu; melanosit göçünün yetersizliği, melanositlerin yokluğundan ya da melanosit işlev bozukluğundan kaynaklanabilir. Melanositler embriyolojik olarak ektodermden köken alırlar. Epidermin bazal membranında ve papiller dermiste lokalizedir⁹⁶. Melanositlerden salınan melanin pigmenti deriye normal rengini vermektedir. Bunun eksikliğinde deri rengi oluşmamaktadır⁹⁶. Çalışmamızda normal cilt bölgesinde melanin pigmenti mevcutken renk değişikliği bölgesinde olmadığı saptandı. Bu nedenle maküler renk değişikliği bölgesinde, ciltaltı dokuda sayıca artmış ve dilate kan damarları daha iyi görünür hale gelmiş olabilir. Ancak bu durum sayıca artmış ve dilate kan damarları etyopatogenezini açıklamamaktadır. Maküler bölgede melanin granüllerin olmaması bize, nöral tüp defekti olan bölgeye melanositlerin göçü esnasında bir defisit olabileceğini ve bunun nöral tüpün kapanmasında defekte yol açabileceğini düşündürmektedir. Bu hipotez daha geniş bir çalışma ile araştırılması gereken bir durumdur.

Yenidoğanların %40'ında doğumsal maküler lekeler gözlenmektedir. Bu maküler lekelerle sıklıkla 'Angel's kiss', 'Salmon lekesi' gibi isimler verilmektedir. Bu lezyonlar tipik olarak baş-boyun bölgesinde lokalize olmakla birlikte bazen lumbosakral bölgede orta hatta lokalize olarak da görülebilirler^{8,97,98}. Bu maküler lekeler zamanla solar ve kendiğinden kaybolurlar^{97,98}. Smith ve ark.⁹⁹ yenidoğanlarda yaptığı çalışmada göz çevresi ve alın bölgesinde lokalize Salmon lekeleri'nin bir yaşında kaybolduğunu tespit etmişler. Alexander ve ark.¹⁰⁰ yaptığı çalışmada ise baş-boyun bölgesinde lokalize Salmon lekeleri'nin bir yaşında çoğunun kaybolduğu ya da renginin solduğunu ifade etmişlerdir. Spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin 3 yıllık klinik takiplerimiz sonucu gerilemediğini ve renginde soluklaşma olmadığını gördük. Bu sonuç bize spinal kord anomalilerine eşlik eden renk değişikliği bölgesinin, diğer

doğumsal maküler lekelerden olan Salmon lekeleri veya Angel's kiss lekeleri ile ilişkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Olguların 3 yıllık takiplerinde renk değişikliği bölgesinin klinik gözlemlerimiz sonucu devam ettiği görüldü. Hemanjiomlarda gözlenen maküler lekeler zamanla solar ve yerini fibroz dokuya, eriteme ya da pigmentasyon bozukluğuna bırakır⁷⁷. Kapiller malformasyonlarda lezyondaki büyüme, çocuktaki büyüme ile paralellik gösterir ve lezyonda gerileme görülmez¹⁴. Bu bulgu da renk değişikliği bölgesinin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceği ihtimalini arttırırken, hemanjiom olma ihtimalini azaltmaktadır.

Çalışmamızda elektron mikroskopik incelemede renk değişikliği bölgesinde hemanjiyom varlığını destekleyebilecek bulgular olan endotelial proliferasyon, bazal membranda multilaminasyon ya da perisit ve makrofaj birikimi gözlenmedi. Işık mikroskopik ve immünohistokimyasal incelemede ise renk değişikliği bölgesinde hemanjiyom varlığını destekleyebilecek bulgular olan mast hücre sayısında artış, östrojen reseptör β 'nın ve kan östradiol seviyesinin artışı, vasküler endotelial büyüme faktörü salınımının artışı, dermiste kollojen sentezi artışı gibi bulgular gözlenmedi. Ayrıca hemanjiomlardaki lezyonun kendinden gerileme bulgusu, maküler renk değişikliği bölgesinde görülmemiştir. Bu bulgular da maküler bölgenin hemanjiom olmadığını göstermektedir.

Işık mikroskopik incelemede renk değişikliği bölgesinde damar sayısında artış ve damarlarda belirgin dilatasyon gözlendi. Ayrıca immünohistokimyasal incelemede renk değişikliği bölgesinde mast hücre sayısının normal, östrojen reseptör β 'nın ve kan östradiol seviyesinin normal, dermiste kollojen sentezinin normal, doku inhibitör matriks metalloproteinaz-1 salınımının ve vasküler endotelial büyüme faktörünün normal seviyede olduğu gözlendi. Klinik takiplerde de maküler bölgenin devam ettiği tespit edildi. Bu bulgular maküler renk değişikliği olan bölgenin düşük akımlı kapiller malformasyon olabileceğini destekler niteliktedir. Tablo 6'da çalışmamızda karşılaştığımız tüm histolojik ve immünohistokimyasal veriler ve sonuçları toplu olarak sunulmuştur. Tablo 7'de de hemanjiom ve düşük akımlı kapiller malformasyon arasında ki farklar gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışmamızdaki normal deri (Grup 1) ve maküler renk değişikliği (Grup 2) bölgelerine ait histolojik ve immünohistokimyasal özellikler.

	Çalışmamızdaki normal deri bölgesi (Grup 1)	Çalışmamızdaki maküler renk değişikliği bölgesi (Grup 2)
Endotelial proliferasyon	Gözlenmedi	Gözlenmedi
Bazal membranda multilaminasyon	Gözlenmedi	Gözlenmedi
Mast hücre sayısı	Normal	Normal
Damarlarda dilatasyon	Gözlenmedi	Mevcut
Damarlanma artışı (faktör 8 immünohistokimyasal boyama yöntemi ile tespit edildi)	Gözlenmedi	Mevcut
Östrojen reseptör- β seviyesi	Normal	Normal
VEGF seviyesi	Normal	Normal
TIMP-1 seviyesi	Normal	Normal
Kollojen sentezi	Normal	Normal

Tablo 7. Hemanjiom ve düşük akımlı kapiller malformasyon arasında ki farklar.

	Hemanjiom	Düşük akımlı kapiller malformasyon
Endoteliyal proliferasyon	Mevcut	Gözlenmez
Bazal membranda multilaminasyon	Mevcut	Gözlenmez
Mast hücre sayısı	Artmış	Normal
Damarlarda dilatasyon	Gözlenmez	Mevcut
Damarlanma artışı	Mevcut	Mevcut
Östrojen reseptör- β seviyesi	Yüksek	Normal
Kan östradiol seviyesi	Yüksek	Normal
VEGF seviyesi	Yüksek	Normal
TIMP-1 seviyesi	Proliferatif fazda normal-İnvölüsyonel fazda artmış	Normal
Kollojen sentezi	Artmış	Normal

Karşılaştığımız parametreler ele alındığında maküler renk değişikliğinde tespit ettiğimiz verilerin tamamının düşük akımlı kapiller malformasyonla çakıştığını, sadece damarlanma artışı ve hemanjiomun proliferatif fazındaki TIMP-1 seviyesinin hemanjiomla ortak parametre olarak gözlendiğini görmekteyiz. Bu sonuç da spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler renk değişikliği bölgelerinin düşük akımlı kapiller malformasyonla oldukça yakın ilişkili olduğunu bize göstermiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerin strüktürel analizi ile ilgili klinik prospektif çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler sonucunda, spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler lekelerinin histolojik incelemeleri sonrasında papiller dermiste bulunan çok miktardaki damar sayesinde, defekt alanı kapatmak için kullanılacak flebin beslenmesine yardımcı olabileceği ve bu bölgenin korunarak yapılan ameliyatlarda, flebin beslenmesinde bir sorun yaşanmayacağı kanısındayız.

Bu bölgenin yapısal analizi sonucunda incelediğimiz verilerin çok büyük oranda düşük akımlı kapiller malformasyonlar ile uyumlu olduğunu, sadece birkaç parametrenin hemanjiomlarda da bulunduğunu tespit ettik. Elde ettiğimiz veriler sonucunda bu lezyonların hemanjiom olmadığını, düşük akımlı kapiller malformasyonlara daha yakın bir lezyon olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın gelecekte spinal kord anomalilerine eşlik eden maküler renk değişikliği bölgesi ile ilgili yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Elwood JH, Nevin NC. Factors associated with anencephalus and spina bifida in Belfast. *Br Prev Med* 1973;27:73-86.
2. Jose Gilberto de Brito Henriques, Geraldo Pianetti, Petronio Costa Minor skin lesions as markers of occult spinal dysraphisms-prospective study. *Surgical Neurology* 2005;63:S1:8-12.
3. Tubbs RS, Wellons JC 3rd, Iskandar BJ, Oakes WJ. Isolated flat capillary midline lumbosacral hemangiomas as indicators of occult spinal dysraphism. *J Neurosurg* 2004 Feb;100 (2 suppl Pediatrics):86-89.
4. Guggisberg D, Hadj-Rabia S, Viney C, Bodemer C, Brunelle F, Zerah M, Pierre-Kahn A, de Prost Y, Hamel-Teillac D. Skin markers of occult spinal dysraphism in children: a review of 54 cases. *Arch Dermatol.* 2004 Sep;140(9):1109-15.
5. Albright AL, Gartner JC, Weiner ES. Lumbar cutaneous hemangiomas as indicators of tethered spinal cords. *Pediatrics* 1989;83:977–980.
6. Drolet BA. Cutaneous signs of neural tube dysraphism. *Pediatr Clin N Am* 2000;47:813–823.
7. Jacobs AH, Walton RG. The incidence of birthmarks in the neonate. *Pediatrics* 1976 ;58:218–222.
8. Garzon MC, Huang JT, Enjolras O, Frieden IJ. Vascular malformations: Part I. *J Am Acad Dermatol.* 2007 Mar;56(3):353-70.
9. Laurent I, Leaute-Labreze C, Maleville J, Taieb A. Faun tail and sacral hemangioma associated with occult spinal dysraphism. *Ann Dermatol Venereol.* 1998; 125:414-416.
10. Constantijn G. Bauland, M.D. Maurice A. M. van Steensel, M.D., Ph.D. Peter M. Steijlen, M.D., Ph.D. Paul N.M. A. Rieu, M.D. The Pathogenesis of Hemangiomas: A Review. *Plastic and Reconstructive Surgery* February 2006 vol:117 no:2;29e-35e.
11. Folkman, J. Clinical application of research on angiogenesis. *N. Engl. J. Med.* 1995;333:757-1763.

12. Burns, A. J., Kaplan, L. C., and Mulliken, J. B. Is there an association between hemangioma and syndromes with dysmorphic features? *Pediatrics* 1991.Dec 88(6):1257-1267.
13. Brouillard P, Vikkula M. Vascular malformations: localized defects in vascular morphogenesis. *Clin Genet.* 2003 May;63(5):340-51.
14. Mulliken JB, Glowacki J. Hemangiomas and vascular malformations in infants and children: A classification based on endothelial characteristic. *Plast Reconst Surg* 1982;69:412-422.
15. Davis DA, Cohen PR, George RE. Cutaneous stigmata of occult spinal dysraphism. *J Am Acad Dermatol* 1994;31:892-896.
16. Enjolras O, Boukobza M, Jdid R. Cervical occult spinal dysraphism: MRI findings and the value of a vascular birthmark. *Pediatr Dermatol* 1995;12:256-9.
17. Thomas CV. Closure of large spina bifida defects: a simple technique based on anatomical details. *Ann Plast Surg* 1993;31:522-527.
18. M.Gürhan Ulusoy, Uğur Koçer, Nezih Sungur. Closure of meningomyelocele defects with bilateral modified V-Y advanced flaps . *Ann Plast Surgery* 2005;54:640-644.
19. Paolo Campobasso, Ciro Pesce, Lorenzo Costa, Maria Luisa Cimaglia . The use of the Limberg skin flap for closure of large lumbosacral myelomeningoceles. *Pediatr Surg Int* 2004;20:144-147.
20. O.lapid, L.Rosenberg and A.Cohen. Meningomyelocele reconstruction with bilobed flaps. *Brish Journal of Plastic Surgery* 2001;54:570-572.
21. Patterson TJS, Till K. The use of rotation flaps following excision of lumbar myelomeningoceles: an aid to closure of large defects. *Br J Surg.* 1959;46:606-608.
22. Bajaj PS, Welsh F, Shadid EA. Versatility of lumbar transposition flaps in the closure of meningomyelocele skin defects. *Ann Plast Surg.* 1979;2(2):103-108.
23. Matson DD. Surgical treatment of myelomeningocele. *Pediatrics.* 1968;42(2):225-227.
24. Habal MB, Viries JK. Tension free closure of large meningomyelocele defects. *Surg Neurol.* 1977;8(3):177-180.

25. Davies D, Addendorff DJ. Large rotation flap raised across the midline to close lumbosacral meningomyeloceles. *Br J Plast Surg.* 1977;30:166-168.
26. Cruz NI, Ariyan S, Duncan CC, et al. Repair of lumbosacral myelomeningocele with double Z-rhomboid flaps. *J Neurosurg.* 1983;59:714-717.
27. Zook EG, Dzenitis AJ, Bennet JE. Repair of largemeningomyeloceles. *Arch Surg.* 1969 Jan;98(1):41-43
28. Ohstuka H, Shioya N, Yada K. Modified Limberg Flap for lumbosacral meningomyelocele defects. *Ann Plast Surg.* 1979;3:114-117.
29. Hill HL, Brown RG, Jurkiewicz MJ. The transverse lumbosacral back flap. *Plast Reconstr Surg.* 1978;62:177-184.
30. Mustoe TA, Gifford GH, Lach E. Rapid tissue expansion in the treatment of myelomeningocele. *Ann Plast Surg.* 1988;21(1):70-73.
31. Frederick J. Duffy, Jr., M.D., Bradley E. Weprin, M.D., and Dale M. Swift, M.D. A New Approach to Closure of Large Lumbosacral Myelomeningocele: The Superior Gluteal Artery Perforator Flap. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2004 December Vol;114, No; 7.
32. Shabbar F. Danish, Amer F. Samdani, Phillip B. Storm, Leslie Sutton. Use of allogeneic skin graft for the closure of large meningomyelocele: technical case report. *Neurosurgery* 2006 April, volume; 58.
33. Mangels KJ, Tulipan N, Bruner JP, Nickolaus D. Use of bipedicular advancement flaps for intrauterine closure of myeloschisis. *Pediatr Neurosurg* 2000;32:52-56.
34. Mustarde JC. Meningomyelocele: the problem of skin cover. *Br J Surg.* 1966;53:36-41.
35. Luce EA, Walsh J. Wound closure of the meningomyelocele defect. *Plast Reconstr Surg.* 1985;75:389-393.
36. Luce EA, Stigers SW, Vandenbrink KD, et al. Split thickness skin grafting of the meningomyelocele defect: subset at risk for late ulceration. *Plast Reconstr Surg.* 1991;87(1):116-121.
37. Zide BM. Spina bifida. In McCarthy JG, ed. *Plastic Surgery.* Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1990;6:3780-3788.

38. Blanco-Davilla F, Luce E. Current considerations for meningomyelocele repair. *J Craniofac Surg.* 2000;11(5):500-508.
39. Keith L Moore, T.V.N. Persaud. The developing human clinically oriented embryology 6 th edition 1998;461-465.
40. Lemire RJ. Neural tube defects: clinical correlations. *Clin Neurosurg* 1983;30:165-177.
41. Hamdy A. El-khatib. Large thoracolumbar meningomyelocele defects: incidence and clinical experiences with different modalities of latissimus dorsi musculocutaneous flap. *The British Association of Plastic Surgeons* 2004;57:411–417.
42. John B. McCraw, Jerry O. Penix, Bruce G. Freeman, Michael P. Vincent, Frederick H. Wirth. Soft-Tissue Repair of Myelomeningocele Defects Using Bilateral Latissimus Dorsi and Trapezius Musculocutaneous Flaps. *Annals of Plastic Surgery* 1987 February Vol;18 No:2.
43. Sharrad WJW, Zachary RB, Lorber J, et al. A controlled trial of immediate and delayed closure of spina bifida cystica. *Arch Dis Child* 1963;38:18.
44. Ozcelik D, Yildiz KH, Is M, Dosoglu M. Soft tissue closure and plastic surgical aspects of large dorsal myelomeningocele defects (review of techniques). *Neurosurg Rev.* 2005 Jul;28(3):218-25.
45. Enjolras O, Mulliken JB. The current management of vascular birthmarks. *Pediatr Dermatol* 1993;10:311-333.
46. Holmdahl K. Cutaneous hemangiomas in premature and mature infants. *Acta Pediatr* 1955; 44:370-379.
47. Amir J., a. Metzker, R.Krikler, and S.H.Reisner. Strawberry hemangioma in preterm infants. *Pediatric Dermatology* 1986;3:131-132.
48. Bowers RE, Graham EA, Tomlinson KM The natural history of strawberry nevus. *Arch Dermatol* 1960;82:667.
49. Mulliken, J. B. Diagnosis and natural history of hemangiomas. In J. B. Mulliken and M. A. Young (Eds.), *Vascular Birthmarks: Hemangiomas and Malformations*. Philadelphia: Saunders, 1988. Pp. 41–62.
50. Mulliken, J. B. Pathogenesis of hemangiomas. In J. B. Mulliken and M. A. Young (Eds.), *Vascular Birthmarks: Hemangiomas and Malformations*. Philadelphia: Saunders, 1988. Pp. 63-76.

51. Takahashi, K., Mulliken, J. B., Kozakewich, H. P. W., Rogers, R. A., Folkman, J., and Ezekowitz, R. A. B. Cellular markers that distinguish the phases of hemangioma during infancy and childhood. *J. Clin. Invest.* 1994;93(6): 2357-2364.
52. Tan, S. T., Velickovic, M., Rüger, B. M., and Davis, P. F. Cellular and extracellular markers of hemangioma. *Plast. Reconstr. Surg.* 2000;106(3): 529-538.
53. Tan, S. T. Cellular and Molecular Basis of Haemangioma. Wellington: University of Otago, 2001.
54. Tan, S. T., Wallis, R. A., He, Y., and Davis, P. F. Mast cells and hemangioma. *Plast. Reconstr. Surg.* 2004;113(3): 999-1011.
55. Folkman, J., and Klagsbrun, M. Angiogenic factors. 1987 Jan 23;235:442-447.
56. Iwata, J., Sonobe, H., Furihata, M., Ido, E., and Ohtsuki, Y. High frequency of apoptosis in infantile capillary hemangioma. *J. Pathol.* 1996;179:403.
57. Mancini, A. J., and Smoller, B. R. Proliferation and apoptosis in hemangiomas. *Am. J. Dermatopathol.* 1996;18:505.
58. Razon, M. J., Krailling, B. M., Mulliken, J. B., and Bisschoff, J. Increased apoptosis coincides with onset of involution infantile hemangioma. *Microcirculation* 1998;5:189.
59. Frischer, J. S., Huang, J., Serur, A., Kadenhe, A., Yamashiro, D. J., and Kandel, J. J. Biomolecular markers and involution of hemangiomas. *J. Pediatr. Surg.* 2004;39:400.
60. Sasaki, G. H., Pang, C. Y., and Witliff, J. L. Pathogenesis and treatment of infant skin strawberry hemangioma: Clinical and in vitro studies of hormonal effects. *Plast. Reconstr. Surg.* 1984;73(3):359-70.
61. Shing, Y., Folkman, J., Sullivan, R., Butterfield, C., Murray, J., and Klagsbrun, M. Heparin affinity: Purification of a tumor-derived capillary endothelial cell growth factor. 1984;Mar 23;223(4642):1296-1299.
62. Neufeld, G., Tessler, S., Gitay-Goren, H., Cohen, T., and Levi, B. Vascular endothelial growth factor and its receptors. *Prog. Growth Factor Res.* 1994;5(1):89-97.

63. Keck, P. J., Hauser, S. D., Krivi, G., et al. Vascular permeability factor: An endothelial cell mitogen related to PDGF. 1989 Dec 8;246(4935): 1309-1312.
64. Pepper, M.S., Ferrara, L. Orci, and R. Montesano Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem.Biophys. Res.Commun* 1992 189:824-831.
65. Yu, Y., Flint, A. F., Mulliken, J. B., Wu, J. K., and Bischoff, J. Endothelial progenitor cells in infantile hemangioma. *Blood* 2004 Feb 15;103(4):1373-1375.
66. Ezekowitz, R. A. B. The relationship between facial end airway hemangiomas: Does seeing red bode ill? *J. Pediatr.* 1997;131:514.
67. Pack, G. T., and Miller, T. R. Hemangiomas: Classification, diagnosis and treatment. *Angiology* 1950 Oct 1(5):405-426.
68. Smoller, B. R., and Apfelberg, D. S. Infantile (juvenile) capillary hemangioma: A tumor of heterogeneous cellular elements. *J. Cutan. Pathol.* 1993;20:330.
69. North, P. E., Waner, M., Mizeracki, A., and Mihm, M. C. GLUT-1: A newly discovered immunohistochemical marker for juvenile hemangiomas. *Hum. Pathol.* 2000;31:11.
70. North, P. E., Waner, M., Mizeracki, A., et al. A unique microvascular phenotype shared by juvenile hemangiomas and human placenta. *Arch. Dermatol.* 2001;137:559.
71. Cheung, D. S. M., Warman, M. L., and Mulliken, J. B. Hemangioma in twins. *Ann. Plast. Surg.* 1997;38:269.
72. Blei, F., Walter, J., Orlow, S. J., and Marchuk, D. A. Familial segregation of hemangiomas and vascular malformations as an autosomal dominant trait. *Arch. Dermatol.* 1998;134:718.
73. Walter, J. W., Blei, F., Anderson, J. L., Orlow, S. J., Speer, M. C., and Marchuk, D. A. Genetic mapping of a novel form of infantile hemangioma. *Am. J. Med. Genet.* 1999;82:77.
74. Chang, J., Most, D., Bresnick, S., et al. Proliferative hemangiomas: Analysis of cytokine gene expression and angiogenesis. *Plast. Reconstr. Surg.* 1999;103:1.

75. Goldberg, N. S., Hebert, A. A., and Esterly, N. B. Sacral hemangiomas and multiple congenital abnormalities. *Arch. Dermatol.* 1986;122(6): 684-687.
76. Frieden, I. J., Reese, V., and Cohen, D. PHACE syndrome: The association of posterior brain fossa malformations, hemangiomas, arterial anomalies, coarctation of the aorta and cardiac defects, and eye abnormalities. *Arch. Dermatol.* 1996 Mar;132(3):307-311.
77. Finn MC, Glowacki J, Mulliken JB. Congenital vascular lesions: clinical application of a new classification. *J Pediatr Surg* 1983;18:894–900.
78. Enjolras O, Mulliken JB. Vascular tumors and vascular malformations (new issues). *Adv Dermatol* 1997;13:375-423.
79. Mulliken JB, Enjolras O. Congenital hemangiomas and infantile hemangioma: Missing links. *J Am Acad Dermatol* 2004;50:875-82.
80. Powell J. Update on hemangiomas and vascular malformations. *Curr Opin Pediatr* 1999 Oct;11(5):457-63.
81. Smolinski KN, Yan AC. Hemangiomas of Infancy: Clinical and biological characteristics. *Clin Pediatr* 2005;44:747-66.
82. Waner M, Suen JY. A classification of congenital vascular lesions. In: Waner M, Suen JY (eds) *Hemangiomas and vascular malformations of the head and neck*. Wiley-Liss, New York, 1999 pp 1–12.
83. Jackson IT, Carreno R, Potparic Z, Hussain K. Hemangiomas, vascular malformations, and lymphovenous Malformations: Classification and methods of treatment. *Plast Reconst Surg* 1993;91:1216-1230.
84. Glowacki, J., and J.B. Mulliken Mast cells in hemangiomas and vascular malformations. *Pediatrics* 1982;70:48-51.
85. Werner JA, Dünne AA, Folz BJ, Rochels R, Bien S, Ramaswamy A, Lippert BM. Current concepts in the classification, diagnosis and treatment of hemangiomas and vascular malformations of the head and neck *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2001 Mar. ; 258(3) :141–149.
86. Hurwitz S. *Clinical Pediatric Dermatology : A Textbook of Skin Disorders Of Childhood and Adolescence*, ed 2. Philadelphia, Saunders co, 1993, pp 247-254.

87. Breugem CC, Hennekam RC, van Gemert MJ, van der Horst CM. Are capillary malformations neurovenular or purely neural? *Plast Reconstr Surg*. 2005 Feb;115(2):578-87.
88. Kane KS, Ryder JB, Johnson AR, Baden HP, Stratigos A. Cutaneous findings in the newborn. In: Cooke D, ed. *Color Atlas & Synopsis of Pediatric Dermatology*. 1st ed. New York: Mc Graw-Hill; 2002. p.2-30.
89. Iiro Eerola, Laurence M Boon, Shoji Watanabe, Henri Grynberg, John B Mulliken and Miikka Vikkula. Locus for susceptibility for familial capillary malformation ('port-wine stain') maps to 5q. *European Journal of Human Genetics* 2002;10:375–380.
90. Sharon W.Weiss, John R. Goldblum Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors fourth edition chapter;23:876-877.
91. Finley JL, Clark RA, Colvin RB, Blackman R, Noe J, Rosen S. Immunofluorescent staining with antibodies to factor VIII, fibronectin, and collagenous basement membrane protein in normal human skin and port wine stains. *Arch Dermatol* 1982; 118: 971–975.
92. Smoller BR, Rosen S. Port-wine stains. A disease of altered neural modulation of blood vessels? *Arch Dermatol* 1986; 122: 177–179.
93. Sanford H. Barsky, M.D., Seymour Rosen, M.D., Daniel E. Geer, S.B., and Joel M. Noe, M.D. The Nature and Evolution of Port Wine Stains: A Computer-assisted Study. *The Journal of Investigative Dermatology* 1980, 74(3):154-157.
94. Burrows PE, Laor T, Paltiel H, Robertson RL. Diagnostic imaging in the evaluation of vascular birthmarks. *Dermatol Clin*. 1998 Jul;16(3):455-88.
95. Pasyk, K.A., Cherry, G.W., Grabb, W.C., and Sasaki, G.H. Quantitative evaluation of mast cells in cellularly dynamic and adynamic vascular malformations. *Plast. Reconstr. Surgery* 1984, 73;69.
96. Leslie P. Gartner, James L. Hiatt *Color Textbook of Histology* Second edition 2001 chapter 14:331.
97. Jacobs AH, Walton RG. The incidence of birthmarks in the neonate. *Pediatrics* 1976; 58: 218 – 222.
98. Pratt AG. Birthmarks in infants. *AMA Arch Derm Syph* 1967;67:302.
99. Smith MA, Manfield PA. The natural history of salmon patches in the first year of life. *Br J Dermatol* 1962;74:3t-33.

- 100.** Alexander K. C. Leung, M.B.B.S., and Abdulwahab M. A. Telmesani, M.B.Ch.B. Salmon patches in Caucasian children. *Pediatr Dermatol.* 1989 Sep;6(3):185-7.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A.D.	: Anabilim Dalı
bFGF	: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BSA	: Sığır Serum Albümini
ELAM- 1	: Endotelial Lökosit Adezyon Molekülü-1
FGFR- 4	: Fibroblast Büyüme Faktör Reseptör 4
GLUT-1	: Eritrosit Tip Glukoz Taşıyıcı Molekül -1
ICAM-1	: İnterselüler Adezyon Molekülü-1
ME.Ü.T.F.	: Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi
PAL-E	: Spesifik Vasküler Endotelial Hücre Markırı
PBS	: Phosphate Buffered Saline (fosfat emdirilmiş tuz)
PHACE'S	: Posterior fossa beyin malformasyonu, Hemanjioma, Arteriyel anomaliler, Kardiyak defektler, Göz anomalileri, Sternal Defektler
PDGFR- β	: Platelat Bağımlı Büyüme Faktör Reseptör beta
PWS	: Port-wine Stain
TIMP-1	: Doku İnhibitör Matriks Metalloproteinaz-1
VEGF	: Damarsal Endotel Büyüme Faktörü
VEGFR- 3	: Damarsal Endotelial Büyüme Faktör Reseptör 3
vWF	: Von-Willebrand Faktör

ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

<u>Şekiller</u>	Sayfa No
Şekil 1 (Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği olan grup(Grup 2) arasında mast hücre sayısındaki değişiklikler)	26
Şekil 2 (Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği olan grup(Grup 2) arasında dermisteki kollajen liflerin çap değişiklikleri)	31
Şekil 3 (Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği olan grup(Grup 2) arasında von-willebrand faktör ile işaretli damar sayılarına ait değerler)	32
Şekil 4 (Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği olan grup(Grup 2) arasında VEGF salınımına ait değerler)	34
Şekil 5 (Normal deri(Grup 1) ve renk değişikliği (Grup 2) olan gruplar arasında TIMP-1'in sekresyon değerleri)	38

<u>Resimler</u>	Sayfa No
Resim 1 (Spinal kord anomalili olgunun defektli alan çevresindeki maküler alanın görüntüsü)	12
Resim 2 (Grup 1'in mast hücre boyanma özellikleri)	26
Resim 3 (Grup 2'nin mast hücre boyanma özellikleri)	27
Resim 4 (Grup 1'in elektron mikroskopik görünümü)	28
Resim 5 (Grup 1'in elektron mikroskopik görünümü)	29
Resim 6 (Grup 2'in elektron mikroskopik görünümü)	29
Resim 7 (Grup 2'in elektron mikroskopik görünümü)	30
Resim 8 (Grup 1'in von-willebrand faktör ile boyanma özelliği)	33
Resim 9 (Grup 2'in von-willebrand faktör ile boyanma özelliği)	33

Resim 10 (Grup 1'in VEGF salınımına ait boyanma özelliği)	35
Resim 11 (Grup 2'in VEGF salınımına ait boyanma özelliği)	35
Resim 12 (Grup 1'in östrojen reseptör β boyanma özelliği)	36
Resim 13 (Grup 2'in östrojen reseptör β boyanma özelliği)	37
Resim 14 (Olgunun operasyon öncesi görünümü)	39
Resim 15 (Olgunun operasyon anındaki görünümü)	40
Resim 16 (Olgunun operasyon sonrası 3.ay'daki görünümü)	40
Resim 17 (Olgunun operasyon sonrası 12.ay'daki görünümü)	41
Resim 18 (Olgunun operasyon sonrası 24.ay'daki görünümü)	41
Resim 19 (Olgunun operasyon sonrası 36.ay'daki görünümü).....	42
Resim 20 (Defekt alanı primer kapatılan olgunun operasyon sonrası 12. aydaki görünümü)	42

TABLULAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (Grup 1 ve grup 2 arasında mast hücre sayılarına ait tanımlayıcı değerler)	25
Tablo 2 (Grup 1 ve grup 2 arasında dermisteki kollajen liflerin çap özelliklerine ait tanımlayıcı değerler)	30
Tablo 3 (Grup 1 ve grup 2 arasında Von-willebrand faktör ile işaretli damar sayılarına ait tanımlayıcı değerler)	32
Tablo 4 (Grup 1 ve grup 2 arasında VEGF salınımına ait tanımlayıcı değerler)	34
Tablo 5 (Grup 1 ve grup 2 arasında TIMP-1'e ait tanımlayıcı değerler)	37
Tablo 6 (Çalışmamızdaki normal deri (Grup 1) ve maküler renk değişikliği (Grup 2) bölgelerine ait histolojik ve immünohistokimyasal özellikler)...	50
Tablo 7 (Hemanjiom ve düşük akımlı kapiller malformasyon arasında ki farklar)	51