

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**BEYİN ve SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**BİR LİKİT EMBOLİZAN POLİMER OLAN ONYX'İN BEYİN  
PARANKİMİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. ÇAĞATAY ÖZDÖL**

**UZMANLIK TEZİ**  
**olarak hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2006**

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**BEYİN ve SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**

**BİR LİKİT EMBOLİZAN POLİMER OLAN ONYX'İN BEYİN  
PARANKİMİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. ÇAĞATAY ÖZDÖL**

**Tez Danışmanı:**  
**DOÇ. DR. H. HAKAN ORUÇKAPTAN**

**UZMANLIK TEZİ**  
**olarak hazırlanmıştır**

**ANKARA**

**2006**



## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Rektörü ve Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Tunçalp Özgen'e ve şahsında tüm öğretim üyeleri ve yardımcılarına, Beyin Cerrahisi Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Bu çalışmanın hazırlanması, yürütülmesi ve yazılması aşamalarındaki yardımlarından ötürü danışmanım Doç. Dr. H. Hakan Oruçkaptan'a, lipit peroksidaz ölçümlerini yapan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr.Kamer Genç'e, histolojik preparatları hazırlayan ve değerlendiren Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Pergin Atilla'ya, deneyler sırasında bana yardımcı olan Dr. Burcu Hazer'e teşekkür ederim.

Yoğun çalışma döneminde sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

## ÖZET

**Dr. Çağatay ÖZDÖL, Likit embolizan polimer olan ONYX'in beyin parankimindeki etkilerinin araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Tezi, Ankara, 2006.** İntrakraniyal damar anomalilerinin tedavisinde endovasküler yaklaşımla anevrizma lümeninin çeşitli yöntemlerle kapatılması önemli bir tedavi seçeneğidir. Bu amaçla kullanılmakta olan ajanlardan biri yapışkan olmayan ve likid polimer yapısında embolizan bir madde olan ONYX'tir. ONYX'in solventi olan DMSO'nun çeşitli dokularda toksik etkileri gösterilmiş olmakla birlikte, beyin dokusundaki olası toksik etkileri araştırılmamıştır. Bu çalışmada ONYX ve solventi DMSO'nun parankim dokusundaki olası toksik etkileri deneysel tavşan modeli üzerinde araştırılmıştır.

Bu çalışmada 40 adet erkek Albino tavşan, her grupta 8'er hayvan olacak şekilde 5 farklı çalışma grubuna ayrılmıştır. Kontrol grubu dışında kalan diğer 4 grupta hayvanlara sırasıyla SF, DMSO, %6 ve %20 ONYX verilmiş ve tüm hayvanlar genel durum ve nörolojik değerlendirmelerinin yanı sıra doku örnekleri histolojik olarak incelenmiştir. Ayrıca lipid peroksidaz aktivitesi ölçülmüştür.

Histolojik incelemelerde gerek DMSO, gerekse %6 ve %20 ONYX verilen hayvanlarda parankim dokuda nöronal dejenerasyon ve inflamatuvar reaksiyon izlenmiş, özellikle ONYX verilen grupta bu sürecin konsantrasyona bağlı olarak daha belirginleştiği gözlenmiştir.. Lipid peroksidaz aktivitesi artışı yalnız %20 ONYX verilen grupta kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Bu bulgular gerek ONYX'in gerekse solventi DMSO'nun parankim dokuda dejeneratif ve inflamatuvar değişikliklere neden olduğunu, inflamatuvar sürecin özellikle yüksek ONYX konsantrasyonlarında daha belirginleştiğini göstermektedir. Lipit peroksidaz aktivitesinde önemli bir artış gözlenmemesi DMSO'nun antioksidan etkisine bağlı olabilir.

Anahtar kelimeler: ONYX, DMSO, Toksikite, Beyin parankimi, Endovasküler tedavi

## ABSTRACT

**Dr. Çağatay ÖZDÖL, The examination of the effects of ONYX liquid embolysan polymer in brain parenchyma, Hacettepe Medical Faculty, Neurosurgery Thesis, Ankara, 2006.** Embolizing of aneurysm lumene by using several techniques via endovascular approach is an important method in treatment. ONYX is a non adhesive and liquid polymer used in this way. Although DMSO, the solvent of ONYX, has been shown to have some toxic effects on several tissues, its effects on brain tissue have not been evaluated fully. In this study, the possible toxic effects of ONYX and its solvent DMSO on parenchymal brain tissue has been investigated on experimental rabbit model.

In this study 40 adult male Albino rabbits were used and divided into 5 different groups, 8 rabbits present in each. Except from the control group; SF, DMSO, 6% ONYX and 20% ONYX were injected to all animals in other 4 groups in order. All rabbits have been investigated for their general condition, neurologic evaluation beside histological tissue examination. Moreover their lipid peroxidase activity has also been calculated.

Histological evaluation of DMSO, 6% ONYX and 20% ONYX injected groups revealed inflammatory and degenerative reactions in parenchymal tissue, especially in the ONYX group this reactions has become more significant with the increase in concentration. Lipid peroxidase activity increase has only found significantly different compared with control group.

This findings has suggested that ONYX and its solvent DMSO developed degenerative and inflammatory effects on parenchymal brain tissue, and the inflammatory effects has become significant in higher ONYX concentrations. Absence of a significant increase in lipid peroxidase activity may be due to the anti oxidant effect of DMSO.

Key words: ONYX, DMSO, Toxicity, Brain parenchyma, Endovascular treatment

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	vi
TABLOLAR DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ:.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Anevrizmalar.....	2
2.2. Arteriyovenöz Malformasyonlar (AVM).....	2
2.2.1. Patofizyoloji.....	2
2.2.2. Patoloji.....	2
2.3. Tedavi Yöntemleri.....	3
2.3.1. İzobütül 2-Siyanoakrilat (IBCA).....	3
2.3.2. N- Bütül Siyanoakrilat (NBCA).....	4
2.3.3. Polivinil Alkol (PVA).....	4
2.3.4. Koiller.....	4
2.3.5. Etilen Vinil Alkol Kopolimer (ONYX).....	5
2.4. Serbest Radikaller.....	9
2.4.1. Membran Lipidleri ve Lipid Peroksidasyon.....	9
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	10
3.1. Deneysel Model.....	11
3.2. Ötenazi.....	12
3.3. Nörolojik ve Fiziksel Gelişimin Belirlenmesi.....	13
3.4. Doku Örneklerinde Lipit Peroksidaz (LPO) Aktivitesinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi.....	14
3.5. Histolojik İnceleme.....	15
3.6. Veri Analizi ve İstatistiksel Yöntemler.....	15
3.6.1. Serbest Radikal Oluşumunun İncelenmesi.....	15
3.6.2. Histolojik Bulguların Analizi.....	15
4. BULGULAR.....	16
4.1. Nörolojik ve Genel Değerlendirme.....	16
4.2. Histolojik İnceleme.....	16
4.2.1. Genel Görünüm.....	16
4.3. Beyin dokusunda sağlam nöron, piknotik nöron ve glial hücre sayısı.....	26
4.4. Lipid peroksidaz aktivitesi.....	33
5. TARTIŞMA.....	36
6. SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	40

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AVM	ARTERİOVENÖZ MALFORMASYON
BOS	BEYİN OMURİLİK SIVISI
DMSO	DİMETİL SÜLFOKSİT
Eval	ETİLEN VİNİL ALKOL KOPOLİMER
FDA	FOOD AND DRUG ADMINISTRATION
GDC	GUGLIELMI AYRILABİLİR KOİL SİSTEMİ
H.E.	HEMATOKSİLEN EOZİN
IBCA	İZOBÜTİL 2- SİYANOAKRİLAT
LPO	LİPİT PEROKSİDAZ
NBCA	N- BÜTİL 2- SİYANOAKRİLAT
PMNL	POLİMORFONÜKLEER LÖKOSİT
PVA	POLİVİNİL ALKOL
SAK	SUBARAKNOİD KANAMA
SF	SERUM FİZYOLOJİK
SPSS 11.0	STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCE 11.0
TBA	TİYOBÜTÜRİK ASİT
MR	MAGNETİK REZONANS
BT	BİLGİSAYARLI TOMOGRAFİ

## ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Resim 4.1. DMSO verilen tavşanlarda beynin gros görüntüsü.....	18
Resim 4.2. %20 ONYX verilen tavşanlarda beynin gros görüntüsü.....	19
Resim 4.3. Hex10. Kontrol grubu. ....	19
Resim 4.4. HEx20. Kontrol grubu. ....	20
Resim 4.5. HEx20. SF grubu ....	20
Resim 4.6. HEx20 SF grubu. ....	21
Resim 4.7. HEx20. DMSO grubu. ....	21
Resim 4.8. HEx20. DMSO grubu . ....	22
Resim 4.9. Hex20. DMSO grubu. ....	22
Resim 4.10. Hex20.DMSO grubu ....	23
Resim 4.11. Hex20 %6 ONYX grubu.....	23
Resim 4.12. Hex20 %6 ONYX grubu. ....	24
Resim 4.13. Hex20 %20 ONYX grubu.....	24
Resim 4.14. Hex20 %20 ONYX grubu.....	25
Resim 4.15. Hex20 %20 ONYX grubu.....	25
Şekil 1: Sağlam nöron sayısının gruplar arasındaki dağılımı.....	26
Şekil 2: Piknotik nöronların gruplar arasındaki dağılımı.....	27
Şekil 3: Glia hücrelerinin gruplar arasındaki dağılımı.....	27
Şekil 4: Gruplar arasında lipid peroksidaz düzeylerinin dağılımı.....	34

## TABLULAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Nörolojik ve fiziksel gelişimin belirlenmesinde kullanılan parametreler.	14
Tablo 4.1. Beyin dokusunda ortalama sağlam nöron sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi. ....	28
Tablo 4.2. Beyin dokusunda ortalama piknotik nöron sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi. ....	30
Tablo 4.3. Beyin dokusunda ortalama glia hücre sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi. ....	32
Tablo 4.4.: Grupların lipid peroksidaz aktivitesi ölçümlerinin tanımlayıcı özellikleri .....	34
Tablo 4.5.: Lipid peroksidaz aktivite değerlerinin gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi.....	35

## 1. GİRİŞ:

Endovasküler embolizasyon için kullanılan, yapışkan olmayan ve likid polimer yapısında embolizan madde olan ONYX, daha önce yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda kan ve vasküler yapılarla uyumlu bulunmuştur. Ancak literatürde damar dışı yapılar üzerindeki olası toksik ve histolojik etkileri hakkında deneysel yada klinik çalışma yapılmamıştır. Oysa klinikteki uygulamalarda nadir de olsa damar dışı dokularla (damar ya da anevrizma perforasyonu sonrası gibi) temas söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle ONYX adlı likid embolizan maddenin damar dışı nörojenik yapılar üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla bu çalışma düzenlenmiştir.





## **2. GENEL BİLGİLER**

İntrakranial damar anomalilerinde sıkça karşılaşılan iki grup mevcuttur: Arteriovenöz malformasyonlar ve anevrizmalar.

### **2.1. Anevrizmalar**

Anevrizma damar duvarının bir noktadan dışarı doğru genişlemesi yani balonlaşması halidir. Anevrizmaların tedavisinde kliplleme yöntemi ilk olarak 1911 tarihinde Cushing tarafından tarif edilmiş ancak kullanılmamış olup, ilk anevrizma ameliyatı 1931'de Dott tarafından ligasyon yöntemiyle yapılmıştır. Serebral anjiyografi Egas Moniz tarafından 1933 yılında tanımlanmış ve bu anevrizmaların teşhis ve tedavisinde önemli bir dönüm noktası olmuştur. Anevrizmaların kliplleme yöntemiyle tedavisi ilk kez Dandy tarafından 1937 yılında gerçekleştirilmiştir (39). Anevrizmalar morfolojik olarak 3 grupta incelenir: Sakküler, füziform, dissekan tip anevrizmalar. Anevrizmaların %90'ı sakküler tip anevrizmalardır. Damarın internal elastik laminasında oluşan zedelenmeler ve bunun üzerine eklenen ikincil faktörler sorumlu tutulmaktadır. Füziform anevrizmalar tüm anevrizmaların yaklaşık %10'luk kısmını oluşturur. Dissekan Anevrizmalar damar duvarında intimal yırtılmayı takiben kanın tunika media altına laminar tarzda ilerlemesi ve daha sonra adventisyadan dışarı çıkarak ekstravaze olmasıdır.

### **2.2. Arteriovenöz Malformasyonlar (AVM)**

İlk AVM ameliyatı 1908 yılında Feder Krause tarafından besleyici damar bağlanarak yapılmıştır. Tedavi amacıyla AVM'nin bir bütün olarak rezeksiyonu ilk defa Olivecrona tarafından gerçekleştirilmiştir (11).

#### **2.2.1. Patofizyoloji**

Embriyonik hayatta telensefalonun oluşmaya başladığı dördüncü haftada damar lümenleri arter ve ven olarak farklılaşırken aralarında kılcak damar bağlantıları kurulmaya başlanır. Arter ve venler arasında kılcak damar yatakları oluşmazsa arteriovenöz malformasyon ortaya çıkar (11).

#### **2.2.2. Patoloji**

Serebral AVM'lerin %70-93'ü supratentorial, hemisferik yerleşimlidir. Bu lezyonlar en sık orta serebral arter dallarından beslenir.

### 2.3. Tedavi Yöntemleri

Anevrizma tedavisinde başlıca yöntemler cerrahi kliplleme ve endovasküler embolizasyondur. AVM'lerin tedavisinde cerrahi rezeksiyon, endovasküler yolla embolizasyon ve gamma-knife radyoşirürji tek başına veya birlikte kullanılan yöntemlerdir.

Lokal elektrik akımı uygulayarak intraanevrizmal trombus oluşturma fikri 19. yüzyıl ortalarına kadar geri gitmektedir. Ancak insandaki ilk ciddi uygulama Mullan ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (24).. Anevrizmaların endovasküler yolla tedavisinde sonraki önemli adım mikrokoillerin kullanıma girmesidir. Eskiden beri bilinen koillerin ilk defa intrakranial anevrizmaların tedavisinde kullanımı 1980'li yılların sonlarına rastlar. Bu yıllarda endovasküler tedavinin önündeki en önemli engel bu koillerin itildikten sonra geri alınamaz olmasıdır. İtalyan nöroşirürjiyen Guido Guglielmi bırakılabilir (detachable) koil kavramını ortaya atması ve uygulamaya sokması anevrizmaların endovasküler tedavisinde yeni bir dönem başlatmıştır.

AVM nin damar içinden tedavi etme fikri 1960'lı yıllara kadar geri gitmektedir (17). Bu amaçla intraoperatif olarak karotid arter içinden silastik kürecikler, jelfoam, teflon kaplı kürecikler ve polivinil alkol partikülleri ile embolizasyon denenmiştir.

Endovasküler embolizasyonda bir çok madde kullanılmakta olup, bunlardan başlıcaları n-bütül 2-siyanoakrilat (NBCA), etilen vinil alkol kopolimer (EVAL), polivinil alkol partikülleri (PVA), koiller, polivinil asetat, selüloz asetat polimer, mikrofibriler kollajendir (28). 1974 yılında Serbinenko ilk lateks balon mikrokateri bularak embolizasyonda çığır açmış ve polimerizan madde enjeksiyonlarının öncüsü olmuştur (7).

#### 2.3.1. İzobütül 2-Siyanoakrilat (IBCA)

İzobütül 2-siyanoakrilat (IBCA) AVM embolizasyonunda kullanılan (1979) ilk polimerize maddedir. Histopatolojik incelemelerde IBCA'nın damar duvarında

yabancı cisim dev hücre reaksiyonu yaptığı ve kronik inflamasyona sebep olduğu saptanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda IBCA'nın besleyici arter(ler)den normal kortikal damarlara da geçebildiği ve torkula herofili, akciğer gibi diğer organlara emboli olarak ulaştığı gösterilmiştir (7).

### **2.3.2. N- Bütül Siyanoakrilat (NBCA)**

NBCA polimerize olan bir yapışkan embolizan madde olup polimerizasyon reaksiyonunun başlatılması için iyonik ortama ihtiyacı vardır (35).

NBCA, besleyici (*parent*) arter distaline uygulanan mikrobalon ile oklüzyona ONYX'e göre daha az ihtiyaç duyulmakta ve yine bu maddeye göre floroskopideki görünümü daha belirgin olduğu için uygulamada avantaj sağlamaktadır. Ayrıca NBCA kullanımında vakaların %50-100'ünde embolizan maddenin anevrizma duvarında zamanla nekroz oluşturarak damar dışına migrasyon yaptığı gösterilmiştir (33). Yapılan bir araştırmada NBCA'nın IBCA ile karşılaştırıldığında cerrahi uygulama sırasında kanamayı azalttığı ve rezeksiyonu kolaylaştırdığı vurgulanmaktadır (18).

### **2.3.3. Polivinil Alkol (PVA)**

Polivinil alkol partikül bazlı bir embolizan maddedir. Uygulama sırasında AVM'lerde nidusa yönlendirme sırasında AVM fistüllerinin koil gibi araçlarla tıkanması gerekmekte; aksi halde normal arterler aracılığı ile PVA partikülleri sistemik dolaşıma geçebilmektedir (38).

### **2.3.4. Koiller**

Guglielmi bırakılabilir koil (GDC) uygulamalarında işlem sırasında tromboemboli riski olmaması için sistemik heparinizasyona gerek duyulur (20).

Endovasküler embolizasyon sırasında %6 emboli atağı, %3,1 tromboz, %2,5 koil malpozisyonu, %4,4 anevrizma perforasyonu, %11 majör nörolojik bozulma, %4,5 işlem sonrası mortalite gözlenmiştir (14).

Vinuela ve ark. (1997) akut rüptüre olmuş anevrizma hastalarında koil ile tedavi sonrası mortalitenin %6,2, morbiditenin %8,9 olduğunu; buna karşılık cerrahi tedavi sonrası mortalitenin %21, morbiditenin ise %23 olduğunu belirterek embolizasyon ile tedavinin daha güvenli olduğunu savunmuşlardır (37).

Koil uygulama sonrası görülen başka problemler anevrizmanın rekanalizasyonu, kitle etkisi ve koillerin biyolojik olarak kabul edilir nitelikte olup olmamasıdır (13).

Poliglikolik asit, poli-L-laktik asit kopolimer GDC içine yerleştirilmektedir (%30 coil, %70 polimer madde). Bu maddeleri kullanmakta amaç anevrizma lümeninde yabancı cisim reaksiyonu oluşturup fibrotik cevabı ve dolayısı ile lümenin daha hızlı kapanmasını sağlamak ve bu şekilde erken rekanalizasyon oluşumunu engellemektir. Yapılan histolojik incelemeler uzun sürede rekanalizasyon riski yönünden GDC ile bu koiller arasında fark olmadığını göstermektedir (26, 27).

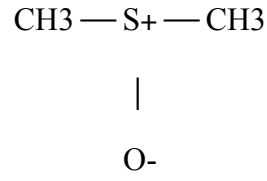
### **2.3.5. Etilen Vinil Alkol Kopolimer (ONYX)**

ONYX ilk kez 1990 yılında Taki ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir (ONYX Liquid Embolic System, Microtherapeutic Inc. Irvine,CA). Yapışkan olmayan (*nonadhesive*) bir likit embolizan madde olup mikrokater aracılığı ile kolaylıkla damar içine zerk edilebilir (12). Bu likit embolizan madde damar lümeninde kandaki su ile temas ettiğinde süngerimsi bir polimer maddeye dönüşerek embolizan özellik kazanır (23).

ONYX'in elde edilmesinde etilen vinil alkol kopolimer (48 mol/L etilen, 52 mol/L vinil alkol; EVAL) ve çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılır. Floroskopide görünür olmasını sağlamak için mikronize edilmiş tantalum tozu (ağırlığın %35'i oranında) katılır (19). EVAL kapsamında yer alan etilen hidrofobik karakter taşıyan vinil alkol hidrofilik özelliktedir.

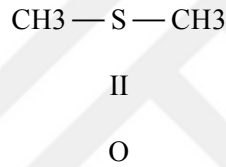
Klinik uygulamalarda ONYX iki farklı konsantrasyonda kullanılır. ONYX %6 (kopolimer içeriği %6'dır) ve ONYX %20 (kopolimer içeriği %20'dir) (17). Kullanılan EVAL konsantrasyonu aynı zamanda karışımın akışkanlığını da belirler ve yüksek konsantrasyonlarda akışkanlık azalır. Ortamdaki sıcaklık ve su konsantrasyonu embolizan maddenin polimerizasyonunu etkilemez (11).

ONYX'in solventi olan DMSO ilk kez Alexander Saytzeff tarafından 1867'de bulunmuş ve Swanson tarafından 1985 yılında dipolar, aprotik çözücü olarak tarif edilmiştir.



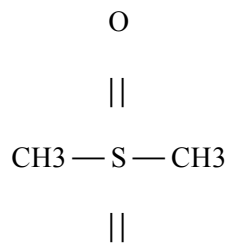
Formül 2.1. Dimetil sülfoksitin polarize kimyasal formülü

DMSO renksiz, berrak olup +18 °C donan dipolar, aprotik ve higroskopik bir çözücüdür. DMSO cilt ve mukozalarla temas sonrası hızla vücutta neredeyse tüm dokulara ve hatta hücre organellerine kadar penetre olur ve bu penetrasyonun hızı DMSO'nun konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Penetrasyon sırasında biyomembranlarda geri dönüşümlü minimal değişiklikler oluşmaktadır. DMSO'nun biyotransformasyonu karaciğer ve böbrekte olup, sülfoksit redüktaz enzimi ile dimetil sülfide dönüşür.



Formül 2.2. Dimetil sülfid

Oluşan bu madde daha sonra hızla reokside olur ve oluşan sülfoksit ve sülfon grupları idrar ile atılır.



Formül 2.3. Dimetil sülfon

DMSO'nun vücuttaki yarılanma ömrü yaklaşık 11–14 saattir. Dipolar özelliği nedeni ile hidrojen bağlarındaki hidrojen protonlarını (H+) ve ayrıca ortamdaki hidroksil (.OH) radikallerini bağlayıcı etkiye, metaboliti olan dimetil sülfid ise serbest oksijen radikal (.O) bağlama özelliğine sahiptir. Bu nedenle de hidrofilik ve

lipofilik karaktere aynı anda sahip olup, birçok madde için, özellikle birçok protein ve steroid için güçlü solvent rolü oynar. Böylece lipofilik membranlar dahil birçok biyolojik bariyer DMSO için geçirgen olabilmektedir. Tüm bu özellikleri doğrultusunda in vivo topikal ve/veya intravasküler uygulamada DMSO ve metaboliti dimetil sülfidin antioksidan, antiinflamatuvar, hücre koruyucu, radyoprotektif ve antiiskemik etkileri mevcuttur (34).

Vücutta oluşan dimetil sülfidin sedatif ve hemolitik yan etkileri vardır. DMSO intravasküler yolla 1g/kg altı dozda uygulandığında genelde infüzyon yerinde intravasküler hemoliz ve lentiküler değişiklikler dışında belirgin sistemik yan etki oluşturmaz. Deney hayvanlarında yüksek dozlarda hepatotoksisite ve nefrotoksisite oluşturduğu gösterilmiştir (34). Kronik kullanımda deri reaksiyonlarından intravasküler hemolize kadar geniş bir spektrumda yan etkileri ortaya çıkar. İn vivo ve in vitro çalışmalarda intravasküler hemoliz kanıtlanmış olup, bu etki DMSO konsantrasyonu, verilmiş hızı ve osmolalitesi ile doğru orantılıdır (3). İntravenöz uygulamalarda DMSO'nun trombositler üzerinde antiagregan etkisi olduğu ve fibrin oluşumunu azalttığı, buna karşılık endotel üzerinde koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir. Ancak %20'den az konsantrasyonlarda ve yavaş intravenöz uygulamalarda bu etkiler azalmaktadır (3).

Tüm yan etkilere karşılık yapılan araştırmalarda DMSO'nun intrakranial basınç artışı sendromlarında tedavi edici etkilerinin de olduğu, özellikle kan osmolaritesini osmotik diürez yolu ile artırarak beyin ödemi azalttığı gösterilmiştir. Yine DMSO'nun prostaglandin ve tromboksan sistemleri üzerinden oksijen radikallerine bağlı hücre dejenerasyonunu azalttığı düşünülmektedir. Lipofilik özelliği nedeni ile beyne penetrasyonu oldukça fazla olup, birlikte diğer ilaçların penetrasyonunu artırıcı etkiye sahiptir. Özetle DMSO antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif özellikleri gösterilmiş olan bir maddedir (3,16).

Hayvan modellerinde (5) ve insanlarda (1) yapılan çalışmalarla ONYX'in endovasküler uygulamalarda anjiyotoksik olduğu ve bu toksisitenin DMSO'dan kaynaklandığı gösterilmiştir (1, 5, 25). Chaloupka ve ark. (1994) geliştirdikleri hayvan modelinde intravasküler uygulanan DMSO'ya karşı damar duvarında parsiyel endotel zedelenmesi ve trombus oluşumunu göstermişlerdir. Bu çalışmada

subakut fazda endotel zedelenmesine ek olarak subintimal fibrin depolanması olduğu ve buna damar duvarında hafif/orta derecede inflamatuvar hücresel cevabın (özellikle eozinofilden zengin) eşlik ettiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada geç dönemde kronik inflamatuvar cevabın ortaya çıktığı, damarlarda tıkaçıcı endarteritis bulguları ve damar duvarlarında transmural ve adventisiyal yerleşim gösteren yabancı cisim dev hücrelerinin varlığı dikkati çekmiştir. Çalışmacılar, ONYX enjeksiyonu sonrası da benzer cevabın ortaya çıktığını göstermişler ve anjiyotoksisiteyi DMSO bulgusu olarak yorumlamışlardır (5).

Daha sonra yapılan çalışmalarda anjiotoksisitenin DMSO'nun enjeksiyonu sırasında verilen doza (25) ve enjeksiyon hızına bağımlı (4) olduğu gösterilmiştir. Murayama ve ark. (1998) hayvanlarda yaptıkları çalışmada DMSO'nun hızlı intravasküler enjeksiyonunda akut süreçte belirgin vazospazm ve nörolojik defisit olduğunu göstermiş; bu deneklerin mikroskopik incelemelerinde yaygın transmural fibrinoid nekroz, damar lümeninde eozinofilik karakterde hücre nükleus partikülleri ve adventisiyal lenfositik hücre infiltrasyonu saptamışlardır. Beyin preparatlarında eş zamanlı yapılan incelemelerde beyin sapı etrafında akut subaraknoid kanama, düşük dereceleri mikroglyal ensefalit ve hafif menenjit bulguları, miks tip akut ve kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu, serebellar pedinküllerde subpiyal akut nekroz alanları, perivasküler lenfosit birikimleri saptanmıştır. Buna karşı DMSO'nun yavaş enjeksiyonlarında vazospazmın olmadığı veya çok hafif düzeyde kaldığı, belirgin nörolojik gerilemenin olmadığı izlenmiştir. Bu grubun histolojik incelemelerinde yer yer hafif ve sınırlı inflamasyon alanları ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu görülmüş, bununla birlikte bu grupta yer alan tüm örneklerde damar duvarı sağlam bulunmuştur (25).

Embolizasyon yapılmış AVM hastalarında, AVM rezeksiyonu sonrası yapılan histopatolojik incelemelerde akut süreçte (1–4 gün arası) damar duvarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve yer yer fokal nekroz alanları gözlenmiş; kronik süreçte (12–14 gün sonrası) ise damar lümeninde hyalin ve eozinofilik materyal depolandığı ve embolizan materyal etrafında lenfosit, histiyosit, multinükleer dev hücrelerden oluşan mononükleer hücresel inflamatuvar reaksiyon geliştiği saptanmıştır (17).

## 2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikallerin lipid peroksidasyonu dört aşamada oluşur:

- Başlatma (Initiation) safhası
- İlerleme (Propagation) safhası
- Yıkım (Degradation) safhası
- Sonlanma (Termination) safhası

Bazı patolojik süreçlerde reaksiyonların ara kademelerinde serbest radikallerin aşırı üretilmesi ve/veya biyolojik koruyucu sistemlerin çalışmaması gibi durumlarda istenmeyen olumsuz etkilere yol açarlar (28).

Serbest radikaller molekülün yapısına göre oksijen merkezli (superoksit radikali, peroksit radikali, hidroksil radikali), karbon merkezli (karbon tetraklorür, triklormetil, aromatik hidrokarbonlar) veya sülfür merkezli (glutasyon radikali) olarak gruplandırılabilir (30). Oluşan serbest radikaller hücre membranı ve hücre içi organelleri etkilerken ekstrasellüler komponente de geçer ve uzak etkilerini oluştururlar. Burada serbest radikallerin çözünürlüğü ve difüzyon hızı önem kazanmaktadır. Oksijen merkezli serbest radikaller incelendiğinde hidroksil radikali çok potent olmasına rağmen, difüzyon hızı çok daha yavaştır ve bu nedenle ancak olduğu yerde yada yakınında etki gösterir. Buna karşın hidrojen peroksit çok az potent olmasına rağmen plazma membranını, mitokondriyal ve peroksizomal membranları rahatlıkla geçerek uzak etki gösterebilir (8, 9).

### 2.4.1. Membran Lipidleri ve Lipid Peroksidasyon

Hücre membran yapısında yoğun olarak bulunan doymamış yağ asitleri ve kolesterol, serbest radikallerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyona giderler. Bu reaksiyon zinciri bir kez başladıktan sonra otokatalitik olarak devam eder ve lipid peroksit, lipid alkol ve aldehitik yan ürünler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağlı yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malondialdehit oluşur ve bu yan ürün yağ



asiti oksidasyonu için spesifik kantitatif indikatör olmamasına rağmen lipid peroksidasyonu gösterdiği için tiyobarbitürik asit ile ölçülebilir (36). Lipid peroksidazlar ve lipid - peroksi radikalleri toksik etkilerini oksijen merkezli serbest radikallerle aynı hücresel komponentler üzerine etki ederek gösterirler. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonu hücre membran geçirgenliğini ve mikroviskozitesini bozar; okside olan yağ asitleri fosfolipaz-A enzimi tarafından parçalanır. Peroksidasyon sırasında oluşan malondihaldehit membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve aralarında çapraz bağ formasyonuna neden olur. Bu şekilde intrinsik membran özelliklerinin değişmesi ve bunun sonucunda membran iyon kanallarının geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişerek membranların deforme olmasına kadar uzanan bir dizi değişiklik gerçekleşir. Lipid peroksidasyon reaksiyon zincirini başlatan serbest radikal çok sayıda komşu moleküllerde de yıkıma neden olur. Doymamış yağ asidinin peroksidasyonu sonucunda bir metilen hidrojen atomu ayrılır ve yağ asidi radikali oluşarak '*konjüge dien*' formuna dönüşür. Bu moleküle oksijen eklenmesi (peroksidasyon) ile yeni bir peroksit radikali oluşur ve bu radikal yeni bir siklus oluşturarak doymamış bir yağ asitinden H<sup>+</sup> atom ayrılmasını ve takip eden lipid hidroperoksit ve lipid alkil radikali oluşumuna neden olur. Ortamda transizyonel bir metalin varlığında lipid hidroperoksit lipid alkoksil radikaline dönüşür ve zincir bu şekilde sürer (30). Bu zincir reaksiyonlarının sınırlanması ya organik bir *scavenger* bileşiği (vitamin E, askorbik asit) ile natüralize edilerek yada lipid hidroperoksit ve hidrojen peroksitlerin glutatyon peroksidaz ile enzimatik indirgenmesi yoluyla olur. Böylece lipid hidroperoksidin hidroksil, peroksit ve alkoksil radikallerine dönüşümü önlenir. Beyin dokusunda oluşan laktik asidoz, transferin ve benzeri proteinlerden, katalitik demir dissosiyasyonuna neden olarak serbest radikal ve lipid peroksidasyonunu dramatik olarak arttırır (28).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın tamamı Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu tarafından deneysel araştırmalar için belirlenen kurallar ve prosedürler doğrultusunda, gerekli onay (03.02.2005 tarih ve 2005/01-1 numaralı karar) alındıktan sonra yürütülmüştür.

### 3.1. Deneysel Model

Çalışmada ağırlıkları 4-5 kilogram arasında değişen (ortalama 4.5 kg) 40 adet erkek Albino (domestik) tavşan kullanılmıştır. Hayvanların genel sağlığı çalışma öncesi kontrol edilmiş ve her bir hayvan yer aldığı gruba göre uygun yöntemle işaretlenmiş, çalışmanın ileri aşamalarında sonuçların kör yöntemle (blinded-research) tarafsız olarak değerlendirilmesi ve güvenilirliğin artırılması amacıyla çalışma grupları gizlenerek rasgele numaralandırılmıştır.

Genel anestezi, ALFAZYNE %2 (40 mg/kg) ve ALFAMİNE %10 (5 mg/kg) karışımının intramüsküler enjeksiyonu ile sağlanarak hayvanlar kendi solunumlarına bırakılmış ve deney normal oda ısısında sürdürülmüştür. Çalışma sırasında hayvanların vücut ısısı rektal yolla kontrol edilerek ve gerek işlem sırasında, gerekse işlem sonrası ilk 2 saat boyunca ısıtma lambası ve blanket kullanılarak vücut ısısı korunmuştur.

İşlem sonrası hayvanlar kafeslerinde ve normal oda ısısında (20 °C) muhafaza edilmiştir.

Beyin parankimi enjeksiyon modeli: Tüm deney hayvanlarında genel anestezi verildikten sonra yüzüstü yatar (pron) pozisyonda, baş nötr konumda, gerekli cilt temizliği ve antisepsiye takiben frontal ve oksipital kemikler arasında uzanan orta hat insizyonu ile cilt açılmış ve drill yardımıyla bir adet Burr Hole açılmasını takiben uygulanacak kimyasal madde dura geçilerek beyin parankimine enjekte edilmiştir. Enjeksiyonlar sonrası iğne geriye çekilerek işleme son verilmiştir.

%20 ONYX verilmesi: Toplam 8 hayvanda coronal sütün hizasından Burr Hole açıldıktan sonra 0,05 cc %20 ONYX özel enjektörü ile (MTI Corp, Japonya) enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrası hayvanlar uyandırılmış ve laboratuarda 2 saat gözlem altında tutulurken ısıtma lambası ve blanket kullanılarak vücut ısısı korunmuştur.

%6 ONYX verilmesi: Toplam 8 hayvanda coronal sütün hizasından Burr Hole açıldıktan sonra 0,05 cc %6 ONYX özel enjektörü ile (MTI Corp, Japonya) enjekte

edilmiştir. Enjeksiyon sonrası hayvanlar uyandırılmış ve laboratuarda 2 saat gözlem altında tutulurken ısıtma lambası ve blanket kullanılarak vücut ısısı korunmuştur.

DMSO verilmesi: Toplam 8 hayvanda coronal sütür hizasından Burr Hole açıldıktan sonra 0,05 cc DMSO özel enjektörü ile (MTI Corp, Japonya) enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrası hayvanlar uyandırılmış ve laboratuarda 2 saat gözlem altında tutulurken ısıtma lambası ve blanket kullanılarak vücut ısısı korunmuştur.

Serum Fizyolojik (SF) (%0.9 NaCl) verilmesi: Toplam 8 hayvanda coronal sütür hizasından Burr Hole açıldıktan sonra 0,05 cc SF enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrası hayvanlar uyandırılmış ve laboratuarda 2 saat gözlem altında tutulurken ısıtma lambası ve blanket kullanılarak vücut ısısı korunmuştur.

Kontrol grubu: Toplam 8 hayvan herhangi bir işlem yapılmadan kontrol grubu olarak takip edilmiştir.

İşlemden 72 saat sonra intramüsküler ketamin (40 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) karışımı verilerek hayvanlara ötenazi uygulanmıştır.

Tüm gruplardaki hayvanlarla ilgili değerlendirme formlarına işlemden hemen önce, işlemden sonraki iki saat içinde ve ötenazi sırasında gerekli bilgiler kaydedilmiş, hayvanlara ve elde edilen doku örneklerine -kör (*blinded-research*) çalışmanın sağlanması amacıyla- rastgele (*random*) numara verilerek bu numaralar değerlendirme formuna işaretlenmiştir. Tüm sonuçlar rastgele numaralanmış doku örnekleri üzerinde elde edildikten ve analizleri yapıldıktan sonra veriler önce analizi yürüten yardımcı araştırmacı, daha sonra proje sorumlusunun denetiminde, birbirinden bağımsız olarak yukarıda tanımlanan 5 çalışma grubuna dağıtılmış ve sonuçlar gruplar dikkate alınarak yorumlanmıştır.

### **3.2. Ötenazi**

Beyin parankimi enjeksiyonlarını takiben 72 saat sonra son nörolojik değerlendirme yapılmış ve hayvanlara ketamin (40 mg/kg) ve ksilazin (5 mg/kg) karışımının intramüsküler enjeksiyonu ile genel anestezi verilmiştir.

Genel anesteziyi takiben, hayvanlara sırt üstü pozisyonda orta hat insizyonu ile torakotomi yapıp sol ventrikül yoluyla çıkan aorta kateterize edilmiş; sağ

atriyum perfore edildikten sonra abdominal aorta klemplenmiş ve ardından 500 ml SF solüsyonu kalp seviyesinden 60 cm yüksekte tespit edilmiştir SF solüsyonu spontan gidecek şekilde ayarlanmış ve beyin dokusu perfüze edilmiştir.

Serebral perfüzyon sonrası yüz üstü pozisyona getirilen hayvanlarda kraniektomiye takiben beyin ortaya konularak çıkarılmış (Resim 4.1., 4.2.), alınan örnekler biyokimyasal, çalışmalar için -30 °C de hemen dondurularak, histolojik inceleme için formaldehit solüsyonuna transfer edilerek saklanmıştır.

Biyokimyasal ve histolojik analizler için saklanan doku örnekleri birlikte çalışılmak üzere deneyin tüm aşamaları tamamlandıktan sonra HÜTF Biyokimya ve Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dallarına ulaştırılmıştır. Biyokimya Anabilim dalında Dr. Kamer Genç, Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalında Dr.Pergin Attila denetiminde gerekli analizler yapılmıştır.

### **3.3. Nörolojik ve Fiziksel Gelişimin Belirlenmesi**

Tüm hayvanlar beyin parankimi enjeksiyonlarından önce ve işlemde 2, 24 ve 72 saat sonra (ötenaziden önce) tablo 3.1.'de belirtilen parametreler yönünden değerlendirilmiştir.

Tablo 3.1. Nörolojik ve fiziksel gelişimin belirlenmesinde kullanılan parametreler

İzleme parametreleri	İzlenen hayvan		sayısı	
	%6 ONYX	%20 ONYX	DMSO	SF
Ataksi	2	2	1	
Beslenmede güçlük	1	1	1	
Pareziler	2	4	2	
Yara yeri enfeksiyonu				
Opustotonus		1	1	
Yukarı bakış kısıtlılığı				
Saldırganlık		1	1	
Apati	1	1	1	

#### 3.4. Doku Örneklerinde Lipit Peroksidaz (LPO) Aktivitesinin Biyokimyasal Olarak Belirlenmesi

Her hayvandan alınan segmental doku örneklerinde LPO aktivitesi tayini ilk kez Uchiyama ve Mihara tarafından tarif edilen tiyobarbitürik asit (TBA) yöntemi kullanılarak biyokimyasal olarak yapılmıştır.

-30 °C de dondurulmuş doku örnekleri çözülmelerine fırsat verilmeden tartıldıktan sonra ağırlıklarının 10 katı kadar soğuk fosfat tamponu (50mM, pH:7.4) içinde cam-cam homojenizatör kullanılarak 1500 devir/dk hızla 30 saniye süreyle homojenize edilmiş ve doku homojenizatının 0.5 ml'si 3 ml %1'lik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ile karıştırılmıştır. Karışımın üzerine 1 ml %0.67'lik TBA ilave edildikten sonra kaynar su banyosunda 45 dakika tutulmuş ve tüpler soğutulduktan sonra oluşan renk 4 ml N-butanol ile ekstrakte edilmiştir. Santifrjü edildikten sonra butanol fazındaki kromojenin absorpsiyonu 532 nm'de spektrofotometrik (Shimadzu® UV-120-02 spectrophotometry) olarak ölçülmüş ve malondialdehit'in TBA ile oluşturduğu rengin molar absorbtivitesinden ( $\epsilon = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) yararlanılarak lipid peroksid düzeyi gram-yaş doku başına nanomol (nmol) olarak hesaplanmıştır.

### 3.5. Histolojik İnceleme

Işık mikroskobu incelemesi için alınan doku örnekleri %10'luk nötral formalin solüsyonu içinde en az 72 saat tespit edilerek yıkanmış ve dereceli etil alkol serilerinden (%70, 80, 90, 96,100) geçirilip sudan arıtılmıştır (dehidratasyon). Ksilolde şeffaflandırdıktan sonra parafine gömülen dokulardan alınan 6 µm kalınlığındaki kesitler Hematoksilen-Eozin (H.E.) ile boyanmış, hazırlanan boyalı kesitler ışık mikroskobu (Olympus BH-2®, Tokyo, Japonya) ile incelendikten sonra fotoğrafları alınmıştır. Boyanmış olan her bir örnekte oküler mikrometre X40 büyütmede 5 rasgele alana düşen glial hücreler (inflamatuvar reaksiyonlarda glia hücresi artışı beklendiği için), normal nöronlar ve piknotik nöronlar sayılarak ortalamaları alınmış ve 1 mm<sup>2</sup> alandaki ortalama hücre değerleri ilgili anabilim dalında görevli uzmanlar ve proje yürütücüsü tarafından genel görünümüyle değerlendirilmiş ve hücre sayım sonuçları istatistiksel olarak incelenmiştir.

### 3.6. Veri Analizi ve İstatistiksel Yöntemler

#### 3.6.1. Serbest Radikal Oluşumunun İncelenmesi

Bu amaçla her bir hayvanda beyin parankimi enjeksiyonundan 72 saat sonra saptanan lipid peroksit değerleri (gr-yaş doku/nmol) kullanılmıştır. Grup içi varyansların homojenliği kontrol edilerek gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için *Kruskal-Wallis Çoklu Karşılaştırma* testi (SPSS 11.0) kullanılmıştır.

#### 3.6.2. Histolojik Bulguların Analizi

Histolojik analiz süresince hazırlanan tüm kesitler H.E. ile boyanmayı takiben çıplak gözle ışık mikroskobu altında X40 büyütmede grup dağılımından habersiz olarak incelenmiş ve elde edilen sonuçlar grup dağılımı belirlendikten sonra gruplara uyarlanmıştır. 5 rasgele alana düşen glia hücreleri, normal nöronlar ve piknotik nöronlar sayılarak ortalamaları alınmış ve 1 mm<sup>2</sup> alandaki ortalama hücre değerleri gruplar arasında değerlendirilmek üzere kaydedilmiştir. Grup içi ve gruplar arasında farklılık olup olmadığı istatistiksel olarak incelenmiş, grup içi varyansların homojenliği kontrol edilerek, gruplar arası farkın önemlilik kontrolü *Kruskal-Wallis Çoklu Karşılaştırma* testi ve *Mann Whitney U Testi* (SPSS 11.0) kullanılarak yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Nörolojik ve Genel Değerlendirme

Her bir grupta yer alan hayvanlar, beyin parankimi enjeksiyonundan önce, 2 ve 72 saat sonra tablo 3.1.'de belirtilen kriterler yönünden incelenmiş ve sonuçlar tabloda özetlenmiştir.

### 4.2. Histolojik İnceleme

#### 4.2.1. Genel Görünüm

Kontrol Grubu:

Kontrol grubunda incelenen beyin dokusu örneklerinin dördünde beyni saran piamaterin altında çok hafif ödeme rastlanmıştır, ancak beyin dokusunda bu bölge dışında belirgin ödem görülmemiştir. Hem korteks hem de medulla bölgelerinde nöropil düzenli, nöronlar ökromatik çekirdekli ve çekirdekçikler belirgin olarak izlenmiştir. Parankim içindeki damarlarda genişleme, staz ve kanama izlenmemiştir (Resim 4.3, 4.4).

Serum Fizyolojik (SF) Grubu:

Salin grubuna ait örneklerde piamaterin altında çok hafif ödem görülmüştür. Ökromatik çekirdekli ve çekirdekçikleri belirgin olarak izlenen nöronların arasında az sayıda piknotik hücre gözlenmiştir. Bunların bir kısmı da apoptotik hücre görünümünde izlenmiştir. Nöropilde yer yer ödeme bağlı açılmalar tespit edilmiştir. Damarlarda genişleme, staz ve kanama izlenmemiştir. Korteks ve medulla bölgelerinde bulgularda farklılık izlenmemiştir (Resim 4.5, 4.6).

DMSO Grubu:

DMSO uygulanmış örneklere ait kesitlerde beyin parankiminde korteks ve medullada hafif ödem ve buna bağlı nöropilde yer yer açılmalar dikkati çekmiştir. Özellikle ependim hücreleri komşuluğunda ödem daha belirgin izlenmiştir. Ökromatik çekirdekli sağlıklı çok sayıda nöron arasında infiltratif ve piknotik hücreler de gözlenmiştir. Damarların çoğunda dilatasyon ve staz görülmemiştir, ancak az sayıda damar içinde eritrosit toplulukları izlenmiştir. Örneklerden dört tanesinde damarlarda dilatasyon, staz ve parankimde kanama alanları izlenmezken

üçünde damarların bazılarında dilatasyon ve içlerinde eritrosit toplulukları gözlenmiştir. Bir örnekte ise parankimde çok şiddetli kanama odakları görülmüştür. Aynı örnekte parankimde şiddetli ödemin yanı sıra çok sayıda piknotik ve infiltratif hücre dikkati çekmiştir. (Resim 4.1., 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

#### %6 ONYX Grubu:

%6 ONYX uygulanan örneklerde piamater içindeki damarların bazılarında eritrosit toplulukları ve hafif genişleme görülmüştür, ancak dilate olmayan içleri boş olan damarlarda tespit edilmiştir. Korteks ve medullada damarların bazılarında dilatasyon, staz ve içlerinde eritrosit toplulukları görülmüştür. Ependim hücreleri komşuluğunda parankim içinde iri kanama odakları gözlenmiştir. Piamater altında parankimde fokal alanlarla sınırlı ve %20 ONYX uygulanan gruptaki örneklerle göre daha hafif şiddette ödem izlenmiştir. Medullada ve ventriküle yakın parankim bölgesinde ise piamater altındaki alanlara göre daha şiddetli ödem gözlenmiştir. Nöröpilde ödeme bağlı çok belirgin açılmalar tespit edilmiştir. Ökromatik çekirdekli sağlam nöronlar piknotik hücrelere oranla daha fazla sayıda görülmüştür. □nfiltratif hücrelerde de belirgin artış saptanmıştır. Örneklerden bir tanesinde ONYX komşuluğunda kanama odakları, piknotik hücrelerde ve infiltratif hücrelerde artış gözlenmiştir. Özellikle ependim hücrelerine komşu parankim alanında belirgin ödem, damarlarda dilatasyon ve içlerinde eritrosit toplulukları dikkati çekmiştir. (Resim 4.11, 4.12.).

#### %20 ONYX Grubu:

%20 ONYX uygulanan örneklerde piamaterin altında belirgin, şiddetli ödem gözlenmiştir. Piamater altında damarların içinde eritrosit toplulukları tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra pia içinde de eritrositler seçilmiştir. Beyin parankiminde korteks ve medullada, çok sayıda hem çekirdek hem de sitoplazmik açıdan kondanse, koyu dejenere görünümlü piknotik nöronlar ve apoptotik hücreler dikkati çekmiştir. Ökromatik çekirdekli, çekirdekçikleri izlenebilen sağlam nöronlar az sayıda görülmüştür. Glia hücreleri/infiltratif hücreler sayıca artmıştır. Damarlarda genişleme, dilatasyon ve staz tespit edilmiştir. Özellikle ependimal hücrelere komşu parankim alanında damar içlerindeki eritrositler yer yer doku aralığına geçtiği ve



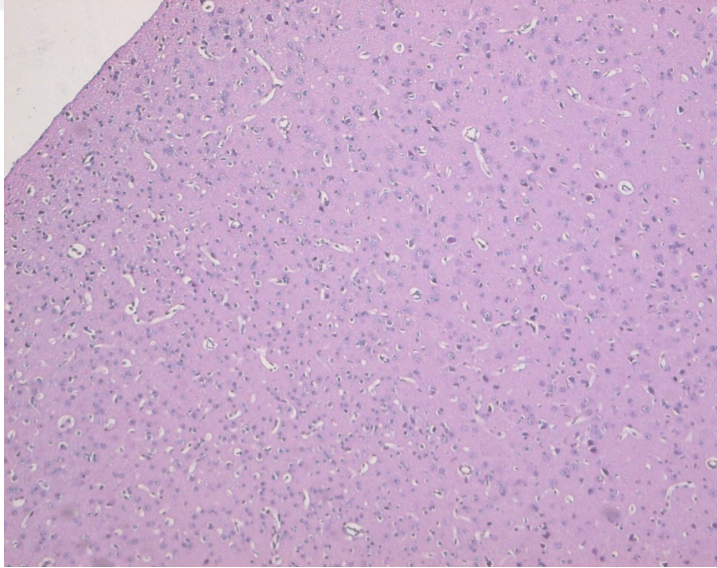
parankim içinde geniş kanama odakları bulunduğu görülmüştür. Nöropilde yaygın ödem nedeniyle açılmalar olduğu görülmüştür. Örneklerden dört tanesinde parankimde gözlenen değişiklikler çok şiddetli olduğu izlenmiştir. Parankimin tümünde gözlenmekle birlikte özellikle ONYX komşuluğundaki alanda daha belirgin olmak üzere şiddetli ödem görülmüştür. Ödeme bağlı olarak nöropil bütünlüğü bozulmuştur. Nöron sitoplazmaları şişmiş, çekirdek bir kenarda dejenere şekilde izlenmiştir. Dokuda çok sayıda infiltratif hücre grupları izlenirken, bazı alanlarda ökromatik çekirdekli, çekirdekçikleri izlenebilen sağlam nöronlar seyrek olarak görülmüştür, buna karşın çoğu yerde hiç izlenmemiştir. Diğer dört örnekte ise benzer bulgular olmakla birlikte, ödem daha şiddetli olduğu tespit edilmiştir. (Resim 4.2., 4.13, 4.14, 4.15).



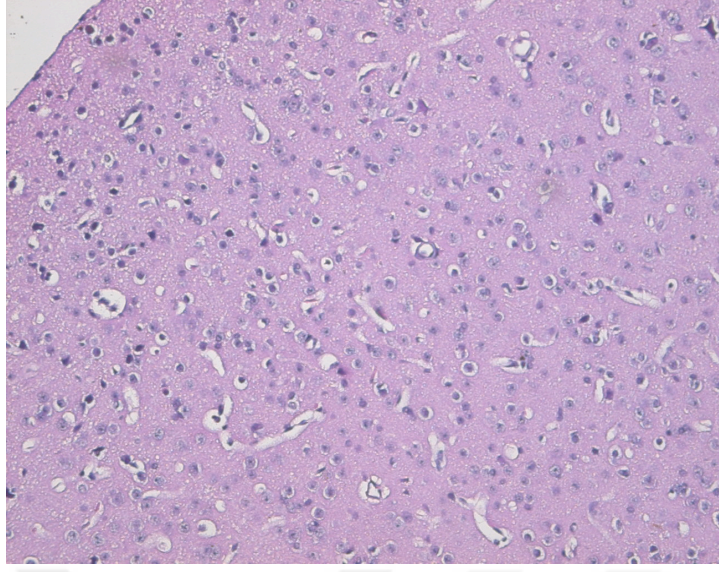
Resim 4.1. DMSO verilen tavşanlarda beynin gros görüntüsü



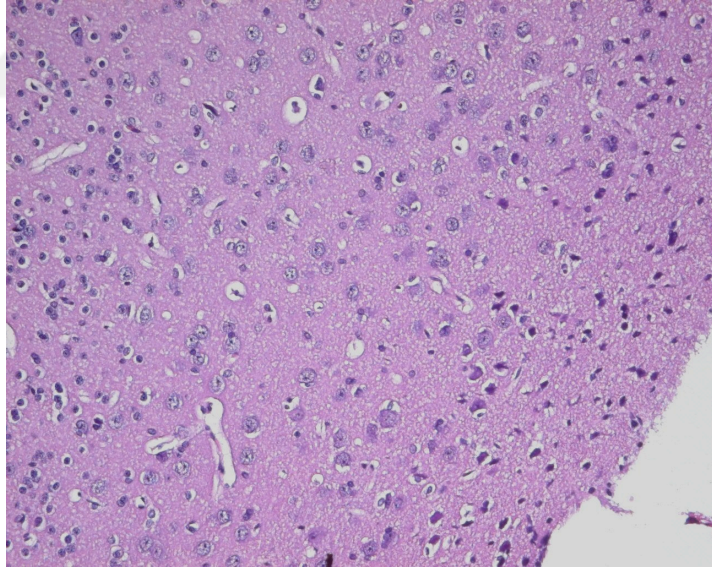
Resim 4.2. %20 ONYX verilen tavşanlarda beynin gros görüntüsü



Resim 4.3. Hex10. Kontrol grubu. Kontrol grubu beyin korteksinde nöronlar, glia hücreleri ve aralarında düzenli görünümdeki nöropil izlenmektedir.

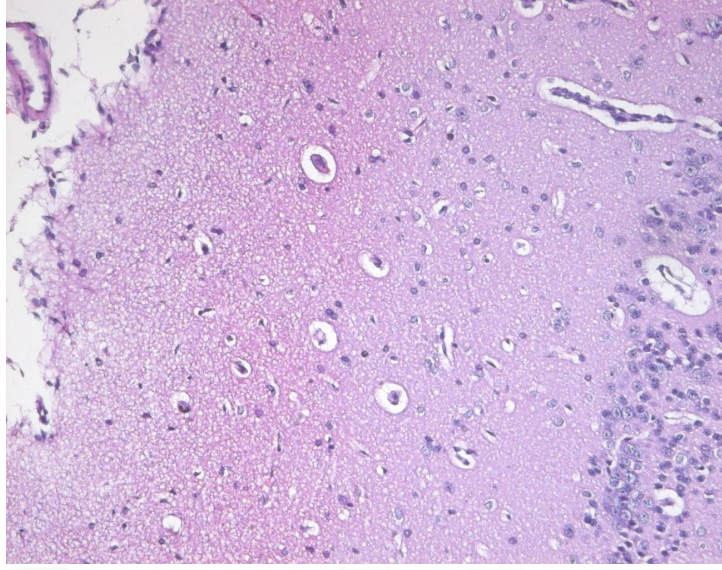


Resim 4.4. HEx20. Kontrol grubu. Kontrol grubu korteksine ait kesitte, ökromatik çekirdekli nöronlar, glia hücreleri ve damarlar görülmektedir.

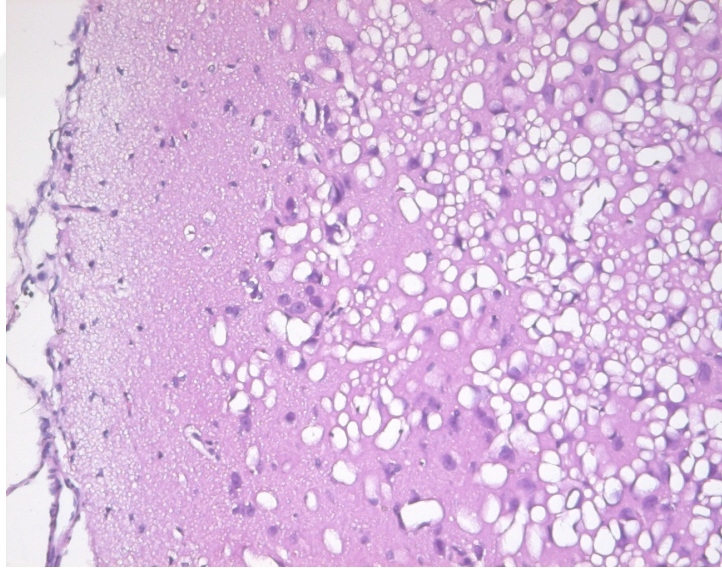


Resim 4.5. HEx20. SF grubu. Salin grubunda, ökromatik nöronların arasında yer yer piknotik hücreler seçilmektedir.

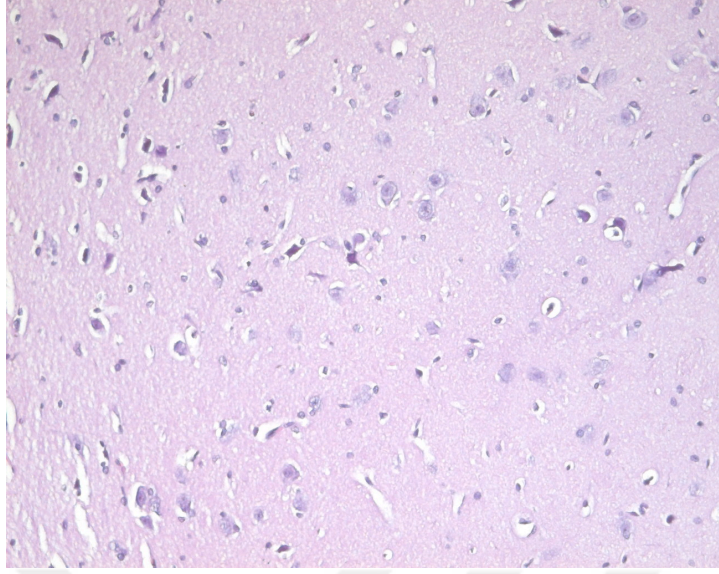




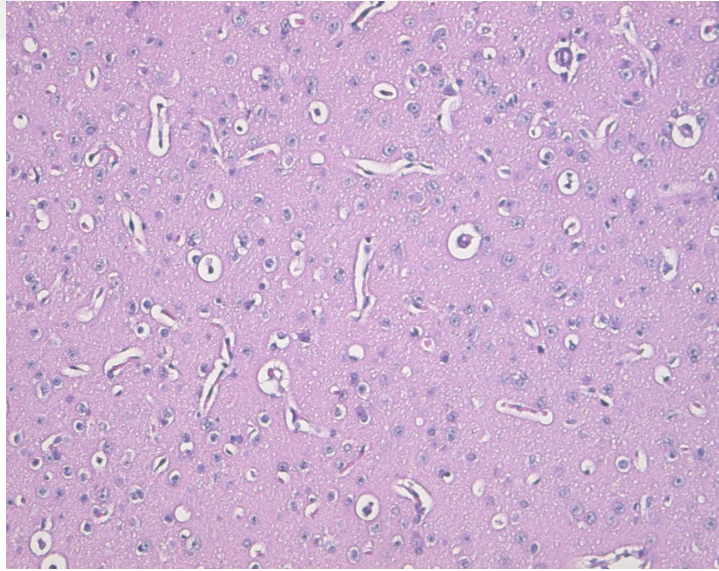
Resim 4.6. HEx20 SF grubu. Salin grubunda, kortekste nöropilde ödemin olduğu bir bölge görülmektedir.



Resim 4.7. HEx20. DMSO grubu. Parankimde piamater altında hafif, korteks derinlerinde ise daha şiddetli ödem görülmektedir. Piknotik hücreler ökromatik çekirdekli nöronlardan daha fazla sayıda olması dikkat çekicidir.

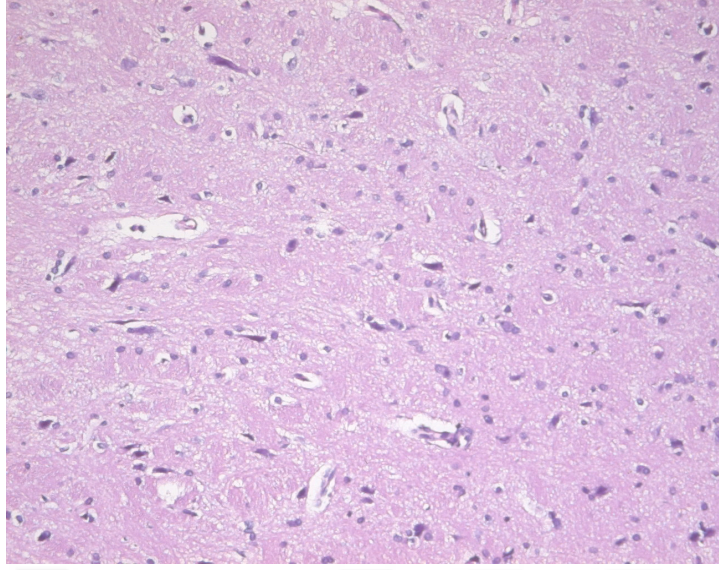


Resim 4.8. HEx20. DMSO grubu. Piknotik ve ökromatik nöronlarla glia hücreleri görülmektedir. Damarlarda dilatasyon ve stazın olmaması dikkat çekicidir.

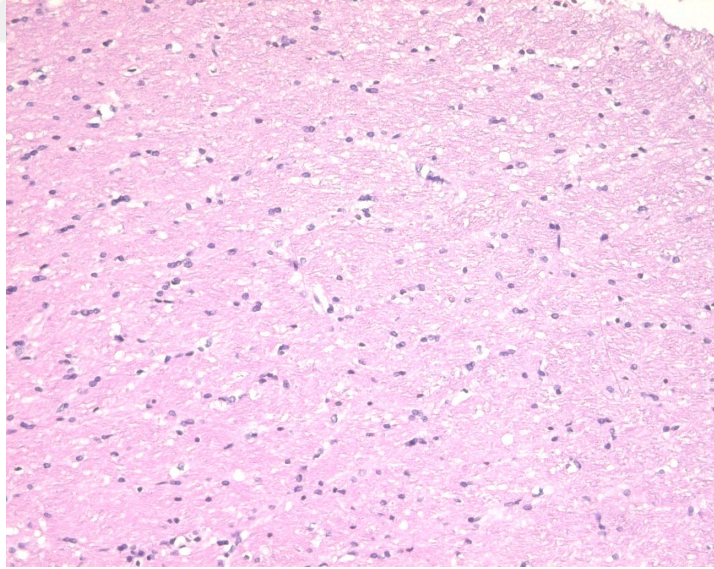


Resim 4.9. Hex20. DMSO grubu. Parankimin bir bölgesinde damarların bazılarında stazın ve perivasküler alanlarda ödemin belirgin olduğu görülmektedir. Ökromatik çekirdekli nöronlar çok sayıda izlenirken, aralarında az sayıda piknotik nöronların varlığı dikkat çekicidir.

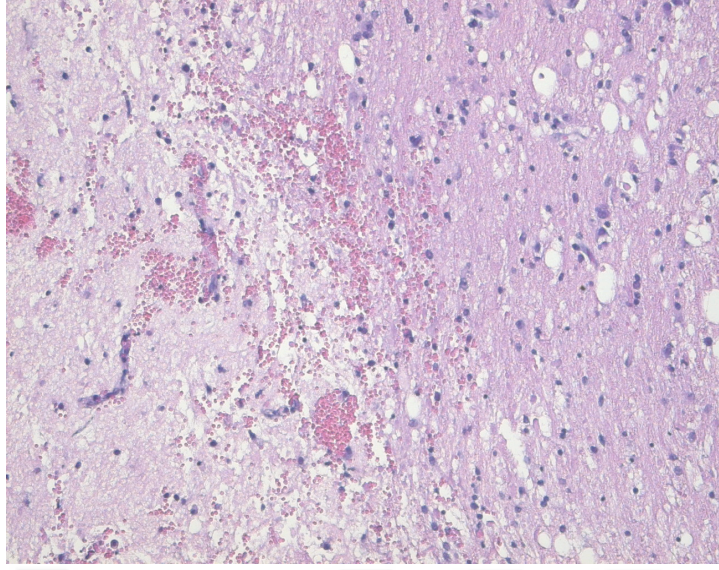




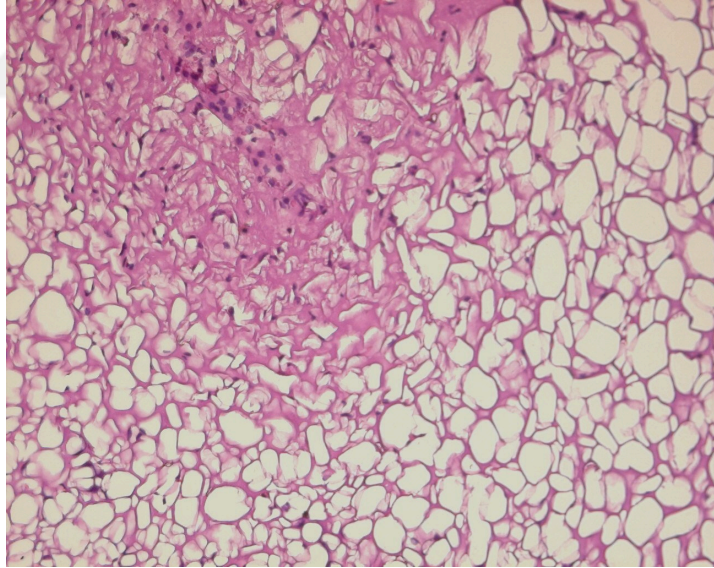
Resim 4.10. Hex20.DMSO grubu. Parankimde hafif ödem, piknotik nöronlar ve çok sayıda infiltratif hücre görülmektedir. Yine damar çevrelerinde belirgin ödem dikkat çekicidir.



Resim 4.11. Hex20 %6 ONYX grubu. Parankim içinde kanama odağı ve nöropilde ödeme bağlı belirgin açılmayla beraber çok sayıda infiltratif hücre izlenmektedir.

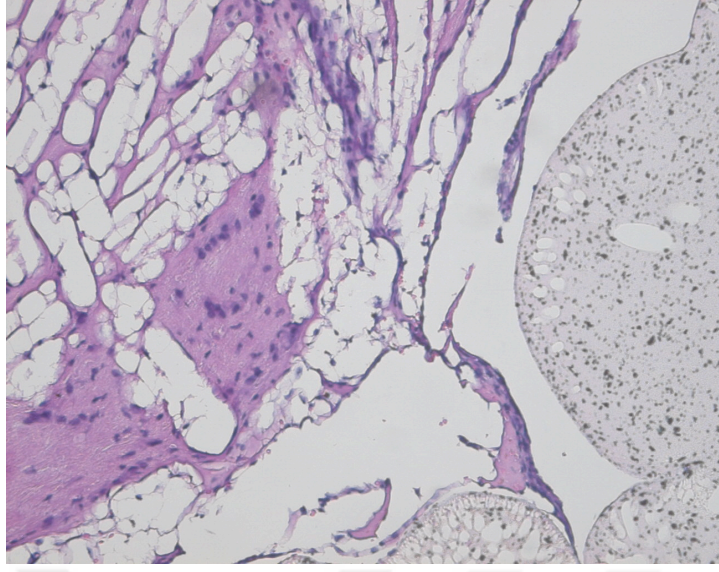


Resim 4.12. Hex20 %6 ONYX grubu. Örnekte nöropildeki ödem ve infiltratif hücreler görülmektedir .

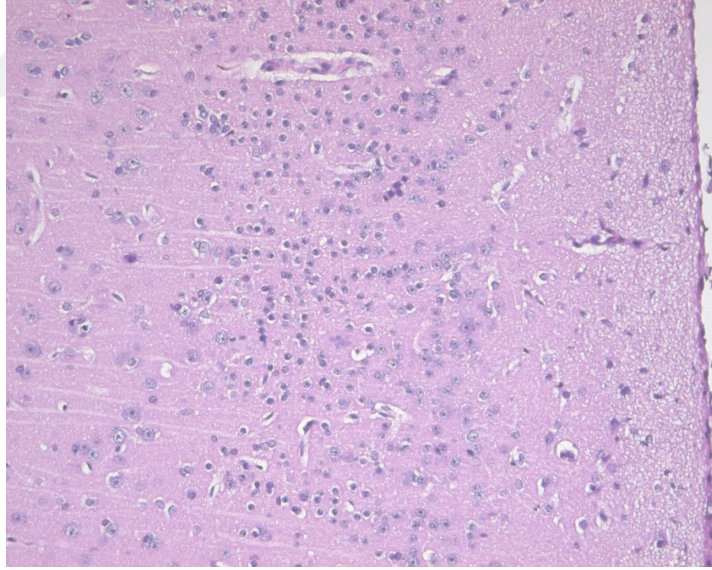


Resim 4.13. Hex20 %20 ONYX grubu. Kesitte nöropildeki şiddetli ödemle beraber dejenerere nöronlar ve infiltratif hücreler dikkat çekicidir.





Resim 4.14. Hex20 %20 ONYX grubu. ONYX komşuluğunda beyin parankiminde şiddetli ödem, dejenere nöronlar ve infiltratif hücreler görülmektedir.

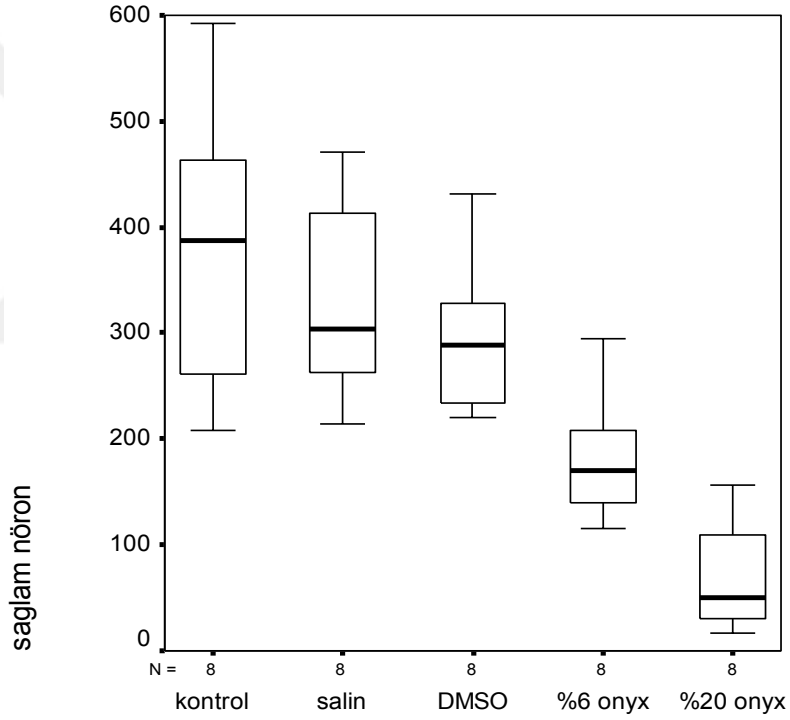


Resim 4.15. Hex20 %20 ONYX grubu. Piamater altında ödem, kortekste dejenere piknotik nöronlar, ökromatik çekirdekli nöronlar ve çok sayıda glia hücresi izlenirken, damarlarda staz ve belirgin dilatasyon dikkati çekmektedir.

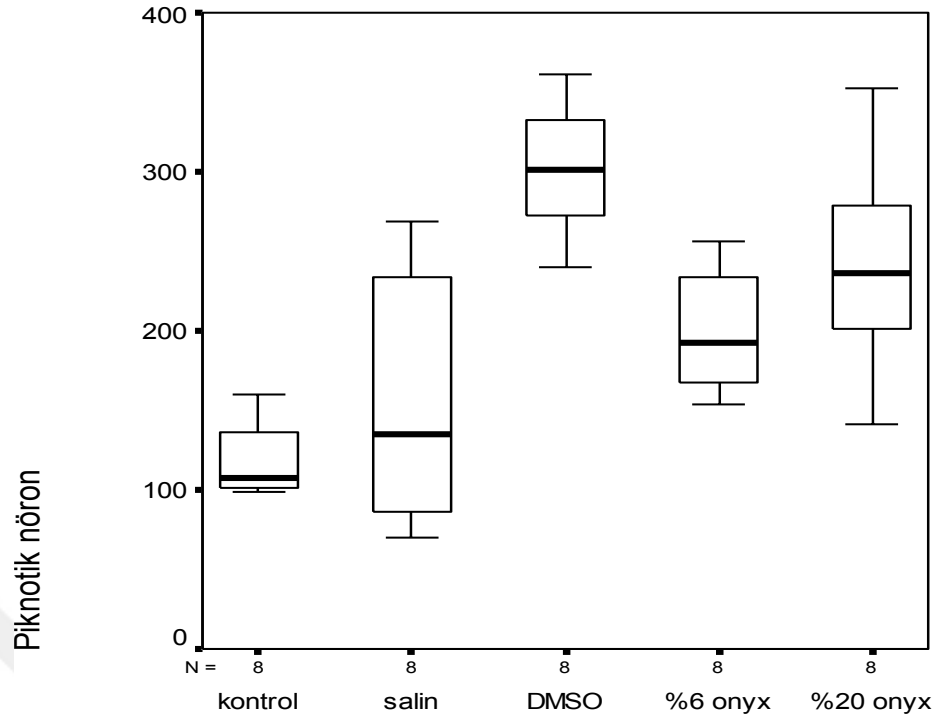


### 4.3. Beyin dokusunda sağlam n6ron, piknotik n6ron ve glial h6cre sayısı

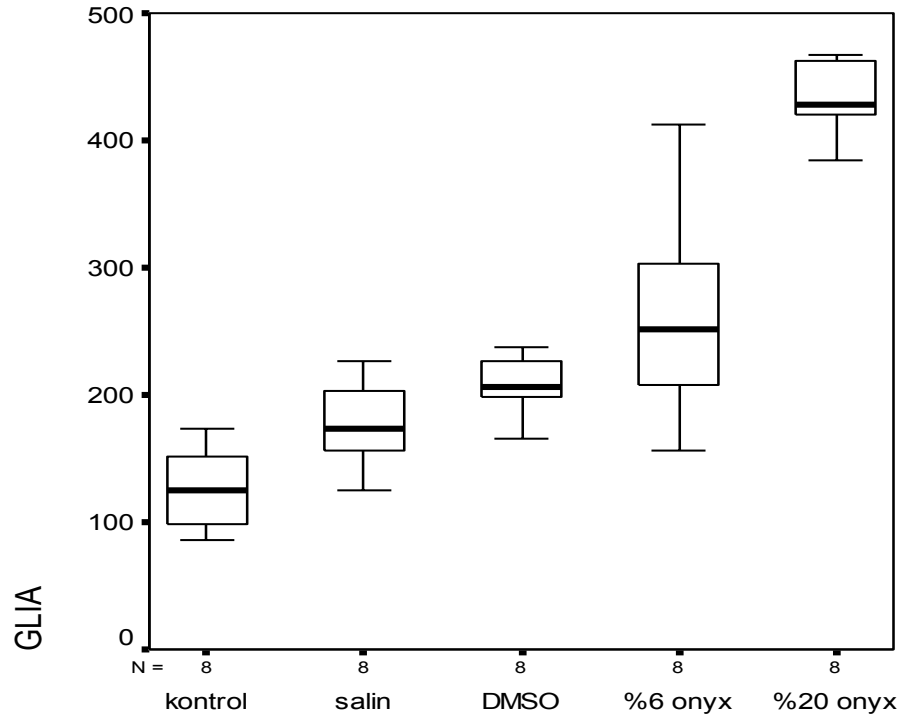
%6 ONYX, %20 ONYX, DMSO, salin ve kontrol gruplarının ışık mikroskopunda yapılan beyin dokusu incelemelerinde sağlam n6ron (şekil 1), piknotik n6ron (şekil 2) ve glia h6creleri(şekil 3) sayımlarından elde edilen bulgular *Kruskal-Wallis oklu Karşılaştırma* testi ile analiz edilmiştir. Gruplar arasında sağlam n6ron, piknotik h6cre ve glia h6creleri sayılarında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur ( $p < 0.0001$ ).



şekil 1: Sağlam n6ron sayısının gruplar arasındaki dağılımı



Şekil 2: piknotik nöronların gruplar arasındaki dağılımı



Şekil 3: Glia hücrelerinin gruplar arasındaki dağılımı

Tablo 4.1. Beyin dokusunda ortalama sağlam n6ron sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın 6nemi.

	Ort. $\pm$ std.sapma	* <i>p</i> =
Kontrol	378 $\pm$ 133	0.5
Salin	330 $\pm$ 92	
Kontrol	378 $\pm$ 133	0.2
DMSO	270 $\pm$ 119	
Kontrol	378 $\pm$ 133	0.003
%6 ONYX	180 $\pm$ 57	
Kontrol	378 $\pm$ 133	<.0001
%20 ONYX	69 $\pm$ 53	
Salin	330 $\pm$ 92	0.4
DMSO	270 $\pm$ 119	
Salin	330 $\pm$ 92	0.002
%6 ONYX	180 $\pm$ 57	
Salin	330 $\pm$ 92	<.0001
%20 ONYX	69 $\pm$ 53	
DMSO	270 $\pm$ 119	0.03
%6 ONYX	180 $\pm$ 57	
DMSO	270 $\pm$ 119	0.005
%20 ONYX	69 $\pm$ 53	
%6 ONYX	180 $\pm$ 57	0.003
%20 ONYX	69 $\pm$ 53	

\**Mann Whitney U Testi*

Beyin dokusunda sağlam n6ron sayımlarına ait değerler ve gruplar arası farklılık incelendiğinde salin verilen ve kontrol gruplarındaki sağlam n6ron sayıları

karşılaştırıldıklarında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Oysa %6 ONYX ve %20 ONYX verilen gruplardaki sağlam nöron sayıları kontrol, salin ve DMSO verilen gruplardaki sağlam nöron sayılarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. ONYX verilen gruplarda sağlam nöron sayısının azaldığı ve konsantrasyon arttığında bu azalmanın daha da belirginleştiği tespit edilmiştir. %6 ONYX verilen gruptaki sağlam nöron sayısı  $180 \pm 57/\text{mm}^2$  iken %20 ONYX verilen gruptakine  $69 \pm 53/\text{mm}^2$  bulunmuştur (Tablo 4.1)



Tablo 4.2. Beyin dokusunda ortalama piknotik nöron sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi.

	Ort. $\pm$ std.sapma	* <i>p</i> =
Kontrol	119 $\pm$ 23	0.6
Salin	156 $\pm$ 80	
Kontrol	119 $\pm$ 23	<.0001
DMSO	324 $\pm$ 94	
Kontrol	119 $\pm$ 23	0.001
%6 ONYX	200 $\pm$ 38	
Kontrol	119 $\pm$ 23	<.0001
%20 ONYX	241 $\pm$ 65	
Salin	156 $\pm$ 80	0.002
DMSO	324 $\pm$ 94	
Salin	156 $\pm$ 80	0.28
%6 ONYX	200 $\pm$ 38	
Salin	156 $\pm$ 80	0.06
%20 ONYX	241 $\pm$ 65	
DMSO	324 $\pm$ 94	<.0001
%6 ONYX	200 $\pm$ 38	
DMSO	324 $\pm$ 94	0.03
%20 ONYX	241 $\pm$ 65	
%6 ONYX	200 $\pm$ 38	0.16
%20 ONYX	241 $\pm$ 65	

\**Mann Whitney U Testi*

Beyin dokusunda piknotik n6ron sayımlarına ait değerler ve gruplar arası farklılık incelendiğinde salin verilen ve kontrol gruplarındaki ortalama piknotik n6ron sayılarında istatistiksel fark g6zlenmemişken, DMSO, %6 ONYX ve %20 ONYX verilen gruplardaki ortalama piknotik n6ron sayıları kontrol grubuna g6re farklı bulunmuştur. ONYX verilen gruplarda piknotik n6ron sayısının konsantrasyonla doğru orantılı olarak arttığı g6r6lmektedir (Tablo 4.2).



Tablo 4.3. Beyin dokusunda ortalama glia hücre sayısının gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi.

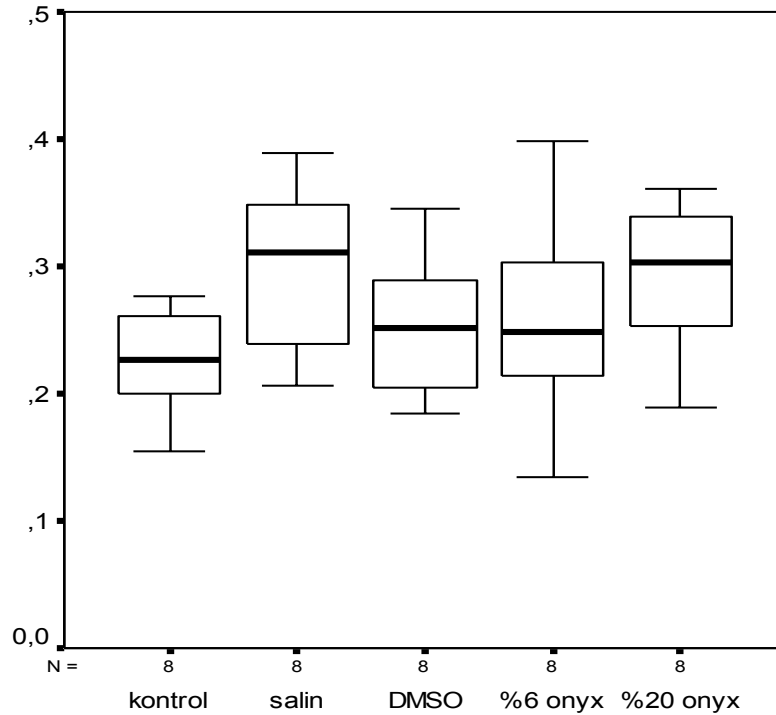
	Ort. $\pm$ std.sapma	* <i>p</i> =
Kontrol	126 $\pm$ 32	0.01
Salin	177 $\pm$ 33	
Kontrol	126 $\pm$ 32	<.0001
DMSO	208 $\pm$ 23	
Kontrol	126 $\pm$ 32	0.002
%6 ONYX	262 $\pm$ 84	
Kontrol	126 $\pm$ 32	<.0001
%20 ONYX	434 $\pm$ 29	
Salin	177 $\pm$ 33	0.06
DMSO	208 $\pm$ 23	
Salin	177 $\pm$ 33	0.03
%6 ONYX	262 $\pm$ 84	
Salin	177 $\pm$ 33	<.0001
%20 ONYX	434 $\pm$ 29	
DMSO	208 $\pm$ 23	0.08
%6 ONYX	262 $\pm$ 84	
DMSO	208 $\pm$ 23	<.0001
%20 ONYX	434 $\pm$ 29	
%6 ONYX	262 $\pm$ 84	<.0001
%20 ONYX	434 $\pm$ 29	

\**Mann Whitney U Testi*

Beyin dokusunda glia hücre sayılarına ait değerlerin gruplara göre dağılımı ve gruplar arası farklılık incelendiğinde salin verilen ve kontrol gruplarındaki glia hücre sayılarında fark gözlenmemişken DMSO, %6 ONYX ve %20 ONYX verilen gruplardaki glia hücre sayıları kontrol ve salin verilen gruplardaki glia hücre sayılarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. ONYX verilen gruplarda beyin dokusundaki piknotik hücre sayısındaki artışa benzer şekilde glia hücre sayısının arttığı ve bu artışın konsantrasyona bağımlı olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.3).

#### 4.4. Lipid peroksidaz aktivitesi

Tüm gruplarda yer alan örneklerde 72 saat sonra saptanan lipid peroksidaz değerleri (g-yaş doku/nmol) kaydedilerek (Şekil 4) varyansların homojenliği kontrol edilmiştir. Gruplar homojen olmadığı için gruplar arası farklılığın önemlilik kontrolü *Kruskal-Wallis Çoklu Karşılaştırma* testi ile yapılmış ve %95 güvenlik sınırında ( $p > 0.05$ ) gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmemiştir (Tablo 4.5). Gruplar birbiriyle ikili olarak karşılaştırıldığında (*Mann Whitney U Testi*) kontrol grubu ile %20'lik ONYX arasında anlamlı fark saptanırken ( $p = 0.02$ ), diğer gruplar arasında lipid peroksidaz düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.5).





Şekil 4: Gruplar arasında lipid peroksidaz düzeylerinin dağılım

Tablo 4.4.: Grupların lipid peroksidaz aktivitesi ölçümlerinin tanımlayıcı özellikleri

	N	Minimum	Maksimum	Ortanca	Std. sapma
Kontrol	8	0.15	0.28	0.23	0.04
salin	8	0.21	0.39	0.30	0.07
DMSO	8	0.18	0.35	0.25	0.06
%6 ONYX	8	0.14	0.40	0.26	0.08
%20 ONYX	8	0.19	0.36	0.29	0.06

Tablo 4.5.: Lipid peroksidaz aktivite değerlerinin gruplar arası dağılımı ve gruplar arası farkın önemi

	Ort. $\pm$ std.sapma	*P =
Kontrol	0.23 $\pm$ 0.04	0.04
Salin	0.30 $\pm$ 0.07	
Kontrol	0.23 $\pm$ 0.04	0.4
DMSO	0.25 $\pm$ 0.06	
Kontrol	0.23 $\pm$ 0.04	0.4
%6 ONYX	0.26 $\pm$ 0.08	
Kontrol	0.23 $\pm$ 0.04	0.02
%20 ONYX	0.29 $\pm$ 0.06	
Salin	0.30 $\pm$ 0.07	0.14
DMSO	0.25 $\pm$ 0.06	
Salin	0.30 $\pm$ 0.07	0.3
%6 ONYX	0.26 $\pm$ 0.08	
Salin	0.30 $\pm$ 0.07	0.7
%20 ONYX	0.29 $\pm$ 0.06	
DMSO	0.25 $\pm$ 0.06	0.9
%6 ONYX	0.26 $\pm$ 0.08	
DMSO	0.25 $\pm$ 0.06	0.13
%20 ONYX	0.29 $\pm$ 0.06	
%6 ONYX	0.26 $\pm$ 0.08	0.3
%20 ONYX	0.29 $\pm$ 0.06	

\*Mann Whitney U Testi

## 5. TARTIŞMA

Endovasküler tedavide ONYX'in kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır (1). Yapılan araştırmalar ONYX'in anjiyotoksik olduğunu ve bu toksisitenin de ONYX'in solventi olan DMSO'dan kaynaklandığını ortaya koymaktadır. (1,15) Klinik uygulamalarda ONYX'in zaman zaman damar dışına çıkması ve nöronal dokular ile teması mümkündür. Mevcut elektronik veri tabanlarının taraması sonucunda, literatürde bugüne kadar ONYX'in komşu nöronal dokularla teması sonrasında ortaya çıkan değişikliklerin biyokimyasal ve histolojik sonuçlarını araştıran kontrollü bir deneysel çalışma olmadığı görülmüştür. Bu çalışmanın amacı, ONYX adlı likit embolizan polimer maddenin komşu nöronal dokular üzerindeki etkilerinin histolojik ve biyokimyasal sonuçlarını araştırmaktır.

Yapılan hayvan çalışmalarında, ONYX ve solventi DMSO'nun damar dışına çıkması halinde incelenen beyin preparatlarında akut subaraknoid kanama, düşük dereceli mikroglyal ensefalit ve hafif menenjit bulguları, akut ve kronik inflamatuvar hücre infiltrasyonu, akut nekroz alanları, perivasküler lenfosit birikimleri saptanmıştır (3). Bu alışmalarda ONYX ve DMSO bir arada olduğu için mevcut doku değişikliklerinin hangi değişkene değişkene bağlı olduğunu saptamak mümkün değildir. Dr. Bakar (2) ve arkadaşları tarafından perkütan yolla subaraknoid mesafeye verilen DMSO ve değişik konsantrasyonlarda ONYX'in komşu nöronal dokularda mononükleer ağırlıklı inflamatuvar reaksiyona neden olduğu, endotel ile madde temasının olmadığı ortamlarda direkt anjiotoksositeye neden olmadığı ve serbest radikal oluşumuna yol açmadığı tespit edilmiştir. Bu deney sonucunda inflamatuvar sürecin benzer olması nedeniyle ortak payda olan DMSO sorumlu tutulmuştur. DMSO'nun antioksidan etkisi olduğu değişik çalışmalarda gösterilmiştir (3). Ayrıca toksik etkileri olmasına rağmen DMSO'nun kan osmolaritesini azaltabileceği düşünölmektedir (3). DMSO'nun prostaglandin ve tromboksan sistemleri üzerinden oksijen radikallerine bağlı hücre dejenerasyonunu azalttığı da gösterilmiştir (3,16). Bu bulgulara dayanarak DMSO'nun antioksidan, antiinflamatuvar ve radyoprotektif özellikleri olduğu düşünölmektedir. DMSO ile ilgili yapılan araştırmalarda DMSO'nun topikal uygulandığında deriden emilebileceği, histamin salıverilmesine neden olabileceği hipersensitivite

reaksiyonlarına yol açabileceği bildirilmiş, fakat genel olarak güvenli bir solvent olduğu öne sürülmüştür (34). Yine DMSO'nun olası toksik etkilerini araştırmak amacıyla ONYX verilen 38 hastanın nörolojik muayene ve radyolojik tetkiklerinde (BT ve MR) hiçbir toksik reaksiyon saptanmamıştır (29). Bununla birlikte bu hastaların hiç birinde ONYX damar dışına çıkarak subaraknoid mesafe veya parankimle doğrudan temas etmediğinden, yan etkilerinin araştırılması anjiotoksisite ile sınırlı kalmaktadır. Arteriyovenöz malformasyon nedeniyle ONYX enjeksiyonu yapılan ve sonrasında opere edilen 23 hastalık bir seride yapılan histopatolojik incelemelerde embolizasyondan bir gün sonra alınan örneklerde hafif akut inflamasyon, 4 gün sonra alınan örneklerde ise kronik inflamatuvar değişiklikler saptanmıştır. İki vakada embolize edilen damarlarda anjiyonekroz geliştiği bildirilmiştir. Bu hastalarda parankimal hemoraji saptanmamış ve damar duvarı bütünlüğünün korunduğu gözlenmiştir (17).

Çalışmamızda farklı konsantrasyonlarda ONYX ve solventi DMSO beyin parankimine uygulandığında ortaya çıkan histolojik ve biyokimyasal etkiler araştırılmıştır. Işık mikroskobu kullanılarak yapılan histolojik incelemelerde %6 ve %20 konsantrasyonlarında ONYX ve onun solventi olan DMSO verilen hayvanların beyin dokusunda piamater altında belirgin ödem, nöronal dejenerasyon ve bir dereceye kadar apopitozis saptanmış, bunun yanı sıra damarlarda genişleme ve staz izlenmiştir. Yine bu hayvanlarda parankim dokusunda birden fazla kanama odakları gözlenmiştir. Kanama odaklarının sadece enjeksiyon alanı ile sınırlı olmayıp uzak bölgelerde de görülmesi, bu kanamaların enjeksiyon tekniğe değil verilen kimyasal maddeye bağlı olduğu görüşünü desteklemektedir. Yukarıda belirtilen inflamatuvar ve dejeneratif değişiklikler %20 ONYX verilen grupta en yüksek oranda gözlenirken, %6 ONYX ve DMSO verilen gruplarda sırasıyla daha hafif olarak izlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler %6 ve %20 ONYX verilen gruplarda nöronal dejenerasyon ve glial hücre artışının anlamlı olduğunu göstermektedir. Bugüne kadar yapılan diğer çalışmalardan farklı olarak, bu çalışmada elde edilen histolojik veriler nöronal doku hasarında ONYX'in sorumluluğunu ön plana çıkarmaktadır. Çünkü bu çalışmada ONYX verilen gruplarda gözlenen değişiklikler, tek başına DMSO verilen gruptan konsantrasyon bağımlı olarak daha şiddetli ve belirgin olarak izlenmektedir. %6 ONYX, %20

ONYX, DMSO ve SF verilen grupların lipid peroksidasyon değerleri arasında istatistik olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.005$ ). Elde edilen değerler değişik konsantrasyonlarda ONYX ve DMSO'nun membran fosfolipidleri üzerinden serbest radikal formasyonuna yol açmadığını, hatta tam aksine –istatistiksel farklılık bulunmamakla birlikte– bu yoldan serbest radikal oluşumunu kısmen azalttığını göstermekte olup, literatür bilgileri ile uyumludur.

Farmakolojik olarak, bir aktif maddenin etkilerinin ve toksisitesinin genel olarak doz bağımlı olması beklenir. Bu çalışmada gözlenen toksik etkilerin ONYX konsantrasyonu ile doğru orantılı değişimi, toksik etkiden sadece solvent olan DMSO'nun sorumlu olmadığını, bu süreçte ONYX'in de doz bağımlı olarak rol aldığını desteklemektedir.

## 6. SONUÇ

Yapılan bu ön çalışmada perkütan yolla beyin parankimine %6 ve %20 konsantrasyonlarda ONYX ve onun solventi olan DMSO verildiğinde elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

1. %6 ve %20 konsantrasyonlarda ONYX ve onun solventi olan DMSO'nun perkütan yolla beyin parankimine verildiğinde komşu nöral dokuda azalmaya, piknotik ve glia hücrelerinde artmaya neden olduğu gösterilmiştir.

2. Her üç grup arasında (%6 ONYX, %20 ONYX ve DMSO) inflamatuvar hücre yoğunluğu açısından belirgin farklılık olmadığı saptanmıştır.

3. %6 ONYX, %20 ONYX ve sadece DMSO verilen gruplarda nöronal dejenerasyon ve glial proliferasyonun farklı derecelerde olması, inflamatuvar süreçten DMSO'nun yanı sıra ONYX'in de sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

4. Her üç grupta da ağırlıklı olarak intrasellüler ve yer yer ekstrasellüler kompartmanlarda izlenen ödem bu toksisiteye bağlı inflamatuvar sürecin bir komponenti olarak kabul edilmiştir.

5. Bu maddelerin membran fosfolipidlerinden kaynaklanan serbest radikal oluşumuna yol açmadığı gösterilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Akin E.D., Perkins E., Ross I.B. (2003). Surgical handling characteristic of an ethylene vinyl alcohol copolymer with N-butyl cyanoacrylate used for embolization of vessels in an arteriovenous malformation resection model in swine. J Neurosurg 98:366-370.
2. Bakar B.(2005). Bir likit embolizan polimer olan "ONYX" in subaraknoid mesafede oluşturduğu histolojik ve ultrasrütürel değişikliklerin araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji AD, Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kütüphanesi, Ankara.
3. Brayton C.F. (1986). Dimethyl sulfoxide (DMSO). Cornell Vet 76:61-90
4. Chaloupka J.C., Huddle D.C., Alderman J., Fink S., Hammond R., Vinters H. V. (1999). A reexamination of the angiotoxicity of superselective injection of DMSO in the swine rete embolization model. AJNR 20:401-410.
5. Chaloupka J.C., Vinuela F., Vinters H.V., Robert J. (1994). Technical feasibility and histopathologic studies of ethylene vinyl copolymer using a swine endovascular embolization model. AJNR 15:1107-15.
6. Cronqvist M, Wirestam R, Ramgren B, Brant L, Romner B, Nilsson O, Saveland H, Holtas S, Larsson EM. (2006). Endovascular treatment of intracerebral arteriovenous malformations: procedural safety, complications, and results evaluated by MR imaging, including diffusion and perfusion imaging. AJNR 27(1):162-76
7. Debrun G., Vinuela F., Fox A., Drake C.G. (1982). Embolization of serebral arteriovenous malformation with bucrylate. J Neurosurg 56:615-627.
8. Dutka A.J., Koçhanek P.M., Hallenbeck J.M. (1989). Influence of granulocytopenia on canine cerebral ischemia induced by air embolysm. Stroke 20:390-395.

9. Freeman B.A., Crapo J.D. (1982). Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Investig* 47:412-426.
10. Florio F, Lauriola W, Nardella M, Strizzi V, Vallone S, Trossello MP (2003). Endovascular treatment of intracranial arterio-venous malformations with Onyx embolization: preliminary experience. *Radiol Med* 106(5-6):512-20.
11. Garretson H.D. (1996). Intracranial arteriovenous malformation. *Textbook of Neurosurgery, Second Edition*, ed: Wilkins R.H., Rengachary S.S. McGRAW-HILL, New York- St.Luis, Volume II: Sayfa: 2433-2442.
12. Hamada J., Kai Y., Morioka M., Kazekawa K., Ishimaru Y., Iwata H., Ushio Y. (2002). A mixture of ethylene vinyl alcohol copolymer and ethanol yielding a nonadhesive liquid embolic agent to treat cerebral arteriovenous malformation: Initial clinical experience. *J Neurosurg* 97:881-888.
13. Hayakawa M., Murayama Y., Duckwiler G., Gobin Y.P., Guglielmi G., Vinuela F. (2000). Natural history of the neck remnant of cerebral aneurysm treated with the Guglielmi detachable coil system. *J Neurosurg* 93:561-568.
14. Henkes H., Fischer S., Weber W., Miloslavski E., Felber S., Brew S., Kuehne D. (2004). Endovascular coil occlusion of 1811 intracranial aneurysms: Early angiographic and clinical results. *Neurosurg* 54:268-285.
15. İnci S., Özcan O.E., Özgen T. (2004). İntrakranyal anevrizmalar. *Temel Nöroşirürji*, ed: Benli K., Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Sayfa: 56-63.
16. Jacob S.W. (1986). Pharmacology of DMSO. *Cryobiology* 23:14-27.
17. Jahan R., Murayama Y., Gobin Y.P., Gobin Y.P., Duckwiler G.R., Vinters H.V., Vinuela F. (2001). Embolization of arteriovenous malformation with ONYX: Clinicopathological experience in 23 patients. *Neurosurg* 48(5):984-997



18. Jafar J.J., Davis A.J., Berenstein A., Choi I.S., Kupersmith M.J. (1993). The effect of embolization with N-butyl cyanoacrylate prior to surgical resection of cerebral arteriovenous malformations. *J Neurosurg* 78:60-69.
19. Komemushi A., Tanigawa N., Okuda H., Kojima H., Fuji H., Shomura M., Sougawa M., Sawada S. (2002). A new liquid embolic material for liver tumors. *Acta Radiol* 43:186-191.
20. Lanterna L.A., Tredici G., Dimitrov B.D., Biroli F. (2004). Treatment of unruptured cerebral aneurysms by embolization with Guglielmi detachable coils: Case fatality, morbidity, and effectiveness in preventing bleeding- A systemic review of the literature. *Neurosurg* 55:767-778.
21. Luessenhop AJ, Spence WT. (1960). Artificial embolization of cerebral arteries: Report of use in a case of arteriovenous malformation. *JAMA* 172:1153-1155.
22. Matsumaru Y., Hyado A., Nose T., Hirano T., Ohashi S. (1997). Embolic materials for endovascular treatment of cerebral lesions. *J Biomater Sci Polym Ed* 8(7):555-569.
23. Molyneux A.J., Cekirge S., Saatci I., Gal G. (2004). Cerebral aneurysm multicenter European ONYX (CAMEO) Trial: Results of a prospective observational study in 20 European centers. *AJNR* 25:39-51.
24. Mullan S., Raimondi AJ., Dobben G., Vailati G., Hekmatpanah J. (1965). Electrically induced thrombosis in intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 22:539-547.
25. Murayama Y., Vinuela F., Ulhao A., Akiba Y., Duckwiler G., Gobin P., Vinters H.V., Greff R.J. (1998). Nonadhesive liquid embolic agent for cerebral arteriovenous malformations: Preliminary histopathological studies in swine rete mirabile. *Neurosurg* 43(5):1164-1172.
26. Murayama Y., Vinuela F., Tateshima S., Song J.K., Gonzalez N.R., Wallace M.P. (2001). Bioabsorbable polymeric material coils for embolization of intracranial aneurysms: A preliminary experimental study. *J Neurosurg* 94:454-463.

27. Murayama Y., Tateshima S., Gonzalez N.R., Vinuela F. (2003). Matrix and bioabsorbable polymeric coils accelerate healing of intracranial aneurysms long term experimental study. *Stroke* 34:2031-2037.
28. Oruçkaptan H.H., Caner HH., Kılınç K., Ozgen T. (2000). No apparent role for neutrophils and neutrophil derived myeloperoxidase in experimental subarachnoid haemorrhage and vasospasm. *Acta Neurochir (Wien)* 142(1):83-90.
29. Pamuk AG, Saatci I, Cekirgr HS, Aypar U. (2005). A contribution to the controversy over dimethyl sulfoxide toxicity: anesthesia monitoring resulted in patients treated with Onyx embolization for intracranial aneurysms. *Neuroradiology* 47(5):380-6.
30. Phillips J.W. (1994). A radical view of cerebral ischemic injury. *Prog Neurobiol* 42:441-448,
31. Serbinenko FA. (1974). Balloon catheterization and occlusion of major cerebral vessels. *J Neurosurg* 41:125-147.
32. Slater T.F. (1984). Free radical mechanisms in tissue injury. *J Biochem* 222:1-15.
33. Suh D.C., Kim K.S., Lim S.M., Shi H.B., Choi C.G., Lee H.K., Seo D.M. (2003). Technical feasibility of embolizing aneurysms with glue (N-butyl cyanoacrylate): Experimental study in rabbits. *AJNR* 24:1532-1539.
34. Swanson B.N. (1985). Medical use of dimethyl sulfoxide. *Review Clin Basic Pharmacol* 5:1-33.
35. The N-BCA Trial Investigators. (2002). N-Butyl cyanoacrylate embolization of cerebral arteriovenous malformations: Results of a prospective, randomized, multi-center trial. *AJNR* 23:748-755.
36. Uchiyama M., Mihara M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acids. *Anal Biochem* 86:271-278.

**37.** Vinuela F., Duckwiler G., Mawad M. (1997). Guglielmi detachable coil embolization of acute intracranial aneurysm: Perioperative anatomical and clinical outcome in 403 patients. *J Neurosurg* 86:475-482.

**38.** Wallace R.C., Flom R.A., Khayata M.H., Dean B.L., McKenzie J., Obuchowski N.A., Rand J.C., Zepp R.C., Zabramski J.M., Spetzler R.F. (1995). The safety and effectiveness of brain arteriovenous malformation embolization using acrylic and particles: The experiences of a single institution. *Neurosurg* 37:606-618.

**39.** Weir B., Macdonald R.L (1996). Aneurysms and subarachnoid hemorrhage. *Textbook of Neurosurgery, Second Edition*, ed: Wilkins R.H., Rengachary S.S., McGRAW-HILL, New York- St. Luis, Volume II: Sayfa: 2191-2213.