

İÇİNDEKİLER:

	<u>Sayfalar</u>
Özet	3
Abstract	5
1. Giriş ve Amaç	7
2. Genel Bilgiler	8
2.1. Radyoterapinin Temel Prensipleri ve Hücre Düzeyindeki Etkileri	9
2.2. Radyasyonun Etkileşimleri	10
2.3. Radyasyonun Biyolojik Etkileri	11
2.4. Stereotaktik Radyocerrahi	12
2.4.1. Radyocerrahinin Tedavi Stratejisindeki Rolü	
2.4.1.1. Primer Radyocerrahi	12
2.4.1.2. Adjuvan Radyocerrahi	13
2.5. Gamma Knife Radyocerrahi	
2.5.1. Teknolojinin Gelişimi	13
2.5.2. Temel Ünite Dizaynı	14
2.5.3. Radyocerrahi Tekniği	14
2.5.4. Tedavi Planlaması	15
2.5.5. Doz Belirlenmesi	15
2.6. Radyotoksosite	16
2.6.1. Radyasyon Nekrozunun Patobiyolojisi	18
2.6.1.1. Vasküler Hasar Teorisi	19
2.6.1.2. Glial Hasar Teorisi	19
2.6.2. Radyasyon Nekrozunun Belirteçleri	20
2.6.3. Tedavi Modalitesine Göre Doğal Seyir	22
2.7. Tanı Konulması	23
2.7.1. Klinik Özellikleri	23
2.7.2. Görüntüleme Karakteristikleri	23
2.7.3. Patolojik Bulgular	25
2.8. Tedavi Seçenekleri	26
2.8.1. Gözlem ve Steroid	26
2.8.2. Antikoagülan ve Antiplatelet Ajanlar	27
2.8.3. Antioksidanlar	29
2.8.4. Cerrahi Rezeksiyon	29
3. Gereçler ve Yöntem	30
3.1. Radyasyon Nekrozu Tespiti için MR Görüntüleme Protokolü	34
3.2. İmmünohistokimyasal Boyanma Prosedürü	34
3.3. İstatistiksel Analiz	35
4. Bulgular	36
4.1. Hematoksilen ve Eosin İncelemesi	36
4.2. İmmünohistokimyasal İncelemeler	38
4.2.1. HIF-1 α	39
4.2.2. VEGF	42
4.2.3. TGF- β	44

4.2.4. BRDU	46
4.2.5. Apoptoz	47
4.3. Radyolojik Değerlendirme	49
5. Tartışma	66
6. Sonuç	70
7. Kaynaklar	70

ÖZET:

Giriş ve Amaç:

Gamma Knife benign ve malign intrakranial patolojilerin tedavisinde güvenle kullanılan etkili bir tedavi yöntemidir. Radyasyon nekrozu radyoterapi/radyocerrahi sonrası gelişen gecikmiş hasar olarak tanımlanır. Pentoksifilin ve E vitamini çeşitli çalışmalarda diğer sistemlerde radyasyonun geç dönem yan etkilerine karşı etkisi gösterilmiş ancak serebral radyasyon nekrozu üzerine etkisini gösteren deneysel bir çalışma bulunmayan preperatlardır. Çalışmamızdaki amacımız radyasyon nekrozu üzerine varsa etkinliklerinin gösterilebilmesidir.

Gereçler ve Yöntem:

Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurul onayı ile 50 adet cinsiyetten bağımsız Sprague-Dawley cinsi sıçan çalışmamızda kullanıldı. Çalışmada 7 farklı grup kontrol, profilaktik E vitamini, terapötik E vitamini, profilaktik pentoksifilin, terapötik pentoksifilin, profilaktik pentoksifilin ve E vitamini ve terapötik pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplar olarak belirlendi. Deneklerin hepsinin Manyetik Rezonans çekimini ve planlamayı takiben özel olarak tasarlanmış çerçeve ile Gamma Knife uygulaması gerçekleştirildi. Profilaktik gruplara GK uygulandığı gün, terapötik gruplara ise uygulamadan 12 hafta sonra medikasyonları (E vitamini 30 mg/kg/gün, Pentoksifilin 50 mg/kg/gün IP) başlandı ve 4 hafta boyunca devam edildi. On altı hafta sonra tüm gruplar Manyetik Rezonans çekimini takiben dekapite edildi ve immünohistokimyasal incelemeye alındılar.

Bulgular:

Gruplar arasında yapılan histopatolojik karşılaştırmalar sonucunda H&E incelemelerinde kistik oluşum açısından profilaktik ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda; HIF-1 α ve VEGF incelemesinde nekroz alanında boyanma patterni açısından terapötik E vitamini, terapötik pentoksifilin ve terapötik E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruplarda; TGF- β incelemesi sonucunda nekroz alanında boyanma patterni açısından terapötik E vitamini, terapötik pentoksifilin ve terapötik E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruplarda; BRDU incelemesinde nekroz alanında boyanma patterni açısından

terapötik E vitamini ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda; apoptoza bakıldığında nekrotik alan komşuluğundaki hücre sayıları açısından profilaktik pentoksifilin ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Radyolojik inceleme sonucunda ise kontrastlanma patterni açısından bakıldığında profilaktik E vitamini, profilaktik pentoksifilin ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi.

Sonuç:

Sonuç olarak E vitamini ve pentoksifilin profilaksi gerektirmeksizin ve kombine uygulamalarından bağımsız olarak radyasyon nekrozunun gelişmesini vasküler hasar teorisinde belirtilen yollar üzerinden sınırlayarak radyolojik ve immünohistokimyasal açıdan anlamlı fark yarattığı gösterilmiştir.

ABSTRACT

Purpose:

Gamma Knife is an effective treatment modality for benign and malignant intracranial pathologies. Radiation Necrosis is the late effect of radiotherapy/radiosurgery. Pentoxifylline and Vitamin E has been proved to be effective in preventing or reversing the effects of radiation for other systems but effectiveness for cerebral radiation necrosis has not been proved yet. Our aim to design this research based on this idea.

Material and Method:

Fifty Sprague-Dawley rats irrespective of their sex used for this research by the permission of Marmara University Animal Research Local Ethic Committee. Seven subgroups were determined as control, prophylactic vitamin E, therapeutic vitamin E, prophylactic pentoxifylline, therapeutic pentoxifylline, prophylactic pentoxifylline and vitamin E and therapeutic pentoxifylline and vitamin E. All subjects have been performed Gamma Knife radiosurgery with special design frame for rats after Magnetic Resonance investigation. Medications (Vitamin E 30 mg/kg/day, Pentoxifylline 50 mg/kg/day IP) for prophylactic groups started on the day that the Gamma Knife performed and 12 weeks later from the Gamma Knife for the therapeutic groups and continued for 4 weeks. All subjects were decapitated after 16 weeks after Magnetic Resonance investigation and immunohistochemical evaluations performed.

Results:

There are statistically significant difference in H&E examination for cystic formation in prophylactic pentoxifylline and therapeutic pentoxifylline groups; in HIF-1 α and VEGF examination for immunoreactivity pattern at the necrotic zone in prophylactic pentoxifylline, therapeutic pentoxifylline and therapeutic vitamin E and pentoxifylline groups; in TGF- β examination for immunoreactivity pattern at the necrotic zone in therapeutic vitamin E,

therapeutic pentoxifylline and therapeutic vitamin E and pentoxifylline groups; in BRDU examination for immunoreactivity at the necrotic zone in therapeutic vitamin E and therapeutic pentoxifylline groups; in apoptosis examination for the number of positive cell count at the perinecrotic area in prophylactic pentoxifylline and therapeutic pentoxifylline groups. For the radiological considerations statistical significance was prominent in contrast enhancement pattern in prophylactic vitamin E, prophylactic pentoxifylline and therapeutic pentoxifylline groups.

Conclusion:

As a result we concluded that vitamin E and pentoxifylline irrespective of prophylaxis and combination therapy is effective to restrict the progression of radiation necrosis which is proved by statistically significant difference for immunohistochemical and radiological aspect.

1. GİRİŞ VE AMAÇ:

Gamma Knife (GK) günümüzde nöroşirürjiyenler tarafından benign ve malign intrakranial patolojilerin tedavisinde güvenle kullanılan etkili bir tedavi seçeneğidir. Özellikle derin yerleşimli lezyonların kontrolünde ve cerrahi uygulanmış olgularda rezidü lezyonlara yönelik olarak uygulanan Gamma Knife'ın lezyon kontrol oranı endikasyonu olan tümörler için % 85-95, vasküler lezyonlar için %71-80 olarak bildirilmiştir.

Radyasyon nekrozu(RN) Santral Sinir Sistemi(SSS) ışınlanmasını takiben 3 ay ile yıllar içerisinde görülebilen gecikmiş hasar olarak tanımlanır. Tedaviden yıllar sonra görülebilmemesine rağmen en sık tedaviden sonraki 2 yıl içerisinde izlenir. Gamma Knife uygulanan hastaların uzun dönem takiplerinde radyasyon nekrozu ek morbiditeye sebep olarak kendi başına tedavi gerektiren bir durum ortaya çıkarmaktadır.

Günümüzde, radyasyon nekrozu tedavisinde klinik uygulamada kanıta dayalı olarak kullanılan bir protokol bulunmamaktadır. E vitamini, pentoksifilin, bevasizumab, hiperbarik oksijen tedavisi ve steroidler günlük pratiğimizde radyasyon nekrozunun etkilerini azaltmak için kullanılmakla birlikte, etkinliğinin gösterilebildiği deneysel bir çalışma ve buna bağlı olarak oluşturulmuş kanıta dayalı bir tedavi protokolü bulunmamaktadır. Çalışmamızın amacı, halen ampirik olarak kullanılmakta olan E vitamini ve pentoksifilin'in profilaktik ve terapötik uygulamadaki etkilerinin Gamma Knife ile iyatrojenik olarak radyasyon nekrozu oluşturulan sıçanlarda histopatolojik ve Manyetik Rezonans(MR) yöntemleri ile değerlendirilerek rutin tedavi protokolüne girebilirliği açısından bir ön çalışma yapmaktır.

2.GENEL BİLGİLER:

Radyoterapi ve dolayısıyla Radyasyon Onkolojisi 1895'te X ışınlarının bulunmasından kısa bir zaman sonra günlük tıp pratiğine girebilmeyi başarmıştır. 1896'da Chicago'da bir tıp fakültesi öğrencisi olan Emil Grubbe röntgen çekiminden sonra elindeki ciltte soyulmalar meydana geldiğini gözlemlemiş, radyoterapi ile verilen enerjinin hücre fonksiyonları ve hücre çoğalması üzerine etkisi olabileceğini düşünerek bunu ilaç tedavisine dirençli bir meme kanseri hastasında tedavi amaçlı kullanmayı öngörerek dünyanın ilk radyasyon onkoloğu olarak tarihe geçmiştir. 1920'de Claude Regaud fraksinizasyonu bulmuş ve uygulamış, ilk Lineer akseleratör ise 1960larda günlük pratiğe kazandırılmıştır.

Radyocerrahi ilk defa 1951'de İsveçli bir beyin cerrahı olan Lars Leksell tarafından stereotaktik olarak tek doz fraksiyone yüksek doz radyasyonu ilgili intrakranial patolojiye yönlendirmek olarak tanımlanmıştır(1). Stereotaktik radyocerrahinin amacı hedef dokuda hasara sebep olurken çevre sağlıklı dokuyu korumaktır. Leksell ve ekibi 1967 senesinde Gamma Knife'ı tasarlayıp intrakranial patolojilerin tedavisinde kullanmaya başlamışlardır (2). İlk olarak fonksiyonel nöroşirürjinin bir parçası olarak destrüktif lezyonlar yaratmak amacı ile kullanılan Gamma Knife'ın endikasyonlarına 1975 yılından itibaren Bilgisayarlı Tomografi(BT) ve Manyetik Rezonans Görüntüleme(MRG)'nin kullanıma girmesi ile birlikte vasküler malformasyonlar, benign intrakranial patolojiler ve metastazlar da dahil olmuştur. İkinci nesil kolimatörlerin (4-,8-,14-,18-mm) kullanılması daha nitelikli ışın gönderebilmeyi sağlamış ve çevre doku koruması arttırılmıştır. Konvansiyonel radyoterapi yöntemleri ile kıyaslandığında tedavi zamanının ve planlama süresinin daha kısa olması, tedavi alanının daha kesin sınırlar ile belirlenebilmesi en büyük avantajlarını oluşturur. Günümüzde Nöroşirürjiyenler ve Radyasyon Onkologları tarafından güvenle intrakranial patolojilerin tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda metastatik lezyonlarda %85–94(3, 4), vestibüler schwannomlarda %89–94(5),

meningiomlarda %89–96(6) tümör kontrol oranları ve 4 cm'den küçük Arteriovenöz Malformasyon (AVM)'larda 2 yıl içerisinde %71–80(7) oranlarında tam kapanma bildirilmiştir.

2.1.Radyoterapinin Temel Prensipleri ve Hücre Düzeyindeki Etkileri:

Radyoterapinin temel fizik prensipleri radyasyonun üretilmesi ve modern radyoterapide kullanılan ışın ve partiküllerin tanımı ile başlar. Bu partiküller foton demetleri (X ışınları, Gamma ışınları) ve enerjik partikül demetleridir (elektron, proton). Gamma ışınları çekirdeğin merkezinden kaynaklanır ve kobalt 60 gibi bir çok radyoisotop tarafından üretilebilir. X ışınları; elektronlar bir alt atomik yörüngeye kaydıkları zaman ya da hızlı hareket eden elektronlar bir hedef ile birleşip hızla yavaşladıkları zaman oluşurlar. Bu hızlı yavaşlama sonucunda elektronlar üzerlerindeki enerjiyi boşaltmak zorundadırlar ve bunu X ışını yayarak gerçekleştirirler. Elektronların değişik düzeylerdeki enerji miktarları, birleştikleri maddelerin özellikleri ve birleşme koşulları bir bütün olarak oluşan X ışınlarının karakteristiklerini belirlemede önemlidir. Çoğu modern radyoterapi cihazı 6-25 Mega elektron volt (MeV) arası değişen fotonları kullanır. Beyin tümörlerinde kullanılan en sık dalga boyu 4 ila 6 MeV arasındadır.

Foton demetlerinden farklı olarak partikül demetleri bilinen kütle ve enerjiye sahip hızlı hareket eden maddelerden oluşurlar. Partikül demetlerinin malignite tedavisinde kullanılabilirliği doku içerisinde dağılım miktar ve hızları ile sınırlıdır. Altı ile 25 MeV aralığında bulunan elektronlar (genellikle terapi için seçilen) cilde temas ettikten sonra 3-12.5 cm derinliğe kadar ulaşabilirler. Protonlar için aralık daha sınırlıdır. Karakteristik olarak Bragg noktası ki protonların enerjilerini bırakabildikleri dar aralığı belirtmektedir, beyin tümörlerinde proton demetlerinin kullanılabilirliğinin çıkış noktasını oluşturur.

2.2.Radyasyonun Etkileşimleri:

Radyasyon demetlerinin doku ile etkileşimini ışının türü, taşıdığı enerji miktarı, atom sayısı ve demetin etkileşime girdiği dokunun yoğunluğu belirler. Fotoelektrik etkisi fotonun enerjisinin tümünü bir iç tabakadaki elektronlara aktarabilmesi olarak tanımlanır. Bütün enerji transfer edildiğinden foton ortadan kalkar ve kalan enerji iç tabakadan bir elektronu bağlanma enerjisini açığa çıkartıp hareket ettirerek iç katmanda bir boşluk oluşturur ve elektrona enerji kazandırılmış olur. İç katmanda oluşan boşluğu dış katmandan bir elektron gelerek doldurur ise klasik olarak bildiğimiz X ışını serbest kalmış olur. Fotoelektrik etki en çok düşük enerjilerde önemlidir ve fotoelektrik etkinin etkileşime geçme ihtimali hedef dokunun içerdiği atom sayısı ve bunun foton enerjisi ile bölünmesi ile orantılıdır.

Klasik çift üreten etkileşim 1.02 MeV'dan daha yüksek enerji taşıyan fotonlar ile olur. Bu yüksek enerjili fotonlar hedef atomun çekirdeğine ulaştıkları zaman 2 adet zıt yüklü partiküllere dönüşürler (elektron ve pozitron). Fotonun taşıdığı 1.02 MeV'tan büyük olan tüm enerji (partikül oluşturma enerjisi) yeni oluşturulan iki partikül arasında paylaşılır ve partikül kinetik enerjisi ortaya çıkar. Pozitronun takiben elektron ile birleşmesi birbirlerini imha ederek daha düşük enerjili fotonların (0.511 MeV) ortaya çıkmasına sebep olur. Çift üreten etkileşimin gerçekleşme ihtimali hedef maddenin atom sayısı ve başlangıç foton enerji miktarı ile orantılıdır.

Fotonlar ile maddenin etkileşiminin en son türü Compton etkisidir. Bu etkileşimde gelen foton yörüngeye gevşek bağlı olan elektrona çarparak onu yörüngeden ayırır ve enerjisinin bir bölümünü dağılmış Compton elektronu olarak açığa çıkartır. Diğer iki foton etkileşiminden farklı olarak başarılı bir Compton etkileşiminin ihtimali atom sayısından bağımsız ancak elektron yoğunluğu ile bağımlıdır. Compton etkisi fotonların terapötik etkisindeki dominant faktördür.

2.3.Radyasyonun Biyolojik Etkileri:

Yukarıda açıklanan tüm bu etkileşimlerin sonucunda serbest kalmış, çiftlenmemiş bir elektron açığa çıkar ve bu radyasyonun tüm etkilerinden sorumludur. Radyasyon biyolojik olarak etken olan DNA gibi bir molekül ile karşılaştığı zaman, iyonizasyona sekonder gelişen instabilite moleküle zarar verir. Molekülün DNA olduğu durumlarda, bu hasar genellikle tek bağ ya da çift bağ kırılmasına ve çift sarmal yapısının bozulmasına sebep olur. Buna radyasyonun direkt etkisi denir. Radyasyon eğer DNA'nın direk kendisi ile değil çevre dokusundaki etkileşimde olduğu atomlar ile(örneğin su) etkileşime girerse, iyonize su molekülleri DNA yapısında aynı şekilde bağlarda kırılmaya sebep olabilir. Bu durumda radyasyon aracı bir molekül üzerinden etkisini göstermiş olur. Buna da radyasyonun indirekt etkisi denir.

Ağır partikül etkisi gösteren türde radyasyon, geçtiği tüm dokularda yoğun iyonize yolaklar oluştururlar. Bu yüksek iyonize etme potansiyeli olan radyasyon, üzerindeki yüksek enerjiyi dokulara transfer edebilme özelliğine sahiptir ve bu sebeple yüksek lineer enerji transfer demetleri olarak adlandırılır. Aktarılan enerjinin miktarı partikülün hızı ile ters orantılıdır, hızlı hareket eden partiküller dokuya daha az enerji aktarabilirler. Partiküller doku ile etkileşime girdikçe ve enerjilerini bıraktıkça yavaşlarlar ve sonuç olarak tüm enerjilerini dokuya kısa mesafede bıraktıkları bir noktaya gelirler. Bu etki proton ve diğer partiküller tarafından oluşturulan Bragg noktasından sorumludur. Bu Bragg noktası spesifik ve hesaplanabilir bir derinlikte olduğundan dolayı kritik normal yapıların çok yakınındaki lezyonlarda bu tür terapötik yollar kullanılabilir. Bir çok uygulamada Bragg noktasının çok dar bir alanda yer alıyor olması tedavi planlamasını sınırlandırmaktadır. Bragg noktasını genişletebilmek için çalışmalar yapılmakta, ancak proton tedavisi çok az merkezde yapılabildiğinden bu metodun uygun kullanılabilirliği daha net değildir.

2.4.Stereotaktik Radyocerrahi:

Stereotaktik radyocerrahi uygun lezyonlarda cerrahiye alternatif olarak günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulanmasındaki amaç

cerrahiden total tümör çıkartımı sağlanmadığından farklıdır. Hedef hemen ortadan kaldırılmamakta, yüksek doz radyasyona maruz bırakılan hedefte muhtemel toksik bir radyobiyojik yanıt oluşturularak tedavi sağlanmaktadır. Stereotaktik cerrahide kullanılan prensiplerin aynısı radyocerrahi için de geçerli olup en önemli amaç nörolojik fonksiyonu koruyup lezyon progresyonunu engellemektir. Intrakranial tümörler ile vasküler malformasyonlar radyocerrahinin ana endikasyonlarını oluştururlar.

2.4.1.Radyocerrahinin tedavi stratejisindeki rolü:

2.4.1.1.Primer Radyocerrahi:

Radyocerrahi intrakranial kitlelerin tedavisinde primer ya da adjuvant tedavi olarak kullanılabilir. Özellikle kafa tabanı yerleşimli kitlelerde primer tedavi seçeneğini oluşturmakla birlikte nüks olgularda adjuvan tedavi olarak algoritmalarda mikrocerrahiye alternatif olarak yerini almıştır. Bir çok kafa tabanı yerleşimli kitle hastalarda ek nörolojik defisite sebep olmadan cerrahi olarak tamamen eksize edilememektedir. Benzer şekilde derin yerleşimli metastatik lezyonların cerrahi ile rezeksiyonları ek nörolojik defisit geliştirme riskini her zaman taşımaktadır. Nöro-görüntüleme teknikleri ile tanı konulan bir çok kafa tabanı yerleşimli kitlede radyocerrahi güvenle uygulanabilmektedir.

AVM'lerin tedavisinde de radyocerrahi etkin ve güvenli bir şekilde kullanılmaktadır. Bir AVM'ye radyocerrahi uygulanmasını takiben ateroskleroz modelinde görülen hasara yanıt reaksiyonuna benzer bir patolojik kaskad indüklenir. Vasküler endotele radyasyon uygulanmasını takiben düz kas proliferasyonu indüklenir, bu da progresif bir stenoz ve AVM nidusunun obliterasyonuna sebep olur(8-11).

AVM tedavisinde radyocerrahinin avantajları mikrocerrahi ve endovasküler tedaviler ile karşılaştırıldığında non-invazif olması, akut komplikasyon riskinin düşük olması ve tek günlük ayaktan bir tedavi olarak uygulanabilip nekahat dönemi gerektirmemesi olarak sıralanabilir. Primer dezavantajı şifanın hemen gerçekleşmemesidir. Lezyondaki tromboz olguların çoğunda gerçekleşmesine rağmen 2 ya da 3 seneden önce sonuca

ulaşılamamaktadır. Tedavi ile total tromboz arasında geçen süre içinde kanama riski devam etmektedir. Diğer bir potansiyel dezavantajı ise uzun dönem radyasyonun yan etkileridir.

2.4.1.2. Adjuvan Radyocerrahi:

Radyocerrahi malign gliyal tümörlerin tedavisinde adjuvant tedavi olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda total rezekte edilemeyen benign lezyonların tamamlayıcı tedavisi olarak da etkilidir. Planlanmış 2 basamaklı tedavi rezidü lezyonların kontrolünde ve nörolojik fonksiyonların korunmasında önemli bir stratejidir. Rekürren malign gliyal tümörlerin tedavisinde ise radyocerrahi konvansiyonel geniş sınırlı fraksiyone radyoterapiye ilaveten boost irradiyasyon olarak kullanılmaktadır. Rekürren malign gliyal tümörlerdeki etkinliğinden dolayı yeni tanı konulmuş seçilmiş olgularda uygulanabilmektedir(12).

2.5.Gamma Knife Radyocerrahi:

2.5.1.Teknolojinin Gelişimi:

Stereotaktik radyocerrahi; non-invazif, titizlikle hatasız hesaplanmış iyonize radyasyon demetlerinin hedefe yönlendirilebildiği, intrakranial neoplazmlar, vasküler malformasyonlar ve fonksiyonel bozukluklarda kullanılan bir tedavi yöntemidir. 1906 yılında Horsley ve Clarke stereotaktik lokalizasyon belirleyebilmek için kafatasına yerleştirilen bir çerçeveye anatomik koordinatların tanıtılabildiği bir yöntem geliştirdiler. 1951 yılında Leksell stereotaksi tekniğini rehber bir alet kullanarak radyoterapötik bir modalite ile birleştirerek buna stereotaktik radyocerrahi adını verdi ve tekniğin kullanımı başladı (1). Leksell ve Larsson 1967 yılında ilk Gamma Knife stereotaktik radyocerrahi ünitesini Sofiaehmnet – Stokholmda açtılar(2, 13). Leksell'in Gamma Knife Radyocerrahi üzerine ilk bildirisi 2 hastada dirençli ağrı tedavisinde 'Gammathalamotomi'nin tanımlanması üzerine iken, ilk tedavi

edilen hasta 1967'de bir kraniyofarengiom olgusudur(2). İlk prototip 179 adet kobalt 60 kaynağı içermekteydi ve genellikle fonksiyonel prosedürler için dizayn edilmişti. Doz profili yarı küreselden çok daha ince bir yapıya sahipti. Özellikle 1975'in başından itibaren Karolinska Enstitüsü'nde yoğunlukla kullanılan ikinci nesil Gamma Knife ünitesi vasküler malformasyonlar ve intrakranial tümörlerin tedavisi için dizayn edilmişti. Yuvarlak kolimatörlerin (4, 8 ve 14mm) yarık şeklindekilerin yerine kullanılmaya başlanması, doz profilinin daha küresel bir yapı almasını ve kitleler için daha uygun tedavi verilebilmesini sağladı.

2.5.2. Temel Ünite Dizaynı:

45 yıllık Gamma Knife radyocerrahi deneyimine rağmen temel ünite dizaynı nerdeyse hiç değişmeden (201 farklı kobalt 60 kaynağının tek bir noktaya odaklanması) korundu. Kaynaktan hedef dokuya olan uzaklık 40.3 cm ve kobalt kaynaklar santral gövdeye yerleşmiş durumdadır. Mevcut 3 modelden U tipi olan hemisferik olarak ışın gönderirken B ve C tipleri dairesel olarak çalışırlar. İki farklı dizayn arasında oluşturulan doz profilleri değişiklik gösterir. Hemisferik düzende doz profili daha çok süperior – inferior dağılım gösterirken, dairesel düzende daha çok sağ – sol uzanım görülür ve sellar ve parasellar bölge yerleşimli lezyonlarda daha güvenli tedavi profili imkanı sağlanmış olur. Multikolimatör sistem dizaynı her lezyona uygun tedaviyi planlamakta oldukça önemli bir adımı oluşturur. En son kullanılan 4 boy kolimatör (4,8,14 ve 18) değişebilir olup lezyonun boyut ve yerleşimine göre seçim yapılır.

2.5.3. Radyocerrahi Tekniği:

Kullanılan teknik bütün Leksell üniteleri için aynıdır(14, 15). Lokal anestetik uygulanmasını takiben hastanın kafasına Leksell çerçeveyi sabitlemek için vida ile fiksasyon kullanılır. Bu stereotaksi sistemi 3 planda değerleri $x = 100$, $y = 100$ ve $z = 100$ olan bir çerçevenin merkezine göre dizayn edilmiştir. İdeal olan tedavi protokolünde lezyonun mümkün olduğu kadar 3 boyutlu planda çerçevenin merkezine yerleştirmek amaçlanır. Çerçevenin uygulanmasını

takiben tekrar görüntüleme alınarak tedavi planlaması yapılır. Leksell Gamma Plan günümüzde kullanılmakta olan tedavi planlama programıdır. Tedavi planı oluşturulduktan sonra çerçeve üzerindeki koordinatlar ayarlanır. Önce y (anterior – posterior) ve z (inferior – süperior) koordinatları belirlenir. Daha sonra hasta kullanılacak kollimatöre miller yardımıyla sabitlenir. En son kolimatör ile hastanın kafasındaki çerçeveyi bağlayan millerdeki x (sağ – sol) koordinatları da ayarlanıp kontrol edilir ve hastanın tedavisine başlanır. Tedavi tamamlandıktan sonra hasta dışarı alınırken kobalt kaynağı ile hastanın ilişkisi kesilir.

2.5.4. Tedavi Planlaması:

Leksell tarafından belirtildiği gibi Radyocerrahi ince planlanmış ve kesin olarak hedeflenen patolojik olan ya da olmayan dokunun harap edilmesidir(16). Tamamen destrüksiyon uygun bir şekilde fonksiyonel parenkimal nöroşirurjiyi tanımlar. Komşu dokulardaki geç reaksiyonlar minimuma indirgenir. Bu sebeple, gamma plan içerisindeki hedef dokuda hasarı sınırlandırmak tedavinin amacıdır. Keskin sınırlarla belirlenmiş bir tedavi planı hedef ile mükemmel uyum gösterirken çevre doku etkilenmeden korunmaya çalışılır. Bu planlamadaki incelik MR ve Anjiyografik incelemeler kullanılarak sağlanmaya çalışılır. Görüntüleme aksaklıklar planlamanın kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir.

Düzgün kenarlı olmayan lezyonlarda uygun planlamayı yapabilmeye en önemli yardımcı değişik boyutlardaki kollimatörlerin kullanılabilmesidir. Bu izosenter sayılarını değiştirmekte yardımcı olurken ikinci olarak izosenterlardaki dağılım miktarı değiştirilebilir ve son olarak optik kiazma gibi önemli alan komşuluklarında blokla kullanılarak hayati yapılar korunmuş olur.

Gamma Plan yazılımında aksial alınan görüntülerden koronal ve sagittal rekonstrüksiyonlar oluşturduğu için sadece yüksek çözünürlüklü, ince kesitli MR ham verisi kullanılır. Alınan veriler yazılım programında işlenerek ve rekonstrükte edilerek uygun tedavi planlaması gerçekleştirilir.

Vasküler malformasyonların planlaması sırasında yüksek rezolüsyonlu MR görüntüleri ve substraksiyon anjiyografi görüntüleri birleştirilerek kullanılır.

2.5.5. Doz Belirlenmesi:

Konvansiyonel radyoterapide geçerli olan doz – cevap eğrisi ve buna bağlı olarak ortaya çıkması muhtemel olan komplikasyonların ihtimali radyocerrahi için de geçerlidir. Progrese olması durumunda mortalite ile sonuçlanma ihtimali olan lezyonlarda (malign glial tümörlerde) komplikasyon gelişme ihtimalinin yüksek olması ve hastada geçici bir nörolojik kötüleşme de göz önünde bulundurularak yüksek dozlarda tedavi planlaması uygulanır.

Özellikle radyocerrahide komplikasyon görülme ihtimalini dozun uygulandığı hacim konvansiyonel radyoterapide olduğundan daha fazla etkiler. Bu yüzden ayrı komplikasyon ve volüm eğrileri oluşturulmasına gerek vardır.

En son kullanılan radyocerrahi dozları normal beyin dokusundaki hacim bağımlı projekte edilmiş riskler üzerinden hesaplanır. Doz belirlemek için kullanılan standard algoritmalar Kjellberg'in %1 izoetki çizgileri ve Flickinger'in bundan uyarlanmış lojistik formülleri üzerinden hesaplanır(17-19).

Gamma Radyasyonun dozu Gray(Gy) olarak belirtilir. Dokunun bir kilogramının absorbe ettiği bir joule enerji olarak tanımlanır. Gray hedef dokudan bağımsız olarak hesaplanır. Biyolojik dokuda odak noktadan uzaklaştıkça dokunun absorbe ettiği enerji miktarı azalır. '%50 izodoz XX Gy' genellikle verilen maksimum dozun yarısını ve dokuda yayılan miktarı gösterir.

2.6.Radyotoksisite:

Stereotaktik radyocerrahi; uygulanması sırasında acıya sebep olmayan bir tedavi yöntemi olmakla birlikte konvansiyonel radyoterapi ile benzer olarak çeşitli yan etkileri de bünyesinde barındırmaktadır.

Çevre normal beyin dokusunda meydana getirdiği toksik etkiler 3 ana başlık altında toplanmaktadır. Akut, erken – gecikmiş, uzun dönem radyo-

toksisite(20). Akut toksisite radyoterapi sırasında ya da tedaviden hemen sonra, erken – gecikmiş (sub-akut) toksisite tedaviden sonraki 12 hafta içinde ve uzun dönem (gecikmiş) toksisite tedaviden 3 ay ya da yıllar sonra görülen etkilerden oluşmaktadır(21). Gecikmiş radyasyon nörotoksisitesinin radyasyon nekrozu, radyasyon lökoensefalopati, radyasyon myelopati ve periferik sinirlerde pleksus ve sinir kökü lezyonları gibi bir çok çeşidi görülmektedir(22, 23). 1930 yılında Fisher ve Holfelder bazal hücreli karsinom hastasında radyoterapiye sekonder görülen ilk radyasyon nekrozu olgusunu skalpte tanımlamışlardır(24). 1950 yılında Lowenberg-Scharenberg X ışını irradiasyonunu takiben serebral parenkimde görülen amiloid dejenerasyonunun patolojisini tanımlamışlardır(25). Bu ilk dökümanları takiben yapılan bir çok çalışma, vaka serileri ve derlemeler radyasyon nekrozunu, SSS'nin ışınlanması geç dönem komplikasyonu olarak tanımlamıştır(26-31). Benzer etkiler paranazal sinüsler, nazofarenks, orta kulak, parotis bezi ve tükrük bezleri gibi komşu yapıların terapötik amaçlı ışınlanmasını takiben yanlılıkla tedavi alanı içerisinde kalan nöral dokularda da görülmüştür(32, 33).

Radyasyon nekrozunun gerçekte görülme oranları tedavi modalitesine, verilen doza, hastanın klinik olarak nöro-görüntüleme teknikleri ile takipte kaldığı zamana, kullanılan değerlendirme kriterleriyle belirti ve bulgulara bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte, %5-50 arasında görülme sıklığı bildirilmiştir (20). Kramer ve arkadaşları(12) literatürü tarayarak kesin bir rakam ortaya çıkarmaya çalışmışlar ancak tedavi alan tüm popülasyona ulaşma imkanları olmadığından dolayı bir sonuca varamamışlardır. Bir çok faktör radyasyon nekrozunun gerçek oranlarını ortaya çıkartabilmeyi zorlaştırmaktadır. Bunlar; uygulanan radyoterapinin değişik modaliteleri, yayınlanan serilerin genellikle Sınıf III kanıtlardan oluşması, tüm çalışmalarda histopatolojik doğrulamanın yapılamamış olması, uygulanan radyoterapi parametrelerinin(doz, fraksiyonizasyon şemaları, tedavi sayısı, alan hesaplamaları ve doz uygulanan hacim) farklılık göstermesidir(29). Ek olarak yapılan çalışmaların çoğunluğunun modern nöro-görüntüleme tekniklerinin kullanımından önce yapılmış olmasına bağlı olarak radyasyon

parametrelerinin doğru hesaplanamaması(29, 34, 35) uygulanan adjuvan kemoterapi verilerin analiz edilmesini daha da zorlaştırmaktadır. Ayrıca teşhis konulan ve tedavi uygulanan hastalar risk altında olup klinik olarak düzelme gösterenleri kapsamadığından dolayı gerçek oranları göstermemekle birlikte riski de olduğundan düşük olarak tespit etmektedir.

Radyasyona bağlı akut toksisite, tedavi sırasında ya da tedaviden hemen sonra görülür ve çoğunlukla steroid tedavisine iyi cevap veren ya da spontan düzelme gösteren geçici bir durumdur. Geçici bir nörolojik kötüleşmeye sebep olabilir ve genellikle baş dönmesi ve baş ağrısı yakınmalarıyla karşımıza çıkar.

Erken – gecikmiş toksisite akut toksisite gibi geçici bir klinik tablodur. Genellikle tedaviden sonraki ilk birkaç hafta içerisinde gelişir ve haftalar içerisinde spontan çözülme görülür. Görüntüleme tetkikleri ile tespit edilebilir değişiklikler vardır (BT'de hipodens, T2 ağırlıklı MR incelemelerinde hiperintens alanlar). En önemli ayırıcı tanıyı tümör progresyonu oluşturur.

Uzun dönem radyotoksisite ya da diğer bir deyişle radyasyon nekrozu beyin tümörlerinin tedavisinde belki de en çok korkulan yan etki olarak genellikle tedaviden aylar sonra görülür ancak bir kaç yıl sonra bildirilen olgular da bulunmaktadır (21, 36).

2.6.1.Radyasyon Nekrozunun Patobiyolojisi

Radyasyon nekrozu çok düşük dozlarda bile görülebilmekle birlikte alınan doz ile nekroz gelişme ihtimali doğru orantılıdır (37). Tedaviden sonraki 3 ay ile 10 yıl arasında görülebilmekle birlikte en sık tedaviden sonraki ilk 2 yıl içerisinde rastlanır. Fraksiyone tedavinin uygulandığı olgularda daha yüksek uygulanabilen doza ikincil nekroz görülme ihtimali daha da artmaktadır(38). Eş zamanlı uygulanan kemoterapi protokolleri de radyasyonun etkilerini potansiyalize etmektedir(39).

Radyasyon nekrozunun patolojisini açıklamak için 2 model üzerinde durulmaktadır: Vasküler hasar teorisi ve glial hasar teorisi. Her biri tek başına oluşan değişiklikleri açıklamakta yeterli olmadığından ikisinin birlikte ve

birbirlerinin etkilerini potansiyalize ederek nekroza yol açtığı kabul edilmektedir(29).

2.6.1.1.Vasküler Hasar Teorisi:

Klinik açıdan uygun dozda uygulanan radyoterapi sonrası kan beyin bariyerinde gelişen hasar erken ve uzun dönemde vasküler ve bazal membran geçirgenliğini arttırmaktadır(40, 41). Endotel hücre hasarı sellüler asit sfingomyelinaz bağımlı apoptoz ile birlikte gecikmiş dönemde önemli rol oynarlar(42). Bu apoptoz serbest oksijen radikalleri(43), sitokin üretimi(44), vasküler endotel büyüme faktörü(VEGF) upregülasyon ve over ekspresyonunu(45) ve hücreler arası adhezyon moleküllerinin(ICAM-1) over ekspresyonunu(46) tetikleyen kaskadları aktive eder. Endotel hücre hasarı takiben inflamatuvar mediatörlerin; nötrofil ve fibroblast kemotaktik faktörlerin, düz kas ve endotel mitojenlerinin ve histamin ve serotonin gibi vazoaaktif aminlerin salınımı gerçekleşir(47). Endotel hücre şişmesi ve nekrozunu endotel hücrelerin disfonksiyone proliferasyonu takip eder ve bu durum Kan – Beyin – Bariyerinin daha da bozulmasına, vazojenik ödem miktarında artışa, perivasküler inflamatuvar ürünlerin serbestleşmesine, trombosit ve fibrin trombus oluşumuna, düz kas proliferasyonu ve fibroblast infiltrasyonuna yol açar(48). Takip eden vasküler daralma ve tıkanma, damar duvarlarındaki fibrinoid nekroz, iskemi, ödem ve komşu hücre ölümleri radyasyon nekrozunda görülen belirti ve bulguların gelişmesinden sorumludurlar(49). Sık görülen bulgular lezyonun yeri ile de ilişkili olarak kafa içi basınç artışına bağlı olarak baş ağrısı, nöbet, yorgunluk ve bilinç bulanıklığıdır(50).

2.6.1.2.Glial Hasar Teorisi:

Radyasyon aynı zamanda astrosit, oligodendrosit ve oligodendrosit öncül hücrelerine de zarar verir. Radyoterapiyi takiben geç dönemde görülen vazojenik ödem ve hipoksi, Hipoksi indüklenebilir faktör 1 α (HIF - 1 α) ve VEGF upregülasyon ve salınımını artırır (45). Nekroz merkezi ve lezyon çevresindeki astrositlerin HIF - 1 α upregüle etmesi VEGF üretimini tetikler (51). VEGF ICAM - 1'i indükleyerek inflamatuvar cevabı kuvvetlendirir.

VEGF'ün iki önemli özelliği vardır; potent bir anjiojenik peptit ve dinamik bir vasküler geçirgenlik faktörü. İlk özelliği patolojik anjiojenezden sorumlu olmasına sebep olurken ikinci özelliği görüntüleme tetkiklerinde izlenebilen ödem ve artmış kontrastlanma patterninden sorumludur.

Olgun oligodendrositlerin ve bunların öncül hücrelerinin kaybına ikincil miyelin kaybı ve demiyelinizasyon görülür(52). Bu mediyatörler kısır bir döngüyü sürdürerek radyasyon nekrozunun uzun dönem klinik ve radyolojik bulgularını oluştururlar.

2.6.2.Radyasyon Nekrozunun Belirteçleri:

Hastaların radyoterapiye verdikleri cevaplar oldukça farklılık gösterebilir. Bazıları aldıkları tedaviye ikincil ciddi yan etkiler geliştirirken; benzer patoloji için, benzer lokalizasyonda aynı doz ve uygulama yöntemi sonucunda kimi hastalarda hiç yan etki görülmeyebilir. Yan etki şiddetinin bu kadar farklı olması, uygulanan total dozun belirlenebilmesi ve kestirilen başarı oranlarının değişmesine sebep olmaktadır. Bu değişikliklerin tam olarak mekanizması bilinmemekle birlikte bazı yazarlar doku hipersensitivitesinin genetik yapıya bağlı değişiklik göstermesini sebep olarak düşünmüşlerdir(53). Yapılan çalışmalarda hipertansiyon ve diyabetin doku sensitivitesinde etkisi gösterilmeye çalışılmış ancak gruplar arasında bir fark bulunamamıştır(54, 55).

Son 20 yılda bir çok araştırmacı dokunun radyoterapiye gerçekte gösterdiği hipersensitiviteyi *in vitro* normal ve tümoral dokular üzerinde yapılan çalışmalarda göstermeyi ve bir çıkarım yapabilmeyi denemişlerdir(56). Mutasyonların dokunun radyosensitivitesini etkilediğine dair erken sonuçlar DNA tamir genlerinde mutasyona sahip olduğu bilinen ataksi telenjektazi(AT), Fanconi anemisi(FA), Bloom sendromu ve Nijmegen kırılma sendromu gibi bazı hastalıklarda radyoterapiye karşı görülen aşırı hipersensitivite ile gösterilmiştir(57, 58). Ataksi telenjektazi mutasyonlu(ATM) proteininin DNA hasarını tespit ve tamirinde önemli bir rolü olduğu gösterilmiş ve AT hastalığında bunun radyasyona aşırı hassas bir alt grup oluşturduğu tespit edilmiştir(59). İlaveten artmış radyasyon duyarlılığı, meme kanseri

sebebiyle radyoterapi almış ve hayatta olan akrabalar arasında da gösterilmiş ve muhtemel bir genetik altyapının olduğu öne sürülmüştür(60). Loeffler(61), Burnet(62), Brock(63) ve Johansen(64) tarafından yapılan bir çok takip eden çalışmada *in vitro* radyosensitivite ile klinik gidiş arasında muhtemel bir korrelasyon olduğu gösterilmiş ancak bu bilgi Peacock ve arkadaşları tarafından yapılan daha geniş bir çalışmada teyit edilememiştir (65). İlaveten bir çok *in vitro* ve moleküler çalışma radyoterapiyi takiben sonucu tahmin etmeye ve tedaviyi yönlendirmeye yönelik çıkarımda bulunmayı denemiş ancak sensitivite ve spesifitesinin yeterli olmaması, teknik güçlükler, çoğaltılan hücrelerin karakteristiklerinin yetersiz olması ve normal dokunun radyobiyojisinin karmaşık olması üzerine başarısız olmuştur(66).

FA ve AT gibi kalıtımlanmış hastalıklar ve belirtilen gen mutasyonları toplumda oldukça nadir görülmektedir(67, 68). Moleküler biyolojideki gelişmeler bir çok araştırmacıyı genetik özellikleri radyasyon nekrozu için risk oluşturan hastaları tespit etmeye yönlendirmiştir. Buna dayanarak araştırmacılar ilgilerini radyoterapiye cevabı belirleyen ve etkileyen protein ve genlerdeki değişikliklere yöneltmişlerdir. Genetik değişiklikler bilindiği üzere sadece mutasyonlar ve delesyonlar ile sınırlı değildir. Özellikle single nükleotid polimorfizmi(SNP) bireyler arasında oldukça farklılıklar yaratmaktadır. SNP analizi lökosit DNA larının çalışılması ile gerçekleştirilebilen bir tekniktir. SNPler bireyler arasında görülen radyosensitivite farklılıklarının %90'ını oluşturmakta ve günümüzde radyasyon biyolojisinin ana ilgi alanını oluşturmaktadır(53). Radyogenomiks bu alanın yeni adıdır ve birlikte radyasyon toksisitesini belirleyen bireysel farklılıklar üzerinde çalışmalar sürmektedir(69, 70).

Proteomiks (eksprese edilen proteinlerin fonksiyonları üzerinde çalışma)ise hastalığın teşhisi ve prognozu belirleyen faktörleri etkileyen biyolojik belirteçler üzerine yapılan çalışmaları kapsar(71). Son 20 yıl dokunun radyoterapiye vereceği cevabı etkileyecek biomarkerları ortaya koymaya yönelik çalışmalar ile geçirdi. Önümüzdeki günlerde dokunun radyasyon nekrozu riskini ortaya koyabilecek klinik olarak anlamlı

biyomarkerların genetik ya da protein çalışmaları sonucunda açığa çıkarılabileceği tahmin edilmektedir.

2.6.3.Tedavi modalitesine göre doğal seyir:

Stereotaktik Radyocerrahi (SRC) yüksek derecede özellikli, non-invazif tek seansta gerekli dozu intrakranial patolojiye yönlendirebilen bir radyoterapi modalitesidir(72, 73). SRC'yi tek başına ve Tüm Beyin Radyoterapi (TBRT) ile birlikte kullanan kliniklerin dahil edildiği bir çok randomize ve çok merkezli çalışmalar göstermiştir ki SRS benign ya da malign intrakranial patolojilerin tedavisinde etkilidir(74-77). SRC sistemleri LINAC tabanlı sistemler (Novalis Tx® [Brainlab, Feldkirchen, Germany], Cyberknife® [Accuray, Sunnyvale, CA, USA]) ve LINAC tabanlı olmayan sistemler (Leksell Gammaknife® [Elekta, Stockholm, Sweden]) olarak ikiye ayrılır.

SRC benign ve malign bir çok patolojinin tedavisinde etkili bir şekilde kullanılırken aynı zamanda da ciddi yan etkileri de barındırır. Uzun dönem radyotoksiste en sık görülen primer yan etkiyi oluşturur(78). Radyasyon nekrozu en sık tedaviyi takiben 3 ay ile yıllar içerisinde kontrastlanma patterninde artış, perilezyonel ödem ve tümör progresyonunu andıran lezyon şeklinde ortaya çıkar. Nekroz alanında genişleme görüldükçe hastada nörolojik bulgular da gelişmeye başlar(79). SRC'ye ikincil görülen radyasyon nekrozunun oranı tümör marjinine 16 ila 22 Gy arası tedavi dozu uygulanan hastalarda %50'ye varan oranlarda bildirilmiştir(80-82). Bir çok risk faktörü radyasyon nekrozu gelişimini kolaylaştırmaktadır. Bunlar; tedavi uygulanan lezyonun büyüklüğü, marjine verilen maksimum doz miktarı, ve ışına maruz kalan normal beyin dokusunun hacmidir(83). İlaveten diabetes, iskemi, ilerlemiş yaş ve eş zamanlı kemoterapinin de radyasyon nekrozu gelişme ihtimalini arttırdığı gösterilmiştir.

Minniti ve arkadaşları beyin tümörü sebebiyle SRC uyguladıkları hastaları 3.5 yıl takip etmişlerdir(84). Takip edilen 206 hastanın (310 lezyonunun) çapı 3.5 cm'den küçük olup bu grupta radyasyon nekrozu oranı %24 olarak bildirilmiştir. Radyasyon nekrozu gelişmesinde en önemli bağımsız değişken 10 ve 12 Gy ve üstünde doz alan hacim miktarı olarak

tespit edilmiştir. Blonigen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 63 hastanın toplam 173 metastatik lezyonuna yönelik SRC uygulanmış ve 14.5 cm³'ten daha geniş alana 10Gy ve 10.8 cm³'ten daha geniş alana 12 Gy doz alan hastalarda radyasyon nekrozu oranları toplam %68.8 olarak bildirilmiştir(82). Flickinger ve arkadaşları AVM için SRC uyguladıkları hastalarında radyasyon nekrozu oranını %30.5 olarak bildirmişlerdir(80). İncelenen 307 hastada yapılan çok değişkenli analiz sonucunda 12 Gy ve üstünde doz uygulanan alan ve AVM'nin yeri radyasyon nekrozu gelişiminde en etkili bağımsız değişkenler olarak tespit edilmiştir.

2.7.Tanı Konulması:

Radyasyon nekrozunun tanısının konulabilmesindeki en büyük zorluk hem radyolojik olarak hem de nörolojik etkileri olarak tümör progresyonu ile radyasyon nekrozunun birbirine çok benzemesidir. Tedavileri ise tamamen farklı olan bu iki durumdan tümör progresyonunda ilerlemeyi radikal bir şekilde durdurmak önem teşkil ederken radyasyon nekrozunda daha benign bir takip ve tedavi planı uygulanabilir.

2.7.1.Klinik Özellikleri:

RN görülen hastalarda kafa içi basıncı artışına ikincil görülen baş ağrısı, bilinç bulanıklıkları, nöbet ve yeni gelişen fokal nörolojik defisitler izlenebilir. Yeni gelişen nörolojik defisitler kitlenin yeri, büyüklüğü, peri lezyonel ödem miktarı ve kitle etkisine göre değişiklik gösterir(31). Bilişsel disfonksiyonlar radyasyon hasarında sıklıkla görülen bir durumdur. Özellikle kişilik değişiklikleri, yorgunluk, hafıza kayıpları ve konsantrasyon eksikliği ile birlikte görülür(21).

2.7.2.Görüntüleme Karakteristikleri:

Birçok görüntüleme tekniği RN ile tümör progresyonu ayırıcı tanısında kullanılmaktadır. Ancak konvansiyonel görüntüleme teknikleri(BT, MR) nadiren radyasyon nekrozu ile tümör arasında ayırım yapabilmektedir. Her iki

lezyon türü de kontrastsız BT ve MR incelemelerinde tipik olarak beyin dokusuna göre hipo ya da izodens-intens, solid nadiren de kistik görünümde olmaktadır(85). Kontrast uygulanmasını takiben solid komponentte tutulum görülmektedir. Lezyon çevresinde ödem ve belki kitle etkisi görülmektedir(86). Her ne kadar BT iki lezyon arasında ayırım yapacak bilgileri veremese de bir çok merkezde bulunması ve kısa zamanda hidrosefali ile kanamanın ayırımını yapabilmesi nedeniyle kullanılabilir(87).

Konvansiyonel kontrastlı MR incelemesinde RN ve tümör rekürrensi benzer özellikler gösterirler(88, 89). Kumar ve arkadaşları konvansiyonel MR görüntülerinde radyasyon nekrozunu tümör rekürrensinden ayırt etmekte önemli ilave özellikler tanımladılar. Eğer daha önceki incelemelerde kontrastlanmayan bir lezyonda yeni kontrast tutulumu görülmeye başlanmış ise; radyoterapi alanı içerisinde kalan ve lezyonun distalinde yeni bir kontrastlanma görülüyor ise ve periventriküler alanda beyaz cevher dejenerasyonu ve İsviçre Peyniri ya da sabun köpüğü patterni izleniyorsa radyasyon nekrozu olma ihtimali daha yüksektir(90). Bazı hastalarda direk tanı koydurabilecek diğer bir yardımcı bilgi ise radyoterapi almış glial tümör hastalarında korpus kallosumdan karşıya geçiş (kelebek görüntüsü) var ise muhtemelen tümör rekürrensi ile karşı karşıya olduğumuzdur. Çünkü radyasyon nekrozu daha fokal olma eğilimindedir ve çok nadiren orta hattan karşıya geçiş gösterir(91). Dequesada ve arkadaşları radyasyon nekrozu ile rekürren intrakranial metastazların ayırımı için 'lezyon katsayısı' nı geliştirdiler(92). Lezyon katsayısı; lezyonun T2 sekanstaki toplam alanının kontrastlı T1 sekanstaki toplam alanına oranı olarak tanımlanır. 0.6'ya eşit ya da büyük olan oranlar tümör rekürrensi ile uyumlu olarak değerlendirilirken 0.3 ve daha küçük oranlar radyasyon nekrozu ile uyumludur(92). Bu iki oranın arasında lezyona sahip olan hastalar hem radyasyon nekrozu hem de tümör rekürrensine sahip olarak değerlendirilir. Ancak konvansiyonel MR inceleme teknikleri ile iki lezyon arasındaki ayırımı daha kolay yapabilmeye yönelik çalışmalara ihtiyaç hala devam etmektedir.

Bir çok ilave teknik; Manyetik Rezonans Spectroscopy(MRS), MR diffüzyon-ağırlıklı inceleme(DWI), diffüzyon tensor inceleme(DTI) ve

perfüzyon teknikleri, pozitron emisyon tomografi(PET), ve thalyum single foton emisyon bilgisayarlı tomografi(SPECT) radyasyon nekrozunu değerlendirmek ve fizyolojik ya da metabolik bilgi sağlaması açısından kullanılmaktadır.

2.7.3.Patolojik Bulgular:

Tanı konulmasındaki altın standart histopatolojik incelemedir. Makroskopik olarak radyasyon nekrozunun olduğu alan daha sert bir alan ya da yumuşak–kistik bir lezyon olarak görülür. Nekrotik merkez sarı – kahverengi, kanama, gliosis ve atrofik alanlar içerir(93). Glial tümör hastalarında rastlanan radyasyon nekrozu mikroskobik olarak rezidü/nüks lezyondan hücreler ile karışık bir görünüm sergiler. Bu iki komponentin birbirlerine olan oranlarında radyasyon nekrozuna ait hücre sayısının fazla olması tedaviye cevap olarak değerlendirilir(94).

Mikroskopik olarak beyaz cevherde nekroz, damarlarda fibrinoid nekroz ve oklüzyon, telenjektazi, kalsifikasyonlar ve makrofaj infiltrasyonu görülür(21). Tümör ile karşılaştırıldığında nekrotik alan daha az çekirdek/sitoplazma oranı gösteren hücreler ve daha az mitotik alan içerir(93).

Transforming Growth Factor β (TGF- β) özellikle astrosit ve makrofajlardan salgılanan bir polipeptittir. TGF- β 'nin daha önce yapılan çalışmalarda kanser hücrelerini sınırlayıcı ya da çoğalmasını hızlandırıcı şekilde etki gösterebildiği belirtilmiştir(95). Kanser hücrelerinin hızlı çoğaldığı erken dönemde üremelerini sınırlandırdığı gösterilmiştir(96, 97). Yapılan başka bir çalışmada ise yüksek doz radyasyona maruz kalan sıçan karaciğerinde ekspresyonunun arttığı belirtilmiştir(98). Özellikle Tumor Necrosis Factor alpha(TNF- α) ile birlikte çeşitli dokularda özelliklerine göre diğer sitokinleri de indükleyerek astrosit ve vasküler endotel hücre proliferasyonuna ve dolayısıyla kan beyin bariyeri yıkımına sebep olduğu ve

gliosis, vasküler hasar ve nekroz gelişme sürecinde önemli bir yeri bulunduğu gösterilmiştir(99).

Bromodeoxyuridine(BrdU) bölünen hücrelerin hücre döngüsünün S fazında DNA ile birleşen antiviral ve antineoplastik özellikleri olan bir timidin analogudur. S fazında olan hücreleri değil, DNA sentezini gerçekleştiren hücreleri bize işaretler. Bu sebeple hücre çoğalmasını takip etmek amacıyla kullanılır. BrdU immünohistokimyasal incelemesi insan dahil erişkin memeli beyinlerinde nörojenezi takip etmek amacıyla kullanılmaktadır. Ancak çok da masum olmayan bu bileşiğin hücre ölümünü tetiklemesi, teratom oluşumuna sebep olması, DNA stabilitesini etkilemesi ve hücre siklusunu uzatması gibi etkileri sebebiyle kullanımı oldukça sınırlıdır(100).

2.8.Tedavi Seçenekleri:

Serebral radyasyon nekrozunda spontan gerileme görülebilmesine rağmen çoğu hastada semptomatik tedavi uygulanmasını gerektirebilecek bulgu ve işaretler gelişebilir(101). Bazı hastalarda patolojinin agresifliğinden dolayı cerrahi rezeksiyon gerekebilir(29, 102). Hastaya içerisinde bulunduğu ve tedavi gerektiren durumun ayrıntıları, tedavinin getirebileceği komplikasyonlar ve tedavi seçenekleri, uygulanacak tedavinin süresi ayrıntılı bir biçimde açıklanmalı ve bilgi sahibi olması sağlanmalıdır. Günümüzde radyasyon nekrozunun tedavisi için bulunan seçenekler arasında medikal, cerrahi ve minimal invazif prosedürler yer alır. Medikal tedavi seçenekleri içerisinde kortikosteroidler, antikoagülanlar, antiplateletler ve bevasizumab yer alır. Hiperbarik oksijen tedavisi bazı gruplar tarafından kullanılmaktadır. En son kullanılan seçeneklerden birisi ise derin yerleşimli ama ulaşılabilir lezyonlar için minimal invaziv yaklaşım olarak Laser İnterstisyel Termal Terapidir (LITT).

2.8.1.Gözlem ve Steroid:

Radyasyon nekrozu görülen bir çok hasta müdahaleye gerek duymaz. Aktif tedavinin gerekliliği lezyonun büyüklüğü, yeri, kitle etkisinin varlığı, lezyon

çevresindeki ödem alanının genişliği ve hastanın klinik bulgu ve işaretleri gibi bir çok faktörün birleşimine bağlıdır.

Küçük ve asemptomatik lezyonlar klinik olarak takip edilebilir. Yakın klinik ve radyolojik takip önem arzeder. İlk tanı konulduğu zaman 6–12 haftada bir, 2–4 defa yapılan radyolojik takiplerin arası ilerleyen dönemde 4–6 ayda bir lezyonun stabil olduğunu ve klinik olarak ek problem olmadığını görene kadar devam edilebilir. Daha uzun süre takibin gerekebileceği durumlar hastanın klinik bulguları eşliğinde değerlendirilerek kararlaştırılabilir. Her hasta için kendine özgü bir takip protokolü zaman içerisinde gelişir.

Yeni ya da ilerleyici nörolojik gerileme gösteren ve radyolojik olarak kötüleşen serebral ödem ve buna bağlı kitle etkisi görülen hastalarda kortikosteroidler yardımcı olabilir(21, 102). Steroidler ödem ve ödeme bağlı kitle etkisi görülen olgularda ilk seçenek tedaviyi oluştururlar.

Kortikosteroidler radyonekrotik kitlede görülen pro-enflamatuar yanıtı inhibe ederek etki gösterirler. En sık kullanılan ajan, deksametazon, normal kan beyin bariyeri fonksiyonlarının sağlanması ile birlikte radyasyon tarafından indüklenmiş sitokin cevabını transkripsiyonel ve post – transkripsiyonel mekanizmalar ile engellemekte ve dolayısıyla interstisyel sıvı kaçıışı ve ödemin azalması ile sonuçlanmaktadır(103, 104). Ancak kortikosteroidlerin uzun süre kullanılması gerekmekte ve dolayısıyla iyatrojenik Cushing sendromu, steroid myopatisi, glikoz intoleransı, osteopeni ve immün yetmezlik gibi uzun dönem yan etkilerinin de ortaya çıkması kaçınılmazdır(21). Steroidlerin aniden kesilmesi ise rebound ödem artışına ve nörolojik durumun aniden kötüleşmesine sebep olmaktadır. Doz azaltılarak haftalar ya da aylar içerisinde yayılmış bir ilaç kesme şeması bu gruptaki ilaçlar için daha uygun görünmektedir(25).

2.8.2. Antikoagülan ve Antiplatelet Ajanlar:

Rizzoli ve arkadaşları semptomatik derin ven trombozu sebebiyle antikoagülan terapi altında olan iki hastada radyasyon nekrozunda dramatik bir düzelme olduğunu gösterdiler(105). Bunu takiben Glantz ve arkadaşları ise heparin ve warfarin ile tedavi ettikleri sekiz olguyu yayınladılar(43).

Heparin başladıktan sonra günler içerisinde olan düzelmelerin yalnızca warfarin uyguladıkları hastada ise 4 hafta içerisinde gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Antikoagülanların erken uygulanması daha çabuk ve başarılı sonuçların alınmasında önem teşkil etmektedir. Yazarlar bu küçük serilerinde protrombin ve parsiyel tromboplastin zamanlarının normalin 1.5 katı olduğunu ve herhangi bir hemorajik komplikasyon ile karşılaşmadıklarını belirtmişlerdir. Histopatolojik olarak dilate, tortüyoöz venlerden, genişlemiş endotelial hücrelerden, kalınlaşmış endotelial duvarlardan ve kanamalı, trombotik, fibrinöz eksuda ve telenjiektazinin görüldüğü, vasküler fibrozis ve luminal stenozun olduğu, fibrinoid vasküler nekrozun eşlik ettiği anormal vasküler yapının yer aldığı nekrotik lezyonda kan beyin bariyerinin tamamen bozulduğu ve antikoagülanların bu etkileri ortadan kaldırdığı öne sürülmüştür(106).

Heparin ile warfarin aynı zamanda platelet agregasyonunu-koagülasyonu engellemekte ve nötrofil kemotaksisini ve sitokin salınımını bloke etmektedir(43). Daha yakın zamanda Happold ve arkadaşları kranial lezyonu olan üç hastada, radyasyon myelopatisi olan dört hastada ve kranial sinir hasarı olan bir hastada antikoagülan kullanımı hakkında bir bildiri yayınlamışlardır(22). Kranial radyasyon nekrozu bulunan hastalarda hafif derecede düzelme gösterilirken myelopati grubunda anlamlı düzelme görülmemiştir.

Pentoksifilin eritrosit fleksibilitesini artırarak kan viskozitesini azaltan, hasarlı bölgedeki dolaşımı ve doku oksijenizasyonunu artırarak etkisini gösteren bir metilksantin türevidir(107). Pentoksifilin siklik nükleotid fosfodiesterazın non-selektif bir inhibitörü olmasından dolayı hücre içi siklik AMP(cAMP) ve siklik GMP(cGMP) seviyelerinde artışa neden olur(108). Aynı zamanda fibroblast büyüme faktörünün seviyelerini de düşürerek radyasyon tarafından indüklenen fibrozisi de azalttığı gösterilmiştir (109). Pentoksifilin endotelial fonksiyonu artırarak inflamatuvar cevabı baskılar(110-113) ve kronik radyasyon hasarının önlenmesinde etkili rolü bulunur(114). Dion ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada radyasyona bağlı yumuşak doku nekrozu gördükleri 15 hastaya terapötik olarak pentoksifilin uygulamışlar ve

on üçünde klinik olarak anlamlı fark elde etmişlerdir(115). Aspirin ve ticlopidin gibi ajanlar da vasküler değişiklikler üzerindeki etkilerinden dolayı tedavide denenmiş ancak yapılan çalışmalarda eş zamanlı kortikosteroid kullanımı da söz konusu olduğundan dolayı sonuçlar ikna edici bulunmamıştır(116).

2.8.3.Antioksidanlar:

E vitamininin başlıca fonksiyonu serbest oksijen radikallerini nötralize etmek ve hücre membranını lipid peroksidasyonundan korumaktır(117).

Bilinen en güçlü antioksidanlardan birisi olan E vitamininin pentoksifilin ile birlikte kombinasyon şeklinde profilaktik olarak kullanılması sonucunda, yapılan çalışmalarda meme ve akciğer kanseri tedavisinde radyasyonun erken ve geç dönem etkilerini azalttığı gösterilmiştir(114). Williamson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serebral radyasyon nekrozu görülen 11 hastaya(7 metastaz, 3 AVM ve 1 meningiom) pentoksifilin ve E vitamini terapötik olarak uygulanmış, 10 hastada radyolojik olarak anlamlı fark izlenirken bir hastada kötüleşme görülmüş ve bunun daha sonra yapılan incelemeler sonucunda tümör progresyonu olduğu gösterilmiştir(118).

2.8.4.Cerrahi Rezeksiyon

Cerrahi olarak nekrotik kitlenin eksize edilmesi tarihsel olarak uygulanabilen tedavi seçenekleri içerisinde olsa da günümüzde az sayıda hastada yaşam kurtaracak bir girişim olarak önemini korumaktadır(119, 120). Etkili medikal tedavi seçenekleri arttıkça cerrahi müdahaleye gerek duyulan hasta sayısı azalmaktadır. Tekrardan cerrahi müdahaleye ihtiyaç duyulan hastalar genellikle ilk cerrahiden sonra yarada açılma, kapanmama, BOS fistülü gelişimi ve post operatif yüksek enfeksiyon riski taşıyan daha önce medikal tedavi uygulanmış komplike hastalardan oluşmaktadır(121). Klasik olarak medikal tedaviden fayda görmeyen ya da medikal tedaviye rağmen nörolojik

olarak ani kötüleşme gösteren, Karnofsky performans skorları(KPS) düşük (<70) hastalar cerrahi olarak daha yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahiptirler(121). Radyonekrotik kitlenin eksizyonu medikal tedaviden semptomatik fayda görmeyen, KPS yüksek, ulaşılabilir lezyonları olan ve ko-morbiditesi olmayan hastalar için son seçenek olarak saklanmalıdır.

3.GEREÇLER VE YÖNTEM:

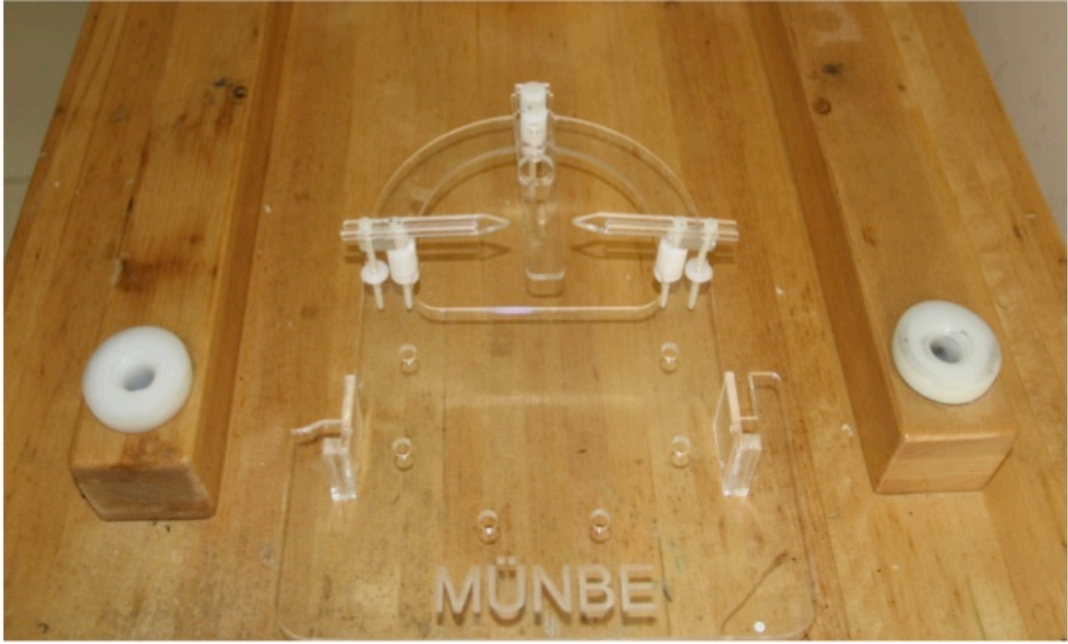
Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulu onayı (117.2013.mar) ile 50 adet Sprague – Dawley cinsi, cinsiyet ayrımı gözetilmeyen sıçan çalışmamızda kullanılmıştır. 7 tane alt grup belirlenmiş olup gruplar aşağıdaki tabloda belirtildiği şekilde düzenlenmiştir. (Tablo 1)

Tablo 1. Deneklerin alt grupları

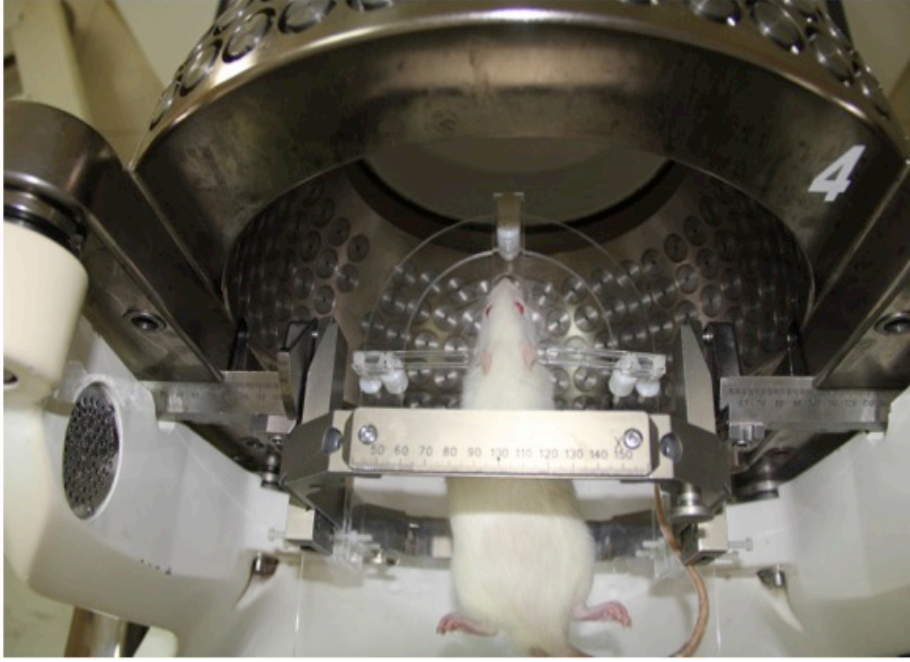
Deney Grubu	Verilerin analizi için öngörülen hayvan sayısı
Gamma Knife	7
Gamma Knife + Profilaktik E vitamini	7
Gamma Knife + Terapotik E vitamini	7
Gamma Knife + Profilaktik Pentoksifilin	7
Gamma Knife + Terapotik Pentoksifilin	7
Gamma Knife + Profilaktik E vitamini ve Pentoksifilin	7
Gamma Knife + Terapotik E vitamini ve Pentoksifilin	8
Toplam:	50

Deneyde kullanılan tüm hayvanlara anestezi altında (Ketamin 80 mg/kg(122, 123)IP ve Xylazine 10 mg/kg(124) IP) sıçan için özel olarak hazırlanmış olan Stereotaktik çerçeve (Şekil 1-2) takılarak MR incelemesi yapıldı. Tüm deneklerde Gamma planlama 1.5 T MR cihazı (Magnetom Espree; Siemens Medical Systems, Erlangen, Almanya) 2 kanallı QD kafa sargısı kullanılarak gerçekleştirildi. Planlama için 3D T1 ağırlıklı (T1 f3d, TR

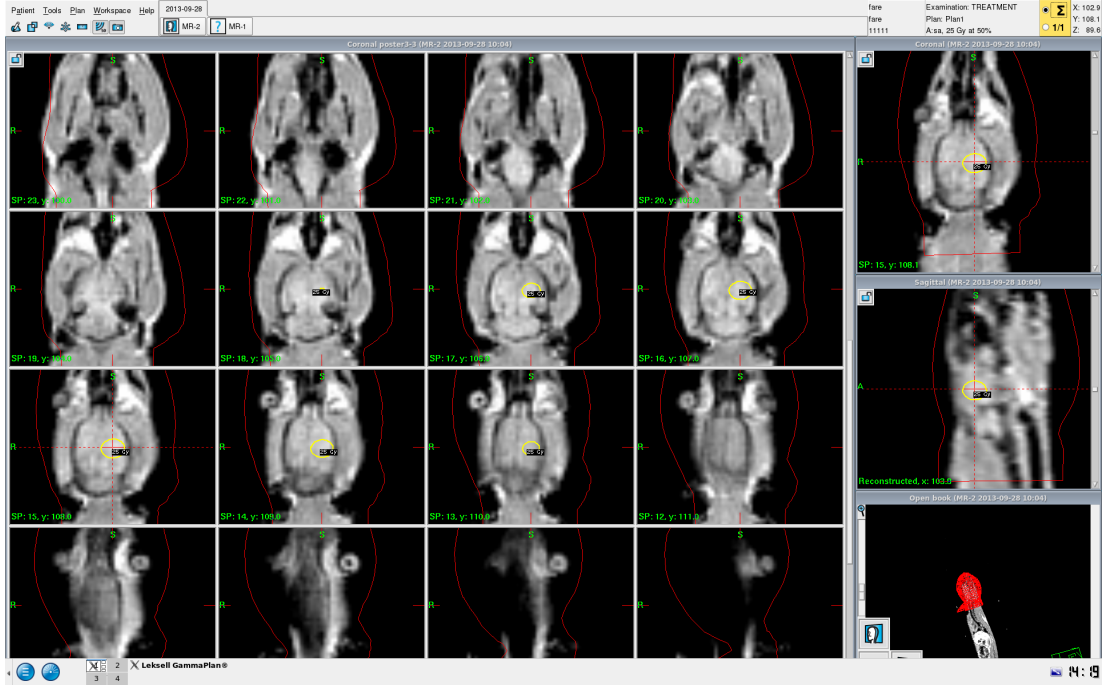
= 11 ms, TE = 4.79 ms, matrix = 320x320, FOV = 60.7x28 mm square, kesit kalınlığı = 1.5 mm) incelemeler kullanıldı. Gamma Planlama (Gamma – Plan 8.32) ile Sol Frontal loblarının koordinatları belirlenerek 50 Gy (%50 izodoz alana)(125) doz uygulandı. (Şekil 3) Daha sonra denekler alt gruplara bölündü. İlk grup Gamma Knife uygulanmasını takiben tedavi verilmeden takip edilen grup olarak belirlendi. 2. Grup Gamma Knife uygulanması ile birlikte eş zamanlı E vitamini ile profilaktik tedavi uygulanan, 3. Grup Gamma Knife uygulanmasından 12 hafta sonra E



Şekil 1 Sıçan için özel olarak tasarlanmış çerçeve



Şekil 2 Gamma Knife uygulaması için deneğin çerçeveye ve Gamma Knife cihazına yerleştirilmesi.



Şekil 3 Denek için planlama yapılması.

vitamini terapötik tedavi uygulanan, 4. Grup Gamma Knife uygulanması ile birlikte eş zamanlı pentoksifilin ile profilaktik tedavi uygulanan, 5. Grup Gamma Knife uygulanmasından 12 hafta sonra pentoksifilin ile terapötik tedavi uygulanan, 6. Grup Gamma Knife uygulanması ile eş zamanlı E vitamini ve pentoksifilin profilaktik tedavi uygulanan, 7. Grup Gamma Knife uygulanmasından 12 hafta sonra E vitamini ve pentoksifilin terapötik tedavi uygulanan sıçanlardan oluşturuldu. Tedavi dozları E vitamini uygulanan gruplar için 30 mg/kg/gün; pentoksifilin uygulanan gruplar için 50 mg/kg/gün(126) olarak belirlendi. E vitamini uygulanan gruba enjeksiyonlar günde 1 defa intraperitoneal yol ile, Pentoksifilin uygulanan gruba ise 2 defa intraperitoneal yol ile uygulandı.

Kontrol grubuna ve terapötik tedavi uygulanacak gruplara tedavi başlanıncaya kadar günde 1 defa 1 cc serum fizyolojik enjeksiyonları intraperitoneal olarak grupların stres faktörlerini eşitlemek amacı ile uygulandı.

Denekler 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsüne uygun olarak, 24-26 °C'de ve uygun nemli ortamda takip edildi ve standart kemirgen yemi ve su ad libitum olarak uygulandı.

Deneklerin hepsine 16 hafta sonra anestezi altında (Ketamin 80 mg/kg(122, 123) IP ve Xylazine 8 mg/kg(124) IP) Kranial MR incelemesi yapılarak radyolojik olarak farklılıkları değerlendirildi.

Denekler Gamma Knife uygulanmasından 16 hafta sonra anestezi uygulanmasını takiben transkardiyak perfüzyon ile (% 0.9'luk salin ile bir dakika ve takiben %10'luk formaldehit ile 10 dakika) öldürülerek dekapitize edildi. 24 saat formaldehitte bekletilen beyinler daha sonra histopatolojik incelemeye alındı.

İmmünohistokimyasal inceleme için seçilen belirteçler VEGF, HIF-1 α , BRDU, TGF- β ve Apoptoz olarak belirlendi. Ayrıca tüm gruplar hemotoksilen-eosin ile konvansiyonel incelemeye alındı.

3.1.Radyasyon Nekrozu Tespiti için MR Görüntüleme Protokolü:

Tüm deneklerin incelemesi 3T MR cihazı (Magnetom Verio; Siemens Medical. Systems, Erlangen, Almanya) ve 8 kanallı el-bilek sargısı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm deneklerde aksiyal ve koronal planda SE T2 ağırlıklı (TR=3800 ms, TE 71 ms, matriks=192x256, FOV=80 mm square, kesit kalınlığı/kesit aralığı= 2/0.2 mm, nex=1) ve kontrastlı SE T1 ağırlıklı (TR = 350 ms, TE = 14ms, matrix = 454x512, FOV=80 mm square, kesit kalınlığı/kesit aralığı= 2/0.2 mm, nex=1) incelemeler yapıldı. T2 ağırlıklı görüntüler 2 dakika 45 saniye ve kontrastlı T1 ağırlıklı görüntüler 4 dakika 17 saniyede alındı.

3.2.Immünohistokimyasal Boyanma Prosedürü :

Hazırlanan kesitler Positive Charged lam üzerine alınarak 1 gece bekletildi.

Kesitler 60°C lik etüvde 1 saat deparafinize edildi. Xylene ve alkollerden geçirilen kesitler distile su ile yıkandı.

- TGF β 3 (Calbiochem GF16) ve VEGF (Millipore ABS82) için Citrate Buffer (Bio Optica 15-M103) ile
- HIF-1 α (Millipore 04-1006) ve BrdU (Bromodeoxyuridine) (Millipore MAB4072) için EDTA Buffer (Bio Optica 15-M820) ile Antigen Retrieval yapıldı.

Distile su ile yıkanan kesitler 20 dakika %3'lük H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) ile Peroksidaz blokajı yapıldı. PBS ile yıkanan kesitler 5 dakika Protein Blokajı (Novocastra Protein Block RE7102) yapıldı. Kesitlerin üzerindeki blokaj akıtılarak yıkanmadan, kesit üzerlerine ilgili primer antikorlar damlatıldı.

- TGF β 3 (Calbiochem GF16) - Konsantrasyon : 25/975
- VEGF (Millipore ABS82) - Konsantrasyon : 1/400
- HIF-1 α (Millipore 04-1006) - Konsantrasyon : 1/100
- BrdU (Millipore MAB4072) - Konsantrasyon : 1/100
- Apoptoz (Millipore 21627) -Konsantrasyon 1/30

Oranlarında damlatılarak 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Kesitler PBS'de 3x5 yıkandıktan sonra Post Primary (Leica Novocastra RE7111) solüsyonu damlatılarak 30 dakika bekletildi. Yine kesitler PBS'de 3x5 dakika yıkandıktan sonra kesitlerin üzerine Novolink Polymer (Leica Novocastra RE7112) solüsyonu damlatılarak 30 dakika bekletildi. PBS'de 3x5 dakika yıkanan kesitler DAB kromojen'de 6 dakika bekletildi (DAB Chromojen (Leica Novocastra RE7105) ve DAB Substrate Buffer (Leica Novocastra RE7143)). Daha sonra musluk suyu ile iyice yıkanan kesitler Hematoksilen ile counter stain yapıldı (1 dakika). Daha sonra dehidrate edilen kesitler kurutularak kapatıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz:

Elde edilen veriler SPSS 17.0'de analiz edildi. İstatistiksel olarak anlamlılık için $p < 0.05$ olarak belirlendi. Gruplar arasındaki farkları değerlendirirken niteliksel veriler için Pearson's chi-square; niceliksel veriler için one-way ANOVA ve Tukey's post hoc analizi uygulandı.

4.BULGULAR:

4.1.Hematoksilen ve Eosin incelemesi:

Yapılan konvansiyonel histopatolojik inceleme sırasında gruplar arasında nekroz alanı genişliği, histiyosit yoğunluğu, çevresel damarlanma miktarı, reaktif astrogliosis, fibrinoid nekroz varlığı ve kistik oluşum miktarları karşılaştırıldı. Nekroz alanı küçük, orta ve geniş olarak; histiyosit yoğunluğu az, orta ve yoğun olarak; damar sayıları rakamsal olarak, reaktif astrogliosis ve fibrinoid nekroz miktarları da yine zayıf, orta ve yoğun olarak ve en son kistik oluşum miktarı var ve yok olarak kategorize edildi. (Şekil 5a, 5b, 5c; Şekil 7a, 7b, 7c; Şekil 9; Şekil 12a, 12b, 12c; Şekil 14a, 14b, 14c; Şekil 16a, 16b, 16c; Şekil 18)

Gruplar arasında nekroz alanlarının genişliklerinin karşılaştırılması sonucunda anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Histiyosit yoğunluğu açısından yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilemedi.

Reaktif astrogliosis oranları açısından yapılan karşılaştırmada kontrol grubunda az yoğunlukta bir boyanma patterni izlenirken terapötik pentoksifilin ve profilaktik pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda orta yoğunlukta ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan grupta daha yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Tablo 2)

Tablo 2. Gruplar arasında reaktif astrogliosis miktarlarının karşılaştırılması

	Reaktif astrogliosis karşılaştırması							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	5	%10	2	%4	0	%0	7	%14
PE	4	%8	3	%6	0	%0	7	%14
TE	4	%8	3	%6	0	%0	7	%14
PT	2	%4	1	%2	4	%8	7	%14
TT	2	%4	5	%10	0	%0	7	%14
PET	1	%2	6	%12	0	%0	7	%14
TTE	6	%12	2	%4	0	%0	8	%16
Toplam	24	%48	22	%44	4	%8	50	%100

P<0.0001

Fibrinoid nekroz miktarları açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

200 büyütmede bakılan damar sayıları açısından gruplar arasında yapılan inceleme sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Kistik oluşum açısından gruplar arası yapılan inceleme sonucunda profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan grupta kist oluşumu belirgin olarak azalmış ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). (Tablo 3)

Tablo 3. Kistik oluşum miktarlarının karşılaştırılması

	Kistik Oluşum					
	Yok		Var		Toplam	
Kontrol	0	%0	7	%14	7	%14
PE	0	%0	7	%14	7	%14
TE	0	%0	7	%14	7	%14
PT	5	%10	2	%4	7	%14
TT	3	%6	4	%8	7	%14
PET	0	%0	7	%14	7	%14
TTE	0	%0	8	%14	8	%16
Toplam	8	%16	42	%84	50	%100

P<0.0001

4.2.İmmünohistokimyasal İncelemeler:

Yapılan immünohistokimyasal incelemelerde HIF-1 α (Şekil 5d, Şekil 7d, Şekil 10a, Şekil 12d, Şekil 14d, Şekil 16d, Şekil 19a), VEGF (Şekil 6a, Şekil 8a, Şekil 10b, Şekil 13a, Şekil 15a, Şekil 17a, Şekil 19b), BRDU (Şekil 6c, Şekil 8c, Şekil 10d, Şekil 13c, Şekil 15c, Şekil 17c, Şekil 19d) ve TGF- β (Şekil 6b, Şekil 8b, Şekil 10c, Şekil 13b, Şekil 15b, Şekil 17b, Şekil 19c) için nekroz alanındaki boyanma yoğunluğu ve nekrotik alanın komşuluğundaki boyanan hücre sayısı, nekroz alanına yakın ve uzak korteksteki nöron boyanma yoğunlukları, damar endotelindeki ve nekroz çevresindeki nöropildeki boyanma yoğunlukları karşılaştırıldı. Apoptozun değerlendirilmesi sırasında nekrotik alandaki hücre sayıları, çevre dokudaki pia ve ependimdeki boyanma yoğunlukları ve nekroz alanı çevresindeki damar duvarlarındaki boyanma yoğunlukları karşılaştırıldı (Şekil 6d, Şekil 8d, Şekil 11, Şekil 13d, Şekil 15d, Şekil 17d, Şekil 20).

4.2.1.HIF-1 α :

Nekroz alanındaki boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan değerlendirmede kontrol grubunda nekroz alanında yoğun bir boyanma patterni izlenirken terapötik E vitamini, terapötik pentoksifilin ve terapötik pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda daha az ve orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). (Tablo 4)

Tablo 4. HIF-1 α için gruplar arası nekroz alanında boyanma patternlerinin karşılaştırılması.

	HIF-1 α nekroz alanı boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	0	%0	2	%4	5	%10	7	%14
PE	0	%0	0	%0	7	%14	7	%14
TE	4	%8	3	%6	0	%0	7	%14
PT	0	%0	2	%4	5	%10	7	%14
TT	3	%6	4	%8	0	%0	7	%14
PET	2	%4	5	%10	0	%0	7	%14
TTE	1	%2	7	%14	0	%0	8	%16
Toplam	10	%20	23	%46	17	%34	50	%100

$P<0.0001$

Nekroz komşuluğundaki dokuda boyanan hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldı. Grupların kendi içlerindeki varyansları homojen olmadığından Tamhane düzeltmesi sonrası yapılan değerlendirmede kontrol grubu ile karşılaştırıldığında profilaktik ve terapötik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0.05$). (Tablo 5)

Tablo 5. Gruplar arasında nekroz komşuluğundaki alanda HIF-1 α ile boyanan hücre sayılarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama fark	Standart hata	Anlamlılık	%95 güven aralığı	
					Alt sınır	Üst sınır
Kontrol	PE	12.71	4.79	.528	-10.20	35.63
	TE	-31.14	9.57	.301	-78.50	16.22
	PT	-13.42	7.70	.947	51.20	24.44
	TT	-10.85	3.04	.161	-24.54	2.82
	PET	-10.00	1.65	.002	-16.44	-3.55
	TTE	-25.66	5.68	.048	-51.15	-0.16

$P < 0.05$

Nekroz alanına yakın korteksteki nöronal boyanma yoğunluğu gruplar arasında karşılaştırıldığında terapötik pentoksifilin uygulanan grupta orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenirken diğer gruplarda daha yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.038$). (Tablo 6)

Tablo 6. HIF-1 α için gruplar arasında nekroza yakın korteksteki nöronal boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	HIF-1 α yakın korteks nöronal boyanma patterni					
	Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	1	%2	6	%12	7	%14
PE	1	%2	6	%12	7	%14
TE	0	%0	7	%14	7	%14
PT	0	%0	7	%14	7	%14
TT	4	%8	3	%6	7	%14
PET	0	%0	7	%14	7	%14
TTE	2	%4	6	%12	8	%16
Toplam	8	%16	42	%84	50	%100

$P < 0.38$

Nekroz alanına uzak korteksteki nöronal boyanma yoğunluğu gruplar arasında karşılaştırıldığında yine terapötik pentoksifilin uygulanan grupta daha az yoğunlukta bir boyanma patterni izlenirken diğer gruplarda orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.001$). (Tablo 7)

Tablo 7. HIF-1 α için gruplar arasında nekroza uzak korteksteki nöronal boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	HIF-1 α uzak korteks nöronal boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	1	%2	6	%12	0	%0	7	%14
PE	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
TE	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
PT	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
TT	6	%12	1	%2	0	%0	7	%14
PET	0	%0	6	%12	1	%2	7	%14
TTE	2	%4	6	%12	0	%0	8	%16
Toplam	9	%18	40	%80	1	%2	50	%100

$P<0.001$

Endotel boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada terapötik E vitamini ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda diğer gruplara nazaran daha az yoğunlukta bir boyanma patterni tespit edilmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). (Tablo 8)

Tablo 8. HIF-1 α için gruplar arasında endotel boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	HIF-1 α endotel boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
PE	0	%0	5	%10	2	%4	7	%14
TE	7	%14	0	%0	0	%0	7	%14
PT	3	%6	4	%8	0	%0	7	%14
TT	5	%10	2	%4	0	%0	7	%14
PET	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
TTE	1	%2	4	%8	3	%6	8	%16
Toplam	16	%32	29	%58	5	%10	50	%100

P<0.0001

Nekroz çevresindeki dokudaki nöropilin boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

4.2.2.VEGF:

Nekroz alanındaki boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan değerlendirme sonucunda kontrol grubunda daha yoğun bir boyanma patterni izlenirken terapötik E vitamini ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda daha az yoğunlukta ve profilaktik trental ve terapötik pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda daha orta yoğunlukta boyanma patternleri izlenmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.002$). (Tablo 9)

Tablo 9. VEGF için nekroz alanının gruplar arası boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	VEGF nekroz alanı boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	0	%0	2	%4	5	%10	7	%14
PE	0	%0	4	%8	3	%6	7	%14
TE	4	%8	3	%6	0	%0	7	%14
PT	0	%0	6	%12	1	%2	7	%14
TT	3	%6	4	%8	0	%0	7	%14
PET	0	%0	4	%8	3	%6	7	%14
TTE	2	%4	6	%12	0	%0	8	%16
Toplam	9	%18	29	%58	12	%24	50	%100

P<0.002

Nekroz komşuluğunda boyanan hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında profilaktik E vitamini ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmiştir(*p*=0.05). (Tablo 10)

Tablo 10. Gruplar arasında nekroz komşuluğundaki alanda VEGF ile boyanan hücre sayılarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama Fark	Standart hata	Anlamlılık	%95 güven aralığı	
					Alt sınır	Üst sınır
Kontrol	PE	19.71	8.64	0.22	-7.01	46.44
	TE	2.00	8.64	1.00	-24.72	28.72
	PT	0.00	8.64	1.00	-26.72	26.72
	TT	26.14	8.64	0.59	-0.58	52.87
	PET	-0.85	8.64	1.00	-27.58	25.87
	TTE	-13.53	8.36	0.67	-39.41	12.34

P<0.05

Nekroz alanına yakın ve uzak korteksteki nöronal boyanma yoğunlukları gruplar arasında karşılaştırıldıklarında tüm gruplarda yoğun boyanma patternleri izlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Endotel boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında karşılaştırıldıklarında tüm gruplarda yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilememiştir.

Nekroz çevresindeki dokudaki nöropilin boyanma yoğunluğu gruplar arasında karşılaştırıldığında kontrol grubunda daha yoğun bir boyanma patterni izlenirken diğer gruplarda daha orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.003$). (Tablo 11)

Tablo 11. VEGF için grupların nöropil boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	VEGF nöropil boyanma patterni					
	Az		Orta		Toplam	
Kontrol	3	%6	4	%8	7	%14
PE	7	%14	0	%0	7	%14
TE	5	%10	2	%2	7	%14
PT	7	%14	0	%0	7	%14
TT	7	%14	0	%0	7	%14
PET	7	%14	0	%0	7	%14
TTE	8	%16	0	%0	8	%14
Toplam	44	%88	6	%12	50	%100

$P<0.03$

4.2.3.TGF- β :

Nekroz alanındaki boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubunda daha yoğun bir boyanma patterni izlenirken terapötik E vitamini, terapötik pentoksifilin ve terapötik pentoksifilin ve E vitamin uygulanan gruplarda daha orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). (Tablo 12)

Tablo 12. TGF- β için nekroz alanının boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	TGF- β nekroz alanı boyanma patterni					
	Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	3	%6	4	%8	7	%14
PE	3	%6	4	%8	7	%14
TE	5	%10	2	%4	7	%14
PT	3	%6	4	%8	7	%14
TT	7	%14	0	%0	7	%14
PET	1	%2	6	%12	7	%14
TTE	5	%10	3	%6	8	%16
Toplam	27	%54	23	%46	50	%100

P<0.05

Nekroz çevresindeki alanda boyanan hücre sayıları açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Nekroz alanına yakın ve uzak korteksteki nöronal boyanma yoğunlukları gruplar arasında karşılaştırıldığında tüm gruplarda yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Endotel boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada tüm gruplarda yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Nekroz çevresindeki dokudaki nöropilin boyanma yoğunluğu gruplar arasında karşılaştırıldığında terapötik E vitamin uygulanan grupta daha yoğun bir boyanma patterni izlenirken diğer gruplarda daha orta yoğunlukta bir boyanma izlenmiş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (*p*<0.0001). (Tablo 13)

Tablo 13. TGF- β için nöropil boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	TGF- β nöropil boyanma patterni					
	Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	7	%14	0	%0	7	%14
PE	7	%14	0	%0	7	%14
TE	2	%4	5	%10	7	%14
PT	7	%14	0	%0	7	%14
TT	7	%14	0	%0	7	%14
PET	7	%14	0	%0	7	%14
TTE	8	%16	0	%0	8	%16
Toplam	45	%90	5	%10	50	%100

$P<0.0001$

4.2.4.BRDU:

Nekroz alanındaki boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılatırmada terapötik E vitamini ve terapötik pentoksifilin uygulanan gruplarda diğer gruplara oranla daha orta yoğunlukta bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.015$). (Tablo 14)

Tablo 14. BRDU için nekroz alanının boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	BRDU nekroz alanı boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	0	%0	2	%4	5	%10	7	%14
PE	0	%0	1	%2	6	%12	7	%14
TE	0	%0	6	%12	1	%2	7	%14
PT	0	%0	4	%8	3	%6	7	%14
TT	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
PET	0	%0	1	%2	6	%12	7	%14
TTE	1	%2	4	%8	3	%6	8	%16
Toplam	1	%2	25	%50	24	%48	50	%100

$P<0.015$

Nekroz çevresindeki alanda boyanan hücre sayıları açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Nekroz alanına yakın ve uzak korteksteki nöronal boyanma yoğunlukları gruplar arasında karşılaştırıldığında tüm gruplarda yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Endotel boyanma yoğunluğu açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırmada tüm gruplarda yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

Nekrozun çevresindeki dokudaki nöropil boyanma yoğunlukları gruplar arasında karşılaştırıldığında terapötik E vitamin uygulanan grupta daha yoğun bir boyanma patterni izlenirken diğer gruplarda daha orta yoğunlukta bir boyanma izlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). (Tablo 15)

Tablo 15. BRDU için nöropil boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	BRDU nöropil boyanma patternleri							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
PE	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
TE	0	%0	1	%14	6	%12	7	%14
PT	0	%0	6	%12	1	%2	7	%14
TT	0	%0	6	%12	1	%2	7	%14
PET	0	%0	7	%14	0	%0	7	%14
TTE	1	%2	7	%14	0	%0	8	%16
Toplam	1	%2	41	%82	8	%16	50	%100

$P<0.0001$

4.2.5.Apoptoz:

Nekroz alanına komşu bölgede 400 büyütmede boyanan hücre sayıları açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda gruplar arasındaki varyansların eşit olmadığı görüldü. Tamhane düzeltmesi sonrası

yapılan değerlendirmede kontrol grubu ile karşılaştırıldığında profilaktik ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir ($p<0.05$). (Tablo 16)

Tablo 16. Gruplar arasında nekroz komşuluğundaki alanda Apoptag ile boyanan hücre sayılarının karşılaştırılması

Gruplar		Ortalama fark	Standard hata	Anlamlılık	%95 güven aralığı	
					Alt sınır	Üst sınır
Kontrol	PE	1.28	0.99	0.99	-2.75	5.32
	TE	-2.57	3.36	1.00	-18.30	13.16
	PT	4.85	1.09	0.01	0.62	9.09
	TT	4.71	1.16	0.03	0.27	9.15
	PET	3.42	1.09	0.17	-0.80	7.66
	TTE	2.64	1.11	0.52	-1.59	6.87

$p<0.05$

Pial boyanma patterni açısından yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubunda daha az yoğunlukta bir boyanma patterni izlenirken profilaktik pentoksifilin ve terapötik pentoksifilin ve E vitamini ve profilaktik E vitamini uygulanan gruplarda daha yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.005$). (Tablo 17)

Tablo 17. Apoptoz için gruplar arası pial boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	Apoptag ile pial boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	4	%8	2	%4	1	%2	7	%14
PE	0	%0	1	%2	6	%12	7	%14
TE	1	%2	2	%4	4	%8	7	%14
PT	0	%0	1	%2	6	%12	7	%14
TT	5	%10	1	%2	1	%2	7	%14
PET	3	%6	2	%4	2	%4	7	%14
TTE	0	%0	0	%0	8	%16	8	%16
Toplam	13	%26	9	%18	28	%56	50	%100

$p<0.005$

Ependimal boyanma patterni açısından gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubunda daha az yoğunlukta bir boyanma patterni izlenirken terapötik pentoksifilin ve E vitamini uygulanan grupta daha yoğun bir boyanma patterni izlenmiş olup bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.03$). (Tablo 18)

Tablo 18. Apoptoz için gruplar arası ependim boyanma patternlerinin karşılaştırılması

	Apoptoz ependim boyanma patterni							
	Az		Orta		Yoğun		Toplam	
Kontrol	3	%6.7	1	%2.2	0	%0	4	%14
PE	2	%4.4	2	%4.4	3	%6.7	7	%14
TE	3	%6.7	3	%6.7	1	%2.2	7	%14
PT	1	%2.2	3	%6.7	2	%4.4	6	%14
TT	4	%8.9	2	%4.4	0	%0	6	%14
PET	4	%8.9	3	%6.7	0	%0	7	%14
TTE	0	%0	0	%0	8	%17.8	8	%16
Toplam	17	%37.8	14	%31.1	14	%31.1	45	%100

$p<0.03$

Nekroz çevresindeki damarlarda boyanma patterni açısından yapılan karşılaştırma sonucunda tüm gruplarda yoğun bir boyanma izlendiğinden istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir.

4.3.Radyolojik Değerlendirme:

Yapılan kontrol radyolojik incelemeler sonucunda gruplar arasındaki farklar değerlendirilirken kullanılan parametreler ödem miktarı, nekroz alan boyutları ve kontrastlanma patternleri olarak belirlendi. Ödem miktarı ve nekroz alanları ölçülen değerler olarak, kontrastlanma patternleri ise hafif, orta şiddetli olarak kategorize edildi.

Ödem miktarı açısından gruplar kendi arasında karşılaştırıldı. Grupların kendi içindeki varyansları homojen olmadığından dolayı uygulanan Tamhane düzeltmesi sonrası yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilememiştir.

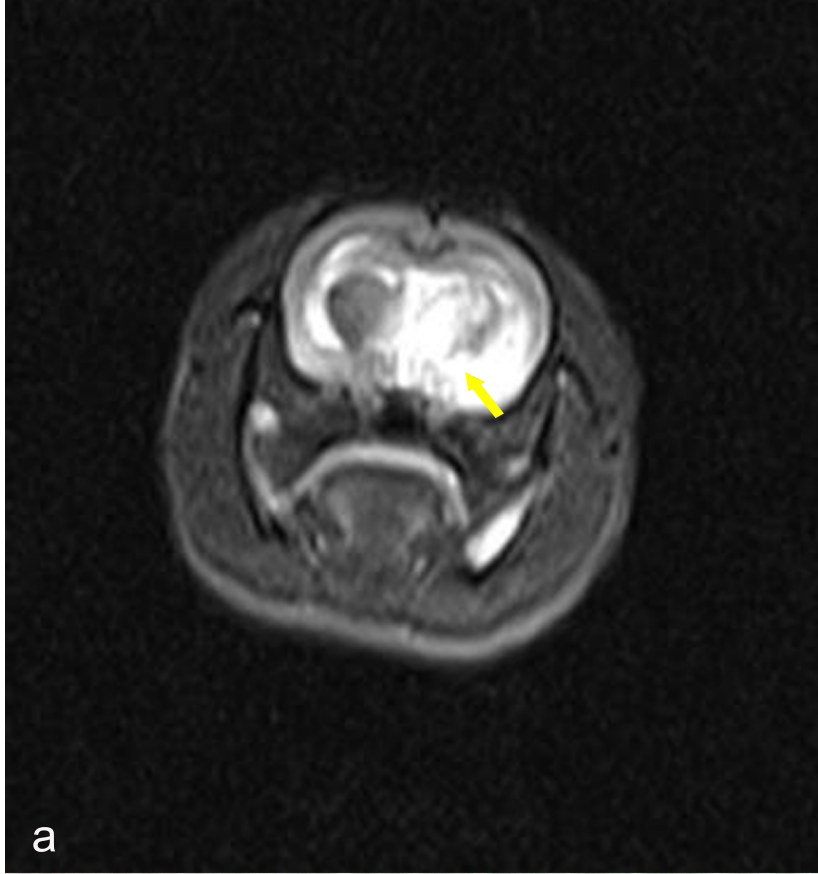
Nekroz alanı açısından gruplar kendi arasında karşılaştırıldı. Grupların kendi içindeki varyansları bu parametre için de eşit olmadığından Tamhane düzeltmesi sonrası yapılan analizde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilemedi.

Kontrastlanma patterni açısından gruplar arası yapılan karşılaştırma sonucunda kontrol grubu daha yoğun bir kontrastlanma patterni gösterirken profilaktik olarak E vitamini uygulanan, profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda daha hafif bir kontrastlanma patterni izlenmiş olup bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0.47$) (Tablo 19)

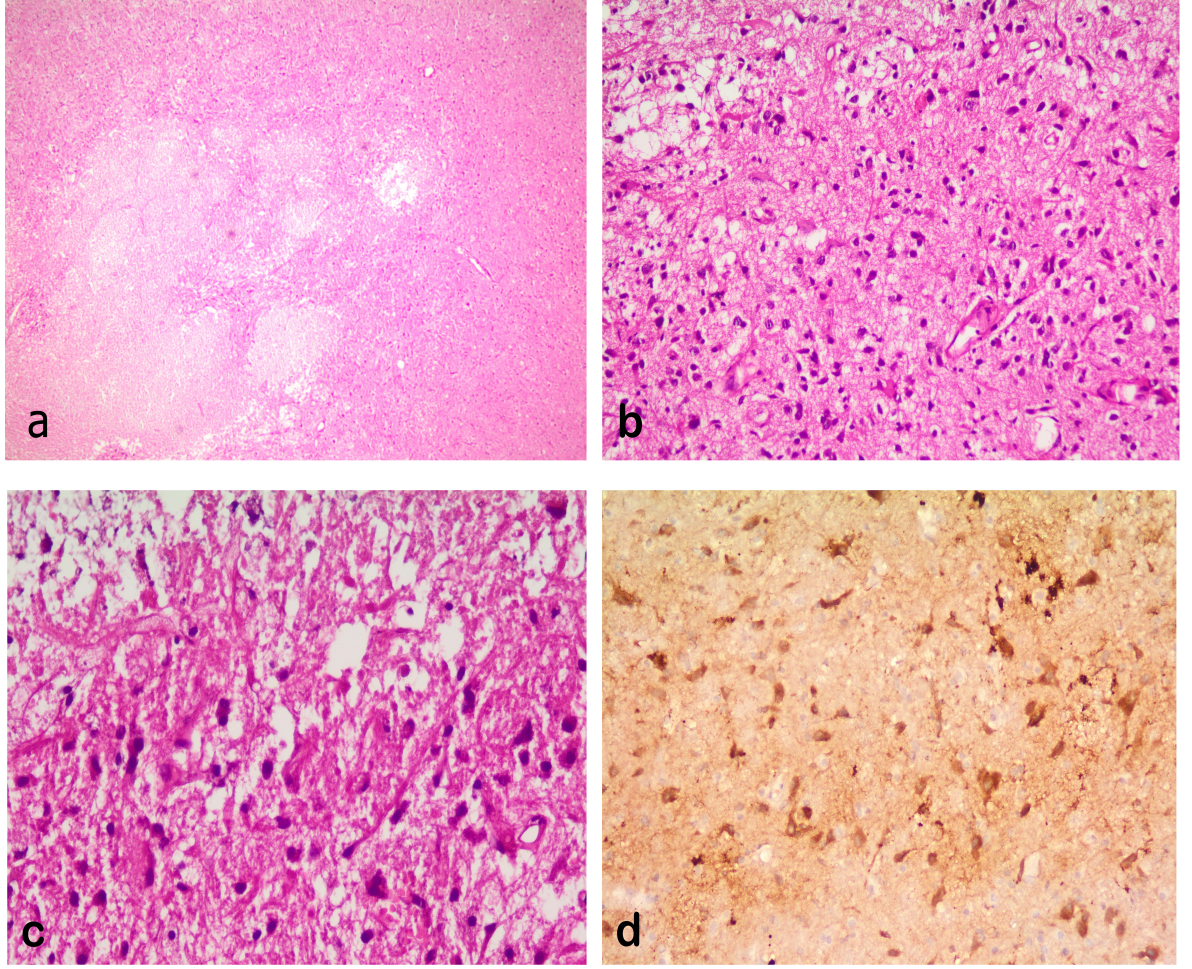
Tablo 19. Gruplar arası kontrastlanma patternlerinin karşılaştırılması

	Kontrastlanma patternleri							
	Hafif		Orta		Şiddetli		Toplam	
Kontrol	1	%2	1	%2	5	%10	7	%14
PE	5	%10	2	%4	0	%0	7	%14
TE	4	%8	2	%4	1	%2	7	%14
PT	0	%0	3	%6	4	%8	7	%14
TT	5	%10	2	%4	0	%0	7	%14
PET	2	%4	3	%6	2	%4	7	%14
TTE	3	%6	1	%2	4	%8	8	%16
Toplam	20	%40	14	%28	16	%31	50	%100

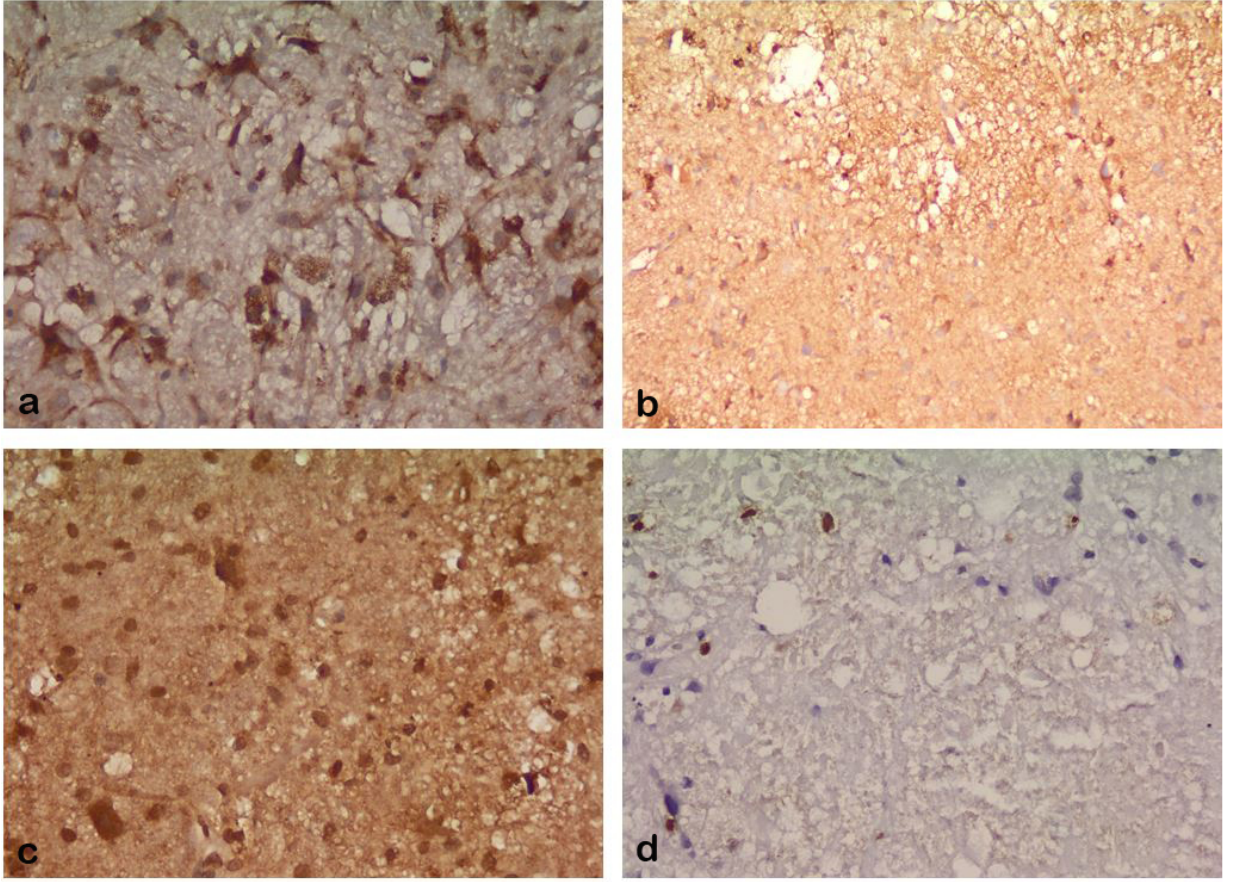
$P<0.47$



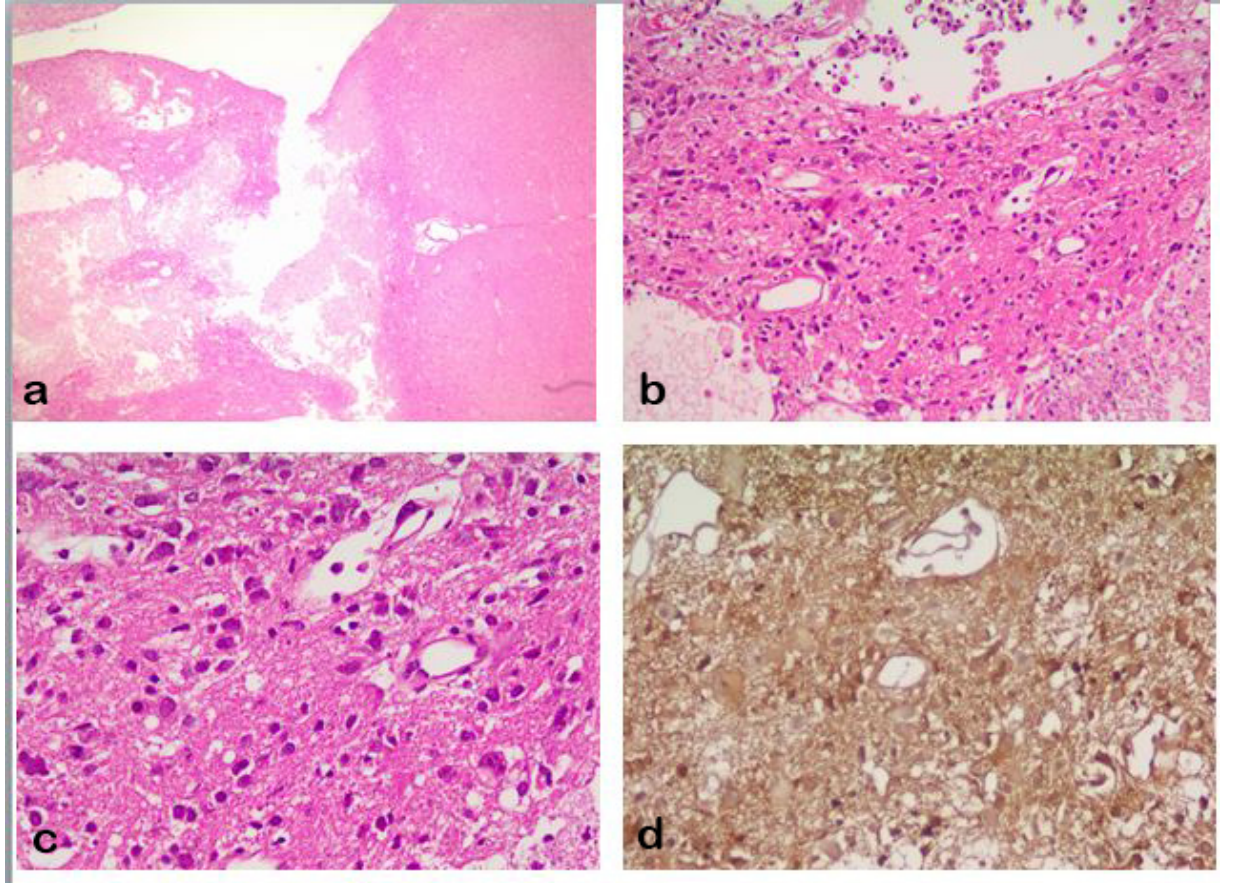
Şekil 4. Aksial kesit MR'da sarı ok nekroz alanı (a) ve makroskopik görüntü (b).



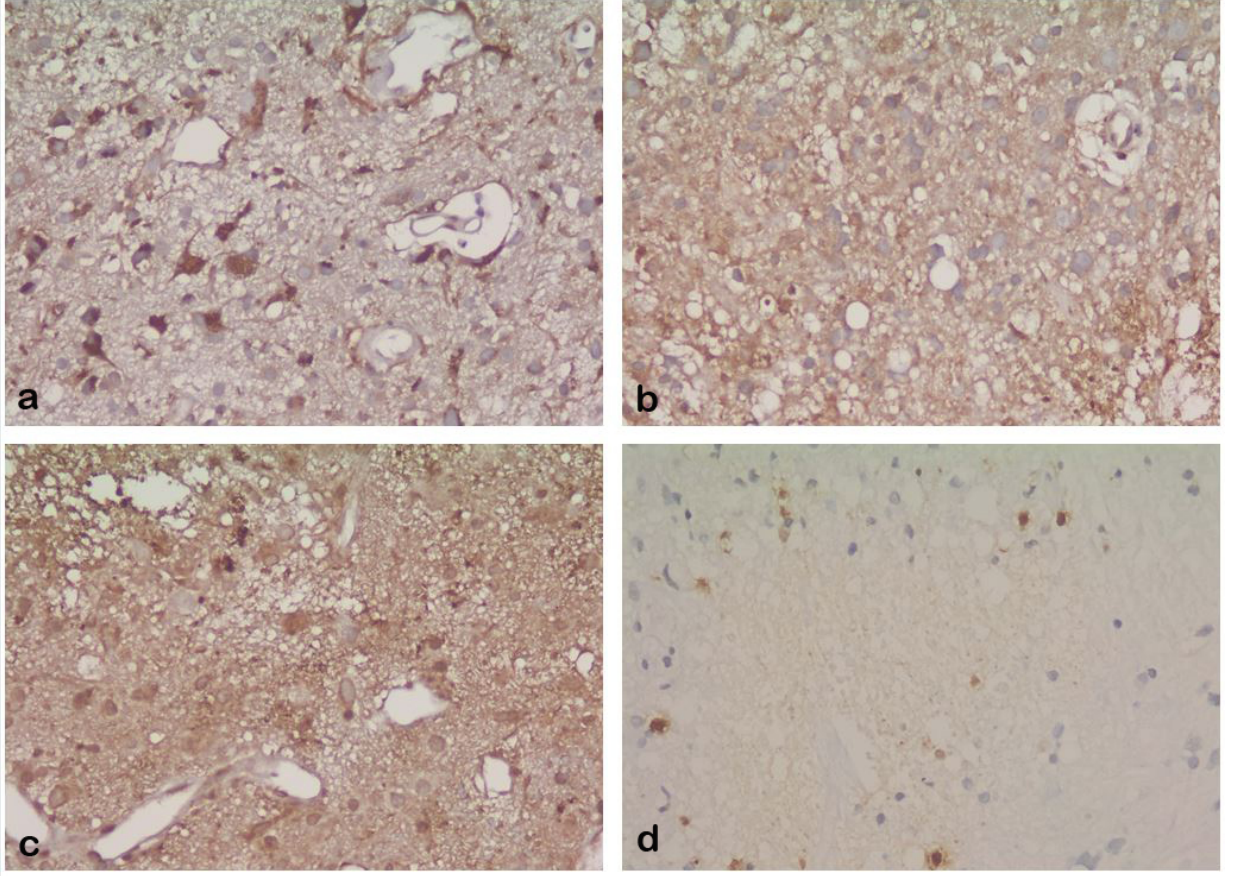
Şekil 5. Kontrol grubuna ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 200 büyütmede (b) ve 400 büyütmede (c) gösterilmesi. Nekroz komşuluğundaki alanın HIF-1 α ile boyanma patterni (d).



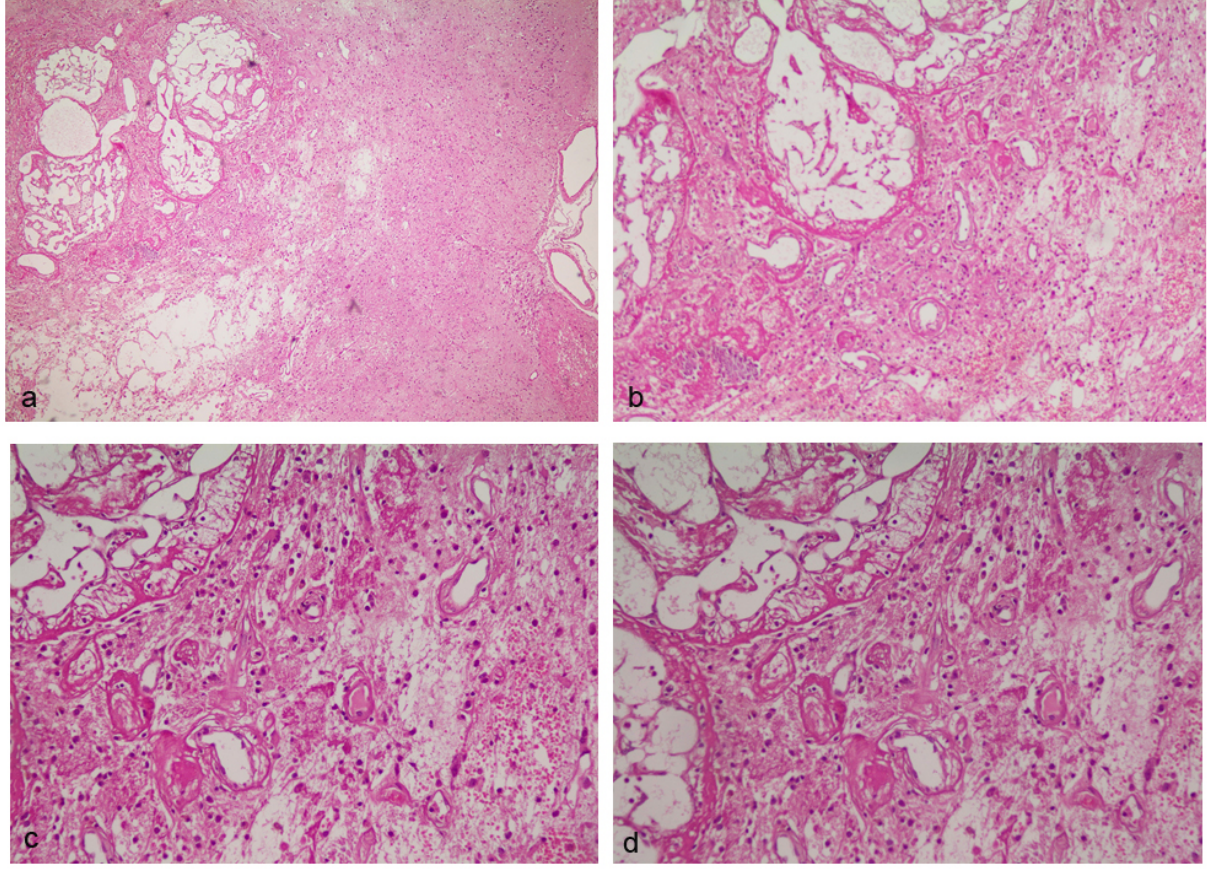
Şekil 6 Kontrol grubuna ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede VEGF (a), TGF- β (b), BRDU (c) ve Apoptag (d) ile boyanma patternleri.



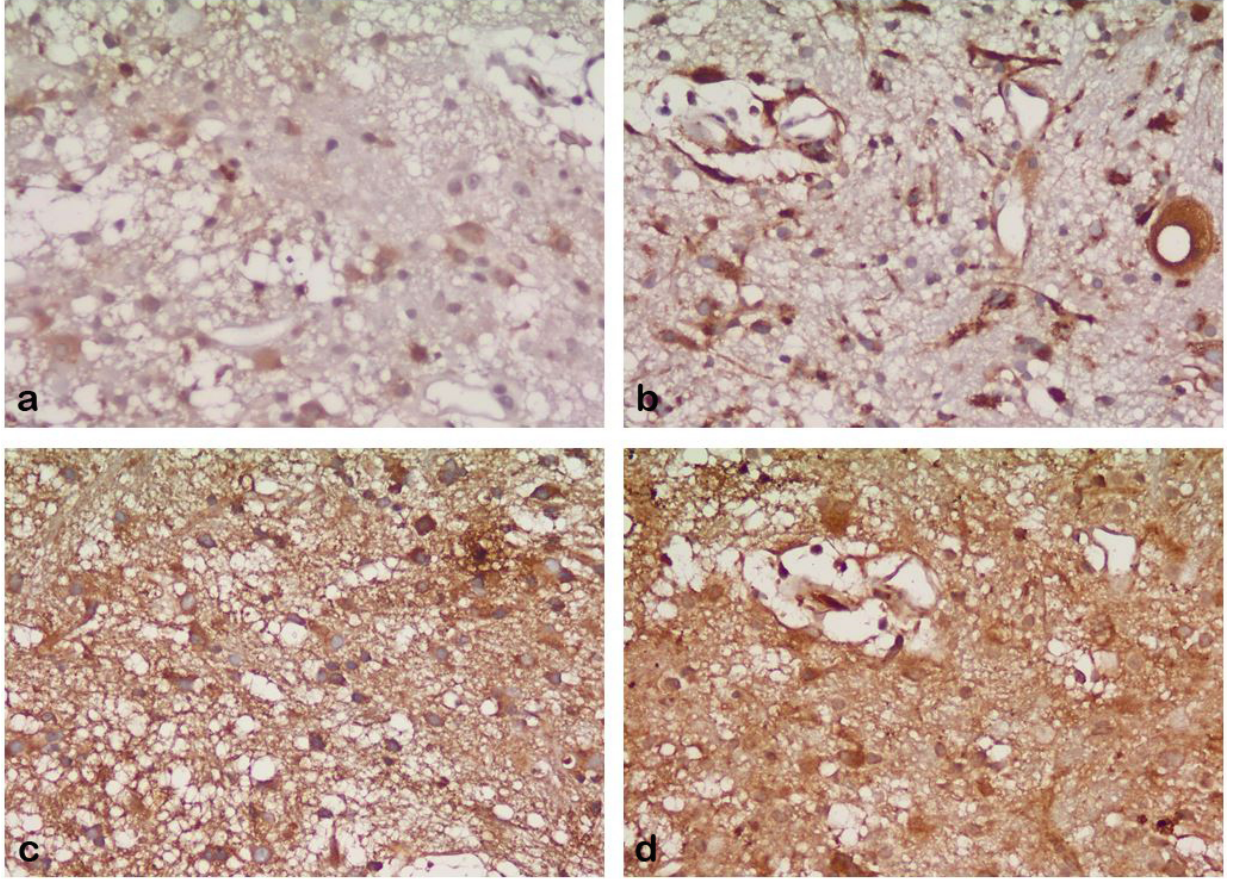
Şekil 7 Profilaktik olarak E vitamini uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 200 büyütmede (b) ve 400 büyütmede (c) gösterilmesi. Nekroz komşuluğundaki alanın HIF-1 α ile boyanma patterni (d).



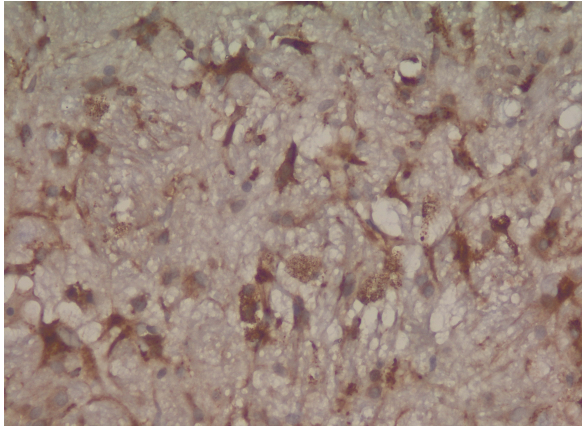
Şekil 8 Profilaktik olarak E vitamini uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede VEGF (e), TGF- β (f), BRDU (g) ve Apoptag (h) ile boyanma patternleri.



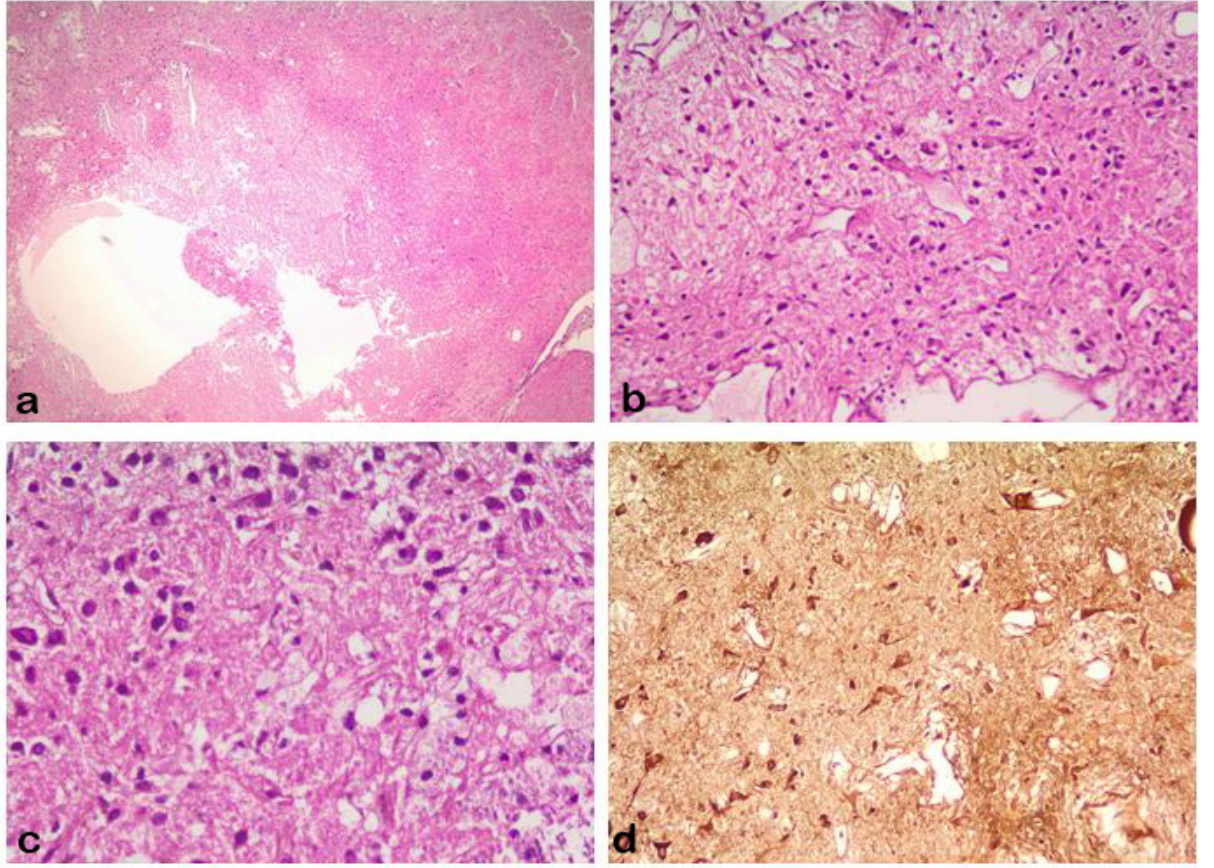
Şekil 9 Terapötik olarak E vitamini uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 100 büyütmede (b), 200 büyütme (c) ve 400 büyütmede (d) gösterilmesi. Damarlardaki yoğun fibrinoid nekroz (b).



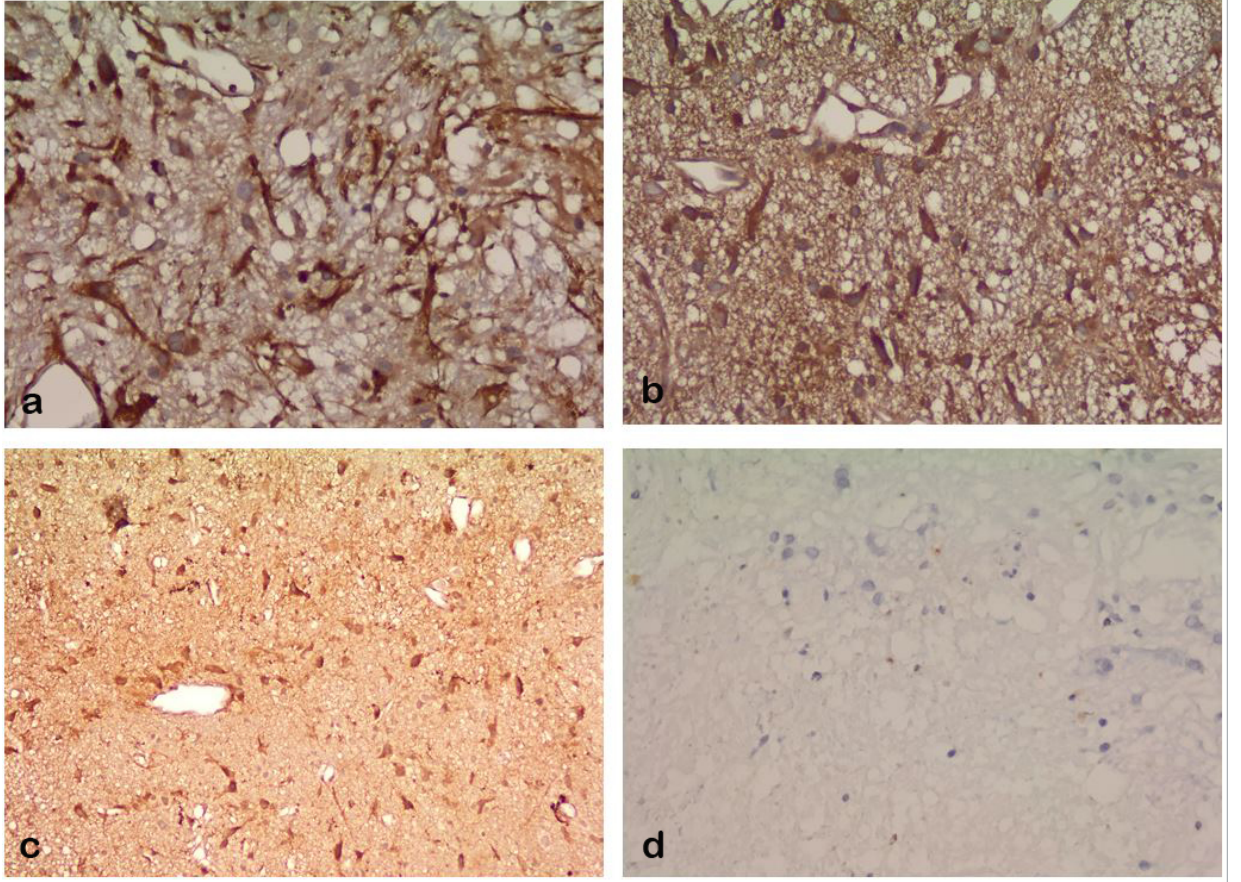
Şekil 10 Terapötik olarak E vitamini uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede HIF-1 α (a), VEGF (b), TGF- β (c) ve BRDU (d) ile boyanma patternleri.



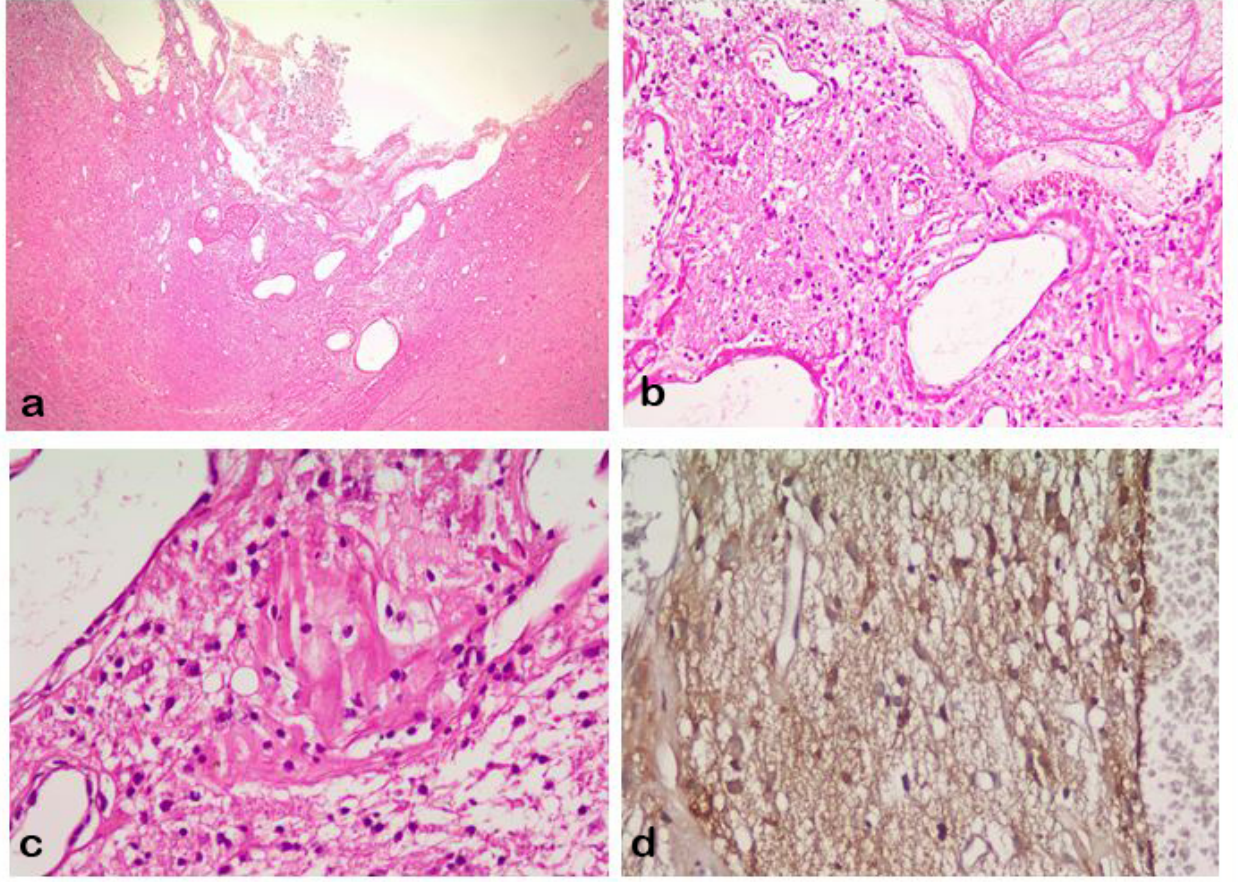
Şekil 11 Terapötik olarak E vitamini uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede Apoptag ile boyanma patterni.



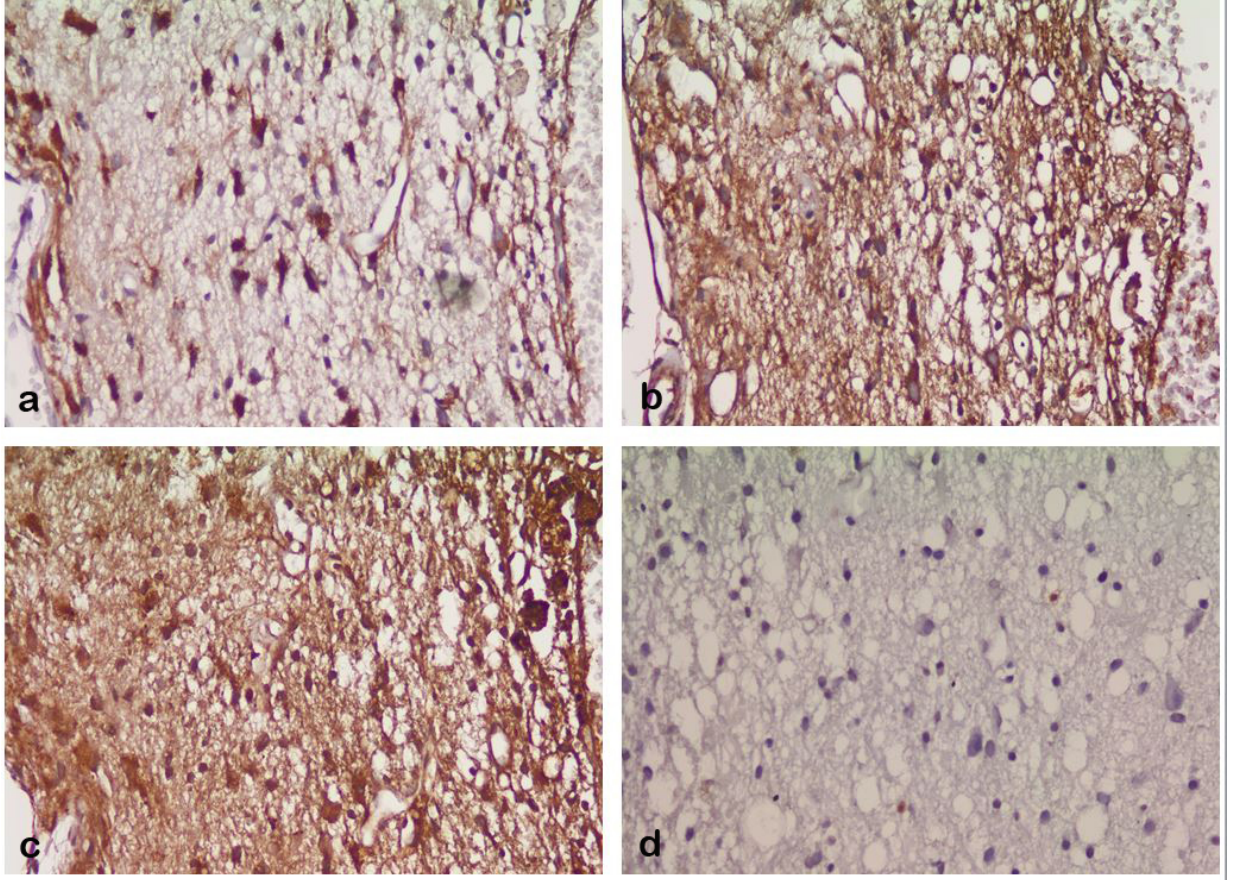
Şekil 12 Profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 200 büyütmede (b) ve 400 büyütmede (c) gösterilmesi. Nekroz komşuluğundaki alanın HIF-1 α ile boyanma patterni (d).



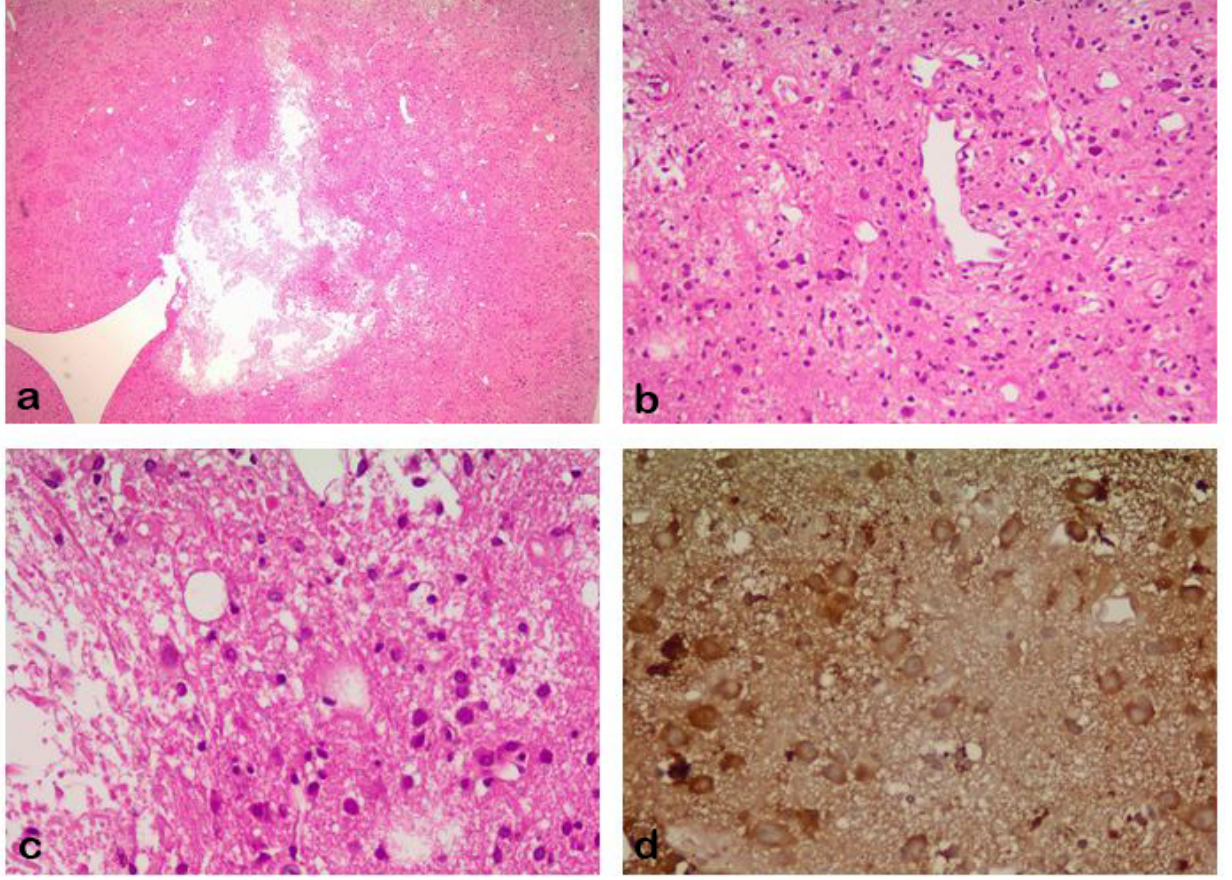
Şekil 13 Profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede VEGF (a), TGF- β (b), BRDU (c) ve Apoptag (d) ile boyanma patternleri.



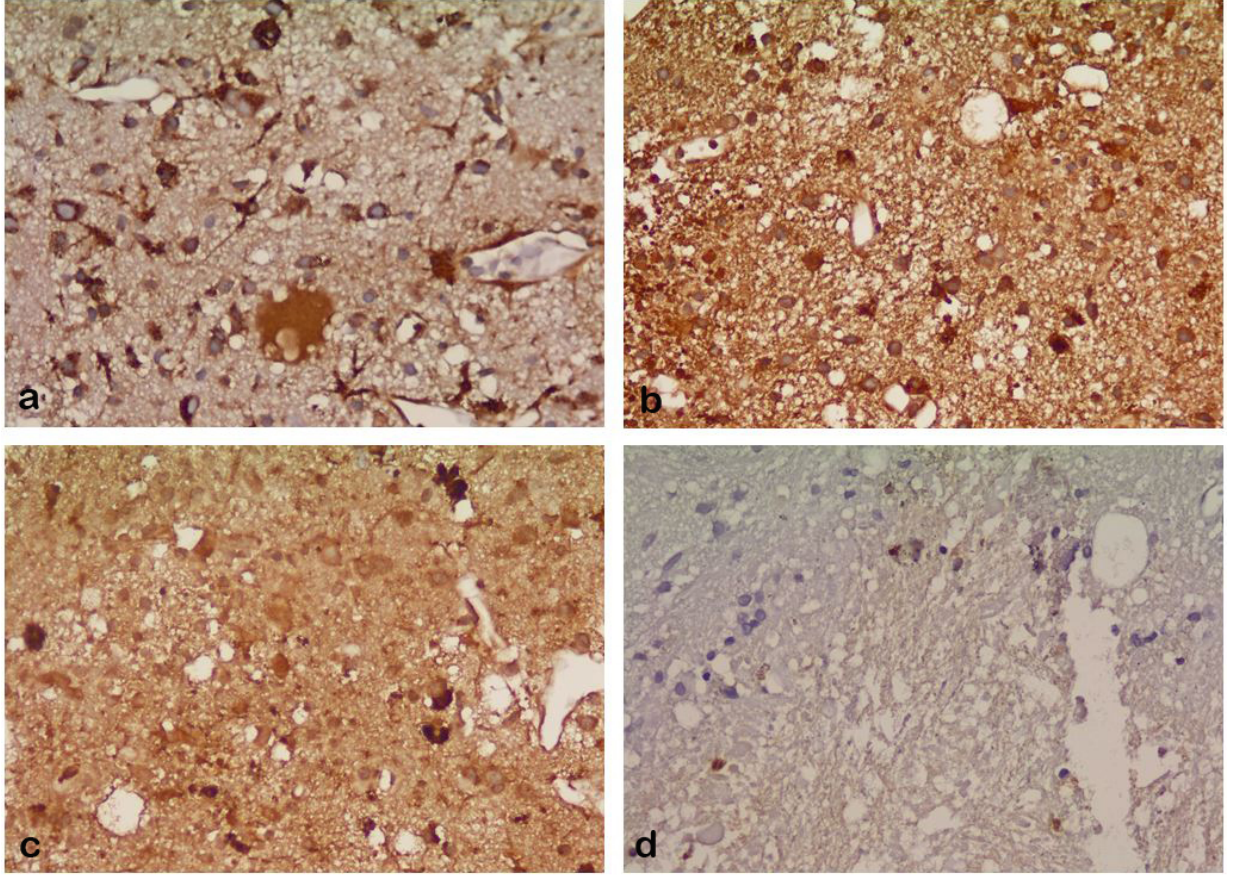
Şekil 14 Terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 200 büyütmede (b) ve 400 büyütmede (c) gösterilmesi. Nekroz komşuluğundaki alanın HIF-1 α ile boyanma patterni (d).



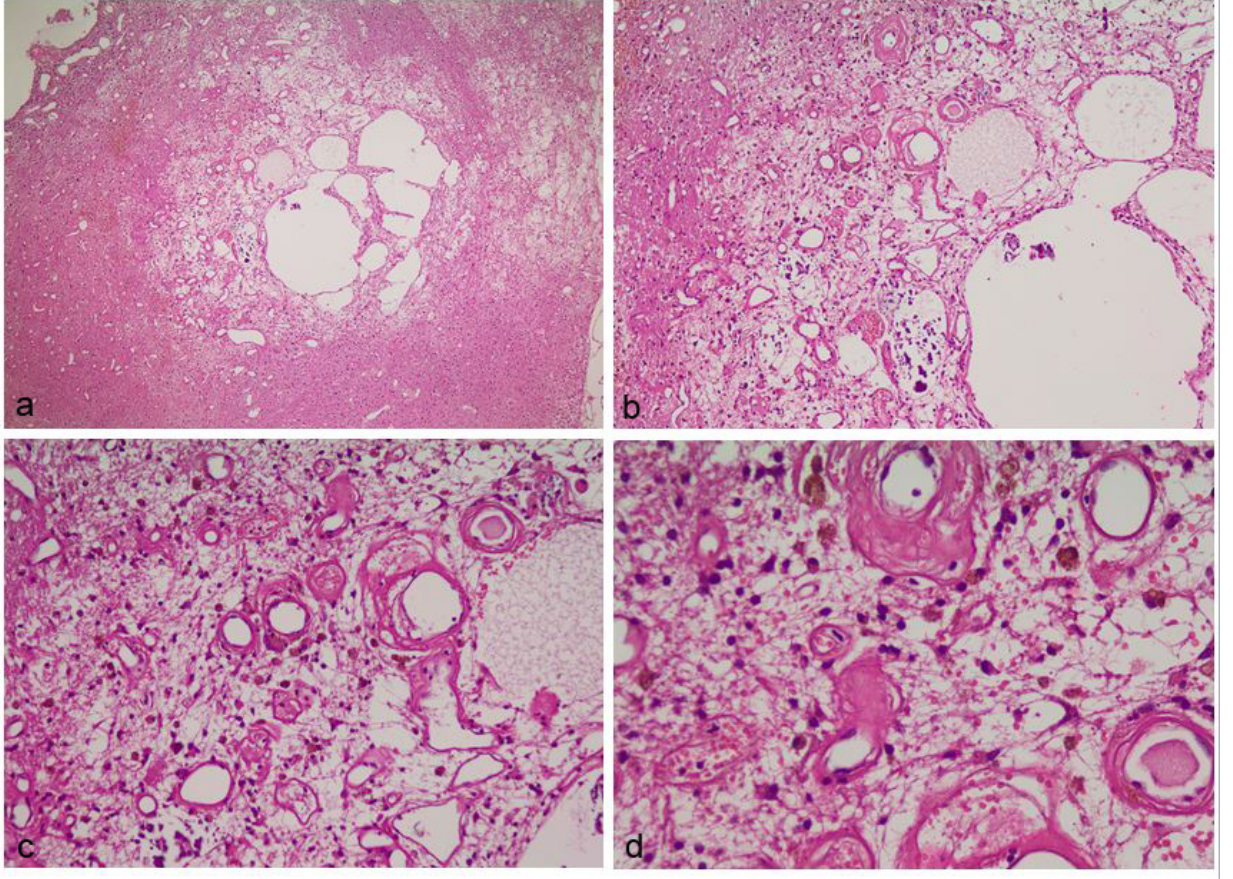
Şekil 15 Terapötik pentoksifilin uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede VEGF (a), TGF- β (b), BRDU (c) ve Apoptag (d) ile boyanma patternleri.



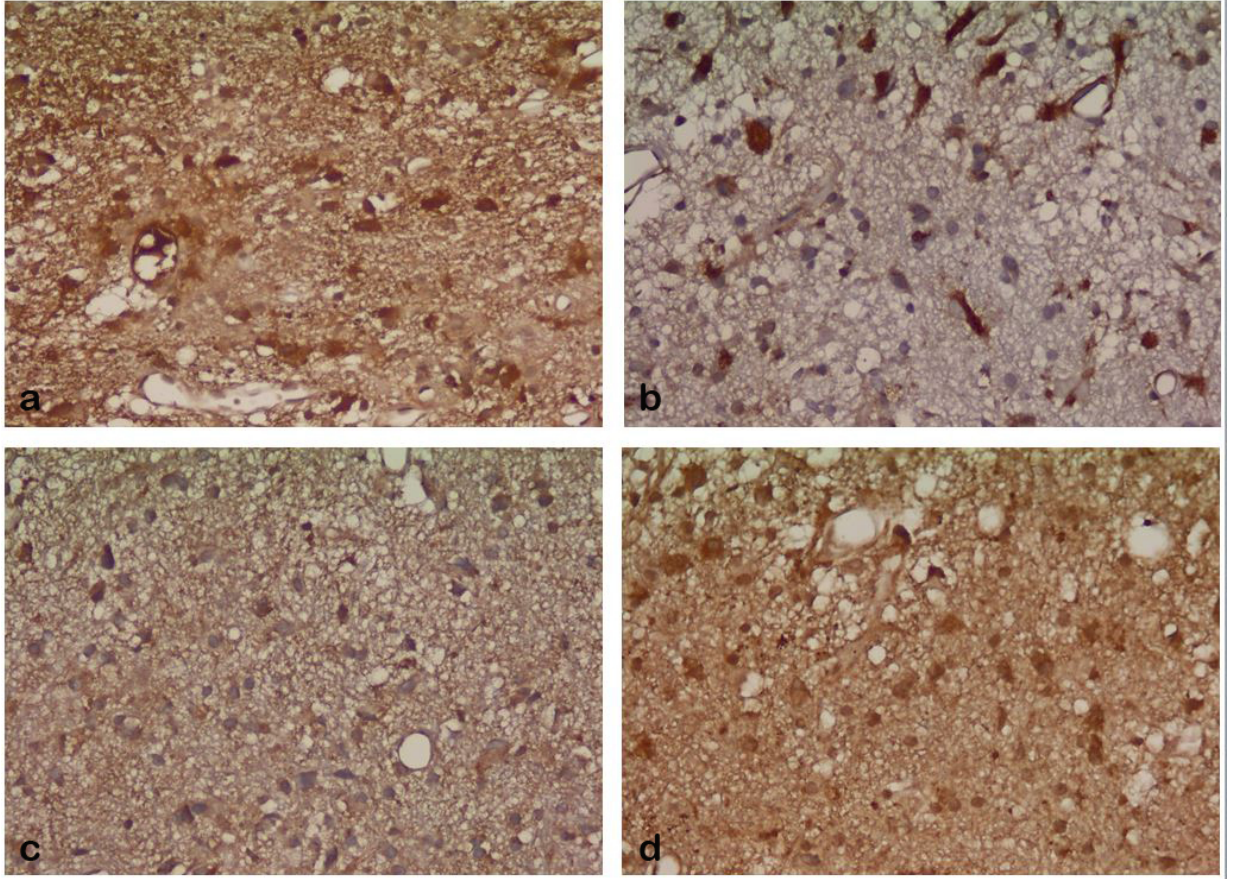
Şekil 16 Profilaktik olarak E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 200 büyütmede (b) ve 400 büyütmede (c) gösterilmesi. Nekroz komşuluğundaki alanın HIF-1 α ile boyanma patterni (d).



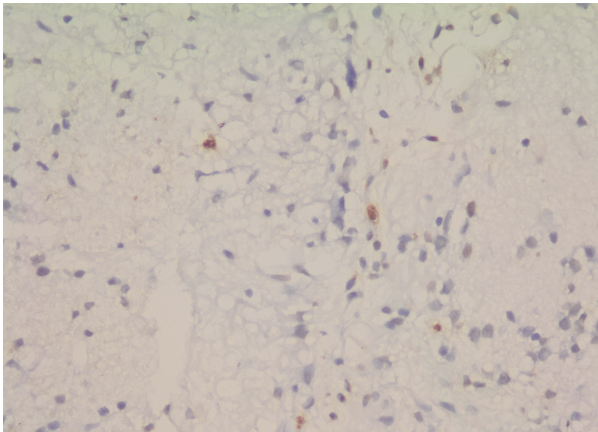
Şekil 17 Profilaktik olarak E vitamin ve pentoksifilin uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede VEGF (a), TGF- β (b), BRDU (c) ve Apoptag (d) ile boyanma patternleri.



Şekil 18 Terapötik olarak E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruba ait nekrotik ve nekroz komşuluğundaki alanın 40 büyütmede (a), 100 büyütmede (b), 200 büyütme (c) ve 400 büyütmede (d) gösterilmesi. Nekroz koçşuluğunda kalsifikasyon alanları (b,c).



Şekil 19 Terapötik olarak E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede HIF-1 α (a), VEGF (b), TGF- β (c) ve BRDU (d) ile boyanma patternleri.



Şekil 20 Terapötik olarak E vitamini ve pentoksifilin uygulanan gruba ait nekroz komşuluğundaki alanın 400 büyütmede Apoptag ile boyanma patterni.

5.TARTIŞMA:

Radyasyon Nekrozu (RN) SSS ışınlanmasını takiben erken ya da geç dönemde ortaya çıkıp tedavi gerektirecek düzeyde morbidite ve mortaliteye sebep olabilen bir durumdur. Yapılan çeşitli çalışmalarda tedavi amaçlı heparin, warfarin, pentoksifilin, E vitamini, bevasizumab, steroidler ve hiperbarik oksijen tedavisi tek başlarına ya da kombinasyonlar halinde denenmiştir (42,104,105,106,108,113,114,116,117).

Stereotaktik radyocerrahi günümüzde sıklıkla kullanılan bir tedavi şekli olup artan hasta sayısı ile beraber radyasyona bağlı komplikasyonların görülme miktarı da yükselmektedir. Bu olgularda profilaktik (nekrozu önleme amacıyla) veya teröpatik (nekroz sonrası) uygulanabilecek kanıta dayalı bir tedavi protokolü bulunmamaktadır.

Delanian(117) ve arkadaşlarının da daha önceki çalışmalarda belirttiği gibi pentoksifilin ve E vitamininin kombine kullanımı radyasyona sekonder gelişen etkileri geri döndürmekte faydalı olduğu düşünülmektedir. Pentoksifilinin eritrositlerin fleksibilitesini artırarak kanın viskozitesini azalttığı ve küçük damarlarda kan dolaşımını artırarak hipoksiye karşı koruma sağladığı, E vitamininin ise antioksidan özelliği ile serbest radikalleri nötralize ederek doku hasarını önleme yoluyla etki ettiği bildirilmiştir(114,116). Kliniğimizde de kullanılan pentoksifilin ve E vitamini kombinasyonunun radyasyon nekrozu üzerine etkisini araştırmak için bu çalışma planlandı.

Doz ve izlem süresiyle ilgili olarak yapılan literatür araştırmasında Hideghéty(125) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 120 Gy verilen sıçanlarda 4 haftada, 70 Gy ve fazlasının uygulandığı sıçanlarda 8 haftada ve 40-60 Gy arası doz verilen sıçanlarda 12 hafta sonra RN oluştuğu gösterilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak çalışmada uygulanacak doz %50 izodoz alana 50 Gy olarak belirlenmiştir.

Deney sonunda tüm deneklere MR görüntülemesi yapıldı ve hepsinde radyasyon nekrozu geliştiği görüldü. Denekler MR incelemesini takiben dekapite edilerek konvansiyonel histopatolojik ve immünhistokimyasal incelemelere alındı.

Hematoksilen ve Eosin incelemesi sırasında tüm deneklerde radyolojik bulgular ile uyumlu olarak radyasyon nekrozu izlendi. Genel bulgular olarak nekroz alanı çevresinde histiyosit infiltrasyonu, vasküler yapılarda fibrinoid nekroz ve telenjiaktaizler, çevre dokuda reaktif astrogliazis ve damarlanmadaki artış gruplar arasında karşılaştırıldı(127). Çalışma öncesi beklentimiz tedavi gruplarında kontrol grubuna göre nekroz alanında ve inflamatuvar süreçlerde, nekroz belirteçleri ve damarlanmada azalma olmasıydı. Tüm gruplar arasındaki karşılaştırmalarda nekroz alanının genişliğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Histiyosit yoğunlukları açısından yapılan karşılaştırmada da gruplar arasında fark yoktu. Reaktif astrogliazis gelişiminde, profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan, terapötik olarak pentoksifilin uygulanan ve profilaktik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda beklenenin aksine anlamlı bir artış saptandı.

Fibrinoid nekroz gelişimi ve damarlanma açısından anlamlı fark yokken nekroza bağlı kist gelişimi profilaktik olarak pentoksifilin ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda anlamlı bir azalma gösterdi.

Kamiryo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada nekrozun şiddeti arttıkça histiyosit yoğunluğunda bir artma da eş zamanlı olarak gösterilmiş (128). Bu ve benzer çalışmalara bakarak argümanımız histiyosit infiltrasyonu ve reaktif astrogliaziste azalma olmasıydı ancak literatür bulgularıyla genel anlamda uyum göstermeyen bu bulgular ışık mikroskopisi düzeyinde doku değişiklikleri açısından pentoksifilin ve E vitaminin nekroz gelişiminde ve tedavisinde özellikle inflamatuvar süreçlerin (histiyosit infiltrasyonu, astrogliazis gelişimi) engellenmesinde yeterli etkiye sahip olmadığı şeklinde yorumlandı.

Radyasyon nekrozunun gelişmesinde vasküler hasara sekonder gelişen hipoksinin nekrotik süreci hızlandırdığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiş (40, 129) Nonoguchi ve arkadaşlarının (51) yaptığı bir çalışmada radyasyon nekrozu sebebiyle opere edilen hastalardan alınan dokularda perinekrozal alanda normal doku ile karşılaştırıldığında yoğun miktarda HIF-1 α ve VEGF upregülasyonu gösterilmiş ve bu iki molekülün birlikte radyasyon

nekrozun klinik bulgularından sorumlu olduğu düşünülmüştür. Hipoksi HIF-1 α 'nın HIF-1 α ise VEGF'in upregülasyonuna sebep olmaktadır. VEGF ortamdaki patolojik anjiogenez gelişimine ve vasküler permeabiliteyi artırarak lezyon çevresindeki ödem ve kontrastlanma paterninin artmasına neden olmaktadır.

Gruplar arası farkları değerlendirdiğimizde HIF-1 α yoğunluğunun, terapötik olarak E vitamini uygulanan, profilaktik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan ve terapötik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda anlamlı derecede azaldığı görüldü. Benzer şekilde VEGF yoğunluğu da terapötik olarak E vitamini uygulanan ve profilaktik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda daha az olarak gösterildi.

Gruplar arası yapılan karşılaştırmada perinekrotik alanda VEGF ile boyanan hücre sayısının terapötik olarak pentoksifilin uygulanan grupta anlamlı olarak azaldığını görüyoruz. Benzer olarak kontrastlanma patterni açısından da terapötik olarak pentoksifilin uygulanan grupta kontrastlanmada azalma izlenmiştir. Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde E vitamini ve pentoksifilin HIF-1 α ve VEGF yolu üzerinden ortaya çıkan permeabilite artışını azalttığı düşünülmüştür. Yine nekroz ve perinekrotik alanda HIF-1 α ve VEGF ekspresyonunun tedavi ve profilaksi gruplarında azalmış olması bu gruplarda radyasyona bağlı hipoksi gelişiminin azaldığı ve adı geçen moleküllerin upregülasyonun engellenebildiği şeklinde yorumlanmıştır. Grupların radyolojik incelemesini de değerlendirecek olursak profilaktik olarak E vitamini uygulanan, terapötik olarak E vitamini uygulanan ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda kontrastlanma patternlerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında yoğunlukta bir azalma göze çarpmaktadır.

Prolifere olan astrositlerden ve makrofajlardan salgılanan TGF- β 'nın vasküler endotel proliferasyonuna ve kan-beyin-bariyeri yıkımına sebep olduğu Kim ve arkadaşları(99) tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda gruplar arası yapılan karşılaştırma sonucunda nekroz alanında terapötik olarak pentoksifilin uygulanan, terapötik olarak E vitamini uygulanan ve terapötik olarak pentoksifilin ve E vitamini uygulanan gruplarda

TGF- β yoğunluğunun azaldığı bulunmuştur. Radyolojik incelemeler ile birlikte değerlendirildiğinde terapötik olarak pentoksifilin uygulanan ve terapötik olarak E vitamini uygulanan gruplarda kontrastlanma patternlerinin de azalması bu bulguyu destekleyici nitelikte olarak yorumlanmıştır. Terapotik pentoksifilin ve terapotik E vitamini uygulanan gruplarda BRDU yoğunluğunun da anlamlı derecede azalmış olması alanda genel anlamda S fazında hücre sayısının azaldığını düşündürmüştür. Bu bulgu özellikle angiogenez ve inflamatuvar süreçlerin baskılanmış olduğu şeklinde yorumlansa da tedavi gruplarında H&E çalışmasında reaktif astrogliozis artışının gösterilmiş olması BRDU ekspresyonu ile çelişki oluşturmuştur.

Daha önce de bahsedildiği gibi radyasyonun direkt ya da indirekt etkisi sonuç olarak hücrelerin DNA yapısına zarar vermekte ve hücreleri apoptoza sürükleyerek lezyonun tedavisine yardımcı olmaktadır. Komşu dokular için de aynı mekanizma sözkonusu olduğu için radyasyonun istemediğimiz etkileri ortaya çıkmaktadır. Ancak Kudo ve arkadaşlarının(130) yaptıkları çalışmalarda gösterdikleri gibi hücrelerin türlerine göre radyosensitivitesi/rezistansı de/da farklılık göstermektedir. Erişkin nöronal hücrelerin çoğalabilme yeteneklerinin olmadığı kabul edilerek radyasyondan direkt olarak etkilenmelerini beklemiyoruz. Ancak glial ve vasküler hasar teorilerinde de bahsedildiği üzere çoğalabilme yeteneği olan glial ve vasküler hücreler üzerinde radyasyonun yarattığı etkilere ikincil olarak uzun dönemde nöronal kayıp gelişebilmektedir. Çalışmamızda apoptoza giden hücreleri tespit ederek radyasyondan ne derecede etkilendiklerini göstermeye çalıştık. Apoptoz için yapılan değerlendirme sonucunda nekroz komşuluğundaki alanda boyanan hücre sayıları açısından yapılan karşılaştırma sonucunda profilaktik olarak pentoksifilin uygulanan ve terapötik olarak pentoksifilin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak anlamlı sonuçların çıkması bize bu preparatın tek başına profilaksi gerektirmeksizin radyasyon indüklü apoptoz üzerine negatif etki gösterebildiğine dair bir bulgu sunmuştur. Ancak çalışmamızda pia ve ependimdeki apoptoz artışı bu bulgu ile çelişmekte olup özellikle ependimde farklı bir mekanizma üzerinden apoptozun indüklenme ihtimalini düşündürmektedir. Sonuç olarak profilaksi ve tedavi

gruplarında kullanılan pentoksifilin ve E vitamininin moleküler düzeyde radyasyona sekonder hipoksi gelişimi ve buna bağlı patolojik süreçleri baskıladığı(VEGF, HIF-1 α ,TGF- β) ancak inflamatuvar yollar ve farklı mekanizmalarla oluşabilecek hasar üzerinde yeterli derecede etkili olmadığı(BRDU, apoptoz) mikroskopik ve makroskopik düzeyde (nekroz alanı ve H&E'de nekroz belirteçleri, radyolojik nekroz alanı) ise belirgin yararının gösterilemediği düşünülmüştür. Hipoksi üzerinden işleyen mekanizmaların baskılanmasına rağmen nekroz gelişiminde makroskopik düzeyde fark olmaması, hipoksinin farklı yollar aracılığıyla da etken olabildiğini ve/veya vasküler hasar dışındaki patofizyolojik süreçlerin de nekroz gelişiminde çok etkili olabileceğini göstermiştir.

6.SONUÇ:

Sonuç olarak E vitamini ve pentoksifilin profilaksi gerektirmeksizin ve kombine uygulamalarından bağımsız olarak vasküler hasar teorisinde belirtilen yollar üzerinden radyasyon nekrozunun gelişmesini sınırlayarak radyolojik ve immünohistokimyasal açıdan anlamlı fark yarattığı gösterilmiştir.

7.KAYNAKLAR:

1. Leksell L. The stereotaxic method and radiosurgery of the brain. Acta Chir Scand. 1951;102(4):316-9. PubMed PMID: 14914373.
2. Leksell L. Cerebral radiosurgery. I. Gammathalanotomy in two cases of intractable pain. Acta Chir Scand. 1968;134(8):585-95. PubMed PMID: 5713443.
3. Kihlstrom L, Karlsson B, Lindquist C. Gamma Knife surgery for cerebral metastases. Implications for survival based on 16 years experience. Stereotactic and functional neurosurgery. 1993;61 Suppl 1:45-50. PubMed PMID: 8115755.
4. Flickinger JC, Kondziolka D, Lunsford LD, Coffey RJ, Goodman ML, Shaw EG, et al. A multi-institutional experience with stereotactic radiosurgery for solitary brain metastasis. International journal of radiation oncology, biology, physics. 1994;28(4):797-802. PubMed PMID: 8138431.

5. Flickinger JC, Lunsford LD, Linskey ME, Duma CM, Kondziolka D. Gamma knife radiosurgery for acoustic tumors: multivariate analysis of four year results. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 1993;27(2):91-8. PubMed PMID: 8356233.
6. Kondziolka D, Lunsford LD. Radiosurgery of meningiomas. *Neurosurgery clinics of North America*. 1992;3(1):219-30. PubMed PMID: 1633448.
7. Fleetwood IG, Steinberg GK. Arteriovenous malformations. *Lancet*. 2002;359(9309):863-73. doi: 10.1016/S0140-6736(02)07946-1. PubMed PMID: 11897302.
8. Ogilvy CS. Radiation therapy for arteriovenous malformations: a review. *Neurosurgery*. 1990;26(5):725-35. PubMed PMID: 2191236.
9. Schneider BF, Eberhard DA, Steiner LE. Histopathology of arteriovenous malformations after gamma knife radiosurgery. *J Neurosurg*. 1997;87(3):352-7. doi: 10.3171/jns.1997.87.3.0352. PubMed PMID: 9285598.
10. Szeifert GT, Kemeny AA, Timperley WR, Forster DM. The potential role of myofibroblasts in the obliteration of arteriovenous malformations after radiosurgery. *Neurosurgery*. 1997;40(1):61-5; discussion 5-6. PubMed PMID: 8971825.
11. Yamamoto M, Jimbo M, Hara M, Saito I, Mori K. Gamma knife radiosurgery for arteriovenous malformations: long-term follow-up results focusing on complications occurring more than 5 years after irradiation. *Neurosurgery*. 1996;38(5):906-14. PubMed PMID: 8727815.
12. Kramer S. Proceedings: Radiation therapy in the management of malignant gliomas. *Proceedings National Cancer Conference*. 1972;7:823-6. PubMed PMID: 4764939.
13. Rand RW, Khonsary A, Brown WJ, Winter J, Snow HD. Leksell stereotactic radiosurgery in the treatment of eye melanoma. *Neurological research*. 1987;9(2):142-6. PubMed PMID: 2886944.
14. Walton L, Bomford CK, Ramsden D. The Sheffield stereotactic radiosurgery unit: physical characteristics and principles of operation. *The British journal of radiology*. 1987;60(717):897-906. PubMed PMID: 3311273.

15. Lunsford LD, Flickinger J, Lindner G, Maitz A. Stereotactic radiosurgery of the brain using the first United States 201 cobalt-60 source gamma knife. *Neurosurgery*. 1989;24(2):151-9. PubMed PMID: 2645538.
16. Larsson B, Leksell L, Rexed B, Sourander P, Mair W, Andersson B. The high-energy proton beam as a neurosurgical tool. *Nature*. 1958;182(4644):1222-3. PubMed PMID: 13590280.
17. Flickinger JC. An integrated logistic formula for prediction of complications from radiosurgery. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1989;17(4):879-85. PubMed PMID: 2777680.
18. Kjellberg RN, Hanamura T, Davis KR, Lyons SL, Adams RD. Bragg-peak proton-beam therapy for arteriovenous malformations of the brain. *The New England journal of medicine*. 1983;309(5):269-74. doi: 10.1056/NEJM198308043090503. PubMed PMID: 6306463.
19. Loeffler JS, Alexander E, 3rd, Siddon RL, Saunders WM, Coleman CN, Winston KR. Stereotactic radiosurgery for intracranial arteriovenous malformations using a standard linear accelerator. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1989;17(3):673-7. PubMed PMID: 2674079.
20. Rahmathulla G, Marko NF, Weil RJ. Cerebral radiation necrosis: a review of the pathobiology, diagnosis and management considerations. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2013;20(4):485-502. doi: 10.1016/j.jocn.2012.09.011. PubMed PMID: 23416129.
21. Giglio P, Gilbert MR. Cerebral radiation necrosis. *The neurologist*. 2003;9(4):180-8. doi: 10.1097/01.nrl.0000080951.78533.c4. PubMed PMID: 12864928.
22. Happold C, Ernemann U, Roth P, Wick W, Weller M, Schmidt F. Anticoagulation for radiation-induced neurotoxicity revisited. *Journal of neuro-oncology*. 2008;90(3):357-62. doi: 10.1007/s11060-008-9674-6. PubMed PMID: 18716713.

23. Behin A, Delattre JY. Complications of radiation therapy on the brain and spinal cord. *Seminars in neurology*. 2004;24(4):405-17. doi: 10.1055/s-2004-861535. PubMed PMID: 15637652.
24. Eyster EF, Nielsen SL, Sheline GE, Wilson CB. Cerebral radiation necrosis simulating a brain tumor. Case report. *J Neurosurg*. 1974;40(2):267-71. doi: 10.3171/jns.1974.40.2.0267. PubMed PMID: 4203210.
25. Lowenberg-Scharenberg K, Bassett RC. Amyloid degeneration of the human brain following X-ray therapy. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 1950;9(1):93-102, illust. PubMed PMID: 15409270.
26. Burger PC, Mahley MS, Jr., Dudka L, Vogel FS. The morphologic effects of radiation administered therapeutically for intracranial gliomas: a postmortem study of 25 cases. *Cancer*. 1979;44(4):1256-72. PubMed PMID: 387205.
27. Sundaresan N, Galicich JH, Deck MD, Tomita T. Radiation necrosis after treatment of solitary intracranial metastases. *Neurosurgery*. 1981;8(3):329-33. PubMed PMID: 7242882.
28. Pennybacker J, Russell DS. Necrosis of the brain due to radiation therapy; clinical and pathological observations. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1948;11(3):183-98. PubMed PMID: 18878024; PubMed Central PMCID: PMC497113.
29. Sheline GE, Wara WM, Smith V. Therapeutic irradiation and brain injury. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1980;6(9):1215-28. PubMed PMID: 7007303.
30. Hoshi M, Hayashi T, Kagami H, Murase I, Nakatsukasa M. Late bilateral temporal lobe necrosis after conventional radiotherapy. *Neurologia medico-chirurgica*. 2003;43(4):213-6. PubMed PMID: 12760503.
31. Coghlan KM, Magennis P. Cerebral radionecrosis following the treatment of parotid tumours: a case report and review of the literature. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. 1999;28(1):50-2. PubMed PMID: 10065650.
32. Rottenberg DA, Chernik NL, Deck MD, Ellis F, Posner JB. Cerebral necrosis following radiotherapy of extracranial neoplasms. *Annals of neurology*. 1977;1(4):339-57. doi: 10.1002/ana.410010406. PubMed PMID: 281189.

33. Rottenberg DA, Horten B, Kim JH, Posner JB. Progressive white matter destruction following irradiation of an extracranial neoplasm. *Annals of neurology*. 1980;8(1):76-8. doi: 10.1002/ana.410080114. PubMed PMID: 7406448.
34. Kramer S. The hazards of therapeutic irradiation of the central nervous system. *Clinical neurosurgery*. 1968;15:301-18. PubMed PMID: 5001546.
35. Marks JE, Baglan RJ, Prasad SC, Blank WF. Cerebral radionecrosis: incidence and risk in relation to dose, time, fractionation and volume. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1981;7(2):243-52. PubMed PMID: 6260715.
36. Bayrakli F, Dincer A, Sav A, Vardareli E, Peker S. Late brain stem radionecrosis seventeen years after fractionated radiotherapy. *Turkish neurosurgery*. 2009;19(2):182-5. PubMed PMID: 19431132.
37. Hoefnagels FW, Lagerwaard FJ, Sanchez E, Haasbeek CJ, Knol DL, Slotman BJ, et al. Radiological progression of cerebral metastases after radiosurgery: assessment of perfusion MRI for differentiating between necrosis and recurrence. *Journal of neurology*. 2009;256(6):878-87. doi: 10.1007/s00415-009-5034-5. PubMed PMID: 19274425; PubMed Central PMCID: PMC2698975.
38. Lawrence YR, Li XA, el Naqa I, Hahn CA, Marks LB, Merchant TE, et al. Radiation dose-volume effects in the brain. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2010;76(3 Suppl):S20-7. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.02.091. PubMed PMID: 20171513; PubMed Central PMCID: PMC3554255.
39. Kay HE, Knapton PJ, O'Sullivan JP, Wells DG, Harris RF, Innes EM, et al. Encephalopathy in acute leukaemia associated with methotrexate therapy. *Archives of disease in childhood*. 1972;47(253):344-54. PubMed PMID: 4504035; PubMed Central PMCID: PMC1648136.
40. Li YQ, Chen P, Jain V, Reilly RM, Wong CS. Early radiation-induced endothelial cell loss and blood-spinal cord barrier breakdown in the rat spinal cord. *Radiation research*. 2004;161(2):143-52. PubMed PMID: 14731076.

41. Brown WR, Thore CR, Moody DM, Robbins ME, Wheeler KT. Vascular damage after fractionated whole-brain irradiation in rats. *Radiation research*. 2005;164(5):662-8. PubMed PMID: 16238444.
42. Pena LA, Fuks Z, Kolesnick RN. Radiation-induced apoptosis of endothelial cells in the murine central nervous system: protection by fibroblast growth factor and sphingomyelinase deficiency. *Cancer research*. 2000;60(2):321-7. PubMed PMID: 10667583.
43. Glantz MJ, Burger PC, Friedman AH, Radtke RA, Massey EW, Schold SC, Jr. Treatment of radiation-induced nervous system injury with heparin and warfarin. *Neurology*. 1994;44(11):2020-7. PubMed PMID: 7969953.
44. Daigle JL, Hong JH, Chiang CS, McBride WH. The role of tumor necrosis factor signaling pathways in the response of murine brain to irradiation. *Cancer research*. 2001;61(24):8859-65. PubMed PMID: 11751409.
45. Nordal RA, Nagy A, Pintilie M, Wong CS. Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 target genes in central nervous system radiation injury: a role for vascular endothelial growth factor. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2004;10(10):3342-53. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0426. PubMed PMID: 15161688.
46. Nordal RA, Wong CS. Intercellular adhesion molecule-1 and blood-spinal cord barrier disruption in central nervous system radiation injury. *Journal of neuropathology and experimental neurology*. 2004;63(5):474-83. PubMed PMID: 15198126.
47. Baker DG, Krochak RJ. The response of the microvascular system to radiation: a review. *Cancer investigation*. 1989;7(3):287-94. PubMed PMID: 2477120.
48. Remler MP, Marcussen WH, Tiller-Borsich J. The late effects of radiation on the blood brain barrier. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1986;12(11):1965-9. PubMed PMID: 3771316.
49. Fajardo LF, Berthrong M. Vascular lesions following radiation. *Pathology annual*. 1988;23 Pt 1:297-330. PubMed PMID: 3387138.
50. Cross NE, Glantz MJ. Neurologic complications of radiation therapy. *Neurologic clinics*. 2003;21(1):249-77. PubMed PMID: 12690652.

51. Nonoguchi N, Miyatake S, Fukumoto M, Furuse M, Hiramatsu R, Kawabata S, et al. The distribution of vascular endothelial growth factor-producing cells in clinical radiation necrosis of the brain: pathological consideration of their potential roles. *Journal of neuro-oncology*. 2011;105(2):423-31. doi: 10.1007/s11060-011-0610-9. PubMed PMID: 21688077.
52. Panagiotakos G, Alshamy G, Chan B, Abrams R, Greenberg E, Saxena A, et al. Long-term impact of radiation on the stem cell and oligodendrocyte precursors in the brain. *PloS one*. 2007;2(7):e588. doi: 10.1371/journal.pone.0000588. PubMed PMID: 17622341; PubMed Central PMCID: PMC1913551.
53. Andreassen CN, Alsner J, Overgaard J. Does variability in normal tissue reactions after radiotherapy have a genetic basis--where and how to look for it? *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2002;64(2):131-40. PubMed PMID: 12242122.
54. Gehrig J, Hacki WH, Schulthess HK, Reinisch E, Kunz J, Stamm B. [Radiation proctocolitis following gynecologic radiotherapy: an endoscopic study]. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 1987;117(36):1326-32. PubMed PMID: 3659878.
55. Lawton CA, Won M, Pilepich MV, Asbell SO, Shipley WU, Hanks GE, et al. Long-term treatment sequelae following external beam irradiation for adenocarcinoma of the prostate: analysis of RTOG studies 7506 and 7706. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1991;21(4):935-9. PubMed PMID: 1917622.
56. West CM, Elliott RM, Burnet NG. The genomics revolution and radiotherapy. *Clinical oncology*. 2007;19(6):470-80. doi: 10.1016/j.clon.2007.02.016. PubMed PMID: 17419040.
57. Alter BP. Radiosensitivity in Fanconi's anemia patients. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2002;62(3):345-7. PubMed PMID: 12175566.
58. Gatti RA. The inherited basis of human radiosensitivity. *Acta oncologica*. 2001;40(6):702-11. PubMed PMID: 11765064.

59. Taylor AM, Harnden DG, Arlett CF, Harcourt SA, Lehmann AR, Stevens S, et al. Ataxia telangiectasia: a human mutation with abnormal radiation sensitivity. *Nature*. 1975;258(5534):427-9. PubMed PMID: 1196376.
60. Roberts SA, Spreadborough AR, Bulman B, Barber JB, Evans DG, Scott D. Heritability of cellular radiosensitivity: a marker of low-penetrance predisposition genes in breast cancer? *American journal of human genetics*. 1999;65(3):784-94. doi: 10.1086/302544. PubMed PMID: 10441587; PubMed Central PMCID: PMC1377987.
61. Loeffler JS, Harris JR, Dahlberg WK, Little JB. In vitro radiosensitivity of human diploid fibroblasts derived from women with unusually sensitive clinical responses to definitive radiation therapy for breast cancer. *Radiation research*. 1990;121(2):227-31. PubMed PMID: 2305041.
62. Burnet NG, Nyman J, Turesson I, Wurm R, Yarnold JR, Peacock JH. Prediction of normal-tissue tolerance to radiotherapy from in-vitro cellular radiation sensitivity. *Lancet*. 1992;339(8809):1570-1. PubMed PMID: 1351551.
63. Brock WA, Tucker SL, Geara FB, Turesson I, Wike J, Nyman J, et al. Fibroblast radiosensitivity versus acute and late normal skin responses in patients treated for breast cancer. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1995;32(5):1371-9. doi: 10.1016/0360-3016(95)00068-A. PubMed PMID: 7635777.
64. Johansen J, Bentzen SM, Overgaard J, Overgaard M. Evidence for a positive correlation between in vitro radiosensitivity of normal human skin fibroblasts and the occurrence of subcutaneous fibrosis after radiotherapy. *International journal of radiation biology*. 1994;66(4):407-12. PubMed PMID: 7930844.
65. Peacock J, Ashton A, Bliss J, Bush C, Eady J, Jackson C, et al. Cellular radiosensitivity and complication risk after curative radiotherapy. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2000;55(2):173-8. PubMed PMID: 10799729.
66. Dubray B, Pavy JJ, Giraud P, Danhier S, Cosset JM. [Predictive tests of response to radiotherapy. Assessment and perspectives in 1997]. *Cancer radiotherapie : journal de la Societe francaise de radiotherapie oncologique*. 1997;1(5):473-83. PubMed PMID: 9587380.

67. Turesson I, Nyman J, Holmberg E, Oden A. Prognostic factors for acute and late skin reactions in radiotherapy patients. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1996;36(5):1065-75. PubMed PMID: 8985028.
68. Ross JG, Hussey DH, Mayr NA, Davis CS. Acute and late reactions to radiation therapy in patients with collagen vascular diseases. *Cancer*. 1993;71(11):3744-52. PubMed PMID: 8490925.
69. Alsner J, Andreassen CN, Overgaard J. Genetic markers for prediction of normal tissue toxicity after radiotherapy. *Seminars in radiation oncology*. 2008;18(2):126-35. doi: 10.1016/j.semradonc.2007.10.004. PubMed PMID: 18314067.
70. Barnett GC, West CM, Dunning AM, Elliott RM, Coles CE, Pharoah PD, et al. Normal tissue reactions to radiotherapy: towards tailoring treatment dose by genotype. *Nature reviews Cancer*. 2009;9(2):134-42. doi: 10.1038/nrc2587. PubMed PMID: 19148183; PubMed Central PMCID: PMC2670578.
71. West CM, Barnett GC. Genetics and genomics of radiotherapy toxicity: towards prediction. *Genome medicine*. 2011;3(8):52. doi: 10.1186/gm268. PubMed PMID: 21861849; PubMed Central PMCID: PMC3238178.
72. Lunsford LD, Kondziolka D, Flickinger JC. No access surgery: the gamma knife. *Surgical technology international*. 1994;3:489-92. PubMed PMID: 21319117.
73. Flickinger JC, Kondziolka D, Lunsford LD. Clinical applications of stereotactic radiosurgery. *Cancer treatment and research*. 1998;93:283-97. PubMed PMID: 9513786.
74. Aoyama H, Shirato H, Tago M, Nakagawa K, Toyoda T, Hatano K, et al. Stereotactic radiosurgery plus whole-brain radiation therapy vs stereotactic radiosurgery alone for treatment of brain metastases: a randomized controlled trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2006;295(21):2483-91. doi: 10.1001/jama.295.21.2483. PubMed PMID: 16757720.
75. Kondziolka D, Patel A, Lunsford LD, Kassam A, Flickinger JC. Stereotactic radiosurgery plus whole brain radiotherapy versus radiotherapy alone for

- patients with multiple brain metastases. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1999;45(2):427-34. PubMed PMID: 10487566.
76. Soffietti R, Kocher M, Abacioglu UM, Villa S, Fauchon F, Baumert BG, et al. A European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial of adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation in patients with one to three brain metastases from solid tumors after surgical resection or radiosurgery: quality-of-life results. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(1):65-72. doi: 10.1200/JCO.2011.41.0639. PubMed PMID: 23213105.
77. Andrews DW, Scott CB, Sperduto PW, Flanders AE, Gaspar LE, Schell MC, et al. Whole brain radiation therapy with or without stereotactic radiosurgery boost for patients with one to three brain metastases: phase III results of the RTOG 9508 randomised trial. *Lancet*. 2004;363(9422):1665-72. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16250-8. PubMed PMID: 15158627.
78. Suh JH. Stereotactic radiosurgery for the management of brain metastases. *The New England journal of medicine*. 2010;362(12):1119-27. doi: 10.1056/NEJMct0806951. PubMed PMID: 20335588.
79. Oppenheimer JH, Levy ML, Sinha U, el-Kadi H, Apuzzo ML, Luxton G, et al. Radionecrosis secondary to interstitial brachytherapy: correlation of magnetic resonance imaging and histopathology. *Neurosurgery*. 1992;31(2):336-43. PubMed PMID: 1513439.
80. Flickinger JC, Lunsford LD, Kondziolka D, Maitz AH, Epstein AH, Simons SR, et al. Radiosurgery and brain tolerance: an analysis of neurodiagnostic imaging changes after gamma knife radiosurgery for arteriovenous malformations. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1992;23(1):19-26. PubMed PMID: 1572817.
81. Voges J, Treuer H, Lehrke R, Kocher M, Staar S, Muller RP, et al. Risk analysis of LINAC radiosurgery in patients with arteriovenous malformation (AVM). *Acta neurochirurgica Supplement*. 1997;68:118-23. PubMed PMID: 9233426.
82. Blonigen BJ, Steinmetz RD, Levin L, Lamba MA, Warnick RE, Breneman JC. Irradiated volume as a predictor of brain radionecrosis after linear accelerator

stereotactic radiosurgery. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2010;77(4):996-1001. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.006. PubMed PMID: 19783374.

83. Nedzi LA, Kooy H, Alexander E, 3rd, Gelman RS, Loeffler JS. Variables associated with the development of complications from radiosurgery of intracranial tumors. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1991;21(3):591-9. PubMed PMID: 1907957.

84. Minniti G, Clarke E, Lanzetta G, Osti MF, Trasimeni G, Bozzao A, et al. Stereotactic radiosurgery for brain metastases: analysis of outcome and risk of brain radionecrosis. *Radiation oncology*. 2011;6:48. doi: 10.1186/1748-717X-6-48. PubMed PMID: 21575163; PubMed Central PMCID: PMC3108308.

85. Alexiou GA, Tsiouris S, Kyritsis AP, Voulgaris S, Argyropoulou MI, Fotopoulos AD. Glioma recurrence versus radiation necrosis: accuracy of current imaging modalities. *Journal of neuro-oncology*. 2009;95(1):1-11. doi: 10.1007/s11060-009-9897-1. PubMed PMID: 19381441.

86. Mikhael MA. Radiation necrosis of the brain: correlation between patterns on computed tomography and dose of radiation. *Journal of computer assisted tomography*. 1979;3(2):241-9. PubMed PMID: 429631.

87. Brismar J, Roberson GH, Davis KR. Radiation necrosis of the brain. Neuroradiological considerations with computed tomography. *Neuroradiology*. 1976;12(2):109-13. PubMed PMID: 995246.

88. Tsuruda JS, Kortman KE, Bradley WG, Wheeler DC, Van Dalsem W, Bradley TP. Radiation effects on cerebral white matter: MR evaluation. *AJR American journal of roentgenology*. 1987;149(1):165-71. doi: 10.2214/ajr.149.1.165. PubMed PMID: 3495977.

89. Doms GC, Hecht S, Brant-Zawadzki M, Berthiaume Y, Norman D, Newton TH. Brain radiation lesions: MR imaging. *Radiology*. 1986;158(1):149-55. doi: 10.1148/radiology.158.1.3940373. PubMed PMID: 3940373.

90. Kumar AJ, Leeds NE, Fuller GN, Van Tassel P, Maor MH, Sawaya RE, et al. Malignant gliomas: MR imaging spectrum of radiation therapy- and chemotherapy-induced necrosis of the brain after treatment. *Radiology*.

2000;217(2):377-84. doi: 10.1148/radiology.217.2.r00nv36377. PubMed PMID: 11058631.

91. Mullins ME, Barest GD, Schaefer PW, Hochberg FH, Gonzalez RG, Lev MH. Radiation necrosis versus glioma recurrence: conventional MR imaging clues to diagnosis. *AJNR American journal of neuroradiology*. 2005;26(8):1967-72. PubMed PMID: 16155144.

92. Dequesada IM, Quisling RG, Yachnis A, Friedman WA. Can standard magnetic resonance imaging reliably distinguish recurrent tumor from radiation necrosis after radiosurgery for brain metastases? A radiographic-pathological study. *Neurosurgery*. 2008;63(5):898-903; discussion 4. doi: 10.1227/01.NEU.0000333263.31870.31. PubMed PMID: 19005380.

93. Perry A, Schmidt RE. Cancer therapy-associated CNS neuropathology: an update and review of the literature. *Acta neuropathologica*. 2006;111(3):197-212. doi: 10.1007/s00401-005-0023-y. PubMed PMID: 16463065.

94. Forsyth PA, Kelly PJ, Cascino TL, Scheithauer BW, Shaw EG, Dinapoli RP, et al. Radiation necrosis or glioma recurrence: is computer-assisted stereotactic biopsy useful? *J Neurosurg*. 1995;82(3):436-44. doi: 10.3171/jns.1995.82.3.0436. PubMed PMID: 7861222.

95. Kim SJ, Romeo D, Yoo YD, Park K. Transforming growth factor-beta: expression in normal and pathological conditions. *Hormone research*. 1994;42(1-2):5-8. PubMed PMID: 7959634.

96. Keski-Oja J, Leof EB, Lyons RM, Coffey RJ, Jr., Moses HL. Transforming growth factors and control of neoplastic cell growth. *Journal of cellular biochemistry*. 1987;33(2):95-107. doi: 10.1002/jcb.240330204. PubMed PMID: 3553215.

97. Sugarman BJ, Aggarwal BB, Hass PE, Figari IS, Palladino MA, Jr., Shepard HM. Recombinant human tumor necrosis factor-alpha: effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science*. 1985;230(4728):943-5. PubMed PMID: 3933111.

98. Kureshi SA, Hofman FM, Schneider JH, Chin LS, Apuzzo ML, Hinton DR. Cytokine expression in radiation-induced delayed cerebral injury. *Neurosurgery*. 1994;35(5):822-9; discussion 9-30. PubMed PMID: 7838329.

99. Kim SH, Lim DJ, Chung YG, Cho TH, Lim SJ, Kim WJ, et al. Expression of TNF-alpha and TGF-beta 1 in the rat brain after a single high-dose irradiation. *Journal of Korean medical science*. 2002;17(2):242-8. PubMed PMID: 11961311; PubMed Central PMCID: PMC3054842.
100. Taupin P. BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain research reviews*. 2007;53(1):198-214. doi: 10.1016/j.brainresrev.2006.08.002. PubMed PMID: 17020783.
101. Glass JP, Hwang TL, Leavens ME, Libshitz HI. Cerebral radiation necrosis following treatment of extracranial malignancies. *Cancer*. 1984;54(9):1966-72. PubMed PMID: 6478431.
102. Posner JB. Neurological complications of Systemic Cancer. *The Medical clinics of North America*. 1979;63(4):783-800. PubMed PMID: 381807.
103. Hong JH, Chiang CS, Sun JR, Withers HR, McBride WH. Induction of c-fos and junB mRNA following in vivo brain irradiation. *Brain research Molecular brain research*. 1997;48(2):223-8. PubMed PMID: 9332719.
104. Han J, Thompson P, Beutler B. Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *The Journal of experimental medicine*. 1990;172(1):391-4. PubMed PMID: 2358784; PubMed Central PMCID: PMC2188134.
105. Rizzoli HV, Pagnanelli DM. Treatment of delayed radiation necrosis of the brain. A clinical observation. *J Neurosurg*. 1984;60(3):589-94. doi: 10.3171/jns.1984.60.3.0589. PubMed PMID: 6699703.
106. Munter MW, Karger CP, Reith W, Schneider HM, Peschke P, Debus J. Delayed vascular injury after single high-dose irradiation in the rat brain: histologic immunohistochemical, and angiographic studies. *Radiology*. 1999;212(2):475-82. doi: 10.1148/radiology.212.2.r99au42475. PubMed PMID: 10429706.
107. Delanian S, Porcher R, Balla-Mekias S, Lefaix JL. Randomized, placebo-controlled trial of combined pentoxifylline and tocopherol for regression of superficial radiation-induced fibrosis. *Journal of clinical oncology : official*

- journal of the American Society of Clinical Oncology. 2003;21(13):2545-50. doi: 10.1200/JCO.2003.06.064. PubMed PMID: 12829674.
108. Schubotz R, Muhlfellner O. The effect of pentoxifylline on erythrocyte deformability and on phosphatide fatty acid distribution in the erythrocyte membrane. *Current medical research and opinion*. 1977;4(9):609-17. doi: 10.1185/03007997709115279. PubMed PMID: 590022.
109. d'Avella D, Cicciarello R, Albiero F, Mesiti M, Gagliardi ME, Russi E, et al. Effect of whole brain radiation on local cerebral glucose utilization in the rat. *Neurosurgery*. 1991;28(4):491-5. PubMed PMID: 2034341.
110. Rube CE, Wilfert F, Uthe D, Schmid KW, Knoop R, Willich N, et al. Modulation of radiation-induced tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) expression in the lung tissue by pentoxifylline. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2002;64(2):177-87. PubMed PMID: 12242128.
111. Fang CC, Lai MN, Chien CT, Hung KY, Tsai CC, Tsai TJ, et al. Effects of pentoxifylline on peritoneal fibroblasts and silica-induced peritoneal fibrosis. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*. 2003;23(3):228-36. PubMed PMID: 12938822.
112. Seigneur M, Dufourcq P, Belloc F, Lenoble M, Renard M, Boisseau MR. Influence of pentoxifylline on membrane thrombomodulin levels in endothelial cells submitted to hypoxic conditions. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1995;25 Suppl 2:S85-7. PubMed PMID: 8699869.
113. Ohdama S, Takano S, Ohashi K, Miyake S, Aoki N. Pentoxifylline prevents tumor necrosis factor-induced suppression of endothelial cell surface thrombomodulin. *Thrombosis research*. 1991;62(6):745-55. PubMed PMID: 1656544.
114. Ozturk B, Egehan I, Atavci S, Kitapci M. Pentoxifylline in prevention of radiation-induced lung toxicity in patients with breast and lung cancer: a double-blind randomized trial. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2004;58(1):213-9. PubMed PMID: 14697441.
115. Dion MW, Hussey DH, Doornbos JF, Vigliotti AP, Wen BC, Anderson B. Preliminary results of a pilot study of pentoxifylline in the treatment of late

- radiation soft tissue necrosis. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 1990;19(2):401-7. PubMed PMID: 2394619.
116. New P. Radiation injury to the nervous system. *Current opinion in neurology*. 2001;14(6):725-34. PubMed PMID: 11723380.
117. Delanian S, Lefaix JL. Complete healing of severe osteoradionecrosis with treatment combining pentoxifylline, tocopherol and clodronate. *The British journal of radiology*. 2002;75(893):467-9. PubMed PMID: 12036843.
118. Williamson R, Kondziolka D, Kanaan H, Lunsford LD, Flickinger JC. Adverse radiation effects after radiosurgery may benefit from oral vitamin E and pentoxifylline therapy: a pilot study. *Stereotactic and functional neurosurgery*. 2008;86(6):359-66. doi: 10.1159/000163557. PubMed PMID: 18854663.
119. Takeuchi J, Hanakita J, Abe M, Handa H. Brain necrosis after repeated radiotherapy. *Surgical neurology*. 1976;5(2):89-93. PubMed PMID: 1257880.
120. Lorenzo ND, Nolletti A, Palma L. Late cerebral radionecrosis. *Surgical neurology*. 1978;10(5):281-90. PubMed PMID: 364708.
121. McPherson CM, Warnick RE. Results of contemporary surgical management of radiation necrosis using frameless stereotaxis and intraoperative magnetic resonance imaging. *Journal of neuro-oncology*. 2004;68(1):41-7. PubMed PMID: 15174520.
122. Oldfield EH, Friedman R, Kinsella T, Moquin R, Olson JJ, Orr K, et al. Reduction in radiation-induced brain injury by use of pentobarbital or lidocaine protection. *J Neurosurg*. 1990;72(5):737-44. doi: 10.3171/jns.1990.72.5.0737. PubMed PMID: 2324798.
123. Olson JJ, Friedman R, Orr K, Delaney T, Oldfield EH. Cerebral radioprotection by pentobarbital: dose-response characteristics and association with GABA agonist activity. *J Neurosurg*. 1990;72(5):749-58. doi: 10.3171/jns.1990.72.5.0749. PubMed PMID: 2157827.
124. Greene SA, Thurmon JC. Xylazine--a review of its pharmacology and use in veterinary medicine. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 1988;11(4):295-313. PubMed PMID: 3062194.
125. Hideghety K, Plangar I, Man I, Fekete G, Nagy Z, Volford G, et al. Development of a small-animal focal brain irradiation model to study radiation

injury and radiation-injury modifiers. *International journal of radiation biology*. 2013;89(8):645-55. doi: 10.3109/09553002.2013.784424. PubMed PMID: 23484794.

126. Vakili A, Zahedi khorasani M. Post-ischemic treatment of pentoxifylline reduces cortical not striatal infarct volume in transient model of focal cerebral ischemia in rat. *Brain research*. 2007;1144:186-91. doi: 10.1016/j.brainres.2007.01.096. PubMed PMID: 17320054.

127. Mishima N, Tamiya T, Matsumoto K, Furuta T, Ohmoto T. Radiation damage to the normal monkey brain: experimental study induced by interstitial irradiation. *Acta medica Okayama*. 2003;57(3):123-31. PubMed PMID: 12908010.

128. Kamiryo T, Kassell NF, Thai QA, Lopes MB, Lee KS, Steiner L. Histological changes in the normal rat brain after gamma irradiation. *Acta neurochirurgica*. 1996;138(4):451-9. PubMed PMID: 8738396.

129. Li YQ, Ballinger JR, Nordal RA, Su ZF, Wong CS. Hypoxia in radiation-induced blood-spinal cord barrier breakdown. *Cancer research*. 2001;61(8):3348-54. PubMed PMID: 11309291.

130. Kudo S, Suzuki Y, Noda SE, Mizui T, Shirai K, Okamoto M, et al. Comparison of the radiosensitivities of neurons and glial cells derived from the same rat brain. *Experimental and therapeutic medicine*. 2014;8(3):754-8. doi: 10.3892/etm.2014.1802. PubMed PMID: 25120594; PubMed Central PMCID: PMC4113551.