

Doç. Dr. Erkan KAPTANOĞLU

Ankara Numune Hastanesi, 1. Nöroşirürji Kliniği

Doç. Dr. Ayhan ATTAR

Ankara Ü. Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Kliniği

kök hücre

Omurilik Yaralanmasında Rejenerasyon Çalışmaları ve Kök Hücre Uygulamaları

Giriş

Kuzey Amerika'da 2002 yılı verilerine göre, her yıl yaklaşık 10.000 yeni akut omurilik yaralanma olgusu, İngiltere'de 2004 yılı verilerine göre, yıllık 700 yeni akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir. Türkiye'de ise yılda ortalama 1600-2000 ciddi akut omurilik yaralanma olgusu bildirilmektedir (45). Omurilik yaralanmalarının en sık sebebi trafik kazaları (%41) daha sonra düşmeler, şiddet ve spor yaralanmalarıdır.

Omurilik yaralanmasında birincil hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pekçok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği ikincil hasar mekanizması daima çalışmaya başlar. İlerleyici moleküler ve hücresel hasar omurilikteki hasarın zaman içinde artışı ve klinik kötüleşme ile sonuçlanır. Yaralanmadan sonra başlayan bu ikincil hasar kaskadının durdurulması yada yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Akut omurilik yaralanmasında ikincil hasardan korunma *nöroproteksiyon (nöral koruma)* olarak adlandırılmaktadır. Bu amaçla ilaç tedavileri, doku oksijenlenmesinin düzeltilmesi, omurilik basısının kaldırılması, vertebranın stabilizasyonu gibi birçok medikal ve cerrahi yaklaşım denenmektedir. Özellikle son 20 yılda omurilik yaralanmasında farmakolojik korumaya yönelik pekçok çalışma yapılmış, ancak bunlardan hiçbiri insanda kullanılacak standart tedavi olamamıştır.

Hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeleri (nöral koruma), kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması

ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik-klinik iyileşme *rejenerasyon (iyileşme)* olarak adlandırılmaktadır. Son on yılda yaralanmış omuriliğin rejenerasyonunu başarmak amacıyla birçok merkez ve laboratuvar tarafından pekçok çalışma yapılmıştır. Omuriliğin rejenerasyonu ilk olarak hücre kültürlerinde ve hayvan araştırmalarında denenmiştir. Yaralanmış omurilikte rejenerasyonu uyarmak amacıyla skarın küçültülmesi, X-ışınlama, elektriksel uyarı, nörotrofik faktörler, greftlemeler, omentum transplantasyonu, nörit büyüme inhibitörlerinin nötralizasyonu gibi yaklaşımlar denenmiştir. Son yıllarda yaralanmış omuriliğe Schwann hücreleri, olfaktor glial hücreler, embriyolojik ya da erişkin kök hücreler gibi hücrelerin transplantasyonun popülerite kazanmış ve bu girişimlerin hepsi *hücre tedavileri (cell therapy)* olarak adlandırılmaya başlanmıştır. Bu hayvan çalışmalarının sonucunda omurilik yaralanmasında insana transplante edilecek ideal hücrenin aslında ne olduğun tam olarak bilinmediğine ancak güçlü kanıtların bölge spesifik nöral progenitor kök hücrelerin olması gerektiğine inanılmaktadır. Tabi ki bu hayvan çalışmalarının pek çoğunun klinik çalışmaları henüz başlamamış, başlayanların çoğunun sonucu henüz alınmamıştır. Omurilik rejenerasyonu konusundaki sınırlı sayıdaki klinik insan çalışması çok kısa zaman önce yayınlanmıştır (27,47,64). Bu çalışmaların hepsi kontrolsüz Faz 1 çalışmadır ve yazarlarının da belirttiği gibi uzun süreli, vaka-kontrollü, kör, çok merkezli çalışmaları yapılmadan tedavi metodu olarak kabul edilemez.

Omurilik yaralanmasında lokal ya da uzak hasarı önlemede (nöral koruma) veya iyileştirmede

(rejenerasyon) tedavi halen bulunamamıştır. Ne nöral korumada kullanabileceğimiz etkisi kanıtlanmış güvenli bir ilaç, nede yaralanmış omuriliği tekrar çalışır hale getirecek bir rejenerasyon protokolü ya da hücre tedavisi bilinmemektedir. Ancak hücre, hayvan ve son zamanlardaki insan deney ve araştırmalarının sonuçları ümit vericidir.

Omurilik Yaralanmasında Moleküler Mekanizmalar ve Nöral Koruma

Omurilik yaralanması ile sonuçlanan travma, omuriliğin kendisi gibi etrafındaki vertebral kolonu etkileyebilir. Sonuçtaki hasarın boyutu, çeşitli biomekanik faktörlere dayanır. Fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyonla ilgili distraksiyonel kuvvetlerin hepsi, nöral elemanların kendisinde veya omurilik damarlarında gerilme veya yırtılmaya sebep olur. Diğer olası mekanik etkiler, kemik kısımlardan, ligamanlardan veya spinal kanal içindeki hematomlardan kaynaklanan kompresyondur. Bu kuvvetler, sadece yaralanma esnasında akut olarak değil, aynı zamanda kalıcı deformiteye sekonder olarak, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilirler.

Omurilik yaralanmasında iki basamaklı mekanizma kavramı Allen'in 1900'lerin başlarında, omurilikleri yaralanmış hayvanlarda ilerleyici hasar oluştuğunu göstermesi ile ortaya atılmıştır (37,40,80). Bu fenomenin açıklanması için, çeşitli patofizyolojik mekanizmalar öne sürülerek ikincil hasar kavramı gelişmiştir. Omurilik yaralanması sonrasında, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiği gösterilmiştir. Nemecek bu ciddi nekrozu "otodestruksiyon" olarak tanımlamıştır (61). Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji değildir. Beyindeki inen yolların nöronları omurilikteki lokal yaralanmadan (aksotomi) etkilenerek atrofi, apoptozis ya da nekroza kadar gidebilen patolojik olaylar zinciri sergilerler.

İlk kez 1970'lerde Demopoulos tarafından ortaya atılan hipoteze göre oksijen serbest radikalleri ve ürünleri Omurilik yaralanmasında ilerleyici doku hasarına neden olurlar. Merkez sinir sistemi (MSS) askorbat, glutatyon ve a-tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahipken travma sonrası dokuda bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır ve oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler,

nukleik asitler ile reaksiyona girerek doku hasarına neden olur (85). Serbest radikal tutucular pek çok omurilik yaralanması modelinde denenmiştir. Bunlardan klinik uygulama bulan sentetik steroid metilprednizolonun çok yüksek dozlarının, nonspesifik serbest radikal tutucu etkileri olduğu ortaya konmuştur (33). NASCIS çalışmalarını metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı göstermiştir (8,9). Ancak řu da belirtilmelidir ki, NASCIS çalışmalarına karşıt görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (34,62). Deneysel çalışmalar diğer antioksidanlarında ümit verici olduklarını göstermektedir. Siklosporin-A (16), EPC-K1 (29), vitamin E ve selenyum (2) serbest radikal tutucu özellikleri nedeniyle omurilik yaralanmasında etkin bulunmuştur. Kaptanoğlu ve ark. melatonin, mexiletin, eritropoietin, difenilhidantoin, tiopental ve propofolün omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonu önlediği, ultrastrüktürel ve klinik koruma yaptığını gösterdiler (38,39,41,44). Omurilik yaralanmasında ikincil hasardan sorumlu diğer bir mekanizma da iyon kanallarıdır. Potasyum kanallarının hasarı ile iletim bozulur (65), sodyum kanallarının hasarı özellikle beyaz cevherde yıkım ile sonuçlanır (76). Kalsiyum kanallarının hasarında hücre içine hızlı kalsiyum iyonu girmesi ile fosfolipazlar, proteazlar ve fosfatazlar gibi hücre içi enzimlerin aktivasyonu hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Bundan başka kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla Ca++ girişine neden olurlar (85). Omurilik yaralanması sonrası eksitator amino asitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselmesi doku hasarında glutamat reseptörlerinin önemini vurgulamışlardır (54). Glutamat ve aspartat salınımının omurilik yaralanmasının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda 2-4 kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda 10 katına kadar yükselme olabilir (1). Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile yapılan çalışmalarda lezyon boyutlarının küçüldüğü ve klinik iyileşmenin artırdığı gösterildi (83). Opiat reseptör blokajının ilerleyici doku hasarını önlemesi, ikincil yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür.

Omuriliğin travmatik yaralanmasından sonra inflamatuvar cevap saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır (16). Bu cevap endotel hasarı, inflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik

inflamatuvar hücrelerin göçü ve mikroglianın aktivasyonu olarak gözlemlenir. Katoh ve ark. omurilik yaralanması ile başvuran hastalarda ilk 4 gün kan beyaz küre değerleri yüksek seyredenlerde nörolojik kötüleşmenin, normal seyreden hastalara göre daha fazla olduğunu göstermiştir (46). MSS travması sonrasında, PSS ile karşılaştırıldığında, makrofajların toplanmasının sınırlı tutulması ile karakterize immün mekanizmalar bozulabilir (74). Rapalino ve arkadaşları yakın zaman önce, periferik sinir segmentleri ile uyarılmış homolog makrofajların tam kesiyeye uğratılmış omurilik içine lokal implantasyonunun, elektrofizyolojik aktivite kadar motor aktivitede de parsiyel iyileşme ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir (67).

Akut omurilik yaralanması sistemik vasküler etkiler ile birlikte ikincil hasara uzanan ani mikrovasküler değişiklikler oluşturur. Bu değişikliklerin ilerleyici karakteri omurilik iskemisini travmadan sonra gittikçe arttırır. Tator ve ark. klip kompresyon modeline göre hem yaralanma bölgesinde hemde sefalad ve kaudal komşu bölgelerde arterioller, kapiller ve venüllerde kanlanma durur (79). Perfüzyon travmadan saatler sonra bile yoktur. Omurilik yaralanma derecesi ve posttravmatik iskemi derecesi ile motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyeller arasında lineer ilişkinin olduğunu bildirilmesi, posttravmatik iskeminin akson foksionunun bozulması ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (14,15,26,86,87). Kaptanoğlu ve ark. omurilik kontüzyon yaralanmasında yaralanma şiddeti arttıkça klinik bulgular ve ultrastrüktürel skorların kötüleştiğini, omurilik ödemi, akson, miyelin ve nukleus hasarı ile karşılaştırıldığında endotelin yaralanmaya en dirençli yapı olduğunu göstermişlerdir (41). Yaralanmadan sonra endotel hasarı da zaman içinde artmaktadır (4,5,37,38).

Akut inflamasyon özellikle hemoraji bölgesindedir. Bu bölgedeki fagositoz travma sonrası nöronlardan kemotaktik faktörlerin salgılandığını göstermektedir. Potansiyel kemotaktik faktörler serbest radikallerle reaksiyon sonucu oluşan oksijenize yağ asitlerinin lipooksijenasyonu sonucunda araşidanoik asitlerden oluşan leukotrienlerdir. Travmatize spinal kordda oluşan akut inflamasyon travmanın membran lipazlarını aktive etmesine bağlıdır. Bu lipazlar membran fosfolipitlerini hidrolize ederler ve aracinoit asit ve diğer yağ asitlerini serbestleştirerek siklooksijenaz ve lipooksijenaz sistemlerinin substratlarını oluştururlar. Travma sonrası araşidonoik asit 20 kat artar. Doku prostoglandinleri travma sonrası 5.dakikada artmaya başlar. PGE2 ve PGF2a

10 kat artar. 30.dakika sonrası PGF2A 24 kat artmış olarak bulunmuştur. Tromboxane pretravmatik düzeyine göre 10 kat artar. Prostaglandin ise travma sonrası 30. dakikaya kadar değişmez. Leukotrienler de artmaktadır. Bütün bu sonuçlar travmatize spinal kordda siklooksijenasyon ve lipooksijenasyon yollarının çalışarak ödem, iskemi ve inflamasyonda etken olduklarını göstermektedir (4,5,15,86).

Araşidonoik asit lipooksijenasyonu ile leukotrienleri ve siklooksijenasyonu ile prostoglandinleri oluşturur. Leukotrienler migrasyon ve lökositlerin fagositozundan sorumludur. Leukotrien ve prostoglandinler vazodilatörlerdir. Tromboxane potant bir vazokonstriktör, prostoglandin ise vazodilatör ve antiagregandır. Posttravmatik dokudaki kan akımındaki azalma tromboxanın prostoglandine göre daha fazla yapımına bağlı olarak vazokonstriksiyon ve mikrosirkulatuvar tromboza bağlı olabilir. Prostaglandin sentezinin inaktivasyonu endothelial lipid peroksidazın inhibisyonu ile oluşabilir. Trombositlerin trombozu endothelial membrandaki krater gibi lezyonlardan sorumludur. Spinal korddaki vazokonstriksiyondan PGF2a ve serbest radikaller sorumludur. Travma sonrası erken hücre hasarı plazma membranında oluşur. Bu membrandaki travma zincirleme reaksiyonlarla kordun posttravmatik otodestruksiyonundan sorumludur.(4,5)

Travmatik omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümünün bir kısmından apoptozis sorumludur (17,27). Apoptozis ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nüklear kromatinin kondensasyonu, sitoplazmik organellerin paketlenmesi ve plazma membranında değişiklikler ile karakterize bir hücre ölümü çeşididir. Omurilik yaralanmasında apoptozis nöronlarda olduğu gibi diğer hücrelerde de olabilir. Crowe ve ark. omurilik yaralanmasında oligodendrositik değişiklikleri ilk kez tanımlamışlardır (17). Omurilik yaralanmasının yayılmasında oligodendrositik apoptozisin rolü olabileceği fikri ortaya atılmıştır. Yakın zamandaki çalışmalar antiapoptotik ajanların nöroprotektif olabileceğini göstermiştir (39,53).

Omurilik yaralanmalarında en etkin tedavi, kaçınılmaz olan çarpma etkisiyle başlayan ikincil hasarın önlenmesidir. Bu amaçla pekçok ilaç hayvan çalışmalarında denenmiş ve önemli bir kısmı etkin (nöroprotektif) bulunmuştur. Bu ilaçların bazıları klinik çalışmalarda denenmiş, ancak insan çalışmaları halen olumlu sonuç vermemiş, bu ilaçlar omuriliği yaralanmış insanlarda etkin olamamış ve omuriliği ikincil hasardan korumada çaresiz kalmıştır. Sadece

metilprednisolon klinik uygulamaya başlanmış, ancak son yıllarda etkinliği konusunda ciddi şüpheler ve tartışmalar olduğu için birçok klinik tarafından terk edilmiştir (34,62). Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katokolinerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon prosesi, endojen opioid reseptörleri, enzimler (kalpain vs), apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır. Etkin nöroprotektif tedavinin bulunması için omurilik yaralanmasının patofizyolojisi daha iyi anlaşılmalıdır.

Yaralanmış Omuriliğin Endojen Tamir ve Rejenerasyon Çabaları

Omurilik kontüzyon yaralanmalarında omurilik merkezinde tipik destrüksiyon ve travma şiddeti ile orantılı olarak çevresel liflerin korunduğu gözlenir. Kavite zaman içinde yoğun sellüler matriks geliştirirler, içleri sinir lifleri ve Schwann hücreleri ile dolar. Kavite içine doğru olan bu büyüme travmanın şiddeti ile ters orantılıdır. Büyüyen sinir liflerinin çoğunluğu dorsal köklerden olur. Bu rejenerasyon çabasının yanında, kontüzyon yaralanmasının erken dönemlerinde santral kanalın etrafını döşeyen ependimal bölgedeki hücrelerde proliferasyon olur. Bu hücreler lezyon kavitesinde sellüler trabeküller oluşturarak bir çatı kurup hücrel infiltrasyona ve aksonal rejenerasyona substrat sağlayabilir (17). Tator ve ark. yakın zaman önce normalde latent olan ependim hücrelerinin omurilik yaralanmasından sonra lokal olarak aktive olduklarını göstermişlerdir (59). Bu aktivasyon travmanın 1-3. günlerinde maksimum değerine ulaşırken 14. günde travma öncesi değere iner. Attar ve ark. ependim hücrelerinin yaralanmadan sonra myelin yapan oligodendrosit benzeri hücrelere dönüştüklerini göstermişlerdir (3). Böylece bu hücrelerin diğer nöroglial hücrelere dönüşebilen nöral kök hücreler olduğu gösterilmiştir. Erişkin lateral ventrikülündeki subependimal hücrelerin rostrale, olfaktor bulbusa doğru migre olarak nöronlara dönüştüğü gösterilmiştir. Bu hücreler nöral kök hücreler grubundadır. Tüm bu bulgular, omurilik yaralanmasından sonra amfibilerde ve fütustaki gibi önemli ölçüde endojen tamir mekanizmalarının çalıştığını göstermektedir. Erişkin nöral kök hücrelerinin büyüme faktörleri ve inhibitörlerin kontrolünde olduğu artık bilinmektedir. Bu faktörlerin kullanılması ile doku tamiri ve rejenerasyonun artırılabilirliği mümkündür.

Omurilik Yaralanmasında Rejenerasyon İnhibitörleri

Omurilik yaralanmasından sonra nörit uzamasını inhibe eden büyüme konilerini gerileten spesifik negatif sinyaller kavramı yenidir ve bundan memeli MSS myelininde tanımlanan moleküller sorumlu tutulmaktadır. Pui Ng ve ark., insan MSS myelinin nöritik büyümeyi kuvvetli bir şekilde inhibe ettiğini göstermişler, ancak insan gri cevherinin de daha düşük etkinlikte inhibitör aktivitesinin olduğunu tanımlamışlardır (65). Aksonal büyümenin negatif düzenleyicileri, oligodendrositlerce oluşturulan güçlü nörit büyüme inhibitor aktiviteye sahiptirler ve erişkin memelilerde MSS myelin fraksiyonlarında bulunurlar. Bu inhibitör myelin proteinleri, iki myelin membran fraksiyonlarında (NI-35 ve NI-250) ve myelin ilişkili glikoproteininde (MAG) mevcuttur. Erişkin sıçan MSS myelininin fraksiyonlandırılmasıyla tanımlanan NI-35 ve NI-250, güçlü invitro nörit büyüme inhibisyonu gösterir (16). Bu moleküllere karşı oluşturulan monoklonal antikolar, nörit büyüme inhibisyonu nötralize eder ve kemirgenlerin omurilik ve optik sinirlerinde aksonal rejenerasyonu artırırlar. Nörit büyüme inhibitor aktivitesi yeni bulunan bir başka MSS myelin molekülü de myelin ilişkili glikoproteindir (Myelin Associated Glycoprotein - MAG). MAG, hem MSS hem de PSS'de bulunan iyi tanımlanmış bir transmembran proteindir. MAG'ın myelinizasyonda erken ekspresyonu, gelişim sırasında myelinizasyonun başlamasında bir rol oynayabileceği düşüncesine yol açmıştır. Oligodendrositler ve Schwann hücreleri, aksonları sarmalamaya başladıklarında MAG eksprese ederler. Bununla beraber, mevcut çalışmalar MAG'ın nörit büyümesinin major myelin türevli inhibitörü olduğunu ileri sürmektedirler (57). Schwab ve ark. bu büyüme inhibitörü faktörlerinin, periferik aksonlarla değil, oligodendrositlerle ve merkezi myelin ile ilişkili olduklarını göstermişlerdir (73). MSS gelişiminde, oligodendrosit farklılaşmasının başlaması ve myelin oluşumu, rejenerasyonun mümkün olduğu dönemin sonuna denk gelir. MSS myelin ve oligodendrositler, nörit büyümesini engelleyici bir substrat ortaya koyarlar. Doku kültürü kaplarında absorbe edilen izole MSS myelininin, nörit büyümesi, adhezyon ve nöron veya fibroblastların yayılımı için bir substrat olduğu, büyüyen nöritlerin büyüme konisi kollapsına yol açarak rejenerasyonu engellediği gösterilmiştir (57).

Günümüzde, büyüme konilerinin gelişimini engelleyen veya kollaps olmasına neden olan glikozaminoglikanlar gibi pek çok protein tanımlanmıştır. Bu proteinler muhtemelen gelişim esnasında akson yönlendiril-

mesinde major rol oynamaktadır. Collapsin, semaforin, tenassin, konroditin sulfat ve keratan sulfat proteoglikanlarının yaralanma sahasında aksonal rejenerasyonu inhibe ettiklerinden şüphelenilmektedir (40). Nörotrofik faktörler aksön büyümesinin en önemli uyarıcılarıdır ve travma bölgesinde salınımının yeterli düzeye yükselmemesi yetersiz rejenerasyon nedenlerinden birisidir.

Glial skarın kompleks ve yoğun yapısı ile rejeneratif dalların skar dokusunda nadiren büyümesinin gözlenmesi, çok eski bir kavramdır ve glial skarın rejenerasyona bir bariyer olduğuna işaret etmektedir. MSS skarlarında en önemli hücre tipi astrosit olup, buna mikrogial hücrelerin, makrofajların, meningeal hücrelerin, bağ dokusunun ve skar oluşum esnasında inflamatuvar hücrelerin ek katılımları eklenir. Astrositler son derece plastik hücrelerdir ve araştırmalar astrositlerin büyümeyi kolaylaştırıcı olabileceklerini ve yoğun astrositik ağların bile aksönler için geçirgen olmayan öncelikli bariyerler olmadıklarını göstermektedir. Bununla beraber, astrosit yanıtlarının heterojenliği ve muhtemel astrosit subtipleri hesaba katılmalıdır: Bir kısmı rejenerasyonu kolaylaştırırken, bazı astrositler inhibe edebilir. Astrositlerin farklılaşma yaşı ve evresinin, aksönal büyümeyi destekleme ya da inhibe etme kapasitelerini belirlediği düşünülmüştür (75).

Yaralı Omuriliğin Tekrar İyileştirilmesi: Rejenerasyon Stratejileri

Hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeleri, kesilmiş aksönlerin uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik iyileşme rejenerasyon sürecindeki esas basamaklardır. Omurilik yaralanmasından sonra nöronal dejenerasyon ve nöronların yaşamlarını sürdürme mekanizmalarını anlamak amacı ile pekçok çalışma yapılmıştır. İnsanda, periferik sinir sisteminde (PSS) spontan aksönal rejenerasyon varken, merkez sinir sisteminde (MSS) güçlü rejenerasyon görülmez. Düşük omurgalılarda beyin nöronlarının inen aksönlerinin kesilmesi, aksönlerin lezyon sahasını geçerek büyümesi ve uzak hedeflere doğru uzaması ile sonuçlanır. Rejenere olan bu aksönler, lezyondan daha aşağıdaki spinal hedefler ile sinaptik bağlantılar yaparlar ve fonksiyonlar aşamalı olarak düzelir. Kuşlar ve memelileri de içeren immatür yüksek omurgalılarda, omurilik yaralanmasından sonra aksönal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme olabılırken, erişkinlerde rejenerasyon ve fonksiyonel

iyileşme genellikle çok sınırlıdır. Otopsi çalışmaları, omurilik yaralanmalarının çoğunda, klinik olarak tam yaralanma olsa da, omuriliğin anatomik olarak sağlam kaldığını göstermiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalar, spinal aksönlerin %12 kadar az bir oranının korunmasının, nörolojik iyileşmeyi destekleyeceğini göstermektedir. Böylece, hasarlı bölgeyi geçebilen fonksiyonel aksön oranını artıran ya da bu aksönlerden gelen zayıf uyarılara alt motor nöronların yanıtını artırıcı her türlü müdahale, nörolojik iyileşmede belirgin etki gösterebilir. Son on yılda rejenerasyon çalışmaları hız kazanmıştır. İlk yıllarda hayvan deneyleri olumlu sonuç vermezken 1996 yılında Cheng ve ark. omurilikte rejenerasyon olabileceğini sıçanda göstermişlerdir (13). Son yıllarda omurilik yaralanmalarının iyileştirilmesinde (rejenerasyon) hayvan çalışmaları başarıya ulaşmaya başlamıştır.

Rejenerasyonu hızlandırıcı veya inhibitör işlemlerini bertaraf edici yaklaşımlar üzerinde çalışılmaktadır. Büyüme faktörleri, özellikle uzun bir zaman diliminde uygulandığında, hasarlı omuriliğin reparatif ve rejeneratif kapasitesini artırır; omurilik epandimadaki prekürsör hücreler, omurilik yaralanması veya diğer hastalıklarda kaybolan nöronal dokunun yerini alabilecek nöral prekürsör hücreler olabilir; periferik sinir, kök hücre ve emrionik MSS greftleri rejenerasyonda etkili olabilir. Nörit büyümesi inhibitörlerinin antikolar ile nötralize edilmesi, aksönal rejenerasyonu hızlandırır. Ekzisyon, X-ışınlama veya glukokortikoid, piromen, tripsin, elastaz veya kollajenaz gibi ajanlarla skarın azaltılmasının, omuriliğin rejeneratif kapasitesini artırdığı bildirilmiştir.

Skarın küçültülmesi: MSS skarının inhibitör etkisinin üzerinden gelmek için çeşitli manuplasyonlar denenmiştir. Atılımlar, lezyon skarının çıkarılması veya ekzisyonu, skarın hücresel veya hücresel olmayan greftlerle köprülenmesi (by-pass) ve skarın gliotik ya da bazal membran komponentlerinin farmakolojik ajanlar ile modifikasyonunu içermektedir.

X-ışınlama: Skarın gliotik komponentini azaltmak için kullanılmıştır. Işınlamanın aksönlere, omuriliğin hasarlı alanından öteye büyüme imkanı veren, myelinsiz bir omurilik alanı oluşturduğu gösterilmiştir (70).

Elektriksel uyarı: Sinir sistemi dokusu hem in vivo hem de in vitro, uygulanan DC elektrik akımına cevap verir. İn vitro zayıf elektrik akımı nörit dallanmasını stimüle eder, büyüme konisi dönüşümünü uyarır, sinir

büyüme oranını ve nörit dallanmasını artırır (26). Elektrik akımına in vivo cevaplar, nörit büyüme oranlarında artış, elektrik alanının negatif kutbuna doğru nöritlerin oryantasyonu, aksonların dallanmasında artış ve aksonal ölümda azalmadır (69).

Nörotrofik faktörler ve substratlar: Bilinen nörotrofik faktörlerin ve reseptörlerinin pekçoğu gelişmekte olan ya da yetişkin omuriliğinde bulunmaktadır. Sinir sistemine yönelik bir yaralanma, amacı onarıcı veya rejeneratif işlevleri artırmak olan sinir büyüme faktörü (68) gibi endojen büyüme faktörlerinin artışı ile sonuçlanır (72). Yaralanmaya cevap olarak bazı trofik faktörlerin ve/veya reseptörlerinin sentezindeki değişiklikler, nörotrofik faktörlerin uygulanması ile nöronların hayatta kalmalarının ve rejeneratif dallanmalarının arttığı rapor edilmiştir. Omurilik içinde embriyonik doku veya Schwann hücreleri gibi transplantların faydalı etkilerinden bazıları, bu transplante edilen hücrelerden nörotrofik faktörlerin salınmasına bağlı olabilir.

Greftleme: Hasarlanmış MSS'nin rejenerasyonunu teşvik etmek için diğer bir strateji ise, lezyonlu nöronların yakın çevresine büyüme destekleyici materyalin implantasyonudur. Greftleme, lezyonlu sahadaki kaybedilen hücrelerin yerine konması için faydalı olabilir. Glial hücreler, makrofajlar ve Schwann hücreleri skar formasyonunun oluşmasını engelleyerek ya da büyüme desteğinin tekrar kurulması ile geçişe izin vermeyen skar dokusunu atlamak için köprü vazifesi görerek lezyon bölgesine etki ederler. İmplantlar aynı zamanda trofik faktör kaynağı olarak da kullanılmışlardır.

Periferik sinir greft köprüleri: Farklılaşmış MSS nöronlarının periferik sinire rejenera olabildiğini gösteren ilk başarılı yayınlar 1911 de F. Tello tarafından yapılmıştır (81). Elde edilen verilerden iki sonuç çıkarılmıştır: 1) MSS nöronları periferik sinir ortamında liflerini rejenera edebilirler, 2) bu rejenerasyon denervasyona cevap olarak periferik Schwann hücreleri tarafından kemotrofik ve nörotrofik faktörlerin sentezine bağlı olabilir. Bu sonuçlar, 1980'lerin başında Aguayo ve Richardson ark. omurilik, beyin ve optik sinirin rejenerasyon kabiliyetini test etmek için periferik sinir greftlerini sistematik olarak kullanmalarına kadar tekrarlanmamıştır(68). Aguayo ve ark. çok çeşitli MSS aksonlarının eğer aksonları periferik sinir greftine yeniden yönelendirilirse ve büyümesine izin verilirse kapsamlı şekilde rejenerasyon gösterebileceğini, ancak greftler MSS'ye rekonnekte edildiğinde

genellikle aksonal uzamanın PNS/MSS bileşkesinde, greftin distal ucunda durduğunu göstermişlerdir. Aynı grup birkaç yüz lifin greft içine girdiğini göstermiştir. Anterograd transport ile işaretlenmiş rejenera olan lifler, torasik omurilik seviyesinde MSS'ye yeniden girdiklerinde, greft çıkışından sonra 1-2 mm içinde aniden sonlanırlar (27). 1996'da, Cheng ve ark. kesilmiş sıçan torasik kordunda boşluğu doldurmak için multipl interkostal sinir greftlerini kullanmışlardır (13). Aşaağıya uzanan motor yolları köprüleştirmek için, greftler, rostral beyaz cevherden kaudal gri cevhere ve yukarı çıkan yollar için kaudal beyaz cevherden rostral gri cevhere doğru yönlendirilmiştir. Çok sayıda interkostal sinir grefti FGF1 içeren fibrin yapıştırıcı ile yerleştirilmiştir. Bu çalışmada, rejenera olan aksonlar rostral güdükten greft içerisine girerler, greft içinde büyüyerek kaudal güdüğün gri cevheri içerisine girerler. Kaptanoğlu ve ark. Cheng ve ark. stratejisini tekrarladı ve Schwann hücrelerinin köprüyü oluşturmak için kord güdüğüne tutunma ve güdük içerisine büyüyebilme yeteneği teyit edildi (2).

Omurilik lezyonlarında köprüleyici olarak kullanılan diğer materyal ve dokular: Kollojen, hidrojeller, astosit ya da lamina kaplı nitrosellüloz filtreler ve karbon filamanları içeren birçok sentetik ve biyo-indirgenebilen (biodegradable) ya da non-biodegradable materyaller, deneysel hayvanlarda omurilik lezyonlarında köprü olarak kullanılmıştır. Bu deneylerden bazıları umut verici sonuçlar göstermiş olsa da, hiç birisi klinik kullanım için yeterince pozitif sonuç verememiştir.

Omentumun transplantasyonu: Yaralanmış omuriliğe vasküler kaynak olarak, Goldsmith ve De la Torre (31) tarafından rapor edilmiş, yakın zaman önce omurilik yaralanması olan hastalarda uygulanmıştır. Rafael ve ark. omuriliğe omental transplantlı travmatik paraplejisi olan bir hasta bildirmişler ve neredeyse tam düzelme oluşuna dikkat çekmişlerdir (66). Nagashima ve ark da omentum transplantasyonundan sonra neredeyse tam düzelmeyi göstermişlerdir (58). Duffil ve ekibi, 17 hastada omental transpozisyon uygulamasını göstermişler ve bu tekniğin nörolojik işlevleri düzeltmediğini bulmuşlardır (27). Bu operasyonun başarısı ve endikasyonu büyük oranda çelişkilidir ve önerilemez.

Nörit büyüme inhibitörlerinin nötralizasyonu: Myelin ile ilişkili akson büyüme inhibitörleri erişkin memeli MSS'de akson rejenerasyonunun başarısızlığında önemli bir rol oynayabilir. NI 35-250 myelin fraksiyonlarındaki proteinler omurilik

yaralanması sonrasında aksonal uzamayı sınırlarlar (73). Güçlü büyüme konisi kollapsı yapan ve büyüme inhibitör etkileri olan membran bağımlı proteinler MSS myelininde bulunmuştur. Bu nörit büyüme inhibitörlerinden (NI-35/250) bazılarının bu proteinlere karşı oluşturulan bir antikor (IN-1) ile nötralizasyonu, erişkin omuriliğinde hasarlı nöritlerin minimal derecede uzun-mesafeli rejenerasyonlarına olanak vermiştir(71). NI-35 ve NI-250'nin nötralizasyonu, hasarlı MSS'de aksonal büyümeyi artırmasına rağmen, aksonların rejenerasyonu sınırlı ve tam değildir. İnhibitör moleküllerin aktivitesinin tek bir ajanla blokajı, uzun mesafeli rejenerasyon için yeterli olmayabilir. Büyümeyi uyaran (hızlandıran) faktörlerin eklenmesi ile tüm inhibitörleri hedefleyen kombinasyon stratejileri, hasarlı MSS'nin zayıf rejeneratif kapasitesini yenmeye yardımcı olabilir.

Schwann hücreleri: Yaralanmadan sonra Schwann hücre proliferasyonu ve bu hücrelerin yaralanmış omurilik içine doğru ilerlemesi, hastalarda akut omurilik yaralanmasının doğal bir sonucu olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. Bunge ve ark. omurilik yaralanması sonrasında nörolojik fonksiyonları yeniden kazanmak için, yaralanmış ya da kesilmiş omurilik içerisine otolog ya da homolog Schwann transplante ederek, Schwann hücrelerinin myelinize edici, proliferatif, migratuvar ve akson-kılavuz özelliklerini kullanmayı denemişlerdir(9). Transplante edilen Schwann hücreleri rejenerasyon olan aksonu myelize ederken, aynı zamanda demiyelinize olmuş aksonu da remiyelinize eder. Her ne kadar Schwann hücre transplantasyonu tek başına yeterli fonksiyonel iyileşmeyi sağlamıyor gözükse de, Schwann hücreleri nörotrofinler, myelin ile ilişkili inhibitörlere karşı antikorlar ve nöroprotektif ajanlarla kombine kullanılabilirler. Klinik uygulamada, periferik sinir biyopsilerinden saflaştırılmış otolog Schwann hücreleri elde etmek, bunları kültürde çoğaltmak ve greft-konakçı immünolojik rejeksiyon riski olmaksızın omuriliğe transplante etmek mümkündür.

Mikroglia greftleri: Yaralanma sonrası mikroglial hücreler dereceli şekilde hızla aktive olurlar (50). Aktive olmuş safha boyunca, mikroglial hücreler doku tamirinde açıkça fonksiyona sahip olan TGF- β 1 ve sitokinleri içeren çeşitli ajanlar ve FGF2, NGF ve NT-3 gibi büyüme faktörleri sekrete ederler. Bu ilk aktive olmuş safhada, mikroglial hücreler fagositik değildir ve nöronal yaşam ve nörit büyümesi için muhtemel destekleyicidirler. Bununla birlikte, müteakip safhada, nöronal dejenerasyon başladığında, aktive olmuş mikroglial hücreler fagositik hücrelere dönüşürler.

Kan kaynaklı makrofajlar: Yaralanmış omurilik içerisine transplantasyonunun, yaralanmış spinal aksonlarının rejenerasyonu için faydalı olabileceği düşünülmüştür (26). Yaralanmış aksonların yeniden büyümesini sağlamak için nörit büyüme inhibitör faktörlerini içeren myelin enkazının hızlı uzaklaştırılması önemli olabilir. Schwartz ve ark., MSS'de yaralanma sonrası olaylarda inflamatuvar hücrelerin, özellikle makrofajların olaya katılmasının kısıtlı olduğunu ve omurilik yaralanmasından sonra iyileşme için memeli MSS'nin, inflamatuvar hücrelerin yardımına ihtiyaç duyabileceğini ileri sürmüşlerdir (73,74). Bu grup, tamamen kesilmiş erişkin sıçan omuriliği içerisine otolog rejeneratif siyatik sinir ile muamele edilmiş makrofajların implantasyonunun kısmi motor iyileşmeyi sağladığını göstermişlerdir.

Kemik iliği kaynaklı kök hücreleri: Değişik doku gruplarına değişme, çoğalma ve alıcı organ hücrelerine dönüşme özelliğine sahiptirler. Erişkin kemik iliğinde iki tür kan hücresi, yapıcı hematopoietik kök hücre (HSC) vardır. Bir tür tüm hematopoietik sistemin erken dönem rekonstrüksiyonunu sağlarken diğer kompartman, uzun süreli kalıcı hematopoezi sağlar. Bir seriye yönlendirilmiş kök hücreler simetrik olarak çoğalarak kendilerini yenileyebilirler ve asimmetrik çoğalma ile kemik iliğindeki olgun progenitor hücrelere dönüşebilirler. İndiferansiye kök hücreler tüm kemik iliği hücrelerinin ancak 1:10000'ini oluşturur. Özgün monoklonal antikorlar kullanılarak HSC'leri ayırmak ve uygun büyüme faktörleri yardımıyla çoğaltmak mümkündür. Kan hastalıklarının tedavisinde günümüzde CD34+ kök hücrelerinin izolasyonu ve transplantasyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. 2000 yılındaki bir çalışmada D.Krause ve ark tarafından bir kök hücrenin farede çeşitli dokularda %1-20 arasında değişen oranlarda repopülasyona yol açabildiği gösterilmiştir. Erişkin farede 20-100 arası saf HSC tüm lenfohematopoetik sistemi yeniden kurabilir. Son yıllarda kemik iliğindeki kök hücrelerin sadece hematopoietik sistem elemanlarına değil ayrıca nöral, miyokardial hücre, kondrosit, hepatosit ve osteosit gibi hücrelere de dönüşebildiği ve kemik iliğinin mezanşimal kök hücre içerdiği gösterilmiş bulunmaktadır. Bu bulgular, kemik iliği kök hücrelerinin yeni bir uygulama alanı olarak rejeneratif amaçlı kullanımına yönelik çalışmalara yol açmıştır. Özellikle kalp damarlarının tıkanması sonrası gelişen enfarktüslerden sonra yapılan kemik iliği kök hücre transplantasyonlarının kalpteki iskemik bölge alanını küçülttüğü, kalp kaslarının kasılma gücünü artırdığı

dolayısı ile kalbin kan pompalama fraksiyonunda kontrol deneklere göre artma sağladığı saptanmıştır. Bu konuda 2000 yılında hayvanlardaki deneylere ait çalışmaları 2003 den itibaren artık insan uygulamalarına dair yayınlar izlemeye başlamıştır. Postnatal yaşam boyunca maturasyon ve yaşlılık nedeniyle kaybolan hücrelerin yerlerini kök hücrelerinden gelişen yenileri doldurmaktadırlar. Derideki epitelial tabaka, barsak ve akciğerdeki mukozal tabaka ve kas, kıkırdak, kas, kan ve kemik iliği gibi bağ dokusu elemanları bu tür farklılaşmaya örnek oluşturur. Nöral ve miyokardial hücrelerin kesinlikle az sayıda olan hücre turn overları bu dokulardaki yenilenmeyi sağlayabilecek hücrelerin neden bu kadar geç olarak gösterilebildiklerini açıklayabilir. 1999 yılında Björnson ve ark. beyinden elde ettikleri nöral kök hücrelerin irradiye edilmiş farelerde 5-6 hafta sonra tüm seriler ve hatta T-B lenfositlerine dönüşebildiğini Science 'da yayınladılar. Aslında 1997 yılında bir önceki deneyin ters yönde çalıştığını gösteren çalışma ile yine farelerde kemik iliği hücrelerinin mikrogliya, subkortikal beyaz cevherin fibröz astrosit hücrelerine ve neokorteksin protoplasmik astrositine dönüştüğü gösterilmişti. Özetle kanın beyne ve beynin kana dönüştüğü gibi basite indirgenebilecek bir transdiferansiyasyon deneyimi ortaya çıkarıldı. Fetal gelişim sırasında mesoderm kökenli hücrelerin organizma içerisinde göç edip farklı yerleşimlerde farklı dokulara dönüşebildiği zaten biliniyordu. Ancak son yıllarda tartışılmaya başlanan bir kere farklılaşmış dokuda istirahat durumunda bekleyen mezanşimal hücrelerin tekrar dolaşıma çıkarak gereksinim gösteren başka dokulara gidip orada rejenerasyona katkıda bulunup bulunmayacağı sorusudur. Bu soruyu yanıtlayan cevaplara karşı tartışmalar halen devam etmektedir. Ancak gerçek olan, bu bulgulardan cesaret alan hayvan çalışmalarının 2002 ve 2003 yıllarında yayınlanmaya başlamasıdır. Bu araştırmaların tümünde spinal kord yaralanması iskemik serebrovasküler olay veya dejeneratif beyin hastalığı modellerinde kemik iliği kök hücrelerinin intravenöz uygulaması sonrasında ışık mikroskopik ve fonksiyonel değerlendirmeler ile rejenerasyonun hızlandığına, remiyelinizasyonun oluştuğuna dair kanıtların elde edilmiştir. Bu deneyimler fetal beyinden ortak bir nörohematopoietik kök hücre popülasyonu tanımlanmasını ve klonlanarak in vitro olarak üretilmesini sağlamıştır.

Halen bilemediğimiz şey, insanda bu verilerin uygulanır olup olmadığıdır. Ancak bu aşamaya geçebilmek için en ideal uygulama dozu, yöntemi ve

rejenerasyonu optimal sağlayabilecek değişkenlerin tanımlanması gereklidir. Şimdiye kadar spinal kord rejenerasyonuna yönelik hayvan çalışmaları sadece kemik iliği kök hücreleri ve sadece intravenöz yolla uygulanmış olup olumlu sonuçlar bildirilmiştir. Etkinliği artırmak için kök hücrelerin gereksinim bölgesine maksimum miktarda ulaşmasını sağlamak üzere lokal uygulama; ayrıca mezanşimal kök hücre içeren G-CSF veya benzeri sitokinlerle uyarılmış kemik iliği kullanımı ise, henüz denenmemiş olasılıklardır.

Nöronal rejenerasyonu gösteren parametrelerin çoğu histopatolojik yöntemler olup yeniden yapılanmanın kök hücre plastisitesi ve transdiferansiyasyonuna mı yoksa verilen kök hücrelerin sağladığı destek doku ortamında endojen nöronal progenitorların hızlanmış diferansiyasyonuna mı bağlı olduğunu ayırt ettirici duyarlılıkta değildir

Embriyonik merkez sinir sistemi dokusu:

Perinatal ya da erişkin omurilik lezyonu içerisine embriyonik beyin ve omurilik dokusunun transplantları, omurilik rejenerasyon araştırmasında klasik ve iyi çalışılmış stratejilerdir. Her ne kadar, transplantların konakçıya integrasyonu erişkin omuriliğine göre perinatallerde daha iyi olsa da, genelde transplantlar neonatal ve erişkin konaklarda iyi yaşarlar. Yeni doğmuş sıçanda, transplantı terkeden ve kaudal konakçı omuriliği içerisine devam eden lifler ile kapsamlı büyüme oluşmuştur. Buna karşın, postnatal 10. günden daha yaşlı konakçılarda köprü fonksiyonu mevcut olmayıp, kısıtlanmış bir büyüme görülmüştür. Iwashita ve ark. embriyonik sıçan donör omuriliğini, neonatal sıçan konakçı omuriliği içerisine greftlemişler ve greft boyunca kortikospinal yol aksonlarının dikkate değer rejenerasyonunu ve nörolojik fonksiyonun yeniden kazanılmasını bulmuşlardır (36).

Olfaktor glia hücreleri: Olfaktor mukozadaki nöronlar, doğumdan sonra büyüeyen ve erişkin hayatı boyunca bölünmeye devam edebilen tek nöronlardır (27). Bununla birlikte, mukozadan olfaktör içine doğru aksonların büyümesi özel glial hücreler tarafından desteklenmektedir (olfactory ensheathing cells). Bu özel hücreler, hem Schwann hücre hemde astrositik özellikleri paylaşırlar (27). Bunlar PSS-MSS sınırını geçtiği bilinen tek glial hücrelerdir. Ek olarak, kültür içinde uygun aksonları myelinize etme kabiliyetine sahiptirler (26). Olfaktor glial hücreler, yaralanmış aksonlara uzun mesafe rejenerasyon için uygun faktörleri sağladıklarından, bu hücreler omurilik yaralanmasının tedavisinde yeni imkânlar sağlayabilir.

Ependimal hücreler: Lateral ventriküllerin subependiması içinde prekürsör hücre topluluğunun mevcudiyeti bilinmektedir (55). Nestin, yetişkin MSS'de nöroepitelyal prekürsör hücreler içinde bulunan bir aracı proteindir. Aynı zamanda yetişkin MSS'nin lateral ventriküllerinin subependimasında bulunan multipotent prekürsör hücrelerde in vitro olarak tanımlanmıştır (32). Omuriliğin gelişimi sırasında, santral kanalın nöroepitelyal tabakasındaki kök hücrelerinde nestin ekspresyonu saptanmıştır. Bu ekspresyon gelişim tamamlandığında progressif olarak azalmaktadır. Nestin immünreaktif hücreler, yetişkin beyinde kök hücrelerin kaynağı olduğu düşünülen lateral ventriküllerin subependimasında in vivo olarak gösterilmiştir (82). Bununla birlikte, her ne kadar yetişkin omuriliğinin in vitro olarak nöral kök hücreleri içerdiği rapor edilmiş olsa da, yetişkin memeli omuriliğinde prekürsör hücrelerin kaynağı in vivo olarak 1999'a kadar tanımlanmamıştır.

Attar ve ark. ependimal hücrelerin kök hücre özellikleri, bunların yeni destek hücreler ve aksonal rejenerasyon için matriks sağlamasındaki muhtemel rollerine dikkat çekmek amacı ile bir çalışma planlamışlardır (3). Bu çalışmaya göre omurilik yaralanmasından sonra santral kanal etrafındaki silial ependim hücrelerinin içinde geniş myelin yapısı olduğu gözlemlendi. Bu bulgu bize ependim hücrelerinin kendi organının içinde yerleşmiş erişkin tip kök hücre olduğunu göstermektedir. Bu hücrelerin teröpotik potansiyelleri, kültürü yapılmış kök hücrelerin transplantasyonu yapılarak ya da EGF ve FGF2 gibi eksojen büyüme faktörleri ile endojen kök hücrelerin stimülasyonu ile anlaşılabilir (77).

Kök hücre: Kök hücre bir canlının vücudunda çok uzun süre bölünmeye devam ederek kendini yenileyebilen ve bu sayede farklılaşmış hücreler oluşturabilen, farklılaşmamış hücrelere verilen addır. Merkez sinir sistemindeki hücrelerin kök hücre olarak adlandırılabilmesi için bu hücrelerin neuron, astrosit ya da oligodentrosit'e dönüşebilmesi ve kendi kendini yenileyebilmesi lazımdır. Progenitor hücre ise, kök hücreden doğrudan oluşan hücrelere denir. Progenitor terimi kök hücreye göre kısıtlı rejenerasyon kapasitesi olan hücreler için kullanılır. Kök hücreler nöral, kemik iliği kök hücresi, embriyonik kök hücre olarak sınıflandırılabilir.

Nöral

- Beyinde subventrikuler bölge
- Spinal kanal etrafındaki ependimal hücreler

- Parenkimal glial progenitor hücreler
- Hippokampus dentate girus hücreler

Kemik iliği kök hücresi

- Kemik iliği stromal cells-mesenchymal kök hücre
- Hematopoetik kök hücre
- Side population

Embriyonik

- Embriyonik nor karsinoma hücreleri
- Embriyonik germ hücresi
- Embriyonik kök hücre: blastosit dönem implantasyon öncesi embriyonun pluripotent iç hücrelerinden oluşur.
- Multipotent fetal kök hücre: düşüklerdeki fütüslerden

Omurilik yaralanmasında yaralanma bölgesinde neuron, astrosit ya da oligodentrosit'e dönüşebilecek hücrelerin ideal kaynağı halen bilinmemektedir. Muhtemel kaynaklar, serebral subependima ya da omurilik ependimasındaki yetişkin veya fetal kök hücreler ya da MSS kaynaklı olmayan nöral prekürsör hücreleri içermektedir. Birçok organda küçük alanlarda yerleşmiş ekstrasellüler substrat içinde bir yada daha fazla kök hücreye ev sahipliği yapılı ve bu bölge yenilenmeyi kontrol eder. Buradan elde edilen erişkin kök hücrelerin beyinde subventriküler bölgedeki prekürsör hücreler⁽¹⁶⁾ veya omurilikte santral kanal çevresindeki ependimal hücrelerin olduğu düşünülmüştür.

Omurilik Yaralanmasında Hücre Tedavisi: Hayvan Çalışmaları

Omurilik yaralanmasında omurilik içine hücre transplantasyonu artık "hücre tedavisi, (cell therapy)" olarak adlandırılmaktadır. Omuriliğe transplante edilen bu hücrelerin pekçoğu neuron, astrosit ya da oligodentrosit gibi omurilik hücrelerine dönüşmesi amaçlanan kök hücrelerdir. Bunun dışında yaralanma bölgesinde rejenerasyona destek verebilecek, nörotrofik faktörleri salgılayabilecek Schwann hücresi ya da olfaktör glia hücresi transplantasyonu yapılabilir. Yaralı omurilik dokusunun başka bir doku ile değiştirilmesi omurilik bütünlüğünün devamını sağlamak amacıyla yaşayan hücre miktarını arttırmaya yönelik metodlardır.

McDonalds ve ark. travmatik yaralanmadan 9 gün sonra, nöral farklılaşmış fare embriyogenik kök hücrelerinin sıçan omuriliğine transplantasyonunun,

transplant-kaynaklı hücrelerin hayatta kaldığını ve bu hücrelerin astrosit, oligodentrosit ve nöronlara farklılaşması ile sonuçlandığını göstermişlerdir (56). Bu hücreler, lezyon kenarından en fazla 8 mm uzağa migrasyon göstermişlerdir. Bunun ötesinde, yürüyüş analizleri ile transplantasyon uygulanan sıçanların arka bacakları ile ağırlıklarını taşıyabildikleri, kontrol sıçanlarda arka bacaklarda bunun olmadığı gösterilmiştir. Nistar ve ark. ise insan embriyonik kök hücrelerin omuriliğe transplante edildikten sonra oligodentrosite dönüşerek myelinizasyon yaptıklarını göstermiştir (63).

Lepore ve ark. nöral prekürsör hücrelerin MSS yaralanmasında ümit verici olduğunu, olası klinik uygulamada doğrudan parenkim enjeksiyonuna alternatif bir yol bulmayı amaçladıklarını bildirmişlerdir. Bu amaçla servikal omurilik yaralanmasında lomber ponksiyon ile nöral prekürsör hücreler intratekal olarak uygulanmıştır. Sonuçlar bu hücrelerin servikal kesi bölgesine ulaştığını ve üç matür MSS hücresine (nöron, astrosit ve oligodentrosit) dönüştüğü gösterilmiştir (52). Iwanami ve ark. insan nöral kök hücrelerinin omurilik yaralanmasında primatlara transplantasyonunun bu hücrelerin nöron, astrosit ve oligodentrosite dönüşmesiyle sonlandığı ve bunun klinik iyileşme ile birlikte olduğunu göstermiştir (35). Bu çalışmanın sonucunda, bu hücrelerin insan omurilik yaralanması tedavisinde kullanılabileceği önerilmiştir.

Xiao ve ark. insan erişkin olfaktör epitel hücrelerini kadavradan izole etmişler, Bu nörosfer oluşturan hücrelerin brain derived neurotrophyc factor (BDNF) ürettiklerini göstermişler ve bunları rubrospinal traktus aksonlarının retrograd hücre atrofisinden kurtarılması ve fonksiyonel iyileşmeyi artırmak için kullanmışlardır. Bu nöroepitelial progenitörlerin rubrospinal traktus aksonlarının rejenerasyonunu sağladığı ve omurilik yaralanmasında otolog kök hücre olarak etkin iyileşme sağladığını göstermiştir (84).

Koshizuka ve ark. hematopoetik kök hücrelerin nöral hücre serisine dönüştüğünü ve fare omurilik yaralanmasında klinik iyileşmeyi düzelttiğini göstermişlerdir (49). Erişkin insandan alınan Schwann hücreleri, subventriküler bölge hücreleri, olfaktor glial hücreler, kemikiliği hücreleri sıçan omuriliğinde myelin oluşturmuşlar, aksonal rejenerasyonu sağlamışlar ve ileti (conduction velocity) tekrar başlamıştır (30,48).

Michal Schwartz ve ark. omurilik yaralanmasında uyarılmış homolog makrofajların iyileşme sağladığını

göstermişlerdir (74). Daha sonra bu çalışma bir klinik çalışma haline dönüşmüş ve geçen ay ilk kısmı yayınlanmıştır (47).

Kulbatski ve ark. bu hayvan çalışmalarının sonucunda omurilik yaralanmasında insana transplante edilecek ideal hücrenin aslında ne olduğun tam olarak bilinmediğine ancak, güçlü kanıtların bölge spesifik nöral progenitor kök hücrelerin olması gerektiğini bildirirler (51). Yapılmakta olan bu kadar çok çalışmaya rağmen asıl soruların halen cevapsız kalması omurilik yaralanmasında rejenerasyonun ne denli kompleks ve aşılması güç bir patoloji olduğunu göstermektedir. Bu hayvan çalışmalarının çoğunda klinik çalışmalar henüz başlamamıştır.

Omurilik Yaralanmasında Hücre Tedavisi: İnsan Çalışmaları:

Omurilik yaralanmalarında rejenerasyon çalışmalarının yapıldığı hayvan deneyi sayısında son yıllarda dünyada hızlı bir artış görmekteyiz. Çok yakın zaman önce bazı klinikler, Faz 1 insan çalışması da başlatmıştır. Bu merkezlerin çoğu henüz çalışmalarının sonuçlarını yayınlamadıkları için yaygın olarak bilinmemektedir. Günümüzde yapılmakta olan dünyadaki Faz 1 (kontROLSÜZ) klinik (insan) çalışmaların listesi aşağıda verilmiştir. Bu liste Prof. Dr. Charles Tator'ın Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nurhan Avman Günlerindeki görüşmelerinden edinilmiştir (78). Çok yakın geçmişte bu çalışmalardan üç tanesi yayınlanmıştır.

Michal Schwartz ve ark. Eylül 2005 makalelerinde uyarılmış homolog makrofajların akut omurilik yaralanmasında kullanımını amaçlayan Faz I klinik çalışmanın erken sonuçlarını yayınlamıştır (47). Omurilik yaralanmasında immun hücre tedavisinin yapıldığı bu çalışmada asıl amaç bu yeni tedavinin güvenlik profilinin gösterilmesidir. Her Faz I çalışmada olduğu gibi kontrol grubu içermemesi ve küçük bir grup ile çalışılmış olması sonucun bir ön bilgi olarak kabul edilmesi gerektiğini gösterir. Ayrıca bu çalışmada tam (komplet) omurilik yaralanması olan hastalar seçilmiştir. Bu çalışmada 8 hastadan 3'ünde ASIA skoru A iken zaman içinde C olmuş ve bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş. Bu çalışma sonuç olarak otolog makrofaj hücre tedavisinin akut omurilik yaralanmalı hastalarda iyi tolere edildiğini göstermiştir.

Feron ve ark. henüz basılmakta olan makalelerinde akut omurilik yaralanmasında otolog olfaktor glial hücrelerin yaralı omuriliğe transplantasyonunun uygunluğunu ve güvenliğini araştırmışlardır (27). Bu

Faz I çalışmada 3 erkek paraplejik hastada prosedürü takip eden bir yılda bu işleme bağlı cerrahi sahada yeni omurilik hasarı, tümör ya da kist oluşumu gözlenmemiştir. Bu çalışma sonuç olarak otolog olfaktor glial hücre tedavisinin akut omurilik yaralanmalı hastalarda güvenli olduğunu göstermiştir.

Park ve ark. yaralanmış omurilik dokusu içine otolog kemik iliği hücresi transplantasyonu yapmışlar ve hastalara granulosit makrofaj koloni stimulan faktör (MG-CSF) uygulamışlar (64). Bu faz I çalışmada 6 hasta kullanılmış. Hastaların 4 tanesinde iyileşme gözlenmiş. Bu çalışma sonuç olarak otolog kemik iliği hücre tedavisinin akut tam omurilik yaralanmalı hastalarda güvenli olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmaların ortak özellikleri hepsinin Faz I çalışma olması ve hastalarda tam omurilik yaralanması (ASIA-A) olmasıdır. Bu çalışmalarda bildirilen metodlar ile bildirilen süre içinde bu metoda bağlı hastalara ek bir yan etki görülmediği ve metodların güvenli olabileceği bildirilmekte, kullanılan hiçbir metodun tedavi edici olduğu iddia edilmemektedir. Bu ön çalışmalar uzun süreli vaka-kontrollü ileri çalışmaların yapılabilmesi için gereklidir. Literatürde omurilik yaralanmasının tedavisi ile ilgili bunlardan başka klinik çalışma bulunamamıştır.

Tartışma ve Sonuç

Birkaç yıl önce omuriliğin gerçek tamiri (rejenerasyon) imkansız olarak görülmekte idi. Günümüzde halen bir tedavi bulunamamış olmakla birlikte, ne mutlu ki hücre, hayvan ve son zamanlardaki insan deney ve araştırmalarının sonuçları ümit vericidir.

Memeli MSSi aslında aksonal dallanma ve sinaptik reorganizasyon şeklinde önemli bir oranda plastisite gösterir. Kesiyi takiben, merkezi aksonlar yoğun rejenerasyona gider ve akson ucundaki mikroçevrenin rejeneratif yanıtı düzenlediği izlenir. Eğer memeli omurilik aksonları çevresindeki ortam hücre transplantasyonu, greftleme veya çeşitli trofik faktörler uygulanarak modifiye edilirse, bu aksonlar rejene olmak için güdülenebilir. Aksonların diskonneksiyonunu takiben, omurilik rejenerasyonunun varlığını kanıtlamak için, aksonal yeniden büyümenin anatomik kanıtı, fonksiyonel sinapsların elektrofizyolojik kanıtı ve fonksiyonel düzelmenin klinik kanıtı gereklidir. En yeni keşfedilen, erişkin omuriliğinde göç edebilen ve çoğalabilen kök hücrelerin varlığı ve transplantasyon, köprüleme ve ekzojen büyüme faktörlerinin

uygulanması gibi aksonal rejenerasyonu kolaylaştıran yöntemler, omurilik yaralanması sonrasında belirgin ve anlamlı nörolojik işlevlerin düzelmesini ulaşılabılır yapmaktadır. Mevcut deneylerin sonuçlarına dayanarak, insan omurilik yaralanmasında etkin rejeneratif tedavilerin ihtimali artık bir spekülasyon değil gerçekçi bir hedefdir.

Rejenerasyon amacı ile yapılan ve kök hücre tedavilerinin uygulandığı hayvan çalışmalarının sonucunda omurilik yaralanmasında insana transplante edilecek ideal hücrenin aslında ne olduğunu tam olarak bilinmemekte ancak güçlü kanıtların bölge spesifik nöral progenitor kök hücrelerin olması gerektiği düşünülmektedir. Bu hayvan çalışmalarının klinik çalışmaları çoğunun başlamamış, başlayanların çoğunun sonucu henüz alınmamıştır. Sınırlı sayıda yayınlanan Faz I çalışmalarının sonucunda bildirilen tedavi metodlarının etkinliğini gösterebilmek için uzun süreli, vaka-kontrollü çalışmalara gereksinim duyulduğunu belirtmektedir. Kontrollü, randomize, kör, çokmerkezli klinik araştırması yapılmamış bir metod, tedavi metodu olarak kabul edilemez.

Omurilik yaralanmasında da tıp biliminin diğer branşlarında olduğu gibi bir metodun standart tedavi metodu olarak uygulanabilmesi için uzun süreli, vaka-kontrollü, kör, çok merkezli çalışmalara gereksinim vardır. Omurilik yaralanması sonucu felç olan hastalar ve aileleri bu ağır patoloji ve sakatlık ile ruhsal, sosyal, fiziksel ve maddi olarak mücadele etmek zorundalardır. Bazı bilim merkezleri (!) kök hücrelerin “panacea” (her derde deva) olduğunu bildirmektedir. İnternette ve medyada bu hücreleri ya da benzerlerini kullanarak hastaları belli bir mebla karşılığı iyileştirdiğini iddia eden ilanlara rastlamak mümkündür. Omurilik yaralanmasında hastaları iyileştirdiğini reklam yolu ile duyuran kliniklerin bu konuda yayınına ve bilimsel çalışmasına hiç rastlanmadığı gözönünde bulundurulmalıdır. Bu denemeler, tecrübeler yada bilgiler hastalar ve aileleri ile paylaşmadan önce bilimsel, kanıta dayalı, ispatlanabilir ve tekrarlanabilir özellikleri ile bilimsel ortamlarda paylaşılmalı ve tartışılmalıdır.

KAYNAKLAR:

1. Alessandri B, Bullock R: Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res* 116:303-330, 1998
2. Anderson DK, Means ED. Iron induced lipid peroxidation in spinal cord: protection with mannitol and methylprednisolone. *J Free Radic Biol Med* 1:59-64, 1985
3. Attar A, Kaptanoglu E, Aydin Z, Ayten M, Sargon MF: Electron microscopic study of the progeny of ependymal stem cells in the normal and injured spinal cord. *Surgical Neurology (Baskıda)*
4. Attar A, Tuna H, Sargon M, Yüceer N, Türker K, Egemen N Early protective effects of Iloprost after experimental spinal cord traumas on rabbits *Neurological Research*, 20, 353 – 359,1998
5. Attar A, Tuna H, Uğur H.C, Sargon M, Turker K , Egemen N Effect of Iloprost on vasospasm after experimental spinal cord injury, an electron and light microscobic study , *Neurol Res*. 2001 Dec;23(8):843-50
6. Balentine JD: Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab Invest* 39:236-253, 1978
7. Beattie MS, Bresnahan JC, Komon J, Tovar CA, Meter M, Anderson DK, Faden AI, Hsu CY, Noble LJ, Salzman S, Young W: Endogenous repair after spinal cord contusion injuries in the rat. *Exp Neurol* 148:453-463, 1997
8. Bracken MB, Holford TR. Effects of timing of methylprednisolone or naloxone administration on recovery of segmental and long-tract neurological function in NASCIS 2. *J Neurosurg* 79:500-507, 1993
9. Bracken MB, Shepard M, Holford TR, et al. Methylprednisolone or tirilazad mesilate administration after acute spinal cord injury: 1-year follow up. Results of the third National Acute Spinal Cord Injury Randomized controlled trial. *J Neurosurg* 89:699-706, 1998
10. Buki A, Okonkwo DO, Povlishock JT. Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 16:511-521,1999
11. Bunge RP. Expanding roles of Schwann cell: Ensheathment, myelination, tropism and regeneration. *Curr Opin Neurobiol* 3:805-809, 1993
12. Caroni P, Schwab ME. Two membrane protein fractions from rat central myelin with inhibitory properties for neurite growth and fibroblast spreading. *J Cell Biol* 106:1281-1288,1988
13. Cheng H, Cao y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: Partial restoration of hind limb function. *Science* 273:510-513, 1996
14. Cicek S. Attar A, Tuna H, Kecik Y, Egemen N, Effects of Different Doses of Epidural Midazolam on Somatosensory Evoked Potentials *Acta Neurochir (Wien)*,142:9,21-927,2000
15. Coskun K, Attar A, Tuna H, Sargon M, Turker K, Egemen N, Early protective effects of Iloprost after experimental spinal cord ischemia in rabbits *Acta Neurochir. (Wien)* ,142:10,1135-1142,2000
16. Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, Reynolds BA, Weiss S, van der Kooy D.: In vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci* 16(8):2649-58, 1996
17. Crowe MJ, Breshnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS: Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 1:73-76, 1997
18. David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" after central nervous system injury in adult rats. *Science Wash DC* 214:931-933, 1981
19. Devon R, Doucette R. Olfactory ensheathing cells myelinate dorsal root ganglion neurites. *Brain Res* 589:175-9, 1992
20. Doucette R. Olfactory ensheathing cells : potential for glial cell transplantation into areas of CNS injury. *Histol Histopathol* 10:503-7, 1995
21. Duffill J Buckley J, Lang D, et al. Prospective study of omental transposition in patients with chronic spinal injury. *J Neuro Neurosurg Psychiatry* 71:73-80, 2001
22. Emery E, Aldana P, Bunge MB: Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 89:911-920, 1999
23. Ergun H, Bagdatoglu C, Ugur HC, Temiz C, Attar A, Egemen N, Tulunay FC, The vasorelexant effect of dipyron on an experimental cerebral vasospasm model in rabbits, *Neurological Research*, 22 (8):815-8,2000
24. Erskine L, Steward R, McCaig CD. Electric field directed growth and branching of cultured frog nerves, effects of aminoglycosides and polycations. *J Neurobiol* 26:523-536, 1995
25. Farbman A. Olfactory neurogenesis: Genetic or environmental control? *Trends Neurosci* 13:362-5, 1990
26. Fehlings MG, Tator CH, Linden RD: The relationships among the severity of spinal cord injury, motor and somatosensory evoked potentials, and spinal cord blood flow. *EEG Clin Neurophysiol* 74:241-259, 1989
27. Feron F, Perry C, Cochrane J, Licina P, Nowitzke A, Urquhart, Geraghty T, Mackay-Sim A: Autologous olfactory ensheathing cell transplantation in human spinal cord injury. *Brain* (in print), 2005
28. Franzen R, Schoenen J, Leprince P, Joosten EAJ, Moonen G, Martin D. Effects of macrophage transplantation in the injured adult rat spinal cord : A combined immunocytochemical and biochemical study. *J Neurosci Res* 51:316-327, 1998
29. Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, et al. Effects of EPC-K1 on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine* 25:24-29, 2000
30. Goldman SA, Sim F: Neural progenitor cells of the brain. *Novartis Found Symp* 265:66-80, 2005
31. Goldsmith HS, De La Torre JC. Axonal regeneration after spinal cord transection and reconstruction. *Brain Res* 589:217-224, 1992
32. Gritti A, Parati EA, Cova L et al. Multipotent stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in the response to basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* 16:1091-100, 1996
33. Hall ED, Braughler JM. Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and (Na⁺,K⁺)-ATPase activity. Dose-response analysis during the 1st hour after contusion injury in the cat. *J Neurosurg* 57:247-253, 1982
34. Hurlbert RJ. Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standart of care. *J Neurosurg* 93(supp1): 175-179, 2000

35. Iwanami a, Kaneko S, Nakamura M, Kanemura Y, Mori H, Kobayashi S, Yamasaki M, Momashima S, Ishii H, Ando K, Tanioka Y, Tamaoki N, Nomura T, Toyama Y, Okano H: Transplantation of human neural stem cells for spinal cord injury in primates. *J Neurosci Res* 80 (2):182-190, 2005
36. Iwashita Y, Kawaguchi S, Murata M. Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. *Nature* 367:167-170, 1994
37. Kaptanoğlu E: Omurilik yaralanması. Temel Nöroşirürji. Editörler: Aksoy K, Palaoğlu S, Pamir N, Tuncer R. Türk Nöroşirürji Derneği Yayınları. Cilt 2. Bölüm 125, Sayfa: 1144-1155, 2005, Ankara, (Kitap Bölümü).
38. Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Solaroğlu İ, Kılınc A, Taşkın Y: Magnesium sulphate treatment in experimental spinal cord injury: Emphasis on vascular changes and early clinical results. *Neurosurgical Review* 26:283-287, 2003
39. Kaptanoğlu E, Caner H, Solaroğlu I, Kilinc K: Mexiletine treatment-induced inhibition of caspase-3 activation and improvement of behavioral recovery after spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 3:53-56, 2005
40. Kaptanoğlu E, Tator CH: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri (Strategies for neuroprotection after spinal cord injury). Omurilik ve omurga cerrahisi. Editörler: M. Zileli, F. Özer. Bölüm:63, Sayfa:813-832, 2002, İzmir, (Kitap Bölümü).
41. Kaptanoğlu E, Palaoglu S, Surucu S, Hayran M, Beskonaklı E: Ultrastructural scoring of graded acute spinal cord injury in the rat. *Journal of Neurosurgery (Spine 1)* 97:49-56, 2002
42. Kaptanoğlu E, Solaroğlu I, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonaklı E: Blockade of sodium channels by phenytoin protects ultrastructure and attenuates lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Acta Neurochir (Wien)* 147(4):405-12, 2005
43. Kaptanoğlu E, Şen S, Beşkonaklı E, Sürücü S, Tuncel M, Kılınc K, Taşkın Y: Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology* 14(2):114-122, 2002
44. Kaptanoğlu E, Tuncel M, Palaoğlu S, Konan A, Demirpençe E, Kılınc K: Comparison of the effects of melatonin and methylprednisolone in experimental spinal cord injury. *Journal of Neurosurgery (Spine 1)* 93:77-84, 2000
45. Karamehmetoglu SS, Unal S, Karacan I, Yilmaz H, Togay HS, Ertekin M, Dosoglu M, Ziyal MI, Kasaroglu D, Hakan T: Traumatic spinal cord injuries in Istanbul, Turkey. An epidemiological study. *Paraplegia* 33(8):469-71, 1995
46. Katoh S, Ikata T, Tsubo M, Hamada Y, Masry MSE: Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury. *Injury* 28:215-217, 1997
47. Knoller N, Auerbach G, Fulga V, Zelig G, Attias J, Bakimer R, Marder JB, Yoles E, Belkin M, Schwartz M, Hadani M: Clinical experience using incubated autologous macrophages as a treatment for complete spinal cord injury: Phase I study results. *J Neurosurg Spine* 3:173-181, 2005
48. Kocsis JD, Akiyama Y, Radtke C: Neural precursors as a cell source to repair the demyelinated spinal cord. *J Neurotrauma* 21 (4):441-9, 2004
49. Koshizuka S, Okada S, Okawa A, Koda M, Murasawa M, Hashimoto M, Kamada T, Yoshinaga K, Murakami M, Moriya H, Yamazaki M: Transplanted haemopoietic stem cells from bone marrow differentiate into neural lineage cells and promote functional recovery after spinal cord injury in mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 63(1):64-72, 2004
50. Kreutzberg GW. Microglia: A sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci* 19:312-318, 1996
51. Kulbatski I, Mothe AJ, Nomura H, Tator CH: Endogenous and exogenous CNS derived stem/progenitor cell approaches for neurotrauma. *Curr Drug Targets* 6(1):111-26, 2005
52. Lepore AC, Bakshi A, Swanger SA, Rao MS, Fischer I: Neural precursor cells can be delivered into the injured cervical spinal cord by intratecal injection at the lumbar cord. *Brain Res* 1045(1-2): 206-216, 2005
53. Li M, Ona VO, Kaul M, et al: Functional role and therapeutic implications of neuronal caspase-1 and -3 in a mouse model of traumatic spinal cord injury. *Neuroscience* 99:333-342, 2000
54. Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ: Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *Brain Res* 547:344-348, 1991.
55. Lois C, Alveraz-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:2074-77, 1993
56. McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, et al. Transplanted stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nature Medicine* 5:1410-1412, 1999
57. McKerracher L, David S, Jackson DL, Kottis V, Dunn RJ, Braun PE. Identification of myelin-associated glycoprotein as a major myelin-derived inhibitor of neurite growth. *Neuron* 13:805-811, 1994
58. Nagashima C, Masumori Y, Hori E, et al. Omentum transplantation to the cervical spinal cord with microanastomosis. *No Shinkei Geka* 19:309-318, 1991
59. Namiki J, Tator CH: Cell proliferation and nestin expression in the ependyma of the adult rat spinal cord after injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 58:489-498, 1999
60. Nashmi R, Fehlings MG: Role of voltage gated K⁺ channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* 14:5-9, 2001
61. Nemecek S. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Adv Neurol* 20:395-405, 1978
62. Nesathurai S. Steroids and spinal cord injury: revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* 45:1088-1093, 1998
63. Nistar GI, Totoiu MO, Haque N, Cvarpenter MK, Keirstead HS: Human embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes in highly purity and myelinate after spinal cord transplantation. *Glia*49(3):385-96, 2005.
64. Park HC, Shim YS, Ha Y, Yoon SH, Park SR, Choi BH, Park HS: Treatment of Complete spinal cord injury patients by autologous bone marrow cell transplantation and administration of Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor. *Tissue Engineering* Vol:11, No: 5/6, 2005
65. Pui Ng W, Cartel N, Roder J, et al. Human nervous system myelin inhibits neurite outgrowth. *Brain Res* 720:17-24, 1996

66. Rafael H, Malpica A, Espinoza M, et al. Omental transplantation in the management of chronic traumatic paraplegia. *Acta Neurochir (Wien)* 114:145-146, 1992
67. Rapalino O, Lazarov-Spiegler O, Agranov E: Implantation of stimulated homologous macrophages results in partial recovery of paraplegic rats. *Nature Medicine* 4:814-821, 1998
68. Richardson PM, Verge VMK. The induction of a regenerative propensity in sensory neurons following peripheral axonal injury. *J Neurocytol* 15:585-594, 1986
69. Roederer E, Goldberg NH, Cohen MJ. Modification of retrograde degeneration in transected spinal axons of the lampreys by applied DC current. *J Neurosci* 3:153-160, 1983
70. Salvio T, Schwab ME. Lesioned corticospinal axons regenerate in myelin-free rat spinal cord. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4130-4133, 1990
71. Schnell L, Schwab ME. Sprouting and regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in adult rat spinal cord. *Eur J Neurosci* 5:1156-1171, 1993
72. Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 76:319-370, 1996
73. Schwab ME, Kapfhammer JP, Bandtlow CE. Inhibitors of neurite growth. *Annu Rev Neurosci* 16:565-95, 1993
74. Schwartz M, Lazarov-Spiegler O, Rapalino O, Agranov I, Velan G, Hadani M: Potential repair of rat spinal cord injuries using stimulated homologous macrophages. *Neurosurgery* 44(5): 1999
75. Smith GM, Miller RH, Silver J. Changing role of forebrain astrocytes during development, regenerative failure, and induced regeneration upon transplantation. *J Comp Neurol* 251:23-43, 1986
76. Stys PK, Waxman SG, Ransom BR: Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian spinal CNS white matter: Role of Na⁺ channels and Na⁺-Ca⁺⁺ exchanger. *J Neurosci* 12:430-439, 1992
77. Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. *Neurosurgery* 42:696-708, 1998
78. Tator CH: Honorary lecturer at Nurhan Avman Days in Ankara University Faculty of Medicine Department of Neurosurgery: Personal communication. March 5-6 2005, Ankara, Turkey.
79. Tator CH, Fehlings MG: Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 75:15-26, 1991
80. Tator CH, Kaptanoğlu E: Yaralanmış omuriliğin rejenerasyonu (Regeneration of the injured spinal cord). *Omurilik ve omurga cerrahisi*. Editörler: M. Zileli, F. Özer. Bölüm:65, Sayfa:841-866, 2002, İzmir, (Kitap Bölümü).
81. Tello F. La influencia del neurotropismo en la regeneracion de los centros nerviosos. *Trab Lab Invest Biol* 9:123-159, 1911
82. Tohyama T, Lee VM-Y, Rorke LB et al. Nestin expression in embryonic human neuroepithelium and in human neuroepithelial tumor cells. *Lab Invest* 66:303-13, 1992
83. Wrathall JR, Teng Y, Choiniere D, Mundt D: Evidence that local non-NMDA receptors contribute to functional deficits in contusive spinal cord injury. *Brain Res* 586:140-143, 1992
84. Xiao M, Klueber KM, Lu C, Guo Z, Marshall CT, Wang H, Roisen FJ: Human adult olfactory neural progenitors rescue axotomized rodent rubrospinal neurons and promote functional recovery. *Exp Neurol* 194(1):12-30, 2005
85. Young W. Medical treatments of acute spinal cord injury. *J Neurol Neurosurg Psych* 55:635-639, 1992
86. Yuçeer N, Attar A, Sargon M, Turker K, Egemen N, The early protective effects of L-arginine and Ng-nitro-Larginine methyl ester after experimental acute spinal cord injury. A light and electron microscobic study, *Journal of Clinical Neuroscience*, 7 (3), 238-243, 2000
87. Yuçeer N, Tuna H, Attar A, Sargon M, Egemen N, The effects of topical L-Arginine and Ng-nitro- L Arginine methyl ester after experimental acute spinal cord injury: A light and Electron microscobic study *Neurosurgical Review* 25 (3): 184-190 2002