

**T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI  
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA İNSAN UMBİLİKAL  
KORD KANI TRANSPLANTASYONUNUN ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**HAZIRLAYAN  
Dr. OSMAN TOLGA KARADAĞ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. BAYRAM ÇIRAK**

**DENİZLİ 2006**

İş bu çalışma jürimiz tarafından **NÖROŞİRÜRJİ ANABİLİM DALI**'nda  
**TIPTA UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN:**

Prof.Dr. Kadir TAHTA

**ÜYE :**

Prof.Dr. S. Tuncer SÜZER

**ÜYE :**

Prof.Dr. M. Erdal COŞKUN

**ÜYE :**

Prof.Dr. H. Türker ŞAHİNER

**ÜYE :**

Doç.Dr. Bayram ÇIRAK

Yukarıda imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

24.04/2006

**DEKAN**

Prof.Dr. Hüseyin BAGCI

## TEŞEKKÜR

İhtisas öğrenimim ve eğitimim süresince bana rehberlik eden, bilgi ve deneyimlerini aktaran Anabilim Dalındaki sayın hocalarım Prof.Dr. Kadir TAHTA, Prof.Dr. Tuncer SÜZER, Prof.Dr. Erdal COŞKUN, Yrd.Doç.Dr. Feridun ACAR'a, tez çalışmalarım boyunca teşvik ve desteğini gördüğüm tez danışmanım sayın Doç.Dr. Bayram ÇIRAK'a, çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi arkadaşlarıma , çalışmamın hazırlık aşamasında yardımcı olan Deneysel Araştırma Biriminden Veteriner Hekim Barbaros ŞAHİN'e, çalışmalarım sırasında destek olan Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanı Dr. Aysun KARABULUT'a, nörofizyolojik çalışmalarım gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Fizyoloji Anabilim dalından Doç.Dr. Osman GENÇ'e ve Fizyoloji doktora öğrencisi A.Haydar ERKEN'e, dokuların patolojik değerlendirmesinde katkılarından dolayı Patoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr. Nagihan ÇOLAKOĞLU'na , istatistiksel analiz için Yrd. Doç.Dr. Beyza AKDAĞ'a, çalışmalarım ve ihtisasım boyunca bana destek sağlayan biricik eşim Hatice KARADAĞ'a teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>GENEL BİLGİLER</b>	<b>3</b>
Tarihçe	3
Epidemiyoloji	6
Deneysel omurilik yaralanması	8
Omurilik yaralanmalarında fizyopatoloji	12
Omurilikte nöronal plastisite ve rejenerasyon	18
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	<b>27</b>
Deney hayvanlarının hazırlanması	27
Deneyin yapılışı	27
İnsan Umbilikal Kordon Kanının Alınması	32
Rotarod Performans Testi	32
Siyatik sinir - ön kök refleks çalışması	33
Patolojik inceleme	38
İstatistiksel Analiz	38
<b>BULGULAR</b>	<b>39</b>
Muayene bulguları	39
Rotarod performans bulguları	45
Eğik düzlem testi bulguları	48
Nörofizyolojik Refleks Çalışması Bulguları	52
Patolojik İnceleme Bulguları	55
<b>TARTIŞMA</b>	<b>59</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>106</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>108</b>
<b>ÖZET</b>	<b>110</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>112</b>

## TABLolar ÇİZELGESİ

Tablo I: Deneysel omurilik yaralanması modelleri listesi	9
Tablo II: Deneysel omurilik yaralanmalarında takip parametreleri	10
Tablo III: Omurilik yaralanmasında ikincil hasar mekanizmaları	14
Tablo IV: Omurilik yaralanması sonrası rejenerasyon için transplantasyon stratejileri	23
Tablo V: Sıçanların 8 haftalık muayenelerinin kategorize edilmesi	40
Tablo VI: 0. Hafta nörolojik muayene bulgularının sayısal dağılımı	41
Tablo VII: 0. Hafta muayene bulgularının gruplara göre dağılımı	41
Tablo VIII: 8. Hafta muayene bulgularının sayısal dağılımı	42
Tablo IX: 8. Hafta muayene bulgularının gruplara göre dağılımı	42
Tablo X: 4 grupta yer alan sıçanların haftalık rotarod performans değerleri	45
Tablo XI: Rotarod performans testinin haftalık olarak, gruplar arası genel farklılığının Kruskal Wallis testiyle gösterilmesi	46
Tablo XII: 0.hafta Rotarod testlerinin gruplar arasında karşılaştırılması	46
Tablo XIII: 3. hafta sıçanların Rotarod performansların değerlendirilmesi	47
Tablo XIV: 8. hafta sıçanların rotarod performanslarının değerlendirilmesi	47
Tablo XV: Sıçanların haftalık eğik düzlem testi bulguları	49
Tablo XVI: Sıçanların haftalık olarak eğik düzlem testi performanslarının istatistiksel olarak karşılaştırılması	50
Tablo XVII: 0. hafta eğik düzlem testi sonuçlarının gruplar arasındaki değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	50
Tablo XVIII: 8. hafta eğik düzlem testi sonuçlarının gruplar	51

arasındaki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	
Tablo XIX: 1.Grupta refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması	52
Tablo XX: 2. Grup refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması	53
Tablo XXI: 3. Grupta refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması	53
Tablo XXII: 4. Grup sağ ve soldan alınan refleks yanıtların karşılaştırılması	54
Tablo XXIII: Sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıtların genel gruplar arası karşılaştırılması	54
Tablo XXIV: Sağ taraf reflekslerin gruplar arası anlamlılığının birbirleriyle karşılaştırılması	55
Tablo XXV: Tedavide kök hücresi kullanılan hastalıklar	98

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil 1: Omurilik yaralanmalarını anlatan Edwin Smith papirüsü	4
Şekil 2: Hipokrat'ın kifotik deformiteler için geliştirdiği traksiyon masası	5
Şekil 3 : Omurilik yaralanmasında fizyopatolojik değişikliklerin görünümü	16
Şekil 4: Sıçanda laminektomi defektinin BT ile görüntülemesi	29
Şekil 5: Laminektomi sonrası omuriliğin görünümü	30
Şekil 6:Laminektomi sonrası omurilik sağ yarısında kesi görünümü	30
Şekil 7: Rivlin ve Tator'un Eğik Düzlem Testi	31
Şekil 8: Rotarod Performans Cihazı	33
Şekil 9: Omurilik rootunda ön ve arka köklerin ayrılma işlemi	35
Şekil 10: Sıçanda aynı taraf ön kök-siyatik sinirde elektrot yerleştirilmesi	35
Şekil 11: Grup 1'de yer alan bir sıçanda sağ tarafta poligrafla siyatik sinir uyarısı sonrası ön kökten alınan refleks cevap	36
Şekil 12: Grup 2'de yer alan bir sıçanda sağ tarafta poligrafla siyatik sinir uyarısı sonrası ön kökten alınan refleks cevap	36
Şekil 13: Grup 3'te yer alan bir sıçanda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıt	37
Şekil 14: Grup 4'te yer alan bir sıçanda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıt	37
Şekil 15: Çalışmanın başlangıcı ve sonundaki muayene bulgularının değişimi	43
Şekil 16: 2. gruptaki sıçanların 0. ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı	44
Şekil 17: 3. gruptaki sıçanların 0. ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı	44
Şekil 18: 4.gruptaki sıçanların 0 ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı	44
Şekil 19: Sıçanların 8.hafta Rotarod testi performanslarının grafiği	48
Şekil 20: Sıçanların 8. hafta Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testi sonuç grafiği	51
Şekil 21:Siyatik sinir- ön kök refleks çalışmasında sağ ve sol refleks	55

ölçümlerinin % amplitüd olarak gösterilmesi	
Şekil 22: Grup 1’de yer alan sıçana ait omurilik enine kesiti	56
Şekil 23:Grup 2’de yer alan sıçanın histopatolojik görünümü	56
Şekil 24: Grup 3’de yer alan sıçanın histopatolojik preparatında leptomeninkste atipik hücreler içeren granülasyon dokusu ve kalınlaşma	57
Şekil 25: Grup 4’te yer alan sıçanda medulla spinaliste reaktif gliozis alanı	58
Şekil 26:Kök hücrelerin farklı hücrelere dönüşebilme yetenekleri	90



## KISALTMALAR DİZİNİ

- BDNF: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
- BrdU: Bromodeoksiüridin
- EAA: Eksitatör aminoasit
- EGF: Epidermal büyüme faktörü
- EKH: Embriyonik kök hücre
- FGF: Fibroblast büyüme faktörü
- GFAP: Glial fibriler asit protein
- HKH: Hematopoietik kök hücre
- H&E: Hematoksilen Eosin
- MAPG: Multipotent adult progenitör hücre
- MEP: Motor Evoked Potansiyel
- MKH: Mezenkimal kök hücre
- NMDA: N metil D aspartat
- PNL: Polimorfonükleer lökosit
- PSS: Periferik Sinir Sistemi
- SEP: Somatosensoryal Evoked Potansiyel
- SP: Side popülasyon hücreleri
- SSS: Santral Sinir Sistemi
- VEGF: Vasküler Endotelyal büyüme faktörü

## GİRİŞ VE AMAÇ

Uygarlığın ve teknolojinin gelişmesi insanların daha uzun, sağlıklı ve mutlu yaşayabilmeleri için gerekli ortamı sağlarken, insanın bedensel ve ruhsal yapısını tehdit eden pek çok problemi de beraberinde getirmektedir. Gelişmekte olan dünyada, artan trafik, iş ve spor kazaları bu sorunlardan birkaçıdır. Ölüme yol açan sebepler incelendiğinde kazaların, vasküler hastalıklar ve kanserlerden sonra üçüncü sırada yer aldığı görülmektedir (1).

Kazalara bağlı omurilik yaralanmaları, yüksek oranda ölüme ve ağır sakatlıklara neden olması bakımından, hastaya olduğu kadar, yakınları, tedavi eden sağlık ekibi ve toplum açısından da büyük maddi ve manevi sorunlara yol açan trajik bir hastalık grubunu oluşturmaktadır.

Ülkemizde bu alanda yapılmış ciddi bir epidemiyolojik çalışma olmamakla birlikte batı kaynaklı istatistiklere bakıldığında, omurilik yaralanması riskinin yılda milyonda 20-40 olduğu dikkati çekmektedir. Bu kazaların % 81'i 0-44 yaşlar arasında görülmekte, kazaya uğrayanların % 88'ini de çalışan aktif bireyler oluşturmaktadır. A.B.D.'de yapılan bir çalışmada, omurilik yaralanması olan hastaların topluma yılda yaklaşık 4 milyar \$ mali yük getirdiği belirtilmektedir (2).

Omurilik yaralanmalarının 2/3'ü trafik kazaları ve yüksekten düşme sonucu olmakta, yarısından fazlası tetrapleji ile sonuçlanmaktadır. Başvuru sırasındaki nörolojik fonksiyonların değerlendirilmesi, en sık görülen tablonun inkomplet tetrapleji olduğunu, bunu komplet parapleji, komplet tetrapleji ve inkomplet paraplejinin izlediğini göstermiştir (3). Yıllık ölüm oranlarına bakıldığı zaman da, bu oranın travma sonrası 1. yılda en yüksek olduğu görülmüştür.

Birey ve toplum için bu kadar önemli bir sorun olan omurilik yaralanmalarının tedavisi yapılan ve yapılmakta olan birçok araştırmaya rağmen ne yazık ki hala yüz

güldürücü değildir. Aktif yaşama katılamamanın getirdiği sosyal sorunlar, iş gücü kayıpları ve yaşamının en verimli olabileceği dönemde, nerede ise bütünü ile dışa bağımlı hale gelmiş kişilere tıbbın verebileceği tek şey, hastanın mevcut nörolojik durumunu kabullenmesini ve en verimli şekilde kullanmasını sağlamaya yönelik rehabilitasyon ve sosyal uyum olmaktadır.

Deneysel ve klinik olarak yüzlerce çalışma ile omurilik yaralanmalarının tedavisi araştırılmaktadır. Biz de bu çalışmamızda, deneysel omurilik yaralanması oluşturulan sıçanlarda, hasarlı bölgeye insan umbilikal kordon kanı transplante ederek, transplante edilen dokunun nöronal hasar üzerindeki etkisini; klinik, morfolojik, patolojik ve nörofizyolojik olarak incelemeyi amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### TARİHÇE

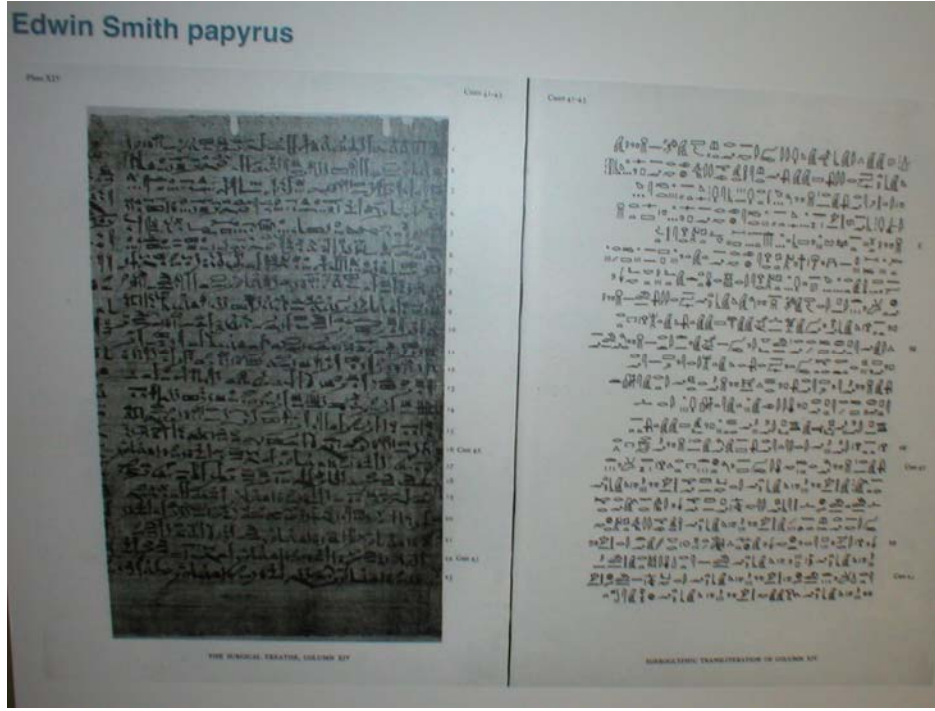
Günümüzde spinal kord yaralanmaları, hem kemik dokuyu hem de sinir dokusunu içeren yaralanmalar olması sebebiyle iki ayrı sistem yaralanması gibi değerlendirmeden ziyade bir kombinasyon olarak değerlendirilmektedir. Son 4-5 dekat içindeki gelişmelerle olayın vertebra komponenti çözümlenmiş gibi görülse de sinir dokusu komponenti hala çözülmeyi bekleyen önemli bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Mevcut pratik cerrahi girişimlerin, istisnai klinik ve deneysel çalışmaları saymazsak, neredeyse tamamı yaralanmış omurgada sadece kemik komponent hasarı üzerinden düşünülerek hayata geçirilmektedir. Travma sınıflamaları, bu sınıflamaların sonunda oluşan hasarlar ve bunlara yönelik tanı ve tedavi metodlarının hemen hemen tamamı kemik komponent üzerinden olmaktadır.

Tıp tarihi bize omurilik yaralanmalarıyla ilgili ilk bilgilere 5000 yıl önce Mısır'da rastlandığını göstermektedir. Edwin Smith Papirus'u adıyla anılan belgede Mısır'lı hekimlerin omurilik yaralanmalarını üçe ayırdıkları görülmektedir (4,5,6,7) (Şekil1):

Hafif—Tedavi edilebilir

Orta—Tedavi için uğraşılabilir

Ağır—Tedavisi mümkün değil



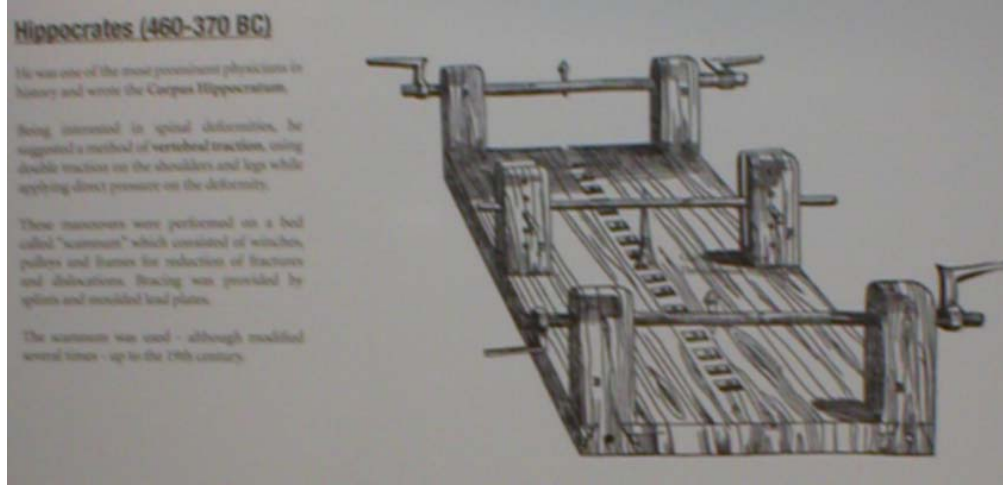
Şekil 1: Omurilik yaralanmalarını anlatan Edwin Smith papirüsü

Bu alanda, Hipokrat ve Galen'in dönemine gelinceye değin kayda değer bir gelişme söz konusu değildir (8).

Omuriliğe yönelik girişimlere bakılacak olursa, ilk kez Galen 2. yüzyılda omurilik insizyonu yapmıştır.

Hipokrat, kolumna vertebralisin kırık ve çıkıkları ile ortaya çıkan paraliziler arasındaki ilişkiye dikkat çekmiş, ancak medulla spinalisin fonksiyonu hakkında net bir fikir belirtmemiştir (8). Spinal kord yaralanması sonrası oluşan kifotik deformitelerin düzeltilmesi amacı ile daha sonra yüzyıllar boyunca uygulanacak olan traksiyonu önermiş ve etkin bir biçimde traksiyonun uygulanması için traksiyon masasını geliştirmiştir (Şekil 2). Bu yöntem daha sonra Oribasius (324-400), Egeli Paulus (625-690), İbni-Sina (980-1037), Parmalı Roland (?-1201), Ambroise Pare (1564), 19. yüzyılın ünlü Fransız cerrahı JF Calot ve nihayet geçen yüzyıl başında

Silezya'da Hartmann tarafından uygulanmıştır. Kimi zaman deformiteler düzeltilebilse de hastalar çoğunlukla üriner enfeksiyon ve bası yaralarına bağlı sepsis nedeniyle kaybedilmişlerdir (9).



Şekil 2: Hipokrat'ın kifotik deformiteler için geliştirdiği traksiyon masası

Çağlar içinde omurilik yaralanmalarıyla ilgili tek tük katkılara rastlanmaktaysa da, bilimsel ilerlemenin büyük aşama kaydettiği 19. yüzyılın ikinci yarısında başlayan çalışmalar, omurilik yaralanmasının değişik yönleriyle ilgili bilgi birikiminin temelini oluşturmuştur. 1849'da Brown-Sequard kuşlarda ve memelilerde yaptığı deneysel histolojik çalışmaları bildirmiş, omurilik yarı kesisiyle ilgili bilgiler vermiştir. 1894'te Myles kaza sonrası yapılacak dekompresif laminektominin yararlarını tartışmış, 1910'da Harrison ilk defa aksoplazmik akımın mekanizmalarını göstermiş, bundan 11 yıl sonra 1921'de de Lorento de No vertebralı amfibyumların larvalarında gözlediği omurilik rejenerasyonundan söz etmiştir (5,7).

Omurilik yaralanmalarında lezyondan rejenerasyona anatomik, fizyolojik, histopatolojik çalışmalar sürerken 1911 yılında Allen'in köpeklerde omurilik üzerine ağırlık düşürerek deneysel akut omurilik yaralanması modelini geliştirmesi bu konuda bir çığır açmıştır (6,7,10,11,12). Ağırlık düşürme modeli olarak tanımlanan

bu modelde, dura üzerine dik açı ile belli bir yükseklikten belirli bir ağırlık tüp içinden düşürülmüş, böylelikle travma oluşturulmuştur. Oluşturulan travmanın şiddeti, ağırlık ile yüksekliğin çarpımı (gr-cm) şeklinde ifade edilmiştir. Allen, köpeklerde 345 gr-cm. şiddetindeki bir travmanın orta şiddette yaralanmaya, 420 gr-cm'nin spastik parapareziye, 450 gr-cm'nin de kalıcı paraplejiye yol açtığını göstermiştir. Bu modelin en büyük dezavantajı, posterior kord kompresyonu oluşturmasıdır. Ancak insanlarda, anterior kord kompresyonu daha sık görülür. Ağırlık düşürme modelinin farklı sonuçlara yol açtığı da bildirilmiştir. Buna karşın bu model, insandaki spinal kord yaralanmasının biyomekaniğini en iyi taklit eden modeldir (13,14).

DeneySEL çalışmalarla birlikte, tıp alanındaki diğer gelişmeler omurilik yaralanmasının fizyopatolojisini anlamının ötesinde tanı ve tedavide de yeni atılımlar sağlamıştır. Tarlov 1953'te epidural aralıkta balon şişirerek omurilik yaralanması oluşturmuştur. Rivlin ve Tator 1978'de omuriliği ekstradural olarak anevrizma klibi ile komprese etmiş, klip kapanma gücü ve kompresyon süresi ile omurilik yaralanma şiddeti arasında ilişki bulmuştur. Watson 1986'da lazer ile omurilik insizyonu yapmıştır. Stokes ve Reier 1990'da omuriliğe yapılacak darbenin şiddetini ve hızını önceden belirleyip darbe sonunda ön görülen travmanın olup olmadığını denetleyen elektromekanik bir cihaz geliştirmiştir. Faden, omurilik yaralanmasında hayvan modellerindeki varyasyonların en aza indirgenmesi gerektiğini vurgulamaktadır (15).

## EPİDEMİYOLOJİ

Spinal travmaların görülme sıklığı ABD istatistiklerine göre yılda 1.000.000 nüfusta 30-60 kişi civarındadır. Yılda 10.000 yeni omurilik yaralanması olmaktadır. Bunların da % 8,5'i servikal travma sonucu tetraplejik olmaktadır(16). Travma konusunda sağlıklı istatistiklerin olmadığı ülkemizde de trafik kazalarının spinal yaralanmalarda ilk sırayı alarak benzer oranlara sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Ülkemizde sadece akut omurilik yaralanmalarının insidansı yılda 500-600 yeni vaka şeklinde bildirilmektedir. İnsidansın ise her yıl 12,7/1.000.000 olduğu tahmin edilmektedir (17,18). Hastaların % 61'inin 16-30 yaşları arasında olması, problemin ciddiyetini daha da arttırmaktadır (17,19). Omurga ve omurilik yaralanmalarına uğrayan hastaların % 82'si erkektir ve yarısından fazlası 2. ve 3. dekatlar arasındadır. Vakaların yaklaşık yarısı nörolojik açıdan komplet hasara sahiptir; komplet hasarın % 54'ü kuadripleji, % 46'sı parapleji şeklindedir (16,17,20). Omurilik yaralanmasında özellikle genç (yaş ortalaması 31,7) ve erkek nüfus (kadın/erkek oranı 1/4 ) etkilenmektedir (16,21). Omurilik lezyonuna neden olan travmaların, en çok yaz aylarında, özellikle hafta sonu günlerde ve günün en çok 24-05 saatleri arasında meydana geldiği görülmüştür (16).

Spinal yaralanmaların büyük çoğunluğunu trafik kazaları ve yüksekten düşmeler oluştururken, bu olguların yarısından fazlası da tetrapleji ile sonuçlanmaktadır. Başvuru sırasında nörolojik fonksiyonlar değerlendirildiğinde, en sık görülen tablonun inkomplet tetrapleji, sonra komplet parapleji, komplet tetrapleji ve inkomplet parapleji izlenmektedir (3,16).

Spinal yaralanmada yıllık ölüm oranlarına baktığımızda, oranın ilk 1. yılda en yüksek olduğu, daha sonra azaldığı ve 10 yıllık toplam ölüm oranının lezyonun seviyesi ve ağırlığına göre farklılaşarak % 67 ile % 20 arasında olduğu saptanmıştır. Ölüm nedenleri arasında daha önceleri üriner sistem komplikasyonları ön sıralarda yer alırken, günümüzde sepsis (bası yarası, pnömoni, üriner sistem kaynaklı enfeksiyonlar) ve pnömoni ilk sıralara yükselmiştir (4).

Epidemiyolojiye ilişkin bir çalışma 1995 yılında yayımlanmış olan Japan Medical Society of Paraplegia'nın Spinal kord travma önleme komitesi tarafından yapılan ve tüm merkezlere gönderilen anket formlarına bakarak hazırlanmış bir araştırmadır (22). 3 yıllık bir döneme ait olguların görülme sıklığı 40,2 / milyon



popülasyon / yıl olarak bulunmuştur. Erkek/kadın oranı 4/1, ortalama yaş ise 48,6±19 bulunmuştur.

Servikal omurilik yaralanması % 75, torakolomber yaralanma ise % 25 oranında görülmüştür. Total omurilik yaralanması servikal travmaların % 21,2'sini, torakolomber travmaların ise % 39,9'unu yapmaktadır (22).

Yaralanma nedenleri arasında diğer tüm serilerde olduğu gibi birinci sırayı trafik kazaları (% 43,7), ikinci sırayı yüksekten düşme (%28,9), üçüncü sırayı ise zeminde düşme (% 12,9) almaktadır (22). Her iki çeşit düşme, trafik kazalarına yakın bir orana sahiptir ve bu kadar yüksek oran sadece Japonya'ya özgüdür. Servikal travmaların en sık nedenleri sırasıyla trafik kazası, yüksekten düşme, zeminde düşme iken, torakolomber travmalarda ise en sık nedenler sırasıyla yüksekten düşme, trafik kazası ve bir obje çarpması idi.

Epidemiyolojik veriler, cinsiyete göre değerlendirildiği kadar, yaş gruplarına göre de değerlendirilmiş ve çocukluk yaş grubunda düşmeler ve spor yaralanmaları yetişkinlere göre biraz daha ön plana çıkmıştır. Yine çocukluk yaş grubunda radyolojik patoloji bulunmadan nörolojik hasar bulunma (SCIWORA) oranı yetişkinlerden daha yüksektir (23).

## DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI

Deneysel omurilik yaralanmalarında kullanılan yöntemlere bakıldığında birçok deneysel omurilik travma modelleri tanımlanmıştır (24,25). Bunların arasında en çok kullanılanlar; *kompresyon, fotokimyasal travmatik yaralanma, akut kinetik kompresyon ve akut statik kompresyon, kord kesisi, tam veya yarı kesi, soğuk uygulama* modelleridir. Kinetik kompresyon bir saniyeden daha kısa bir sürede, statik kompresyon ise bir saniyeden daha uzun bir sürede gerçekleştirilen spinal kord kompresyonudur. Fotokimyasal modelde ise, spinal kord vasküler endotelinde

fotokimyasal hasar oluşturulur; buna bağlı olarak sırayla tromboz, iskemi ve vazojenik ödem meydana gelir (24).

---

Tablo I: Genişletilmiş deneysel omurilik yaralanması modelleri listesi (Tator (24) tarafından yapılan sınıflandırmaya ek yapılmıştır )

---

A. Travmatik Yaralanma

1. Akut kinetik kompresyon: Klip, balon kompresyon, vertebral dislokasyon.
2. Akut statik kompresyon: Ağırlık uygulama.
3. Çarpma veya ağırlık düşürme.
4. Akselerasyon-deselerasyon.
5. Distraksiyon.
6. Transseksiyon:Parsiyel, komplet, hemiseksiyon (Laser, bistüri)

B. Non-travmatik Yaralanma

1. İskemi: Aort oklüzyonu, selektif arteriyel ya da venöz oklüzyon.
  2. Tümör kompresyon: Ekstradural.
  3. Kimyasal ve fotokimyasal.
  4. Soğuk uygulama
- 

Bu farklı omurilik yaralanma mekanizmalarından sıklık bakımından en fazla ağırlık düşürme modeli, klip kompresyon modeli, ventral kompresyon tekniği, kontrollü kontüzyon, omurilik iskemisi modeli, radyofrekans akımla segmental omurilik yaralanması ve omurilik kesi modelleri kullanılmaktadır (26). Bu yöntemlerin sahip olduğu özellikler bakımından tekrarlanabilir, istenilen şiddette uygulanabilir ve basit olması seçilecek yöntemin üstünlüklerini oluşturmaktadır.

Deneysel omurilik yaralanması sonrası, travmanın hayvan üzerindeki etkilerinin standart olarak değerlendirilmesinde kullanılan çeşitli yöntemler mevcuttur.

---

Tablo II: Deneysel omurilik yaralanmalarında takip parametreleri (24) genişletilmiş şekliyle

---

1. Klinik muayene

- a. Subjektif: Tarlov Motor Skalası
- b. Objektif: Rivlin ve Tator'un Inclined Plane (Eğik düzlem) sistemi
- c. Basso- Beattie- Bresnahan (BBB) lokomotor skalası
- d. Rotarod sistemi

2. Histolojik muayene

- a. Subjektif.
- b. Objektif: Akson sayımı, radyoaktif işaretleme, immünflorosan tekniği, elektron mikroskopisi

3. Görüntüleme: CT, MRI.

4. Anjiyografik değerlendirme.

5. Spinal kord kan akımı ölçümü.

6. Aksonal tarayıcılar ile değerlendirme.

7. Biyokimyasal ölçümlerle değerlendirme.

8. Nörofizyolojik değerlendirme: Uyarılmış potansiyeller, refleks çalışmaları

---

Deneysel spinal kord yaralanması oluşturulan hayvanlarda, iyileşmenin takibi amacıyla birçok parametre geliştirilmiştir. Bu parametrelerden biri olan Tarlov derecelendirme sistemi klinik nörolojik muayenenin derecelendirilmesi esasına dayanan, subjektif bir yöntemdir (27). Subjektif olarak değerlendirmeyi kantitatif hale getiren bu derecelendirme sisteminde paralitık sıçana 0 puan verilirken, normal motor davranışı olan sıçana 5 puan verilmiştir. Bu sistem Stokes ve Reier tarafından modifiye edilmiştir. Yakın zaman önce Basso ve arkadaşlarının tanımladığı, Basso-Beattie- Bresnahan (BBB) lokomotor skalası adıyla anılan ve subjektif gözlem bulgularına dayanan, alt ekstremitte kuvvetini 0 ile 21 puan arasında sınıflandırmış motor kuvvet skalası mevcuttur (28). 1977 yılında Rivlin ve Tator (29) tarafından geliştirilen Inclined Plane (eğik düzlem) tekniği objektif bir testtir. Bu teknikte, hayvanın eğik bir düzlem üzerine yatay pozisyonda yerleştirilmesinden sonra,

düzlemin zeminle olan açısı giderek arttırılır, hayvanın 5 saniye süresince devrilmeden durabildiği en yüksek açı, o hayvanın eğik düzlem derecesi olarak belirlenir (12,29).

Objektif testlerden biri de rotarod sistemidir. Rotarod performans testi, hayvanların motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği davranışsal bir test olup, hayvanların belirli bir yükseklikte ve belirli bir hızla elektrik enerjisiyle dönen rod üzerinde belli bir süre içerisinde yürüyebilmesi veya aşağıya düşmemesi esasına dayanır (30).

Deneyisel omurilik yaralanmalarının değerlendirilmesinde histolojik incelemelerde, kesitlerde yer alan nekroz ve hemoraji miktarı kantitatif hale getirilebilir. Akson sayısının çok anlamlı bir yöntem olduğu görülmüştür. Tator ve arkadaşları otomatik akson sayımı yapan bir yöntem geliştirmişlerdir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme'nin erken patolojik değişikliklerin görüntülenmesinde faydalı olduğu bulunmuştur.

Omurilik yaralanmasından sonra omuriliğin kan akımında belirgin azalma olur. Yaralanmadan 1-2 saat sonra posttravmatik iskemide ilerleme başlar (31). Omurilik kan akımı ölçüm yöntemleri olarak; C14-antipirin otoanjiografi yöntemi, Radyoaktif Mikrosferler ve Hidrojen Elektrot yöntemleri kullanılmaktadır. Sıçanlarda klip kompresyon yöntemi ile oluşturulan omurilik yaralanmasından hemen sonra derin ve kalıcı iskemi olduğu görülmüştür. Yüksekten ağırlık düşürme yöntemi kullanılarak oluşan omurilik yaralanmalarında ise omurilik kan akımında değişme olmadığı bildirilmiştir (24).

Akson tarayıcıları; travmanın, omurilikteki spesifik traktuslara olan olumlu ya da olumsuz etkilerini belirlemede kullanılan yöntemdir. Horseradish Peroksidaz yöntemi en yaygın olarak kullanılan metottur. Radyasyon etiketli veya fluoresan tarayıcılar da aynı amaçla kullanılırlar.

Biyokimyasal ölçümlerle omurilik yaralanmalarının değerlendirilmesinde, hücre içine girerek sitotoksik olaylar zincirini başlatan kalsiyum iyonunun ölçümü mümkündür. Mikrodiyaliz yöntemi ile omurilikte in vivo laktat, piruvat, aspartat, glutamat düzeylerinin ölçüm yöntemleri bildirilmiştir. Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin kantitatif olarak ölçümleri yapılabilmektedir. Antioksidan enzimlerin (katalaz, süperoksit dismutaz) seviyelerine bakılabilmektedir (26).

Elektrofizyolojik çalışmalarda, SEP (Somatosensoryal Evoked Potansiyel) yöntemi, omurilik yaralanması sonrasında aksonlar üzerindeki etkilenmeyi göstermekte ve sonuçta iyileşmeyi tahmin etmede iyi bir yöntem olarak kullanılmaktadır (32). MEP (Motor Evoked Potansiyel) yöntemi, piramidal yolları görüntülediği için motor fonksiyonların düzelmesini tahmin etmede SEP'e göre daha değerlidir. Gerek SEP, gerekse de MEP kayıtları sırasında ısı monitörlemesi yapılması gerekmektedir. Çünkü ısı değişikliklerine bağlı latans değişikliklerinin olduğu saptanmıştır (33). Omurilik yaralanması sonrasında, omurilik kan akımı ile MEP ve SEP amplitüdüleri arasında korelasyon bulunmuştur. Omurilik yaralanmasının şiddeti ve omurilik kan akımı ile aksonal ileti disfonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki olduğu saptanmıştır (24).

## OMURİLİK YARALANMALARINDA FİZYOPATOLOJİ

Travmanın şiddeti ve oluş şekline bağlı olarak ortaya çıkan omurilik yaralanmasına birincil yaralanma denir. Birincil yaralanmadan sonraki saatler ve günler içersinde birincil yaralanmanın ortaya çıkardığı etkilere bağlı olarak gelişen bir dizi fizyopatolojik sürece ve ortaya çıkan omurilik yaralanmasına ise ikincil yaralanma denir (34,35).

Omurilik yaralanmalarında nöropatolojik bulgular, yaralanmayı oluşturan etkinin şiddetine, süresine ve yaralanmadan sonra geçen zamana bağlı olarak değişiklikler gösterir. Açık (delici, kesici) ya da kapalı yaralanmalar farklı

değişiklikler oluşturmakla birlikte, her iki durumda da ilk patoloji vasküler kaynaklıdır (3,36,37).

Omurilik yaralanmalarında da Santral sinir Sistemi'nin (SSS) diğer bölgelerinde olduğu gibi travmaya neden olan fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyon ile ilgili distraksiyonel kuvvetler vasküler ve nöral doku hasarına yol açar. Nöron ve aksonlarda, mekanik travmayı oluşturan fiziksel gücün etkisiyle meydana gelen yırtılma ve kopma, gerçekleştiği yerdeki dokunun ölümüne neden olur. Santral sinir sisteminin rejenerasyon yeteneğinin son derece kısıtlı olması, söz konusu dokunun ve fonksiyonunun geri dönüşümsüz olarak yok olması anlamına gelir. Bu birincil hasar anlıktır ve travmanın biyomekaniğine bağlıdır. Birincil hasarı oluşturan mekanizmalar; patlama fraktürü, fraktür dislokasyonları ve disk basısına bağlı darbe ile kalıcı kompresyon oluşmakta, hiperekstansiyon yaralanmalarına bağlı geçici kompresyon, hiperfleksiyon sonucu distraksiyon, patlama kırığı, laminer kırık, dislokasyon ve ateşli silah yaralanmasına bağlı olarak da omurilikte laserasyon ile transseksiyon gelişmektedir. Bununla beraber, birincil hasarla birlikte ve onun tetiklemesiyle bir dizi karmaşık biyokimyasal süreç ardı ardına gelişir ki, bu olay sonucu çevredeki dokular ile başlangıçta hasar görmemiş dokuları da yıkıma sürükler. Günümüzde bilim adamlarının dikkatini yönelttikleri, anlamaya ve önlemeye çalıştıkları bu süreç ikincil hasar olarak adlandırılmaktadır (11,12,38,39).

Akut omurilik yaralanmasında görülen ikincil yaralanma mekanizmaları aşağıdaki tabloda (Tablo 3) özetlenmiştir.

Tablo III: Omurilik yaralanmasında ikincil yaralanma mekanizmaları (40).

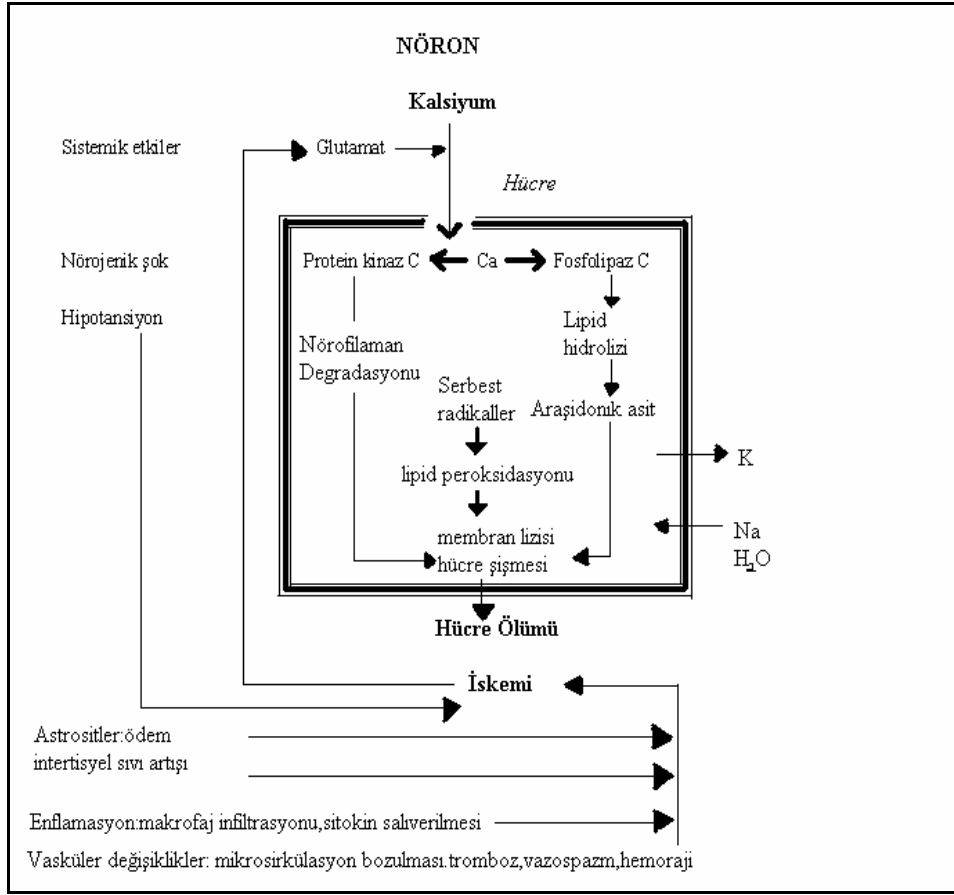
Sistemik etkiler	Bradikardi, hipotansiyon, periferik damar direncinde azalma, kardiak output'da azalma
Lokal vasküler değişiklikler	Kapiller ve venüllerde parçalanma, mikrosirkülasyon ve omurilik kan akımında azalma (mekanik etki, tromboz, vazospazm) otoregülasyonda bozulma
Biyokimyasal değişiklikler	Glutamat ↑, noradrenalin ↑, dopamin ↑, araşidonik asit salınması, serbest radikal oluşumu, eikosanoid oluşumu, lipid peroksidasyonu, endojen opioidler, sitokinler
Elektrolit değişiklikleri	Hücre içi kalsiyum ve sodyum düzeyinde artma, hücre dışı potasyum düzeyinde artma
Ödem	Mekanik etki ve/veya iskemi sonucu hücre içi sodyum artışına bağlı
Enerji metabolizması	ATP üretiminde azalma

İkincil yaralanmanın fizyopatolojisi; yaralanmadan sonraki ilk birkaç günde ilerleyen, en önemlilerinden bazıları sistemik ve lokal vasküler yaralanmalar, elektrolit dengesizlikleri, ödem ve eksitotoksisite olan, bir seri hücrel ve moleküler olayları içermektedir. Omurilik fonksiyonunu potansiyel olarak bozan lokal kuvvetlere ek olarak, doku oksijenasyon ve perfüzyonunu belirleyen sistemik pulmoner ve kardiyak faktörler, hasarın yaygınlığını belirler. Başlangıç safhasında, ya ilk kuvvetin etkisi ile mekanik kesilme ya da venöz staza yol açan trombosit pıhtısı ve fibrinin neden olduğu intravasküler koagülasyon nedeni ile sulkal arteriollerde veya postkapiller venüllerdeki yırtılmalardan dolayı omurilik içinde peteşial kanamalar gelişir. Daha sonra, omuriliğin intrensek damarlarından protein içerikli sıvının yayılımı, yaralanma sahasında ve etraf dokularda ödeme neden olur. Ödem, lokal omurilik kan akımını azaltabilecek kadar interstisyel basınç artışı yapar. Endotelin gibi vazoaktif maddeler ve mikrovasküler vazospazm, tromboz ve omurilik damarlarında yırtılmalar gibi diğer patolojik değişiklikler de omurilik perfüzyonunun

bozulmasında rol alırlar. Ayrıca fokal iskemiye herhangi bir iskemik hipotansiyon veya hipoksi eşlik edebilir.

İskemi, ikincil patojenik mekanizmalar zincirini başlatır ve adenozin tri-fosfat (ATP) depolarını tüketir. Bu, elektrolit dengesizliği ve hücrel homeostasis'in korunamaması ile sonuçlanan enerji bağımlı işlevlerin durmasına neden olur. Elektrolitlerin anormal değişimi ile akut hücrel şişme meydana gelir. Ayrıca, iyon dengesizliği eksitator aminoasitlerin salınımını düzenleyen membran polarizasyonunda değişikliklere neden olur. Bir eksitator aminoasit olan glutamat, intrasellüler kalsiyum birikimini tetikleyebilir. Bu belirgin kalsiyum akışı, daha sonra, enerji depolarının tükenmesi, hücre iskeletinin nörofilaman ve mikrotubuler bölümlerinin modifikasyonu, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun bozulması, aksonal dejenerasyon ve proteazlar, fosfatazlar ve endonükleazlar gibi litik enzimlerin aktivasyonunu tetikler. Artmış fosfolipaz aktivitesi, serbest araşidonik asit salınımı ve siklooksijenaz yolunun aktivasyonu ile sonuçlanır. Siklooksijenaz yolunun yan ürünlerinden birisi de serbest radikallerdir. Fosfolipid peroksidasyonunun bu zincir reaksiyonu, membran yıkımı ve hücre ölümü ile sonuçlanır (12,40,41,42,43). (Şekil 3)





Şekil 3 : Omurilik yaralanmasında fizyopatolojik değişikliklerin görünümü

Omurilik yaralanmalarının kronik döneminde oluşan patolojik değişikliklere bakıldığında; akut dönemde ortama gelen polimorf çekirdekli lökositlerin sayısı azalırken, ortamdaki mikroglialardan gelişen veya dolaşımdan yaralanma sahasına ulaşan makrofajların sayısı giderek artar. Makrofajlar, ortamdaki hasarlı miyelini ve eritrositleri fagosite ederler. İnterlökin-1 salgırlar. İnterlökin-1'in angiogenetik etkisi vardır (44).

Ağır omurilik yaralanmalarında küçük veya geniş kaviteler oluşur. Bunların bazıları, ependim döşeli santral kanal ile bağlantılı olabilir. Omurilik yaralanmalarının %10'unda küçük kaviteler rostrale ve kaudale doğru genişleyerek, posttravmatik siringomiyeli oluşturur (40).

Klinik ve deneysel çalışmalarda travma sonrası canlı kalan aksonlar hep subpial yerleşimli olurlar. Bu aksonlar ya miyelinsizdir, ya da ince miyelin kılıfa sahiptirler. Bu nedenle travma alanındaki aksonlar, normal aksonlara göre daha incedir (45).

İnfarkt alanları ile birlikte keskin sınırlı nekroz alanları kronik dönemde daha kolay gözlenmeye başlanır. Bu lezyonlar travma sahasının belli mesafe kaudalinde ve rostralinde görülebilir. Söz konusu infarkt ve nekroz alanlarının bazıları anterior sulkal arterin sulama alanına uyarken, bazıları herhangi arterin sulama alanına uymaz, venöz kaynaklı infarkt ve nekroz lezyonlarıdır. Bu lezyonların kesin fizyopatolojisi bilinmemektedir (46).

Omurilik yaralanmalarında kronik dönem, travmayı takip eden altı ay ve sonrasında izlenen otopsi bulguları ve deneysel çalışmalarla gösterilebilmiş değişikliklerdir. Travma bölgesinde medulla spinalis üzerinde yer alan dura mater ve araknoid membran kalınlaşmıştır. Eski kanamalar nedeniyle kahverengi-gri renk almıştır. Mikroskopik olarak fibrozisin geliştiği ve meningial hücrelerin proliferasyonu olduğu görülür. Kronikleştiğinde distrofik kalsifikasyona ossifikasyon eşlik edebilir, bunlar zarlar üzerinde sert bir plak olarak görülebilir (36). Meningial zar sıklıkla altındaki medulla spinalis segmentine ve duraya yapışıklık (adhesiv araknoidit) göstermektedir. Daha nadir olarak multilokule (birden fazla boşluklu) kistik boşluklar meydana gelebilir. Medulla spinalis makroskopik olarak etkilenen bölgede pıhtı ve nekrotik dokunun yerini almış nedbe dokusu nedeniyle büzülerek küçülmüş, gri renkte ve sert kıvam almıştır (3,37). Skar doku oluşumunun yanı sıra, zarar görmüş ancak hayatta kalabilmiş bazı nöron hücrelerinde aksonal rejenerasyon, Schwann hücrelerinde remiyelinizasyon görülebilir (47). Remiyelinizasyon, nadir olarak skar dokusu içinde özellikle de arka kök ganglia hücrelerinin aksonlarının rejenerasyona gitmesi ile gerçekleşir.

Omurilik yaralanmasının kronik döneminde mikrokistik miyelomalazi adı verilen siringomiyeliden farklı bir posttravmatik santral dejenerasyon söz konusudur.

Araknoidit, miyelomalazi ve siringomiyeli oluşumunda etyolojik faktör olabilir. Omurilik içinde yoğun skar dokusu ve köprü yapmış araknoid-dura, dura laserasyonunun sekeli olarak ortaya çıkar. Dura laserasyonunun olmadığı travmalarda intrameduller kollajenöz skar genellikle az oluşur. Benzer şekilde astrositik skar ve gliozisin derecesi de azdır. Aksonal dejenerasyon ve demiyelinizasyonla ilgili Wallerian dejenerasyon, travmanın rostralinde afferent traktuslarda, travmanın kaudalinde efferent traktuslarda gözlenebilir (40).

Sonuç olarak, kronik dönemde omurilik yalnız travma alanında değil, aynı zamanda travmanın kaudalinde ve rostralinde de atrofiktir. Kronik dönemde rejeneratif değişiklikler görülebilir. En belirgin rejenerasyon değişiklikleri Schwann hücrelerinde, periferik aksonlarda ve periferik miyelinde gelişmektedir. Bazı hastalarda Schwann hücreleri proliferasyonuna bağlı intrameduller nörinom ortaya çıkar (48). Küçük damarlarda da proliferasyon görülür. Ayrıca ependim hücre proliferasyonu olur. Ependim hücreleri, santral kanaldan belli mesafe uzaklığa göç edebilirler (49).

Omurilik yaralanmasının fizyopatolojisi ile ilgili bilinenlerin yanında, pek çok soru cevapsızdır. Ancak omurilik yaralanmasında iskeminin, eksitotoksisitenin, lipid peroksidasyonunun, intrasellüler kalsiyum artışının kötü etkileri olduğu kanıtlanmıştır. Söz konusu süreçlerle mücadele, pek çok yeni tedavi edici çalışmalara hız vermektedir.

## OMURİLİKTE NÖRONAL PLASTİSİTE VE REJENERASYON

Kısa bir süre öncesine kadar hasarlanmış insan sinir dokusunun kendisini tamir etme kapasitesinin hemen hemen hiç olmadığına ve herhangi bir nedenle hasarlanan sinir dokusuna bağlı olarak kaybolan fonksiyonların bir daha yerine konamayacağına inanılırdı.

Günümüzde nörobilimciler modern teknolojinin de sağladığı olanaklar ışığında bize bunun mümkün olabileceğini söylemektedirler. Bu olayı mümkün kılan iki olay *plastisite ve rejenerasyondur.*

*Nöronal plastisite* kavramı, sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama gösterdiği uyum yeteneğini ifade eder (50). Nöronal plastisite, özellikle gelişmesini sürdüren immatür sinir sistemi dokuları için varsayılmakla birlikte, yaşam boyunca da bazı durumlarda belli oranlarda görülebilmektedir. Plastisitenin genelde adaptif bir fenomen olduğu kabul edilir. Sinir dokusunda meydana gelmiş hasarların etkisinin azaltılması ve iyileşmede rol oynar. Buna karşın maladaptif örneklerde gelişen plastisite formları da tarif edilmiştir (51,52).

İnsan korteksinin, özellikle yaşamın ilk yıllarında oluşmuş hasar sonrası inanılmaz derecede reorganize olma yeteneği gösterdiği bilinmektedir (53,54,55). Plastisite, kendisini nöron sayısında olduğu kadar aksonal gelişimdeki fazlalık ve çeşitlilik ile dendritik gelişim ve sinaptik bağlantılarla da gösterir. Bu şekildeki yapısal yeniden düzenlenmeler fonksiyon seviyesindeki değişmelerle birlikte görülebilir ve fonksiyonel plastisite olarak adlandırılırlar (51,56).

*Nöronal rejenerasyon*; travma, iskemi, enfeksiyon ve daha birçok sebeple bütünlüğü bozulmuş ve hasarlanmış, sonuçta fonksiyonlarını kaybetmiş sinir dokusunun bu olaylar sonrasında kendisini tamir etme işlemini ifade etmektedir.

Nöronal dejenerasyon ve nöronların yaşamlarını sürdürme mekanizmalarını, Periferik Sinir Sistemi'nde (PSS) spontan aksonal rejenerasyon varken bunun Santral Sinir Sistemi'nde (SSS) olmamasının mekanizmalarını anlamak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Periferik sinir sistemine olan travmaların aksine santral sinir sistemi dokusunda meydana gelen hasar şiddetli ve geri dönüşümsüzdür. Bunun nedeni olarak santral nöronların aksonal rejenerasyonu yapamamaları gösterilir (57). Her ne kadar zedelenmiş aksonun kökünden bazı kısa oluşumlar filizlenebilse bile,

çok az olguda bu lokal filizlenme fonksiyonel bağlantıları tamir edip eski haline getirebilmektedir (51,54,56,57).

Ağır omurilik yaralanmasından sonra, klinik olarak düzelme hala mümkün olmamasına rağmen, çeşitli yeni hayvan çalışmaları cesaretlendirici sonuçlar göstermiştir. Nörotropik faktörlerin uygulanmasını, büyümeyi inhibe eden faktörlerin bloke edilmesini ve periferik sinirlerin, Schwann hücrelerinin, embriyonik merkezi sinir dokularının, kök hücrelerin ve olfaktör glial hücrelerin transplantasyonunu içeren bir grup yeni yaklaşım, deneysel hayvan çalışmalarında bir dereceye kadar düzelme olabileceğini göstermiştir (58).

Omurilik yaralanmasını takiben, beyindeki inen ve çıkan nöral sistemlerin omurilikteki motor ve duysal devrelerle ilişkisi kesilir ve lezyonun altında kuvvet ve duyu kaybı gelişir. Travmanın sonrasındaki aksonal rejenerasyonun derecesi ve lezyonun altında fonksiyonun düzelmesi, hem otojenite hem de filogeniteye bağlıdır (19,59,60). Uzun yıllar, santral nöronların rejenerasyon yeteneklerinin olmadığı düşünülmüş ve klinik düzeyde, omurilik ve beyin lezyonları geri dönüşsüz olarak görülmüştür. Bugün, SSS'de nöronal rejenerasyon mekanizmalarını ve periferdeki varlığını anlamaya başlıyoruz. Son 20 yılda yapılan deneysel çalışmalar, travma sonrası doku hasarının çoğunun ve oluşan nörolojik bozuklukların ikincil reaktif olaylara bağlı olduğunu ortaya koymuştur (12,43).

Nöron ve aksonun rejenerasyonu, SSS'ne bir yaralanmadan sonra yaşamalarına olanak tanıyan faktörler ile başlayan bir seri özgün olaya dayanmaktadır. Monoaminerjik ve miyelinize olmamış kolinerjik SSS aksonlarının rejenere olduğu, fetal monoaminerjik nöral greftlerin yetişkin alıcı beyin merkezlerinde muhtemelen bağımsız olarak yaşayabildikleri ve denerve olmuş hedefleri yeniden inerve ederek fonksiyonu tekrar sağlayabildikleri gösterilmiştir (61). Diğer bir çalışmada, periferik sinir implantasyon tekniği kullanılarak SSS'ne yerleştirilen bir periferik sinir kökünde santral aksonal sistemlerinin aktif bir şekilde büyüdükleri gösterilmiştir

(51,57,61). Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, o zamana kadar geçerli kabul edilen SSS'ndeki rejenerasyon yetmezliğini açıklamak için 'yetersizlik' hipotezlerini çürütmekle kalmıyor, aynı zamanda, SSS'nin büyüme stimülatörü maddeleri salgılayamamasının veya zarar görmüş SSS dokularının salgıladığı maddelerin aksonal büyümeyi inaktive ediyor olmasının da bunun nedenleri arasında olabileceğini düşündürmektedir.

Nöral gelişmelerin erken safhalarında, gerek SSS, gerekse PSS'nin ekstrasellüler matriksi, aksonal büyümeyi destekleyen glikoproteinler içermektedir. Bu tipte proteinlerden olan laminin ve fibronektin, yetişkin memelilerin periferik sinir dokularında bulunmalarına rağmen, beyin ve spinal kordda bulunmamaktadırlar. Böylece yetişkin SSS dokusunun ekstrasellüler matriksinde aksonal rejenerasyon için ihtiyaç duyulan kritik moleküller bulunmaz ve rejenerasyon mümkün olamaz. Gelişmekte olan aksonlar bunun yanı sıra aktif büyüme ile birlikte görülen intrasellüler protein taşırlar. Bunlardan GAP-43, 43000 dalton molekül ağırlığında bir protein olup büyüme ile bağlantılıdır. Bu protein pek çok erişkin SSS yapısında genel olarak bulunmamakla birlikte, hasara karşı bir miktar cevap verebilme yeteneğine sahip hipokampus gibi santral yapıların nöronlarında gösterilmiştir (51,62).

Mature SSS'nde, büyümeyi hızlandıran, destekleyen moleküllerin eksikliği yanı sıra aksonal büyümeyi aktif olarak inhibe eden moleküllere de rastlanılmaktadır. Örneğin oligodendrositler, farklılaşıp santral aksonal miyelinizasyonu başlattıkları zaman, aksonal büyümeyi aktif olarak baskılayan glikoproteinleri de sentezlemeye başlarlar. Dahası, farelerde bu inhibitör moleküllere karşı oluşan antikolar, aksonal rejenerasyonu uyarıcı etki yapmaktadırlar. Bu tip inhibitör glikoproteinler, periferdeki aksonları çevreleyen Schwann hücresinin miyelinizasyonu işlevinde bulunmamaktadırlar (51,63). Hasarlı SSS dokusunun çevresi astrositlerin oluşturduğu glial skar dokusu ile çevrenmekte ve bu dokunun bizzat kendisi aksonal rejenerasyonu önleyici etkide bulunmaktadır. Glial skar oluşumu, embriyonik veya postnatal astrositlerde olmayan sadece olgun astrositlere özgü bir özelliktir. Bu

özgüllük, fare korpus kallosumlarının değişik yaşlarda kesilmesi ile gösterilmiştir. Yetişkin farelerde, aksonlar lezyon bölgesinde orta hattı geçemeyip karışık bir düğüm yapısı oluştururken, orta hatta cerrahi yöntemlerle yerleştirilen ve içerisine immatür astrositlerin implante edildiği nitrosellüloz bir filtre uygulaması ile aksonal büyüme uyarılabilmektedir. Bu anlatılan mekanizmalar, yani gelişim sırasında büyümeyi destekleyen moleküllerin ortamdaki kaybolması ve inhibitör moleküllerin ortaya çıkması ile kısmen de olsa santral nöronların neden rejenerasyon kapasitelerini kayb ettiklerini açıklayabilmektedir (51,52,53,57,61).

Böylece, rejenerasyona olanak tanınması için olması gereken bir seri özgün olaylar şöyledir: Yaralı akson yeniden büyümeli ve dallanmalı, lezyon alanını geçmeli, normal hedefe dek uzamalı, doğru sinapsları ve normal hedefin topografik reinervasyonunu yapmalı, elektrofizyolojik ve işlevsel özellikleri düzeltmelidir. Çeşitli deneysel çalışmalar, travmatik SSS yaralanmasından sonra fizyolojik işlevin yeniden kazanılmasının mümkün olduğunu düşündürmektedir. Bununla beraber, insan omuriliği yaralanmasında aksonal büyümeyi ve rejenerasyonu uyaracak tedavi edici yaklaşımlar hala etkin değildir. Uzun yol aksonlarının % 5-10 kadarının belirgin fonksiyonel iyileşme ile sonuçlanması ve orta derecede aksonal iyileşmenin bile iyileşmeye neden olması cesaret vericidir (64). Yeni deneylerin SSS rejenerasyonunda daha etkin tedaviler keşfedeceğine dair iyimserlik için bunun gibi daha pek çok neden vardır.

Rejenerasyonu hızlandırıcı veya inhibitör işlemlerini bertaraf edici çok çeşitli yaklaşımlar vardır. Örneğin, bazı büyüme faktörleri, özellikle uzun bir zaman diliminde uygulandığında, hasarlı omuriliğin reperatif ve rejeneratif kapasitesini arttırlar (65,66). Erişkin sıçan omuriliğinin ependimasındaki prekürsör hücreler, omurilik yaralanması veya diğer hastalıklarda kaybolan nöronal dokunun yerini alabilecek öncül hücreler olabilirler (65). Hasarlı omurilik yol liflerinin büyüme potansiyellerini ve lezyon sahasını aşmalarını incelemek üzere çeşitli doku tipleri

transplantları ve materyalleri kullanılmıştır. Bunların içinde periferik sinirler, kök hücreler ve embriyonik SSS greftleri daha etkili gibi görünmektedirler.

Tablo IV: Omurilik yaralanması sonrası rejenerasyon için transplantasyon stratejileri

YÖNTEM	REJENERASYON MEKANİZMALARI
Periferik sinir greftleri	Greftin içine aksonların büyümesi, kablo rehberliği ve köprüleşme, büyüme faktörleri ve remiyelinasyon
Schwann hücreleri	Büyüme faktörleri salgılar (Nöral büyüme faktörü(NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör(BDNF), Mikroçevreyi tekrar oluşturur.
Olfaktör kılıf hücreleri	Rejenere aksonların remiyelinasyonu
Embriyonik SSS dokusu	Aksonların greft içine büyümesine izin verir, aksonal rejenerasyonu destekler, büyüme faktörü (Nörotropin 3, NT-3)
Ependimal veya embriyonik kök hücreler	Multipotent hücreleri (çoğalan ve göç eden) içerir, yeni destek hücreleri ve rejenerasyon için matriks sağlar. Yeni nöronlar sağlayabilir.
Astroditler	Büyüme faktörleri salgılar (CNTF, fibroblast büyüme faktörü FGF), rejenerasyon üzerine etkisi açık değildir, glial skar oluşturur.
Fibroblastlar	Büyüme faktörleri salgılar (BDNF, NGF, NT 3, FGF 2)
Mikroglialar	Büyüme faktörleri (FGF2, NGF, NT-3) ve sitokinler salgılar
Makrofajlar	Aksonal yıkım, miyelin artıklarının kaldırılması, sitokinlerin salınması (TNF alfa, nöronal adezyonları artırır, TGF beta Schwann hücreleri için mitojen) tekrar büyümeyi destekleyen glial hücrelerin davranışını düzenler. Oligodendrositler üzerinde sitotoksik etkiler, Wallerian dejenerasyon
Yapay maddeler	Ekstrasellüler sentetik matriks protein, kablo rehberliği



Omurilik yaralanması sonrası büyüme faktörlerinin rejenerasyona etki ettiği gösterilmiştir. 1993'de Fernandez ve arkadaşları, 1998'de Menei, 1997'de Bregman ve arkadaşları, travma sonrası büyüme faktörlerinin kortikospinal rejenerasyonun promosyonuna katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (67). Bunlardan; nörotrofik faktörler ve reseptörlerin pek çoğu gelişmekte olan ya da yetişkin omuriliğinde bulunan sinir büyüme faktörü -NGF (Nerve Growth Factor) (68) gibi endojen büyüme faktörlerinin sinir sistemine yönelik yaralanmalarda, onarıcı veya rejeneratif amaçla artışı ile sonuçlanır (19).

Uygulanmakta olan transplant yöntemlerine baktığımızda; periferik sinir greftlerinin, greftin içine aksonların büyümesine izin verdiği, kablo rehberliği ve köprüleşmeyi sağladığı, büyüme faktörleri ile remiyelinizasyona (Schwann hücreleri nedeniyle) katkıda bulunduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. 1996'da Cheng ve arkadaşları kesilmiş sıçan torasik kordunda boşluğu doldurmak için birden fazla sayıda interkostal sinirler kullanmışlardır (31).

Schwann hücrelerinin proliferasyonu ve bu hücrelerin yaralanmış omurilik içine doğru ilerlemesi, hastalarda akut omurilik yaralanmasının doğal bir sonucu olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (69). Omurilik yaralanması sonrasında, Schwann hücreleri anterior ve posterior sinir köklerinden proliferasyon olarak omurilik içerisine doğru ilerler ve yeniden büyüyen aksonları miyelinize ederler. Periferik sinirlerin, aksonları rejenerasyonuna teşvik etme kabiliyetlerinin büyük oranda Schwann hücrelerinin kendine özgü özelliklerine bağlı olabileceğinden, erişkin SSS omurilik liflerinin rejenerasyonu için substrat olarak arındırılmış Schwann hücre greftleri test edilmiştir. Bilinmektedir ki, Schwann hücreleri sinir büyüme faktörü (NGF) (70), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) (71), siliyer nörotrofik faktörü (CNTF) (72) içeren nörotrofik faktörleri üretirler. Bunun ötesinde nörit büyümesi için önemli olabilecek ekstrasellüler matriks moleküllerini sentezleyebilir ve sekrete ederler (73). Aynı zamanda çok çeşitli hücre adhezyon moleküllerini eksprese ederler (74). Bunge ve arkadaşları (75), omurilik yaralanması sonrasında nörolojik fonksiyonları yeniden

kazanmak için, yaralanmış ya da kesilmiş omurilik içerisine otolog ya da homolog Schwann hücreleri transplante ederek, Schwann hücrelerinin miyelinize edici, proliferatif, migratuvar ve akson-kılavuz özelliklerini kullanmayı denemişlerdir. Transplante edilen Schwann hücreleri rejenere olan aksonu miyelinize 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, miyelin ile ilişkili inhibitörlere karşı antikolar 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.

Olfaktör mukozadaki nöronlar, doğumdan sonra büyüeyebilen ve erişkin hayatı boyunca bölünmeye devam edebilen tek nöronlardır(76). Bununla birlikte, mukozadan olfaktör içine doğru aksonların büyümesi özel glial hücreler tarafından desteklenmektedir (Olfactory ensheathing cells). Bu özel hücreler, hem Schwann hücre hem de astrositik özellikleri paylaşırlar (77). Bunlar PSS-SSS sınırını geçtiği bilinen tek glial hücrelerdir. İlave olarak, kültür içinde uygun aksonları miyelinize etme yeteneğine sahiptirler (78). Li ve arkadaşları, olfaktör glia hücrelerinin, erişkin sıçanlarda kortikospinal yolun lokalize lezyonu sonrasında aksonların rejeneratif büyümesini destekleyebileceğini rapor etmişlerdir (79). Li ve arkadaşları, aksonların lezyonlu saha içerisine büyüebildiğini ve denerve olmuş kaudal yol içerisine doğru rejenere olmaya devam ettiğini göstermiştir. Ayrıca, olfaktör glial hücrelerin aksonları miyelinize ettiği ve fasikülleri oluşturan akson gruplarının çevresini de sardıkları gösterilmiştir. Yakın zaman önce, Bunge grubu kesilmiş erişkin omuriliğinde, erişkin olfaktör gliasının aksonal büyümeyi teşvik edici özelliklerini kullanmışlardır (80). Schwann hücreleri doldurulmuş rehber tüpler ile omuriliğin her iki kütüğü arasına köprüleşme yapmış, her iki kütüğün orta noktalarına saf olfaktör glia hücreleri enjekte etmişler ve yaralanmış aksonlarda uzun mesafeli rejenerasyon gözlemişlerdir. Olfaktör glial hücreler, yaralanmış aksonlara uzun mesafe

rejenerasyon için uygun faktörleri sağladıklarından, bu hücreler omurilik yaralanmasının tedavisinde yeni imkanlar sağlayabilir.

Omurilik yaralanmalarından sonra rejenerasyon amacıyla kullanılan transplantasyon dokularından birisi de kök hücreler ve embriyonal hücrelerdir. Bu hücrelerin ideal kaynağı saptanmamıştır. Muhtemel kaynaklar, serebral subependima ya da omurilik ependimasındaki yetişkin ya da fetal kök hücreler veya SSS kaynaklı olmayan nöral öncül hücreleri içermektedir. Kemik iliği, periferik kan, umbilikal kordon kanı ve embriyonik doku kökenli olabilmektedir. Mc Donalds ve arkadaşları, travmatik yaralanma sonra, nöral olarak farklılaşmış fare embriyojenik kök hücrelerinin sıçan omuriliğine transplantasyonunun, transplant kaynaklı hücrelerin hayatta kaldığını ve bu hücrelerin astrosit, oligodendrosit ve nöronlara farklılaşması ile sonuçlandığını göstermişlerdir (81).

Kök hücreler, kendini yenileme özelliğine sahip, vücut içinde veya laboratuvar ortamında uygun şartlar sağlandığında birçok farklı hücre tipine dönüşebilen farklılaşmamış hücrelerdir. Yetişkin kök hücreleri, kordon kanından elde edilen kök hücreler ve embriyonik kök hücreler günümüzde bilinen üç temel kök hücre kaynaklarıdır. Yetişkin kök hücreleri vücutta birçok doku ve organda bulunurlar ve buldukları bölgedeki hücrelerin hasar görmesi durumunda çoğalarak hasarlı kısmın onarılmasını sağlarlar.

Nöral kök hücreler, çok geniş potansiyele sahip nöral öncül hücrelerdir. Kök hücrelerin omurilik onarımında kullanımı için ana stratejiler şunlardır:

- 1- Hasarın aşağısındaki seviyelere akson geçişi için mekanik ve kimyasal işaret ve ipuçlarını sağlayan hücresel köprü görevini üstlenmesini sağlamak,
- 2- Hasarlanan omurilik devrelerini onarabilecek yeni hücreler için kaynak sağlamak,
- 3- Onarımın gerçekleşmesini destekleyen nörotrofik maddelerin salınmasını sağlamak.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmanın deneysel bölümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar laboratuvarında, nörofizyolojik çalışmalar Fizyoloji laboratuvarında, patoloji incelemeleri ise Patoloji laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmaya başlamadan önce Pamukkale Üniversitesi Tıbbi Etik Kurulu'nun ve Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun onayı alındı. İnsan umbilikal kordon kanı vericisi olarak çalışmaya katılacak olan yeni doğum yapacak bir gebeden çalışmaya katılmak için gönüllü olur formu alınmıştır. Tüm çalışma süresi boyunca hayvan çalışma etiğine uyulmuştur.

### DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANIŞI

Çalışmada deney hayvanı olarak aynı yaş grubundan ortalama ağırlığı 200 gram olan 6-7 aylık, dişi, 24 adet erişkin Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar altları plastik, üst kısımları tel kafesler içerisine konuldu. Kafes içine talaş serpildi. Kafesler haftada iki kez temizlendi. Hayvanlara süt-pelet adı verilen yem verildi. Yem ve su kapları sürekli kontrol edilerek hayvanların yeterli miktarda su ve yem almaları sağlandı. Hayvanların tamamı çalışma süresi boyunca oda ısısında ( ortalama 22 derece ) % 50 nem ortamında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklusu bulunan odalarda bakıma alındı. Hayvanlara yapılan tüm işlemler hijyenik kurallara uygun olarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi.

### DENEYİN YAPILIŞI

Deney hayvanları altışar tane sıçandan oluşan dört gruba ayrıldı.

Grup 1 - Sadece laminektomi yapılan grup

Grup 2 - Laminektomi ve sağda omurilik yarı kesisi oluşturulan grup

Grup 3 - Laminektomi ve sağda omurilik yarı kesisi oluşturulmuş ve aynı gün, aynı seansda insan umbilikal kordon kanı ekilen grup

Grup 4 – Laminektomi ve sağda omurilik yarı kesisi oluşturulmuş ve kesi sonrası 4. günde insan umbilikal kordon kanı ekilen grup

Çalışmaya alınan tüm sıçanlara profilaksi amacıyla operasyondan 30 dakika önce tek doz 50 mg/kg seftriakson (Rocephin, Roche,Türkiye) intraperitoneal olarak verildi.

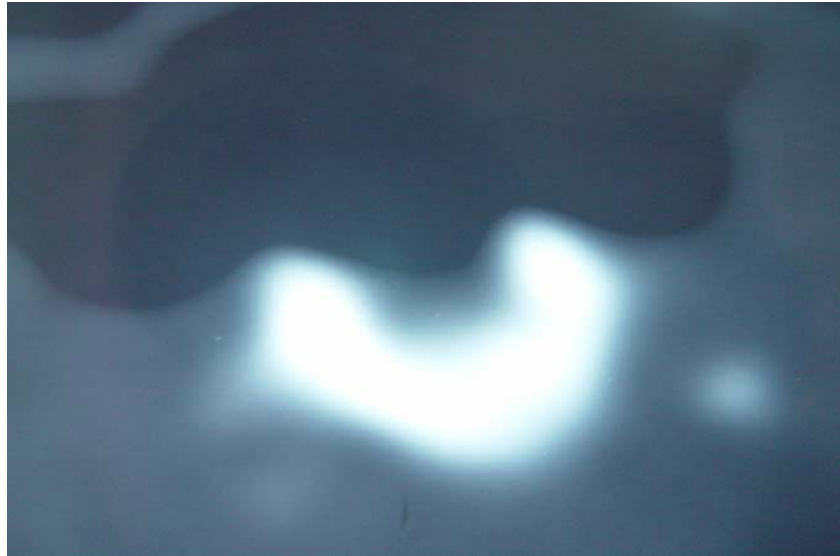
Çalışmamızda tüm sıçanlara anestezi olarak intramuskuler 5 mg/kg Xylazine hidroklorür (Rhompun % 2 enjektabl flakon, Bayer Türk Kimya Sanayi Ltd.Şti. İstanbul) ve 100 mg/kg Ketamin hidroklorür (Ketalar flakon, 50 mg/ml, Eczacıbaşı İlaç ve Ticaret A.Ş. İstanbul) kullandık. İlaçlar tek enjektörde ve intramuskuler olarak sağ Kuadriseps femoris kası içine enjeksiyon ile yapıldı. Sıçanlar 4-5 dakika içinde derin anesteziye girdi. Daha sonra sıçanlar, prone pozisyonda operasyon tablasına alınarak üst ve alt ekstremiteleri cerrahi eldivenden kesilmiş lastik parçalar bağlanarak tespit edildi. Hayvanın alt torakal üst lomber bölgesi jiletle traş edildi ve bu bölgedeki kıllar temizlendi. Traş edilen bölge Polyvinyl Pyrolidone iod kompleksi (Batticon % 10, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş. Samsun) ile temizlendi.

Alt torakal bölgede interskapular bölge hedef alınıp, tahmini olarak, T8-T12 arasında spinöz çıkıntıları ortalayan flep tarzında cilt-cilt altı kesisi yapılarak cilt ve cilt altı geçildi. Torakolomber fasyaya spinöz çıkıntı kenarlarından insizyon yapılarak iki taraflı paravertebral adaleler spinöz çıkıntıdan ve lamina üzerinden subperiostal olarak sıyrıldı. Daha sonra operasyon mikroskobu (Seiler instrument mikroskop 107 series) eşliğinde dört grupta yer alan 24 sıçanın T10 ile T12 arasındaki vertebralarına iki seviye total laminektomi yapıldı.

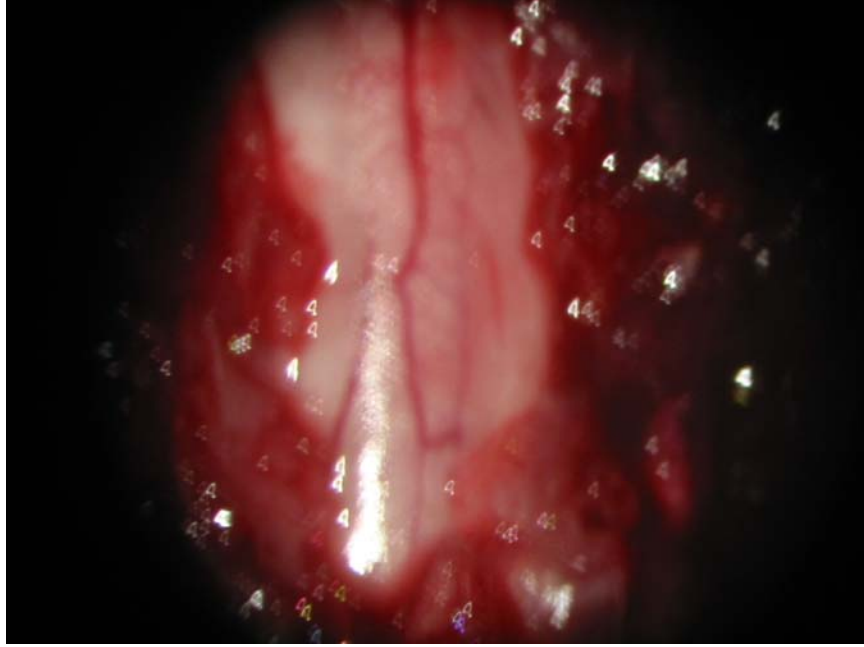
Grup 1’de yer alan tüm sıçanlara operasyon mikroskobu yardımıyla sadece iki seviye total laminektomi yapılırken grup 2’de yer alan altı adet sıçana ise operasyon mikroskobu eşliğinde total laminektomi sonrası kordun posteriorunda, posterior

spinal arter ortalanarak, kordun sağ yarısına 11 numara bisturi ile omurilik yarısı kesisi oluşturuldu.

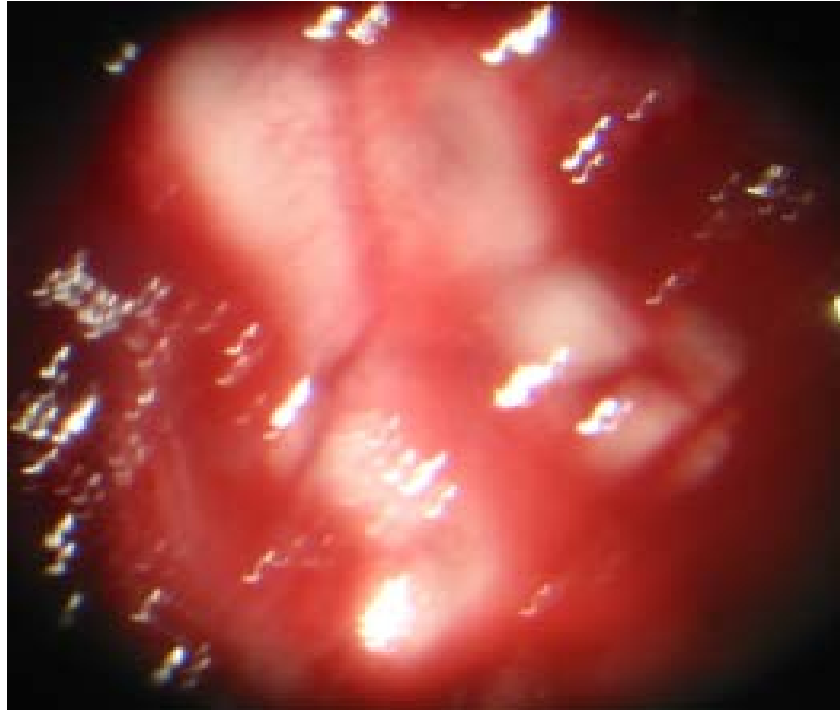
Grup 4'de yer alan sıçanlara grup 1 ve 2 ile aynı gün mikroskop eşliğinde iki seviye total laminektomi sonrası omurilik sağ yarısına kesi oluşturuldu. Grup 4'de yer alan sıçanlar cerrahi işlem sonrası 4. güne gelindiğinde insizyon yerine ait suturlar açılarak önceki operasyon sahasına ulaşıldı. Buraya yeni doğum yapmış bir gebeden, doğum yaptıktan sonra göbek bağı kesilerek plasentaya yakın olan umbilikal kordondan heparinize enjektörle 15 cc kan alındı. Gruptaki tüm sıçanların omurilik yarısı kesisi oluşturulmuş sahasına enjektörle 0,5 cc kordon kanı verildi. Bu işlem yapıldıktan sonra, 5 dakika beklenip, cildi suture edilerek kapatıldı. Aynı gün, grup 3'de yer alan altı adet sıçana, mikroskop eşliğinde omurilik sağ yarısında grup 4'de olduğu gibi laminektomi sonrasında omurilik sağ yarısında kesi oluşturularak aynı seansta, omurilik hasarlı bölgeye enjektörle her sıçanda 0,5 cc heparinize insan umbilikal kordon kanı verildi. İşlem sonrası 5 dakika beklenerek cildi suture edilerek kapatıldı. Çalışma süresi 8 hafta olarak belirlendi. Bu süre boyunca sıçanların normal beslenme ve bakımlarına devam edildi.



Şekil 4: Sıçanda laminektomi defektinin BT ile görüntülemesi



Şekil 5: Laminektomi sonrası omuriliğin görünümü



Şekil 6: Laminektomi ve sonrasında omurilik sağ yarısında kesi görünümü

8 haftalık çalışma süresi boyunca tüm sıçanlarda, 0.gün, 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. haftalarda alt ekstremitelerinin yürüyüş sırasındaki pozisyonları nörolojik muayene olarak değerlendirildi. Nörolojik muayenesi, alt ekstremitenin yürüyüş sırasındaki eklem hareketleri ve kuvvet durumuna göre plejik, paretik ve normal olarak üç kategoride değerlendirildi. Aynı günlerde tüm sıçanların alt ekstremitelerine yönelik kuvvet ölçümü için rotarod performans testi yapıldı. Bu testle, sıçanların rotarod sistemi üzerinde kalabildiği en uzun süreler performans değerleri olarak kaydedildi. Çalışmada 180 saniye rotarod sistemi üzerinde kalabilen sıçanın performansı tam olarak değerlendirildi. Bunu takiben, sıçanların kuvvetini ölçmek için diğer bir test olan Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testi kullanıldı. Bu test ile sıçanların, yanında açı ölçer bulunan üst kısmı açılı olarak yükseltilebilen tablanın yer aldığı zemin üzerinde 5 saniye kalabildiği en yüksek açı, skoru olarak kaydedildi.



Şekil 7: Rivlin ve Tator'un Eğik Düzlem Testi

Çalışmanın sonunda tüm sıçanların operasyon bölgeleri açılarak laminektomi yapılan seviyeden daha aşağıda L3, L4 ve L5 vertebralarına üç seviye total laminektomi yapıp iki taraflı olarak rootlar ortaya kondu. Dura boylu boyunca ve yanlara doğru açılarak, rootların ön kökleri arka köklerden disseke edilip



distallerinden kesilip karşılaştırmalı olarak siyatik sinir ile ön kökler arasında refleks çalışması yapıldı.

### İNSAN UMBİLİKAL KORDON KANININ ALINMASI

Beklenen doğum tarihinde doğum yapacak bir gebeye, doğum öncesi, göbek bağı kesildikten sonra bebeği ile plasenta arasında bulunan kordon bağından, yapacak olduğumuz tıbbi araştırma için kan alınacağı ve bu alınan kanın, sıçanlarda deneysel amaçlı olarak kullanılacağı ve yapılacak bu işlemin doğum sonrasında bebeğe ve kendisine herhangi bir zararı olmayacağı, alınan bu kanın başka herhangi bir çalışma ya da herhangi bir amaçla kullanılmayacağı anlatılarak, çalışmaya katılmak için gönüllü olur formu dolduruldu. Daha sonra gebenin, doğum yaptıktan sonra bebeğin göbek bağı kesilip plasentaya yakın olan kısmı, umbilikal kordondan heparinize edilmiş 20 cc'lik enjektörle 15 cc umbilikal kordon kanı alındı.

### ROTAROD PERFORMANS TESTİ

Rotarod performans testi, hayvanların motor koordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği bir davranışsal testtir. Cihazın çalışma prensibi, hayvanların belirli bir yükseklikte (15 cm) ve belirli bir hızla elektrik enerjisiyle dönen (10 devir/dakika) mil (rod) üzerinde belli bir süre içerisinde yürüyebilmesi veya aşağıya düşmemesi esasına dayanır.

Rotarod performans testinde kullanılan cihazda birbirine bitişik 4 kabin bulunmaktadır. Bu kabinlerin genişliği 15 cm, duvar yüksekliği 50 cm ve derinliği 30 cm'dir. Hayvan aşağı düşmemek için çubuğun döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışır. Sağlıklı bir hayvan normal şartlarda uzun süre çubuk üzerinde düşmeden kalabilmektedir. Bizim çalışmamızda da deneye başlanmadan bir gün önce, 10 devir/dk hızla dönen rotarod üzerinde 180 sn süreyle durmayı başarabilen sağlıklı hayvanlar seçilmiştir. Hayvanlarda motor koordinasyonla ilgili sistemlerin bozulması durumunda hayvan yürümeyi bırakır ve düşer. Aşağı düşen hayvanlar aynı

şekilde tekrar alınıp dönen mil üzerine konulur. Üç kez yürüme hakkı verilen hayvanın yere düştüğü anda süre durdurulur ve mil üzerinde kalabildiği en uzun süre kaydedilir. Bu şekilde hayvanın mil üzerinde en uzun durabilme süresi belirlenerek, bu değer rotarod performans değeri olarak kaydedilir. Çalışmamızda 8 hafta boyunca haftalık yapılan ölçümlerde, tüm hayvanların 10 devir/dak hızla dönen rod üzerinde aynı gün denemede üç kez üst üste yapılarak elde edilen sonuçların en uzun durabilme süreleri (saniye olarak) rotarod performans değerleri olarak kaydedildi. yüzseksen saniye durabilen hayvanın skoru tam olarak değerlendirilerek denemesi sonuçlandırıldı.



Şekil 8: Rotarod Performans Cihazı

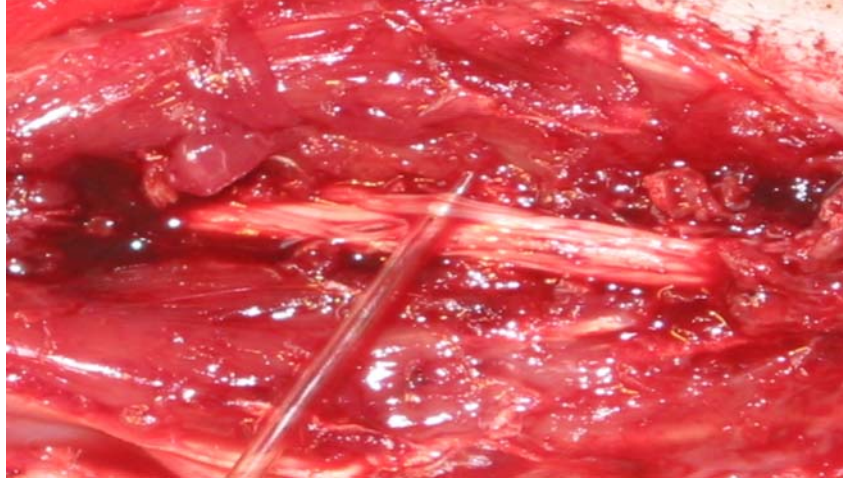
#### SİYATİK SİNİR - ÖN KÖK REFLEKS ÇALIŞMASI

8. hafta sonunda, çalışmamızda yer alan tüm sıçanlara anestezi olarak intraperitoneal yolla 5 mg/kg Xylazine hidroklorür ve 100 mg/kg Ketamin hidroklorür verildi. İlaçlar tek enjektörde ve intraperitoneal olarak batin boşluğuna enjeksiyon ile yapıldı. Sıçanların alt ekstremitelerindeki siyatik sinirlerinde, elektrofizyolojik çalışma yapılacağından dolayı anestezik ilaçlar intramuskuler

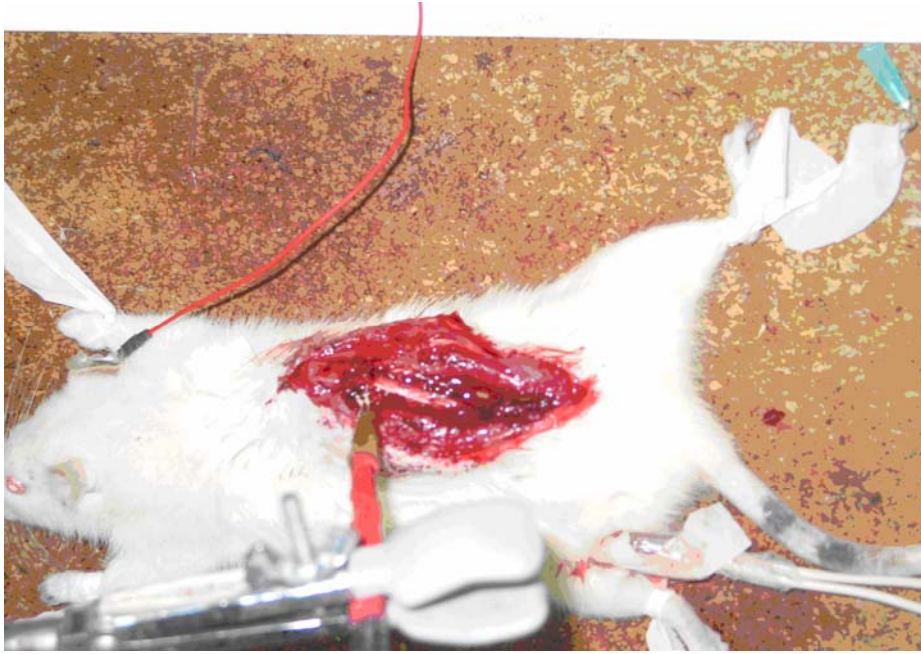
enjeksiyon yerine intraperitoneal yolla verilmesi tercih edilmiştir. İntraperitoneal anestezi sonrası sıçanlar 4-5 dakika içinde derin anesteziye girdi. Daha sonra sıçanlar operasyon tablasına alınarak üst ve alt ekstremiteleri cerrahi eldivenden kesilmiş lastik parçalar bağlanarak tespit edildi. Hayvanların, çalışma başlangıcında alt torakal ve lomberbölgesi traş edildi. Traş edilen bölge Polyvinyl Pyrolidone iod kompleksi ile temizlendi.

Çalışmada yer alan tüm sıçanların önceki insizyon skarı kullanılarak, alt torakalden sakral bölgeye doğru insizyonu uzatılarak orta hat cilt insizyonu yapıldı. Cilt ve cilt altı geçildi. Torakolomber fasyaya iki taraflı insizyon yapılarak, paravertebral adaleler spinöz çıkıntından ve lamina üzerinden subperiostal olarak sıyrıldı. Çalışmanın başlangıcında yapılmış olan total laminektomi defektlerinin üzerinde sertleşmiş pembe beyaz renkte, fibrotik granülasyon dokusu ile kaplı olduğu görüldü. Bu laminektomi defektinden, daha alt vertebralara inilerek, alt lomberbölgede L3, L4 veya L5 vertebraya üç mesafe total laminektomi yapıldı. Laminektomi laterallere doğru genişletilerek iki taraflı olarak foramenlere giren rootlar görüldü. Dura boylu boyunca ve köklere doğru açıldı. İki taraflı olarak rootların ön ve arka kökleri ayrıldı.

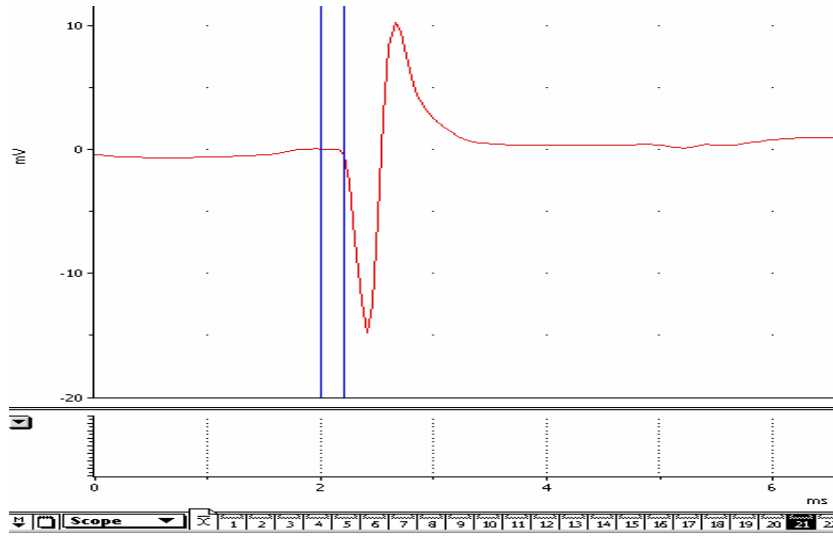
Refleks cevabı kaydetmek için ön kökler distalinden kesildi. Her iki alt ekstremitede, uyluk arka yüzünde cilt insizyonu sonrası künt disseksiyonla siyatik sinirler açığa çıkarıldı. Ag-AgCl tel elektrodun üzerine yerleştirildi. Sıçanların ön köklerine ve siyatik sinirlerine, aynı taraflı olarak elektrotlar yerleştirildikten sonra, her iki tarafta siyatik sinire poligraf ile 2 milisaniye gecikme süreli, 0,2 milisaniye uyarı süreli, 10 voltluk, 30'ar kez impuls verilerek, oluşan refleks potansiyeller aynı taraftaki ön kökten Ag-AgCl tel elektrotla kaydedildi. (Stimulus: single pulse, 10 V, 0,20 msn duration; dual BIO Amp/Stimulator, PowerLab/8SP, ADInstruments, İngiltere)



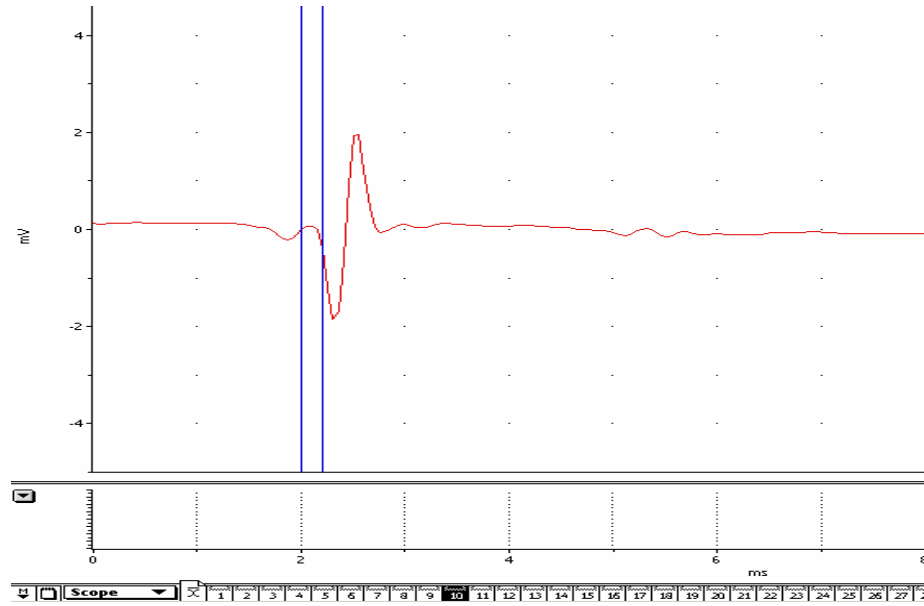
Şekil 9: Omurilik rootunda ön ve arka köklerin ayrılma işlemi



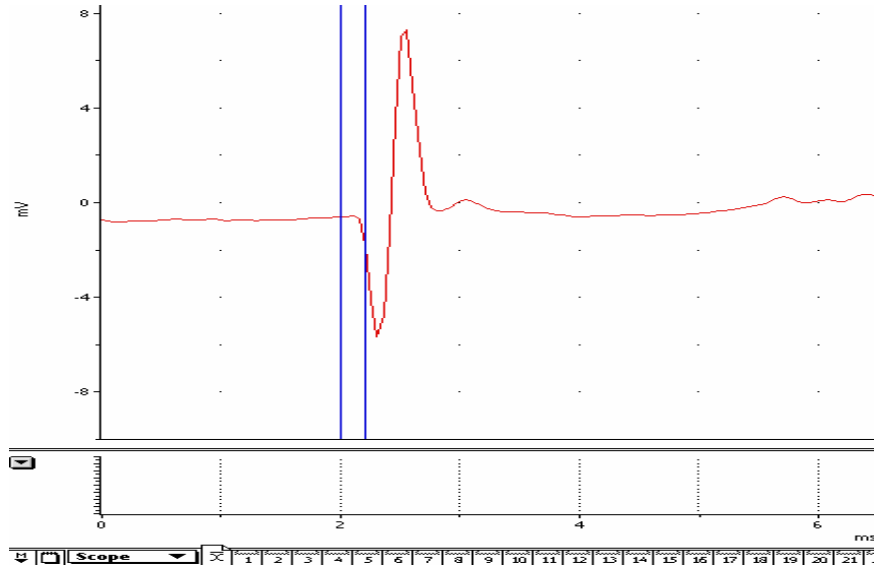
Şekil 10: Sıçanda aynı taraf ön kök ve siyatik sinirde elektrot yerleştirilmesi



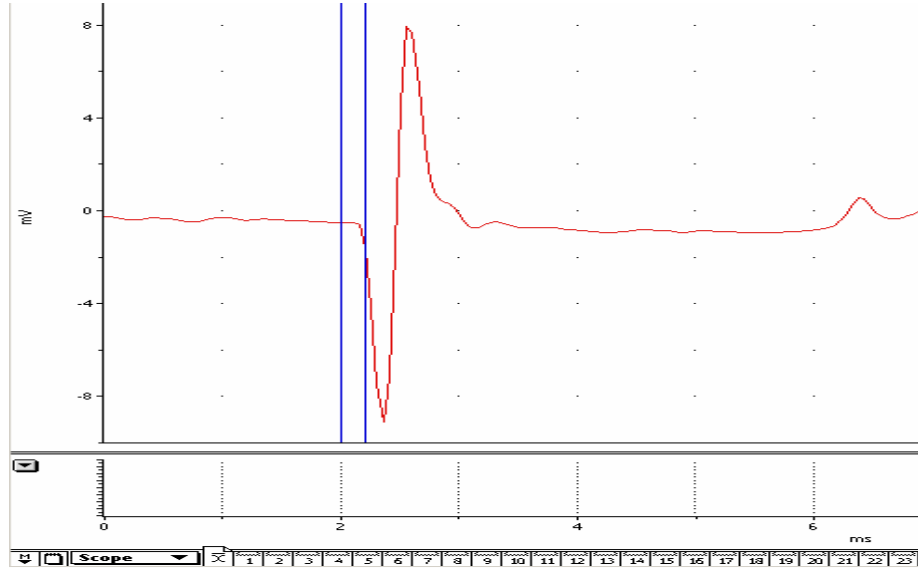
Şekil 11: Grup 1’de yer alan bir sıçanda sağ tarafta poligrafla siyatik sinir uyarısı sonrası ön kökten alınan refleks cevap (mV amplitüd)



Şekil 12:Grup 2’de yer alan bir sıçanda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıt (mV amplitüd)



Şekil 13:Grup 3'te yer alan bir sıçanda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıt (mV amplitüd)



Şekil 14:Grup 4'te yer alan bir sıçanda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıt (mV amplitüd)

## PATOLOJİK İNCELEME

8 hafta sonunda, refleks çalışması sonrası tüm denekler feda edildikten sonra laminektomi alanının üzerindeki granülasyon dokusu temizlenerek, laminektomi sahası genişletilip omurilik blok olarak çıkarıldı. Alınan doku örnekleri % 10'luk formalin solüsyonu içerisinde bir gün fikse edildikten sonra omurilikte enine kesitler alınarak doku takip cihazına alındı. Doku takip cihazında yaklaşık 16 saat beklenildikten sonra omurilik kesitleri 58 derecelik parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5 mikrometrelik kesitler alındı. Elde edilen kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyandı. Tüm gruplardaki sıçanların omurilik preparatları doku değişiklikleri yönünden incelenerek fotoğrafları çekildi.

## İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deneysel omurilik yaralanması oluşturulan ratlarda, performans testleri olarak kullanılan rotarod sistemi ile eğik düzlem testindeki veriler ve refleks çalışması verileri, istatistiksel analiz yöntemi Kruskal Wallis Varyans Analizi ve Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile nörolojik muayene bulguları ise Ki-kare testi kullanılarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Sekiz haftalık çalışma süresi boyunca gruplarda yer alan deneklerin nörolojik muayeneleri, Rotarod sistemi performans değerleri, Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testi performansları haftalık olarak not edildi. Sekizinci haftada deneklerin takip izlemleri kayıt edildikten sonra, aynı gün siyatik sinir-omurilik ön kök refleks çalışmasıyla veriler kaydedildi.

Çalışma sonunda önceki insizyon yeri açıldığında, 1. ve 2. grupta bulunan sıçanlarda laminektomi defekti üzerinde granülasyon dokusu ve fibrotik dokuların beyaz renkte ve yumuşak kıvamda olduğu görülürken, 3. ve 4. grupta yer alan sıçanlarda ise laminektomi defekti üzeri kahverengi renkte ve daha sert yapılı fibrotik dokuyla kaplı olduğu görüldü.

### Muayene Bulguları

Sıçanların nörolojik muayenelerinde, yürüme sırasındaki alt ekstremitenin görünümü kuvvet skalası olarak plejik, paretik ve normal olarak değerlendirilerek puan verildi. Plejik olarak değerlendirilen sıçanlarda, alt ekstremitede yürüyüş sırasında ya hiç tonus gözlenmemiş ya da proksimalinde çok az tonus olduğu görülmüştür. Paretik olan sıçanların değerlendirilmesinde, yürüme sırasında bacakta harekete katılım olmakta ancak yürümenin doğrultusu değişmektedir. Normal olarak değerlendirilen sıçanlarda, bacakta spontan hareket gözlenmiş olup, yürümenin şekli ve doğrultusunda herhangi bir bozulma gözlenmemiştir.

Puanlama; 1-Plejik, 2-Paretik, 3-Normal



Tablo V: Sıçanların 8 haftalık takip muayenelerinin kategorize edilmesi

Grup	0.hf	1.hf	2.hf	3.hf	4.hf	3.hf	6.hf	7.hf	8.hf
1/1	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1/2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1/3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1/4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1/5	3	3	3	3	3	3	3	3	3
1/6	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2/1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
2/2	1	2	2	1	2	2	2	2	2
2/3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2/4	1	1	1	1	1	2	1	2	2
2/5	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2/6	1	1	2	2	2	2	2	2	2
3/1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3/2	1	2	1	2	2	2	2	3	3
3/3	1	2	2	2	2	2	3	3	3
3/4	1	2	1	1	2	2	2	2	2
3/5	1	1	1	2	2	2	3	3	3
3/6	1	2	2	2	2	2	3	3	3
4/1	1	2	1	2	2	1	2	2	2
4/2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4/3	1	2	2	2	2	2	2	3	3
4/4	2	2	2	2	2	2	2	3	3
4/5	1	2	2	2	2	2	2	2	2
4/6	1	1	1	1	1	1	2	2	2

Gruplar; 1: Sadece laminektomi yapılan sıçanlar,

2: Laminektomi ve kord hasarı oluşturulan grup,

3:Laminektomi ve kord hasarı oluşturulan + 0. Gün kordon kanı transplante edilen grup,

4.Laminektomi ve kord hasarı yapılan + 4. gün kordon kanı transplante edilen grup

Tablo VI: 0. Hafta nörolojik muayene bulgularının sayısal dağılımı

	Sayı	%	Kümülatif %
Plejik	17	70,8	70,8
Paretik	1	4,2	75,0
Normal	6	25,0	100,0
Toplam	24	100,0	

İşlem sonrasında ilk muayene bulgularının genel dağılımına baktığımızda toplam 24 sıçanın 17'sinde (%70,8) pleji olduğu gözlemlendi. 1 sıçan paretik (%4,2) ve 6 sıçanın muayenesi normal (%25) olarak değerlendirildi.

Tablo VII: 0. Hafta muayene bulgularının gruplara göre dağılımı

		GRUPLAR				Toplam	
		1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup		
0.HAFTA	Plejik	Sayı	0	6	6	5	17
		0.Hafta %	,0%	35,3%	35,3%	29,4%	100,0%
		Grup içi %	,0%	100,0%	100,0%	83,3%	70,8%
	Paretik	Sayı	0	0	0	1	1
		0.Hafta %	,0%	,0%	,0%	100,0%	100,0%
		Grup içi %	,0%	,0%	,0%	16,7%	4,2%
	Normal	Sayı	6	0	0	0	6
		0.Hafta %	100,0%	,0%	,0%	,0%	100,0%
		Grup içi %	100,0%	,0%	,0%	,0%	25,0%
Toplam	Sayı	6	6	6	6	24	
	0.Hafta %	25,0%	25,0%	25,0%	25,0%	100,0%	
	Grup içi %	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

0. Hafta nörolojik muayene bulgularına göre; 1. grupta yer alan tüm sıçanların muayenesi normal olarak değerlendirildi. 2. ve 3. grupta yer alan sıçanların tümü plejik olarak gözlemlendi. 4. grupta yer alan 1 sıçan paretik (% 16,7) geri kalan 5 sıçan plejik (%83,3) olarak değerlendirildi. Plejik olarak değerlendirilen 17 sıçandan 6'sı 2.

grupta (%35,3), 6 tanesi 3. grupta (%35,3), 5'i de 4. grupta (%29,4) yer alıyordu. Tüm gruplar içinde yalnızca 4. grupta 1 sıçan paretik (%16,7) olarak değerlendirildi.

Tablo VIII: 8. Hafta muayene bulgularının sayısal dağılımı

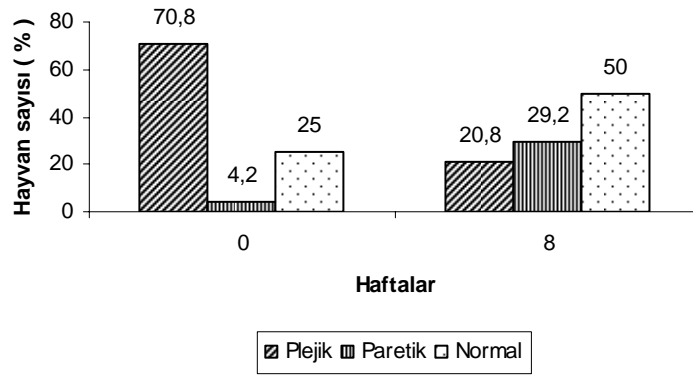
	Sayı	%	Kümülatif %
Plejik	5	20,8	20,8
Paretik	7	29,2	50,0
Normal	12	50,0	100,0
Toplam	24	100,0	

8. Hafta çalışmanın son haftasında nörolojik muayene sonuçlarına göre; 24 sıçandan 5'i plejik (%20,8), 7'si paretik (%29,2), 12'si normal (%50) olarak değerlendirildi.

Tablo IX: 8. Hafta muayene bulgularının gruplara göre dağılımı

		GRUPLAR				Toplam	
		1.Grup	2.Grup	3.Grup	4.Grup		
8.Hafta	Plejik	Sayı	0	2	1	2	5
		8.hafta içindeki %	,0%	40,0%	20,0%	40,0%	100,0%
		Grup içindeki %	,0%	33,3%	16,7%	33,3%	20,8%
	Paretik	Sayı	0	4	1	2	7
		8.hafta içindeki %	,0%	57,1%	14,3%	28,6%	100,0%
		Grup içindeki %	,0%	66,7%	16,7%	33,3%	29,2%
	Normal	Sayı	6	0	4	2	12
		8.hafta içindeki %	50,0%	,0%	33,3%	16,7%	100,0%
		Grup içindeki %	100,0%	,0%	66,7%	33,3%	50,0%
	Toplam	Sayı	6	6	6	6	24
	8.hafta içindeki %	25,0%	25,0%	25,0%	25,0%	100,0%	
	Grup içindeki %	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

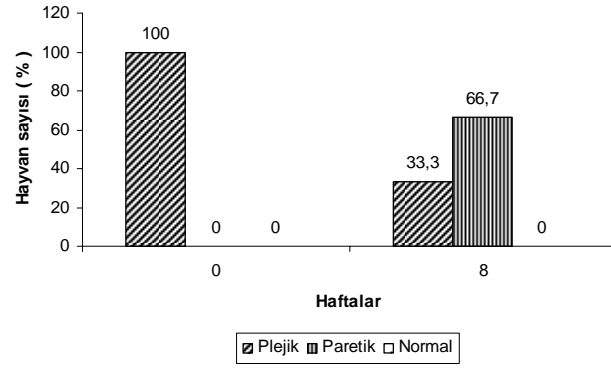
Sekizinci hafta sonunda nörolojik muayenelerin gruplara göre dağılımına baktığımızda; Birinci grupta yer alan tüm sıçanların (%100) nörolojik muayeneleri normal olarak değerlendirildi. İkinci grupta yer alan 6 sıçandan 2'si plejik (%33,3), 4'ü paretik (%66,7) olarak izlendi. Üçüncü grupta bulunan sıçanlardan 1'i plejik (%16,7), 1'i paretik (%16,7), 4'ü normal (%66,7) olarak değerlendirildi. Dördüncü gruptaki sıçanların 2'si plejik (%33,3), 2'si paretik (%33,3), kalan 2 sıçan normal (%33,3) olarak değerlendirildi. Plejik olarak değerlendirilen 5 sıçandan 2'si (%40) 1. grupta, 1'i 3. grupta (%20), 2'si de 4. grupta (%40) yer almaktaydı. Paretik olan toplam 7 sıçan içinde, 4 sıçan 2. grupta (%57,1), 1'i 3. grupta (%14,3), 2'si de 4. grupta (%28,6) yer almaktaydı.



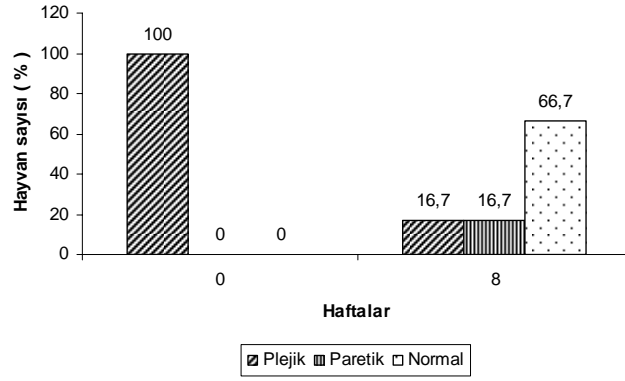
Şekil 15: Çalışmanın başlangıcı ve sonundaki muayene bulgularının değişimi

Çalışma başlangıcı ve sonunda gözlenen genel olarak muayene verilerine baktığımızda 4 grubun tamamında başlangıçta gözlenen plejik sıçanların oranı % 70,8 iken, çalışma sonunda % 20,8'e gerilemiş, paretik sıçanların oranı % 4,2'ye yükselmiş, normal muayene bulgularına sahip sıçanların yüzdesi %25'ten %50'ye yükselmiştir.

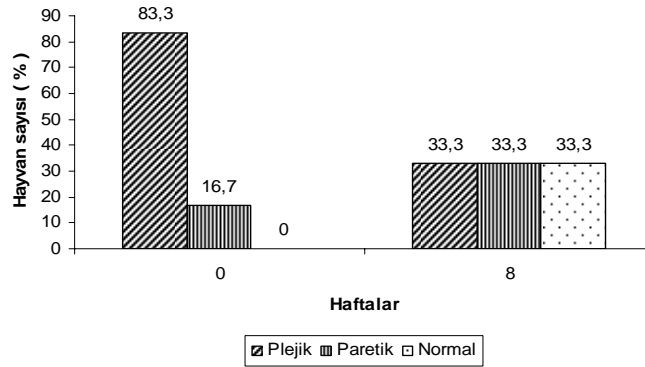
İkinci, üçüncü ve dördüncü grubun çalışma başlangıcı ve sonundaki muayenelerinin yüzdeleri aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir (Şekil 16,17,18).



Şekil 16: 2. grup sıçanların 0. ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı



Şekil 17: 3. gruptaki sıçanların 0. ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı



Şekil 18: 4.gruptaki sıçanların 0 ve 8. hafta muayenelerinin yüzdesel dağılımı

## Rotarod Performans Bulguları

8 haftalık çalışma süresi içinde deneklerin kuvvet değerlendirmesinde diğer bir yöntem olarak rotarod sistemi kullanıldı. Deneklerin haftalık rotarod performansları aşağıdaki tabloda (Tablo X) özetlenmiştir.

Tablo X: 4 grupta yer alan sıçanların haftalık rotarod performans değerleri (saniye)

Grup	0.hf	1.hf	2.hf	3.hf	4.hf	5.hf	6.hf	7.hf	8.hf
1/1	180	180	180	180	180	180	180	180	180
1/2	180	180	180	180	180	180	180	180	180
1/3	180	180	180	180	180	180	180	180	180
1/4	180	180	180	180	180	180	180	180	180
1/5	180	180	180	180	180	180	180	180	180
1/6	180	180	180	180	180	180	180	180	180
2/1	5	5	5	5	5	0	10	10	10
2/2	5	5	0	5	0	20	50	120	120
2/3	5	5	0	0	0	0	0	0	0
2/4	0	0	0	30	15	5	5	120	180
2/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2/6	0	0	5	5	5	5	20	20	15
3/1	0	0	0	5	5	5	5	5	0
3/2	5	20	0	150	150	180	180	150	180
3/3	30	120	180	180	180	180	180	180	180
3/4	0	0	5	20	0	30	60	75	60
3/5	5	0	0	40	60	180	180	180	180
3/6	5	10	90	180	180	180	180	180	180
4/1	0	0	0	15	10	30	10	30	30
4/2	0	0	0	5	10	0	0	0	0
4/3	10	30	25	75	80	65	55	180	180
4/4	5	60	110	120	180	135	180	180	180
4/5	10	25	5	180	105	180	120	180	180
4/6	0	0	0	5	5	5	20	60	60

Sekiz hafta sonunda elde edilen rotarod performans verileri gruplar arasında Kruskal Wallis varyans analizi ile karşılaştırıldı.

Tablo XI: Rotarod performans testinin haftalık olarak, gruplar arası genel farklılığının Kruskal Wallis testiyle gösterilmesi

	0.hafta	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
Ki-kare	14,375	14,374	13,570	14,752	13,213	15,071	13,959	10,889	8,145
p	,002	,002	,004	,002	,004	,002	,003	,012	,043

Karşılaştırma sonrası gruplar arasındaki farklılık tüm çalışma haftalarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Çalışma başlangıcında 0. hafta değerleri gruplar arasında istatistiksel farkın anlamlılığı yönünden karşılaştırıldı.

Tablo XII: 0.hafta rotarod testlerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	180	180	0	180	180	0,002
Grup 2	2,50	2,50	2,739	0	5	
Grup 3	7,50	5,00	11,292	0	30	
Grup 4	4,17	2,50	4,916	0	10	

Gruplar arasındaki istatistiksel farklılık için Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı. 0. hafta rotarod performans değerlerine baktığımızda 1. grupla 2., 3. ve 4. grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Gruplar arasında haftalık farklılıklar incelenirken, çalışmanın başlangıç haftasında 1. grupla tüm gruplar arasındaki istatistiksel farklılık bulunurken, çalışmanın 3. haftasında 1. ve 3. grup arasındaki istatistiksel farklılığın olmadığı, 1. grupla 2. ve 4. grup arasındaki verilerde istatistiksel olarak anlamlı farklılığın devam ettiği gözlenmiştir.

Tablo XIII:3. hafta sıçanların rotarod performanslarının değerlendirilmesi

			Standart Sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	180	180	0	180	180	0,002
Grup 2	7,50	5,00	11,292	0	30	
Grup 3	95,83	95,00	82,729	5	180	
Grup 4	66,67	45,00	72,157	5	180	

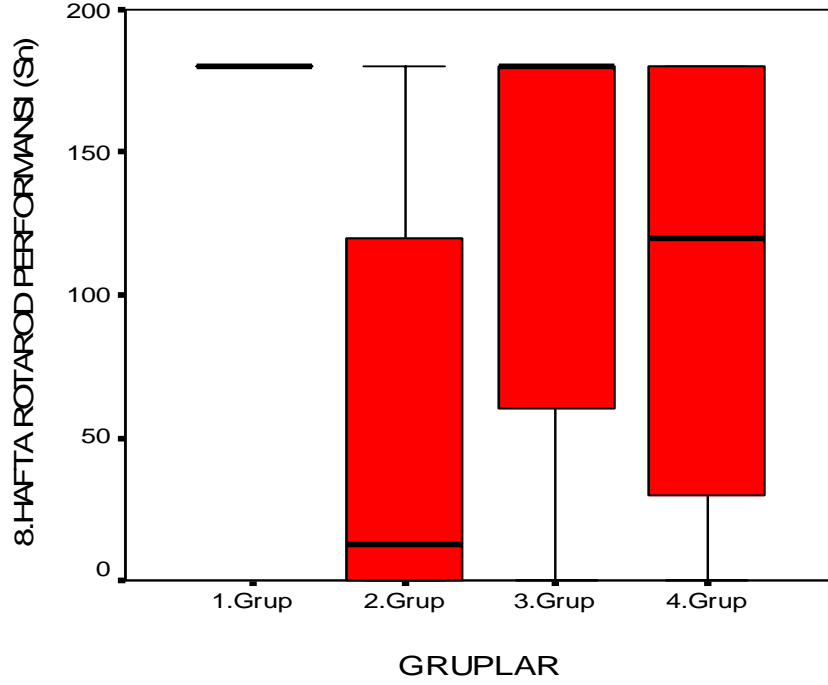
Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testine göre 5. haftada 1. grup ile 3. grup arasındaki istatistiksel farklılığın kalktığı, 1. grup ile 2 ve 4. grup arasında istatistiksel farklılığın olduğu izlenmiştir ( $p<0,05$ ).

Tablo XIV: 8. hafta sıçanların rotarod performanslarının değerlendirilmesi

	Ortalama	Ortanca	Standart Sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	180	180	0	180	180	0,043
Grup 2	54,17	12,50	76,839	0	180	
Grup 3	130	180	79,750	0	180	
Grup 4	105	120	84,321	0	180	

Çalışma sonunda 8. hafta performans değerleri incelendiğinde, gruplar arasındaki farklılığın yalnızca laminektomi yapılan grupla laminektomi + kord hasarı oluşturulan grup arasında olduğu ve bununda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).





Şekil 19: Sıçanların 8.hafta Rotarod testi performanslarının grafiği (kutu-çizgi)

Grafide kutuların alt kenar çizgisi % 25'lik dilimi, üst kenar çizgisi % 75'lik dilimi ve kutu içinde yer alan daha koyu çizgi ortancayı göstermektedir. Kutunun üstünden ve altından uzanan T şeklindeki çizgiler, minimum ve maksimum değerli verileri ifade etmektedir.

#### Eğik Düzlem Testi Bulguları

Çalışmamızda Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testi, sıçanlarda kuvvet değerlendirmesi için haftalık olarak izlendi ve sıçanların eğik düzlemde 5 saniye süreyle en yüksek derecede kalabildiği açı performans değeri olarak kaydedildi. Grupların 8 hafta boyunca tespit edilen verileri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Tablo XV: Sıçanların haftalık eğik düzlem testi bulguları (derece-açı)

Grup	0.hf	1.hf	2.hf	3.hf	4.hf	3.hf	6.hf	7.hf	8.hf
1/1	75	75	75	75	75	75	75	75	75
1/2	80	75	80	80	80	75	80	75	75
1/3	80	80	75	75	75	75	80	75	80
1/4	75	75	75	80	80	80	80	80	80
1/5	75	75	75	80	75	75	80	75	75
1/6	80	80	75	75	80	75	75	75	80
2/1	60	75	65	70	65	65	70	70	70
2/2	70	70	65	65	65	65	70	65	70
2/3	60	60	65	60	60	55	60	60	55
2/4	60	65	65	70	65	70	70	70	70
2/5	55	55	60	55	60	60	55	65	60
2/6	60	60	70	70	70	70	70	75	75
3/1	65	65	65	70	65	70	70	70	65
3/2	70	70	65	75	75	75	75	75	75
3/3	60	75	70	70	75	80	75	80	75
3/4	70	70	65	65	65	70	70	70	70
3/5	60	70	65	70	65	80	75	75	75
3/6	60	70	70	70	75	75	75	80	75
4/1	60	65	65	65	65	65	65	75	75
4/2	55	60	55	65	65	65	65	70	70
4/3	60	70	70	75	70	75	70	75	70
4/4	75	70	65	70	75	70	80	75	75
4/5	70	65	60	70	75	70	70	70	75
4/6	40	55	65	65	65	65	65	65	65

Sıçanların 8 haftalık eğik düzlem testi performansları gruplar arasında genel istatistiksel farklılığı Kruskal Wallis testi varyans analizi ile karşılaştırıldı.

Tablo XVI: Sıçanların haftalık olarak eğik düzlem testi performanslarının istatistiksel olarak karşılaştırılması

	0.hafta	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta
Ki-kare	13,699	13,909	15,476	13,855	13,532	14,436	13,705	9,628	11,729
P	,003	,003	,001	,003	,004	,002	,003	,022	,008

8 haftalık eğik düzlem performansları, genel grup karşılaştırmalarında tüm haftalarda istatistiksel farklılık yönünden anlamlı olarak bulundu ( $p<0,05$ ).

Çalışmanın 0. hafta eğik düzlem testi performansları 4 grup arasında karşılaştırıldı.

Tablo XVII: 0. hafta eğik düzlem testi sonuçlarının gruplar arasındaki değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

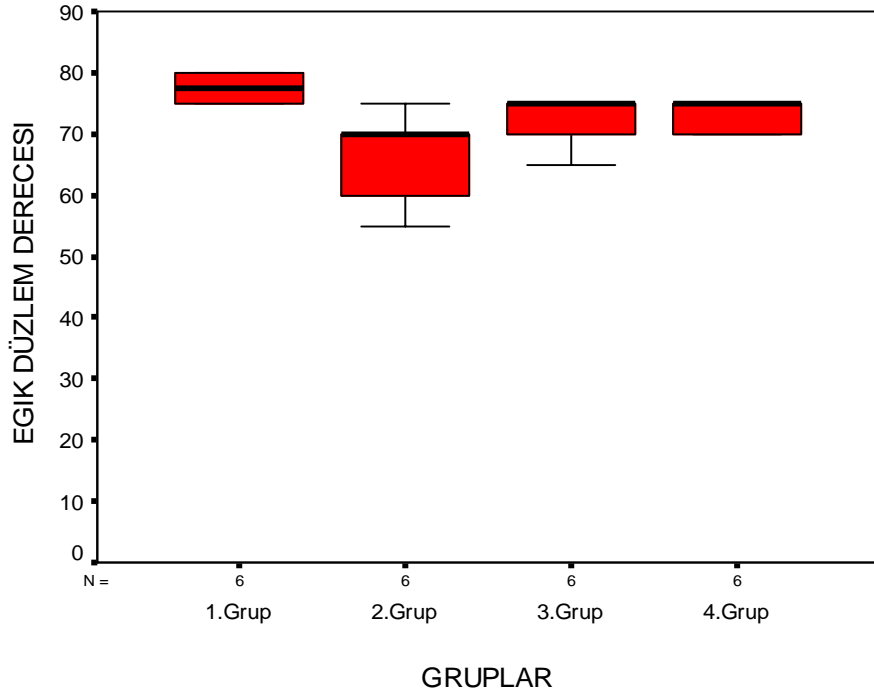
	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	77,50	77,50	2,739	75	80	0,003
Grup 2	60,83	60	4,916	55	70	
Grup 3	64,17	62,50	4,916	60	70	
Grup 4	60	60	12,247	40	75	

0. hafta eğik düzlem testi sonuçlarının gruplar arasındaki farklılığını görmek için Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile karşılaştırdığımızda 1. grupla 2.,3. ve 4. grup arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu görüldü ( $p<0,05$ ).

Tablo XVIII: 8. hafta eğik düzlem testi sonuçlarının gruplar arasındaki değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	77,50	77,50	2,739	75	80	0,008
Grup 2	66,67	70	7,528	55	75	
Grup 3	72,50	75	4,183	65	75	
Grup 4	73,33	75	2,582	70	75	

8. hafta sonunda eğik düzlem testi sonuçlarına göre laminektomi grubu ile laminektomi + kord hasarı oluşturulan grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur. Laminektomi grubu ile 0. gün kordon kanı ekilen ve 4. gün kordon kanı ekilen grup arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ( $p < 0,05$ ).



Şekil 20: Sıçanların 8. hafta Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testi sonuç grafiği (kutu-çizgi)

Grafide kutuların alt kenar çizgisi % 25'lik dilimi, üst kenar çizgisi % 75'lik dilimi ve kutu içinde yer alan daha koyu çizgi ortancayı göstermektedir. Kutunun üstünden ve altından uzanan T şeklindeki çizgiler, minimum ve maksimum değerli verileri ifade etmektedir.

#### Nörofizyolojik Refleks Çalışması Bulguları

Çalışmanın son haftasında, siyatik sinir- omurilik ön kök refleks çalışmasında her sıçanda iki taraflı olarak otuzar adet siyatik sinirden uyarı verildikten sonra ön kökten alınan reflekslerin amplitüdüleri milivolt (mV) olarak kaydedildi. Elde edilen verilere Kruskal Wallis Varyans Analizi ve Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile analiz yapıldı.

Sıçanlarda sağ ve sol alt ekstremitede poligrafla siyatik sinirden verilen ve ön kökten alınan refleks yanıtların amplitüdülerinin gruplara göre ortalamaları hesaplandı. Bu değerlerin, denekler arasında sinir uyarılabilme amplitüdülerinin bazal olarak bireysel farklılıklarının olması nedeniyle ve grup içindeki dağılımı, standart sapmayı değiştireceğinden dolayı yüzde amplitüde çevrildi. Önce grupların kendi içinde sağ ve sol refleks amplitüdüleri karşılaştırıldı. Daha sonra sağlam olan sol tarafın amplitüdüleri % 100 olarak kabul edilerek sağ taraftaki yüzde amplitüdüleri gruplar arasında istatistiksel farklılık yönünden birbirleriyle karşılaştırıldı (82).

Tablo XIX: 1.Grupta refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması (% amplitüd)

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1 sol	100,9712	102,2052	13,6631	66,16	159,59	0,249
Grup 1 sağ	104,4569	107,7651	14,8717	70,25	138,20	

Birinci grupta yer alan sıçanların alt ekstremitelerinde siyatik sinir- ön kök refleks çalışmasında sağdan ve soldan kaydedilen veriler karşılaştırıldığında istatistiksel farklılık izlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

Tablo XX: 2. Grup refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması (% amplitüd)

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 2 sol	100	99,5294	6,5142	76,47	120,09	0,0001
Grup 2 sağ	28,8452	28,3996	3,3484	21,13	37,94	

İkinci grupta yer alan sıçanların sağdan ve soldan alınan siyatik sinir-ön kök refleks çalışmasında kaydedilen veriler karşılaştırıldığında sağ ve sol tarafın refleks amplitüdüleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Üçüncü grupta yer alan sıçanların sağ ve sol taraftan alınan refleks yanıtlar incelendiğinde;

Tablo XXI: 3. Grupta refleks çalışmasında kaydedilen sağ ve sol verilerin karşılaştırılması (% amplitüd)

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 3 sol	99,8558	98,8130	9,5473	70,57	119,40	0,0001
Grup 3 sağ	58,8009	58,4763	8,2439	42,70	84,36	

Üçüncü grupta sağ ve sol alt ekstremitte refleks yanıtları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).

Dördüncü grupta alt ekstremitte sağ ve sol refleks yanıtları karşılaştırıldığında,

Tablo XXII: 4. Grup sağ ve soldan alınan refleks yanıtların karşılaştırılması (% amplitüd)

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 4 sol	100,0002	99,7757	8,7787	85,30	139,60	0,0001
Grup 4 sağ	48,4404	48,4264	4,2726	34,89	57,70	

Dördüncü grupta elde edilen sağ ve sol refleks yanıtlar birbiriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplarda sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıtların % amplitüdüleri, gruplar arasında istatistiksel anlamlılık yönünden Kruskal Wallis varyans analizi ile karşılaştırıldı.

Tablo XXIII: Sağ alt ekstremiteden alınan refleks yanıtların genel gruplar arası karşılaştırılması

	Ortalama	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p	Ki-kare
Sağ Refleksler	59,6797	27,6665	2,53	138,21	0,0001	358,673

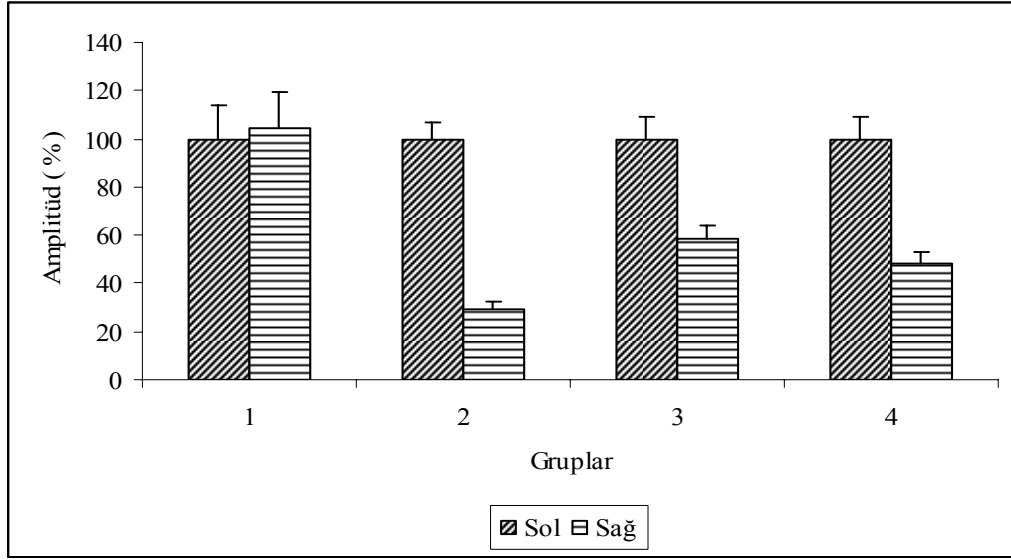
Gruplar arasında sağ taraftan alınan refleks yanıtlar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Tüm gruplarda elde edilen sağ taraf reflekslerin, gruplar arasındaki farklılığını görmek için Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanıldı.

Tablo XXIV: Sağ taraf reflekslerin gruplar arası anlamlılığının birbirleriyle karşılaştırılması

	Ortalama	Ortanca	Standart sapma	En alt değer	En üst değer	p
Grup 1	104,4569	107,7651	14,8717	70,25	138,20	0,0001
Grup 2	28,8452	28,3996	3,3484	21,13	37,94	
Grup 3	58,8009	58,4763	8,2439	42,70	84,36	
Grup 4	48,4404	48,4264	4,2726	34,89	57,70	

Sağ taraftan alınan refleks kayıtlar gruplar arasında karşılaştırıldığında tüm grupların birbiriyle anlamlı istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ).



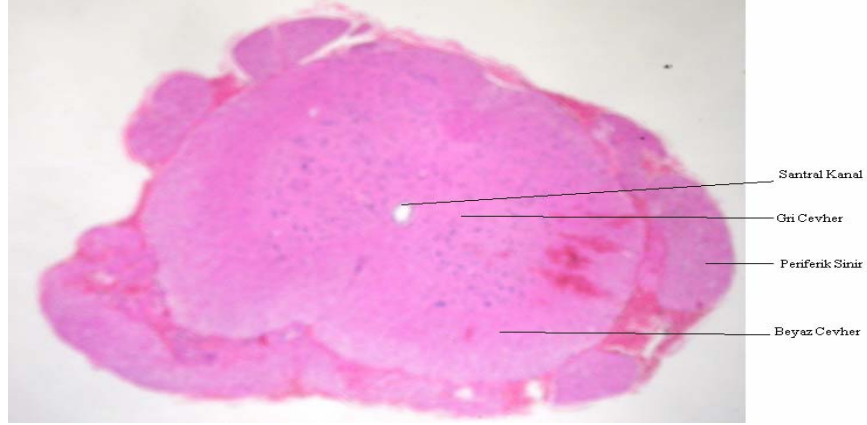
Şekil 21: Siyatik sinir- ön kök refleks çalışmasında sağ ve sol refleks ölçümlerinin % amplitüd olarak gösterilmesi

#### Patolojik İnceleme Bulguları

Tüm gruplarda yer alan sıçanların omurilik preparatları histopatolojik değişiklikler yönünden incelendi.

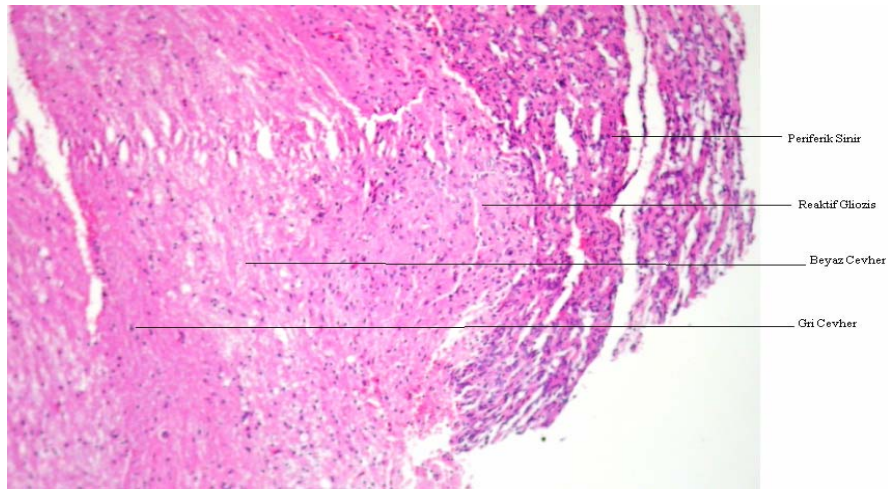


1. Grupta yer alan sıçanların Hematoksilen-Eosin (H&E) ile boyanmış omurilik enine kesitlerinde, medulla spinalis ve çevre periferik sinir dokusunda dikkati çeken histopatolojik bulgu izlenmemiştir.



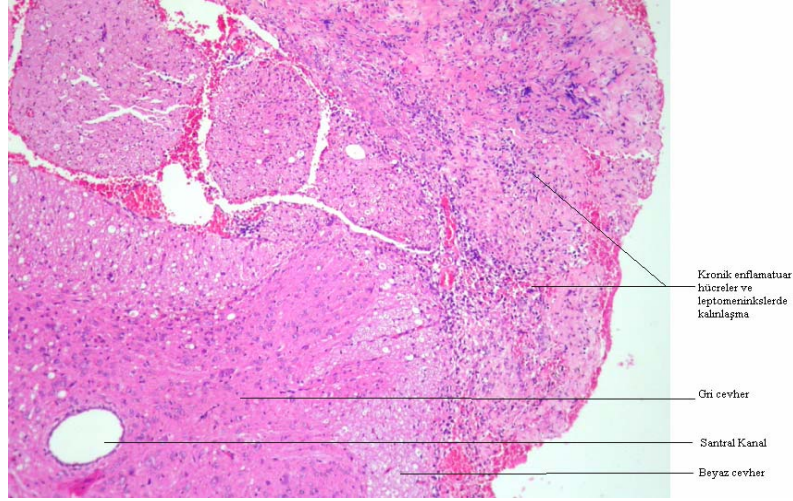
Şekil 22: Grup 1’de yer alan sıçana ait omurilik enine kesiti (HE X 4)

2. Grupta bulunan sıçanların H&E ile boyanan omurilik enine kesitlerinde; kanama, ödem, medulla spinalis içinde reaktif astrositler ile yoğun enflamasyon içeren reaktif gliozis, fibrozis alanları ve komşu periferik sinirlerde yağlı dejenerasyon dikkati çekmiştir.



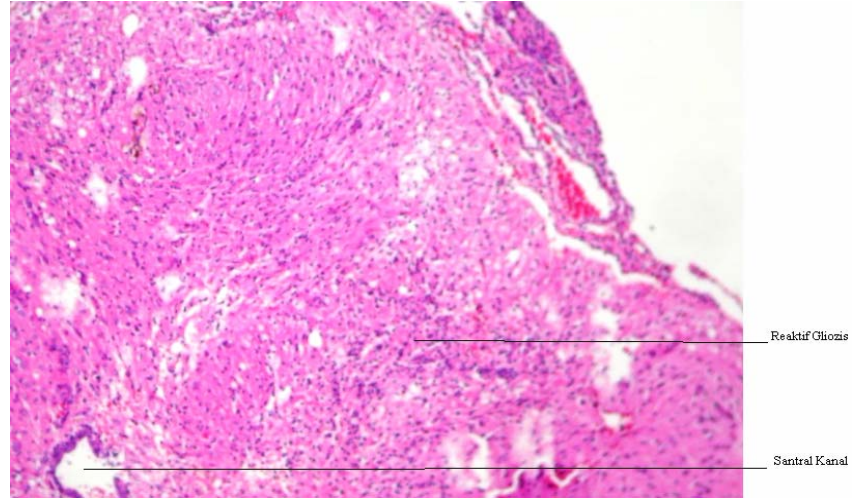
Şekil 23: Grup 2’de yer alan sıçanın histopatolojik görünümü (HE X 20)

3. Grupta yer alan sıçanların H&E ile boyalı preparatlarında; kanama, fibrozis, durada kalınlaşma, leptomeninklerde yoğun mononükleer hücreler ve ödem içeren granülasyon dokusu izlenmektedir. (Şekil 15) Bu alanlardaki mononükleer hücrelerde atipik değişiklikler gözlenmiştir. Medulla spinalis içinde reaktif gliozis alanları ve pigmentli makrofajlar içeren kistik lezyon, periferik sinirlerde yağlı dejenerasyon alanları izlenmiştir.



Şekil 24: Grup 3’de yer alan sıçanın histopatolojik preparatında leptomeninkte atipik hücreler içeren granülasyon dokusu ve kalınlaşma (H&E X 10)

4. Grupta bulunan sıçanların HE ile boyanmış preparatlarında, leptomeninklerde fibrozis ve granülasyon dokusu, medulla spinalis içinde hemosiderin içeren makrofajlar bulunduran kistik kavite, kronik enflamatuvar hücreler, durada kalınlaşma, omuriliğe komşu periferik sinirlerde yağlı dejenerasyon değişiklikleri ve kistik kavite oluşumları dikkati çekmiştir.



Şekil 25: Grup 4'te yer alan sıçanda medulla spinaliste reaktif gliozis alanı (H&E X 10)

## TARTIŞMA

Omurilik yaralanmalarına bağlı oluşan hasarı, bütünüyle önleyebilecek ya da tedavi edebilecek bir yöntem bütün araştırmalara rağmen halen mevcut değildir (40). Bu hastaların yaşam boyu süren tedavi ve bakım masrafları, işgücü ve gelir kayıpları ile yaşadıkları sosyal ve psikolojik sorunlar, ne kadar ciddi bir sağlık problemi ile karşı karşıya olduğumuzu göstermektedir.

Omurilik yaralanmalarında nöral korunma ve yaralanmış omuriliğin rejenerasyonu insanda henüz başarılamamıştır. İlk hasar dakikalar içinde oluşan ve günler ya da haftalar boyunca devam eden moleküler ve hücrenel değişimler kaskadını tetikler. Bunu takip eden ikincil hasar kaskadının durdurulması için nöral koruma çalışmaları yapılmaktadır. Hasarlı nöronların yaşamlarına devam etmeleri, aksonların uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ise rejenerasyon sürecindeki esas basamaklardır. Omurilik yaralanmasından sonra nöronal dejenerasyon ve nöronların yaşamlarını sürdürme mekanizmalarını anlamak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. İnsanda PSS'de spontan aksonal rejenerasyon varken, SSS rejenerasyon olamaz. Düşük omurgalılarda beyin nöronlarının inen aksonlarının kesilmesi, aksonların lezyon sahasını geçerek büyümesi ve uzak hedeflere doğru uzanması ile sonuçlanır. Rejenerasyon olan bu aksonlar, 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 aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme olabilirken, erişkinlerde rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme genellikle çok sınırlıdır. Otopsi çalışmaları, omurilik yaralanmalarının çoğunda klinik olarak tam yaralanma olsa dahi omuriliğin anatomik olarak sağlam kaldığını göstermiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalar, spinal aksonların % 12 kadar az bir oranının korunmasının, nörolojik iyileşmeyi destekleyebileceğini göstermektedir. Böylece, hasarlı bölgeyi geçebilen fonksiyonel akson oranını arttıran ya da bu aksonlardan

gelen zayıf uyarılara alt motor nöronların yanıtını arttırıcı her türlü müdahale, nörolojik iyileşmede belirgin etki gösterebilir.

Omurilik yaralanması, omurilikteki yaralanma bölgesinde sınırlı kalan bir patoloji olmakla kalmayıp, pek çok organı ve sonuçta tüm organizmayı etkileyen patolojik olaylar zincirini başlatır. Dolaşım sistemi, solunum sistemi, sindirim sistemi, ürogenital sistem ve hatta endokrin ve immünolojik sistemler üzerine oluşturduğu etkiler nedeni ile ağır patolojik durumlara ve hatta ölüme neden olabilir. Bu nedenle omurilik yaralanmalarında acil müdahale, nöroprotektif tedavi ve cerrahi tedavi kadar diğer sistemlerin korunmasına yönelik, eklem ve kasların, idrar ve gaita boşalımının ve solunumun rehabilitasyonu ile enfeksiyonlardan korunma gibi destek tedavilerin de önemi büyüktür.

Omurilik yaralanmalarında en etkin tedavi, kaçınılmaz olan çarpma etkisiyle başlayan ikincil hasarın önlenmesidir (41).

Bu amaçla pek çok ilaç hayvan çalışmalarında denenmiş ve önemli kısmı etkin bulunmuştur. Bu ilaçların bazıları klinik çalışmalarda denenmiş, ancak insandaki etkinliği ispatlanamamıştır. Sadece metil-prednizolon klinik pratikte uygulanmaya başlanmıştır. Ancak son yıllarda bu ilacın etkinliği konusunda ciddi tartışmalar olmaktadır. Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, sıçanda deneysel spinal travma modelinde yüksek doz metil-prednizolonun end organ etkileri incelenmiş, yüksek doz metil-prednizolon infüzyonu sonrası özellikle dalakta daha belirgin etkilenme sonucu lenfositik azalma, akciğerde interstisyel konjesyon ve eozinofilik alveoler koleksiyon, intestinal mukozalarda ödem izlenmiş, bununla birlikte kalp, böbrek ve karaciğerde kontrol grubuna göre anlamlı farklılık bulunmamıştır (83).

Omurilik yaralanmasında ikincil hasarın önlenmesi için hedefler: glutamaterjik, kolinerjik ve katalininerjik nörotransmisyon sistemleri, serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyon, kalsiyum ve diğer iyon kanalları, büyüme faktörleri,

nörotrofik faktörler, inflamasyon süreci, endojen opioid reseptörler, enzimler (kalpain v.b.), apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyon mekanizmalarıdır. Etkin nöroprotektif tedavinin bulunması için omurilik yaralanmasının patofizyolojisi daha iyi anlaşılmalıdır (84).

Birincil yaralanma spinal kordun kendisine veya etrafındaki vertebral kolona ait travma tiplerinin çoğunu takiben gelişebilir. Travma anında olan birincil yaralanmaya tıbben müdahale edebilme şansı yoktur. Spinal korda yönelmiş fleksiyon, ekstansiyon, dislokasyon veya rotasyon ile ilişkili distraksiyonel kuvvetlerin tümü, nöral yapıların ve/veya bunlara ait vasküler yapıların gerilip yırtılmasına neden olabilir. Her bir yapının hasarı klinik defisitlere yol açar. Diğer olası mekanik bası nedenleri, kemik fragmanlar, ligamanlar ve spinal kanal içindeki hematomdur (35). Bunlardan en sık karşılaşılan mekanizma, çarpma ve kalıcı bası kombinasyonudur (35,41).

İnsanda omurilik birincil yaralanma oluşturan mekanizmalara baktığımızda burst kırığı, kırıklı çıkık ve disk yırtılmasına bağlı çarpma ve buna bağlı kalıcı bası etkisi oluşmakta, hiperekstansiyon yaralanmalarına bağlı geçici bası, hiperfleksiyon yaralanmalarında distraksiyon kuvvetiyle omurilik yaralanması oluşmaktadır. Ayrıca burst kırığı, kırıklı çıkık, ateşli silah yaralanmaları ile omurilikte laserasyon ve transseksiyon şeklinde omurilik yaralanması meydana gelmektedir (35).

Bu kuvvetler, sadece yaralanma esnasında akut olarak değil aynı zamanda kalıcı deformiteye bağlı, kronik olarak da omuriliği tahrip edebilirler. Mekanik instabilite, kompresif veya distraktif ek kuvvetler yükleyen posttravmatik kifoz gibi daha ileri yapısal deformasyonlara götürebilir ve nörolojik defisitte artmaya neden olabilir. Yaralanmanın yaygınlığı ayrıca kuvvet uygulanan düzeyde spinal kanalın göreceli boyutlarına da dayanmaktadır. Geniş kanallar mekanik strese karşı tampon sağlayabilse de, dar kanallarda böyle bir rezerv yoktur. Konus medullarisle ilişkisine göre yaralanmanın anatomik yerleşimi de kısmen prognostik öneme sahip

görünmektedir. Örneğin, kauda ekuina yaralanmaları, spinal kordun kendisine ait yaralanmalara oranla daha iyi prognoza sahiptir (35). Zira alt seviyedeki motor nöronlar travmaya karşı daha dirençlidir.

Spinal kord travmalarının seyri ve yaralanma sonrasında oluşan patolojik bulgular sadece primer yaralanmaya ait değildir, devamında ortaya çıkan fizyopatolojik mekanizmalar sonucu oluşan yaralanmalar, sekonder yaralanmayı oluşturur. Bu tip yaralanmada rol oynayan birçok fizyopatolojik mekanizma tanımlanmıştır (24).

Bu mekanizmaların hepsinin altında yatan esas patolojik süreç, bozulmuş spinal kord perfüzyonu ve hücresel düzeyde enerji yetersizliğidir (41). İskeminin travmatik spinal kord yaralanmasından hemen sonra başladığı; tedavi edilmemesi durumunda ilk 3 saat içinde kötüleştiği ve en az 24 saat boyunca devam ettiği bildirilmiştir (85). İskemi gri cevherde en şiddetli olup, hem kraniyale hem de kaudale doğru uzanım gösterir (41).

Omurilik yaralanması sonrasında, omurilikte hemoraji, ödem, demiyelinizasyon, aksonal ve nöronal nekroz ile kavite oluşumu ve infarkt ile sonuçlanan bir seri patolojik değişiklikler oluşur. Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki 6 güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (86). Nemecek bu ciddi nekrozu "otodestruksiyon" olarak tanımlamıştır (87).

Omurilik yaralanması sonrası gelişen ikincil hasar mekanizmalarına baktığımızda; nörojenik şoka bağlı sistemik etkiler olarak kalp hızında önce kısa süreli artış daha sonra uzun süreli bradikardi, kan basıncında önce kısa süreli hipertansiyon daha sonra uzun süreli hipotansiyon, periferik damar direncinde ve kalp debisinde azalma ortaya çıkmaktadır. Omurilik mikrodolaşımında lokal vasküler hasarlanma olarak; kapiller ve venüllerde mekanik bozulma, özellikle gri cevherde görülen hemoraji yanında mekanik, tromboz veya vazospazma bağlı mikrodolaşımında

kayıp gözlenmektedir. Biyokimyasal değişiklikler olarak: serbest radikal üretimi, lipid peroksidasyonu, glutamata bağlı eksitotoksisite, nörotransmitter birikimi, endojen opioidler, noradrenalin ve dopamin gibi katekolaminler, araşidonik asit salınımı, eikosanoid üretimi, prostoglandinler ve sitokinler ortaya çıkmaktadır. Elektrolit imbalansı olarak; hücre içi kalsiyum sodyum ve potasyumda artış gözlenmektedir. Enflamatuvar cevap olarak serbest radikal üretimi, akson yıkımı, miyelin artıklarının uzaklaştırılması, sitokinlerin salınımı, glial hücre aktivasyonu, oligodendrositlerde sitotoksik etkiler ve Wallerian dejenerasyon oluşmaktadır. Ayrıca ödem, apopitozis ve azalmış ATP üretimine bağlı enerji metabolizmasında kayıp ortaya çıkmaktadır (88).

İlk kez 1970'lerde Demopoulos tarafından ortaya atılan hipoteze göre serbest oksijen radikalleri ve ürünleri ilerleyici doku hasarına yol açmaktadırlar (89).

Biyolojik dokularda serbest radikallerin en sık kaynağı moleküler oksijen radikalleridir. Mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikali oluşur. Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar (sitokrom oksidaz sistemi, süperoksit dismutazlar, katalazlar, glutatyon peroksidazlar) ya da non-enzimatik antioksidanlar ( tokoferol, karoten, glutatyon, askorbik asit, ürat, sistein, bilirübin, albümin) ya da metal bağlayıcılar (serüloplazmin, transferrin, laktoferrin) ile inaktive edilerek doku hasardan korunur. SSS askorbat, glutatyon ve tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahiptir (90). Ancak travma sonrası dokuda bu antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler, nükleik asitler ile reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitler oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikal oluşur. Omurilik yaralanmasından sonra kanamayı takiben hemoglobin, ferritin ya da transferrinden demir açığa çıkar. Demirin katalizlediği membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu neticesinde membran parçalanır ve hücre ölür. Ayrıca serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağlı olarak kan-omurilik bariyeri bozulur. Bunun sonucunda yaralanma bölgesine zararlı maddelerin birikimi olur. SSS'de



Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinin az olması nedeni ile serbest radikal hasarına yatkındır. Ayrıca serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile serbest radikal oluşma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması, SSS'nin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine neden olur.

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 (91).

National Acute Spinal Cord Injury Study (NASCIS) II, 1985 ve 1988 yılları arasında yapılmıştır (92).

Hastalar metilprednizolon (30 mg/kg bolus ve takiben 23 saat süreyle 5,4 mg/kg/saat devamlı infüzyon), naloksan ve plasebo ile tedavi edilmişlerdir. Metilprednizolonun, ilk 8 saat içinde uygulandığında, nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulaması hiçbir olumlu etki göstermemiştir. 1998'de sonuçlanan NASCIS III, metilprednizolonun 24 saat veya 48 saatlik uygulamasının, 21 aminosteroid tirilazad mesylate ile etkinliğinin karşılaştırılması için planlanmıştır. Akut omurilik yaralanması olanlarda yaralanmanın ilk 3 saatinde metilprednizolon alan hastaların 24 saat süre ile idame tedavisi almaları gerekirken, travmadan sonraki 3 ile 8 saatte gecikmiş steroid tedavisi alan hastaların 48 saat idame tedavisi almaları gerektiği gösterilmiştir. Tirilazadın, metilprednizolona göre daha güçlü bir lipid peroksidasyon önleyici olmasına ve minimal glukokortikoid aktivitesine sahip olmasına rağmen, NASCIS III, bu 21- aminosteroidin klinik kullanımı için mantıklı bir açıklama getirememiştir (93). Ancak şu da belirtilmelidir ki, NASCIS II çalışmasına karşı görüşler süregelmektedir ve pek çok araştırmacı metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (94,95).

Deneysel çalışmalar diğer antioksidanların da ümit verici olduklarını göstermektedir. Siklosporin-A (96) , EPC-K1(97), vitamin E ve selenyum (98) serbest radikal tutucu özellikleri nedeniyle omurilik yaralanmasında etkin bulunmuştur. Kaptanoğlu ve arkadaşları melatonin, meksiletin, eritropoetin, tiopental ve propofolün omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonunu önlediği, ultrastrüktürel ve klinik koruma yaptığını göstermişlerdir (99,100,101,102).

Omurilik yaralanmalarında gelişen iyon değişikliklerine baktığımızda: yaralanma sonrası subpial bölgede kalan aksonlarda fonksiyonel ileti bozulur. Bu aksonlarda refraktör periyod uzar, yüksek frekanslı ileti bozulur, aktivasyon eşiği yükselir, ısı bağımlı ileti bloğu olur ve ileti hızı azalır. Hızlı aktive olan K<sup>+</sup> kanalları miyelin tarafından sarılmış olarak, paranodal ya da internodal bölgelerde yerleşmiştir. Miyelin yaralandığında hızlı K<sup>+</sup> kanallarının aktivitesi artar, membran potansiyeli K<sup>+</sup> denge potansiyeline yaklaşır ve aksonal ileti bloğu oluşur. 4-aminopridin hızlı aktive olan voltaj bağımlı K<sup>+</sup> kanallarını bloke ederek omuriliği yaralanmış kedilerde klinik bulguları iyileştirmiştir. 4-aminopridin tedavisi, kronik omurilik yaralanması olan insanlarda aksonal iletiyi arttırmış ve orta derecede fonksiyonel iyileşme ile sonuçlanmıştır (103).

SSS beyaz cevher yaralanmasında anoksi, ATP ve membran depolarizasyonunun kaybına neden olur. Na<sup>+</sup> kanallarından hücre içine Na<sup>+</sup> geçer. İntrasellüler Na<sup>+</sup> konsantrasyonundaki bu artış, membran depolarizasyonu ile birlikte olunca, Na<sup>+</sup> - Ca<sup>++</sup> değiştiricinin ters çalışması ile hücre içine Ca<sup>++</sup> girişine neden olur. Anoksi anında voltaj bağımlı Na<sup>+</sup> kanallarının saxitoxin ile bloke edilmesi hücre içine Na<sup>+</sup> girişini, dolayısı ile yaralanmayı azaltmakta; veratridine ile Na<sup>+</sup> kanal permeabilitesinin artırılması ise yaralanmayı arttırmaktadır (104).

Kaptanoğlu ve arkadaşları deneysel omurilik yaralanmasında Na<sup>+</sup> kanal blokleri olan meksiletin ve fenitoinin nöroprotektif etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlardır (99).

Kalsiyum iyon konsantrasyonu, ekstrasellüler aralıkta hücre içine göre 1000 kat daha fazladır. Omurilik yaralanmasında hücre hasarı ile membranların parçalanması, hücrede enerji yetmezliği ve bunun neticesinde  $\text{Na}^+$  -  $\text{Ca}^{++}$  değiştirici gibi elektrolit pompalarının iyi çalışmaması sonucunda, bu büyük gradient farkı ile hücre içine  $\text{Ca}^{++}$  iyon girişi olur.  $\text{Ca}^{++}$  iyonları hücre içinde fosfolipazları, proteazları ve fosfatazları aktifleyerek hücre hasarının ilerlemesine neden olur. Fosfolipazlar hücre membranlarının yıkılmasını sağlayarak araşidonat gibi yağ asitlerinin ortaya çıkmasına neden olur. Siklooksijenaz ve lipooksijenaz araşidonik asiti prostaglandinler ve lokotrienlere dönüştürür. Fosfatazlar nitrik oksit sentetaz gibi diğer enzimleri aktifler, ayrıca  $\text{Ca}^{++}$  iyon kanalları ve diğer iyon kanallarının çalışmasını düzenler (90). Hücreye  $\text{Ca}^{++}$  girişi ve serbest radikal oluşumu eř zamanlı olur ve sinerjistik etki gösterebilir.  $\text{Ca}^{++}$  iyonları mitokondrial respiratuar enzimlere bağlandığında elektron transportunu bozarak serbest radikal oluşmasına neden olurlar.  $\text{Ca}^{++}$  tarafından aktive edilen fosfolipazlar ve proteazlar oksijen serbest radikalleri ile birlikte membranın yıkılmasına ve araşidonik asitin serbestleşmesine neden olur. Bundan başka, kuvvetli vazojenik ve inflamatuvar özellikleri olan bu ürünler kan akımını azaltır, membranın iyonlara geçirgenliğini artırır ve sonuçta daha fazla  $\text{Ca}^{++}$  girişine neden olurlar (90). Voltaj bağımlı  $\text{Ca}^{++}$  kanallarının bloke edilmesinin (nimodipin, nikardipin) omurilik yaralanmasında klinik sonuçları iyileştirmezken kan akımını artırdığı gösterilmiştir (105,106). Hücreye  $\text{Ca}^{++}$  iyonlarının girişi için diğer bir yol glutamat reseptörleridir. Glutamat reseptör blokerleri deneysel omurilik yaralanmasında nörolojik sonuçları iyileşirmiştir (107). Spinal aksonlarda glutamat reseptörü olduğunu destekleyen kanıtlar halen olmadığı için, glutamat reseptör blokajı aksonların korunmasında doğrudan etkili olmasa da omurilikteki nöronları ve glial hücreleri koruyabilir. Aksonlarda bulunan beta adreseptrler ve serotoninerjik reseptörler aksonal uyarılmayı  $\text{Ca}^{++}$  bağımlı ve protein kinaz-C mekanizmaları ile arttırlar. Mikrodializ alışmaları omurilik yaralanmasından sonra ekstrasellüler aralığa büyük miktarda norepinefrin ve serotonin serbestleşmesi olduğunu göstermiştir. Bir serotonin reseptör antagonisti olan mianserin, omurilik yaralanmasında nroprotektiftir (108). Bazı tedaviler hücre

içine  $Ca^{++}$  girişi neticesinde oluşan olayları etkileyerek nöroprotektif etki gösterirler. Glukokortikoidler  $Ca^{++}$ 'un aktive ettiği fosfolipaz aktivitesini inhibe eden bir protein olan lipokortinin sentez ve salınımını önler (109). İndometazin ve diğer siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibitörleri eikozanoidlerin üretimini azaltırlar. Siklosporin ve FK506 kalsinörünü inhibe eder, nitrik oksit üretimini azaltır ve nöronları glutamat toksisitesinden korur (110,111).

Omurilik yaralanması sonrası eksitator aminoasitlerden (EAA) glutamat ve aspartat dakikalar içinde hızla yükselir (112). İn vitro çalışmalar EAA'nin neden olduğu geç doku hasarında glutamat reseptörlerinin önemini vurgulamışlardır. EAA hasarında, hücre içinde  $Na^+$  ve  $Ca^{++}$  artışı ve hücre şişmesi ile proteazlar, kinazlar ve fosfolipazlar gibi kalsiyum bağımlı olayların başlamasına neden olur (113). Glutamatın toksik özelliklerini açıklamak amacı ile glutamat, NMDA, AMPA gibi glutamat reseptör uyarıcıları SSS'ne enjekte edilmiş ve glutamatın eksitotoksik olduğu, bunun reseptör blokerleri ve serbest radikal tutucular ile önlendiği gösterilmiştir. Bu sonuçlar bize glutamat toksisitesinde serbest radikallerin de olaya katıldığını göstermiştir. Kafa travmasında en güçlü eksitotoksik etki NMDA reseptörleri vasıtasıyla olurken, travmatik omurilik yaralanmasında AMPA gibi non NMDA reseptörleri üzerinden olmaktadır (114). Glutamat ve aspartat salınımının omurilik yaralanmasının şiddeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda 2-4 kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda 10 kat kadar yükselme olabilir. Glutamat, yaralanmadan sonra 15 dakikada pik değerine ulaşırken 120 dakika kadar yüksek kalabilir (115). Travmatik beyin ve omurilik yaralanmasından sonra glutamat reseptörlerinin hızla azalması, hücrenin kendisini eksitotoksisiteden koruma çabası olabilir. Omurilik yaralanmasında glutamat antagonistleri ile pek çok çalışma yapılmıştır. NMDA reseptör antagonisti olan 3-propyl-l-phosphonic acid (CPP) ve dizocilopine (MK-801) ile yapılan çalışmalarda travmatik ve iskemik omurilik hasarında histolojik ve klinik iyileşmeye neden oldukları gösterilmiştir (116). Glutamat eksitotoksisitesinden korunmak için NMDA reseptörlerini bloke etmenin bir diğer yolu da magnezyum (voltage bağımlı

magnezyum bloğu) ya da NMDA reseptörlerinin glisin ya da poliamin bölgelerini tıkamaktır. Travmatik yaralanma, magnezyum homeostazisini ve NMDA reseptörlerindeki magnezyum bloğunu bozar. Omurilik yaralanmasında, magnezyumun lipid peroksidasyonu önleyici ve elektrofizyolojik düzelme ile sonuçlanan nöroprotektif etkisi ilk kez Süzer ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (117). Kaptanoğlu ve arkadaşları, omurilik yaralanmasından sonra uygulanan 600 mg/kg magnezyumun yaralanma bölgesinde ultrastrüktürü koruduğunu ve erken klinik bulguları iyileştirdiğini, başka bir çalışmalarında ise magnezyumun nöroprotektif etkisinin yanısıra yaralanmış omurilik bölgesinde vazoprotektif etkisinin olduğunu göstermiştir (118).

Yakın zaman önce omurilik yaralanması sonrası olan eksitotoksistide non-NMDA ve metabotropik glutamat reseptörlerinin de önemli rol aldıkları gösterilmiştir. Potent AMPA/KA reseptör antagonisti olan NBQX'un kontüzyon yaralanmasında lezyon boyutlarını azalttığı ve klinik iyileşmeyi arttırdığı gösterildi (119). NBQX'in nöroprotektif etkisinin CPP'den daha fazla bulunması, omurilik yaralanması patofizyolojisinde non-NMDA reseptörlerinin önemini birkez daha vurgulamıştır. Grup I metabotropik glutamat reseptörlerinden (+)-MCPG (-methyl-4-carboxyphenylglycine)'in omurilik yaralanmasındaki olumlu etkileri gösterilmiştir (120). Metabotropik reseptörlerin rejenerasyonda da etkili rol alabilecekleri düşünülmektedir.

Opiat reseptör blokajının ilerleyici doku hasarını önlemesi, ikincil yaralanma patofizyolojisinde endojen opioidlerin rolü olabileceğini düşündürmüştür. Omurilik yaralanması sırasında dinorfin salınımı artar. İntratekal dinorfin uygulanmasıyla paralizi ve hücre hasarı bulguları ortaya çıkar. Opiat reseptörlerini aktive etmeyen bazı dinorfin fragmanlarının nörolojik fonksiyonu bozması, öte taraftan kappa selektif opioid reseptör antagonistlerinin omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduklarının bulunması bu mekanizmanın oldukça karmaşık olduğunu göstermektedir (90). Opiat reseptör blokajının non-opioid etkileri olabilir. Opiatlar SSS'de monoamin ve

serotoninerjik nörotransmitter seviyelerini hızla değiştirirler. NMDA reseptör blokerlerinin intratekal uygulanan dinorfinin hasar verici etkisini önlemesi ile opioidlerin eksitotoksik aminoasit salınımını artırdığını ve zararlı etkilerini EAA üzerinden yaptığı gösterilmiştir (121). Opiat reseptör antagonistleri testiküler testosteron sekresyonunu artırır. Testosteron nöroprotektif olabilir, reaktif gliozisi ve astositik proliferasyonu azaltırken, periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırır (90). İkincil hasarın önlenmesindeki opiat reseptörlerinin bloke edilme mekanizması dolaylı yoldan ve kompleks yapılıdır. Naloksan opiat reseptörlerinin mü alt tip blokeridir. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir. Faz 1 klinik çalışmada, yüksek dozlarda (5.4 mg/kg) insanda somatosensoriel uyarılmış potansiyelleri iyileştirdiği gözlenmiştir (122). NASCIS II çalışmasında metilprednizolon ile karşılaştırılmış ve plasebo grubundan farklı bulunamamıştır. Daha sonra yapılan alt grup çalışmaları sonucunda paretik hastalarda nörolojik iyileşme yapabileceği bildirilmiştir (92). TRH, YM 14673 (TRH analogu), WIN 44, 441-3 ve norbinaltorpimin kappa opiat reseptör blokajı yaparak omurilik yaralanmasında nörolojik iyileşmeyi arttırlar. Nalmefen hem mü hem de kappa reseptör blokajı yapar ve omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (89).

Omuriliğin travmatik yaralanması sonrası enflamasyon cevabı saatler içinde başlar ve birkaç gün içinde tepe değerine ulaşır (123). Bu cevap endotel hasarı, enflamasyon mediatörlerinin salınımı, vasküler permeabilite artışı, ödem gelişimi, periferik enflamatuar hücrelerinin göçü ve mikroglialin aktivasyonu olarak gözlemlenir. Lezyon bölgesine enflamatuar hücre infiltrasyonu iki dalga halindedir. Birinci dalgada polimorfonukleer granülosit infiltrasyonu varken, ikinci dalga monosit ve makrofajlar tarafından gerçekleştirilir. Polimorfonukleer granülositler lezyon bölgesini ilk birkaç saat içinde infiltre etmeye başlar, birinci günde pik değerine ulaşır ve üçüncü günde kaybolurlar. Polimorfonukleer granülosit infiltrasyonu miktarı ile oluşan hemoraji miktarının korelasyon göstermesi, kan içindeki kemoatraktan maddelerin bu infiltrasyonun miktarını belirlemede önemini

göstermiştir. İkinci dalgada yaralanma bölgesine migrasyon gösteren periferik hücreler monosit/makrofaj ve mikroglial gruptur. Burada asıl foksionun hücre debrisinin fagositozu olduğu düşünülmektedir (19). Bradikinin, prostaglandinler, lökotrienler, platelet-aktive edici faktör ve serotonin gibi enflamasyon mediatörleri yaralanmış omurilikte lezyon bölgesinde birikirler. Enflamatuar hücreler için kemoatraktan olan bu maddeler doku hasarının hızla ilerlemesine neden olurlar (90). Nötrofiller, nötrofil proteazlarını ve serbest oksijen radikallerini serbestleştirirler. Enflamasyonun mediatörleri, endotelial lökosit adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. Aktive olmuş nötrofil ve endotel hücresi arasında sıkı yapışmanın olduğu mikroçevreye, dolaşımdaki antiproteazlar ve antioksidanlar ulaşamaz. Aktive olmuş nötrofillerin başlattığı endotel hasarı ilerler (124). Katoh ve arkadaşları omurilik yaralanması ile başvuran hastalarda ilk 4 gün kan beyaz küre değerleri yüksek seyredenlerde nörolojik kötüleşmenin, normal seyreden hastalara göre daha fazla olduğunu göstermiştir (125). SSS travması sonrasında, PSS ile karşılaştırıldığında, makrofajların toplanmasının sınırlı tutulması ile karakterize immün mekanizmalar bozulabilir (126). Rapalino ve arkadaşları yakın zaman önce, periferik sinir segmentleri ile uyarılmış homolog makrofajların, tam kesiye uğratılmış omurilik içine lokal implantasyonunun, elektrofizyolojik aktivite kadar motor aktivitede de parsiyel iyileşme ile sonuçlandığını rapor etmişlerdir (127). Metilprednizolon, Platelet aktive edici faktör antagonistleri, siklooksijenaz ve lipooksijenazların hepsi etkilerini inflamatuvar cevapları kısmen azaltarak ya da tamamen inhibe ederek göstermektedirler. Klorakin ve kolşisinin kullanımı, omurilikte iskemi sonrası inflamatuvar değişiklikleri ve doku hasarını azaltmıştır (128). Omurilik yaralanmasında ortaya çıkan vasküler mekanizmalar ve endotel hasarına baktığımızda; akut omurilik yaralanması sistemik vasküler etkiler ile birlikte ikincil hasara uzanan ani mikrovasküler değişiklikler oluşturur. Bu değişikliklerin ilerleyici karakteri omurilik iskemisini travmadan sonra gittikçe artırır.

Akut omurilik yaralanması yaralanma şiddeti ve yaralanmanın seviyesi ile orantılı olarak birçok kardiovasküler ve hemodinamik etki yapar. Birçok çalışma

posttravmatik hipotansiyon ve nörojenik şok gelişimini göstermiştir. Travmayı takiben sistolik arteriel basınçta hafif ve kısa süreli bir artışı takiben, ortalama arter basıncında ve kardiyak output'ta kalıcı bir düşüş olur. Hipertansif fazda plazma norepinefrin ve epinefrin düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Posttravmatik hipotansiyon ve azalmış kardiyak output, sempatik tonus azalması ve miyokard etkilerindedir (12).

Tator ve arkadaşları klip kompresyon modeliyle yaptıkları omurilik yaralanmasında, hem yaralanma bölgesinde hem de rostral ve kaudal komşu bölgelerde arterioller, kapiller ve venüllerde kanlanmanın durduğunu gözlemişlerdir. İskemik bölge, gri cevherde ve buradaki hemorajiye komşu beyaz cevherde belirgindir. Gri cevheri katederek beyaz cevhere ulaşan arteriollerdeki vazospazm ve tromboz ile ikincil hasar artar (12). Beyaz cevher perfüzyonu travmadan sonraki 5. dakikada hızla azalır, 15. dakikadan sonra normale dönmeye başlar. Gri cevherde ise travmadan sonraki ilk 5 dakika içinde birçok hemorajik alan belirir. Perfüzyon travmadan saatler sonra bile yoktur. Lezyon bölgesinde, özellikle gri cevherde, omurilik kan akımının ileri derecede azalması iskemi gelişmesi ile sonuçlanır (124). Posttravmatik iskeminin travmadan sonra saatler içinde kötüleşmesi, erken tedavi edilmesi halinde iskeminin önlenebileceğini düşündürmektedir. Posttravmatik omurilik iskemisi travma şiddeti ile lineer korelasyon göstermektedir. Ağırlık düşürme modelinde yaralanmadan sonra beyaz cevherde hiperemi gözlenmiştir (87). Posttravmatik iskemi ile ilgili karşıt düşünceler olması deneysel çalışmalarda farklı yaralanma şiddeti, farklı örnekleme bölgesi, farklı ortalama arteriel basınç ve farklı hayvan modelleri kullanılmasından kaynaklanabilir. Normal omurilikte, ortalama arteriel kan basıncındaki değişikliklere rağmen omurilik kan akımını sabit tutan otoregülasyon vardır. Omurilik yaralanmasından sonra bu otoregülasyon bozulur ve sistemik hipotansiyon nedeniyle omurilik kan akımı azalır. Ortalama arter basıncının 160 mmHg'ye yükseltilmesi omurilik kan akımını artırmaz ancak yaralanma bölgesinin komşu bölgelerinde hiperemiye neden olur (12). Kobrine ve arkadaşlarının normal omurilikte iskeminin aksonal iletiye etkisi olmadığını göstermesi ile



posttravmatik iskeminin önemi azalmış gibi görünse de, yaralanmış omurilik aksonlarının normal aksonlara göre iskemiye toleranslarının daha az olduğunu gösteren kanıtlar vardır (129). Omurilik yaralanma derecesi ve posttravmatik iskemi derecesi ile motor ve somatosensorial uyarılmış potansiyeller arasında lineer ilişkinin olduğunu bildirilmesi, posttravmatik iskeminin akson foksiyonunun bozulması ile doğrudan ilişkili olduğunu göstermektedir (130).

Posttravmatik iskeminin kesin nedeni halen anlaşılamamıştır. Yaralanmayı oluşturan mekanik travma, vazoaaktif aminlerin salınımı, hemoraji, trombozis, platelet agregasyonu, endotel hasarı ve şişme vazospazmı tetikleyebilir. Kaptanoğlu ve arkadaşları omurilik kontüzyon yaralanmasında ultrastrüktürel skorlama metodunu geliştirmişlerdir (131). Burada yaralanma şiddeti arttıkça klinik bulgular dereceli olarak kötüleşmekte, bu bulgular da ultrastrüktürel skorlama ile lineer korelasyon göstermektedir. Çalışmada ilginç olan, vasküler endotel hasarın travma şiddeti ile doğru oranda arttığı ancak ödem, akson, miyelin ve nükleus hasarı ile karşılaştırıldığında endotelin yaralanmaya en dirençli yapı olması idi. Başka bir çalışmada endotel hasarının travmadan sonra zaman içinde kötüleştiği gösterilmiştir. Endotel hasarından bir EAA olan glutamat sorumlu tutulmaktadır (116). Endoteldeki NMDA reseptörlerinin blokağı ile hücre içi kalsiyum akımı önlenabilir. Bir NMDA reseptör blokeri olan MK-801'in omurilik yaralanmasında nöroprotektif etkisi gösterilmiştir (12). Bir çalışmada, NMDA reseptör blokeri olan magnezyumun, endotel hasarı ve kan-omurilik bariyeri yıkımını önlemesi endoteldeki glutamat antagonizmasına bağlanabileceğini düşündürmüştür (132). Magnezyumun omurilik yaralanmasında ödemi, dolayısı ile vasküler permeabiliteyi azalttığı da ultrastrüktürel olarak gösterilmiştir. (118). Carlos ve Harlan endotel hasarının aktive olmuş nötrofiller tarafından oluşturulduğunu öne sürmüşlerdir (133). Endotel hasarına platelet yapışması, intravasküler platelet agregasyonu, mikrovasküler oklüzyon, emboli ve vazojenik ödemin eşlik etmesi nedeni ile, endotel hasarını azaltmak için antiplatelet ajanlar kullanılmıştır (134). Posttravmatik omurilik kan akımını arttırmak için pek çok ajan denenmiştir. SSS'de hücre içine kalsiyum girişinin hücre ölümünde

son basamaklardan birinin olduğunun gösterilmesi, kalsiyum kanal blokerlerinin serebral vazospazmda kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bir kalsiyum kanal blokleri olan nimodipin de omurilik yaralanma modellerinde denenmiştir. Kan transfüzyonu ve dopamin, adrenalin ve nimodipin, dextran ve nimodipinin omurilik yaralanmasından sonra kan akımını arttırdığı ve nörolojik iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir (12).

Travmatik omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümünün bir kısmından apoptoz sorumludur (135,136,137,138).

Apoptoz, ölen hücrenin fagositozu ile sonuçlanan, nükleer kromatinin kondensasyonu, sitoplazmik organellerin paketlenmesi ve plazma membranında değişiklikler ile karakterize bir hücre ölümü çeşididir. Apoptoz intrasellüler proteolitik bir süreç tarafından regüle edilir. Primer olarak sistein proteinlerinden oluşan kaspaz ailesinin üyelerinin proteolitik olarak birbirlerini ve birçok intrasellüler anahtar hedef proteinini bölerek aktiflemesi ile hücre ölümünün gerçekleştirilmesi esasına dayanır. Apoptozun başlatılması için üç prototip sinyal yolu tanımlanmıştır: Bir yolda ölüm reseptörleri pro-kaspaz-8'i ve muhtemelen diğer başlatıcı kaspazları aktifler. İkinci yol mitokondri tarafından kontrol edilir ve mitokondride yerleşmiş apoptoz proteaz aktive edici faktör-1 (APAF-1) ve kaspaz-9'u içerir. Bir kez sitokrom-c tarafından aktive edildiğinde Apaf-1 kofaktör nükleotid trifosfatlarla birlikte (d-ATP veya ATP) pro-kaspaz-9'a bağlanır ve aktifler. Böylece kaspaz-8 ve kaspaz-9 ölüm reseptörleri ve mitokondri için en önemli kaspazlardır. Yakın zaman önce endoplazmik retikulum apoptoz yolu tanımlanmıştır. Ağırılık düşürme metodu ile oluşturulan kontüzyon omurilik yaralanmasında kaspaz-8 ve kaspaz-9 gibi başlatıcı kaspazlar lezyon merkezinde 30 dakika gibi kısa bir sürede aktiflenirler. Omurilik yaralanmasının ileri evrelerinde bu kaspazlar beyaz cevherde de artmaya başlar. Springer ve arkadaşları kaspaz-3 aktivasyonunun omurilik yaralanmasından 1 saat sonra 3 katına çıktığını göstermişlerdir (138). Citron ve arkadaşları, omurilik yaralanmasından sonra apoptozun en üst değerine üçüncü günde ulaştığını

göstermişlerdir (139). Kaptanoğlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada spinal kord travması sonrası antioksidan özelliği olan mexiletin indüksiyonu ile kaspaz 3 inhibisyonuna bağlı motor iyileşme olduğu gösterilmiştir (140).

Bu çalışmalar omurilik yaralanmasında hem ölüm reseptörlerinin hem de mitokondrial kaspaz yollarının çalıştığını göstermekle birlikte, hangi mekanizmaların bu yolları çalıştırdığını tam olarak açıklamamaktadır. Bethea ve arkadaşları omurilik yaralanmasının tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-) ekspresyonunu hızla arttırdığını göstermiş ve TNF'nin ölüm sinyalini başlattığı düşünülmüştür (141). Crowe ve arkadaşları omurilik yaralanmasında oligodendrositik değişiklikleri ilk kez tanımlamışlardır (135). Omurilik yaralanmasının yayılmasında oligodendrositik apoptozun rolü olabileceği fikri ortaya atılmıştır. Emery ve arkadaşları omurilik yaralanmasından sonra oligodendrositlerde kaspaz-3 aktivitesinin artışı göstermişlerdir (136). Yakın zaman önce yapılan çalışmalar antiapoptotik ajanların nöroprotektif olabileceğini göstermiştir. Li ve arkadaşları akut omurilik yaralanmasından sonra kaspaz-1 ve kaspaz-3 inhibisyonunun lezyon boyutunu küçülttüğünü ve nörolojik iyileşmeye neden olduğunu göstermişlerdir (142). Bascis ve arkadaşları interlökin-10'un glutamat tarafından indüklenen kaspaz-3 gibi proapoptotik proteinlerin aktivitesini bloke ettiğini göstermişlerdir (143). Ancak Ozawa ve arkadaşları ratlarda omurilik yaralanması sonrası uygulanan kaspaz blokerleri gibi apoptotik inhibitörlerin apoptozu önlemediği, histolojik ve klinik düzelmeye neden olmadığını göstermişlerdir (144).

Lezyon bölgesindeki patolojik değişiklikleri incelediğimizde; omurilikte travmayı takiben başlayan ikincil hasar süreci akut, subakut ve geç faz olarak sınıflandırılabilir. Hemoraji ve hızlı nekrozu takiben, astrositler ve mikroglia reaktif hale gelir, lezyon bölgesine inflamatuvar hücreler göç eder. Yaralanmadan haftalar sonra skar dokusu ve kavite oluşur, beyaz cevherde Wallerian dejenerasyonun değişik evreleri gözlenir (19).

Spinal kord yaralanmasının akut faz patolojisi değişikliklerini incelediğimizde santral zon, burst fraktürü ve fraktür dislokasyonu gibi akut kompresyonel yaralanmalarda daha fazla etkilenir. Bu duyarlılığın santral zonun, daha vasküler ve yumuşak olmasından kaynaklandığı düşünölmektedir (145). İlk aşamada gri cevherde yaygın peteşiyel kanamalar oluşur. Yaralanma bölgesindeki kanama yaklaşık iki saat sürer ve çoğunluğu venöz kaynaklıdır (107,146). Oluşan tablo ilk 12-24 saat içinde santral hemorajik nekroz halini almaya ve hemorajik zonlar birleşmeye başlar. Beyaz cevherle gri cevheri ayırt etmek zorlaşır. Yirmi dört saat sonra posttravmatik enfarkt olarak adlandırılan iskemi süreci başlar (107,146,147). Kontüzyon ve laserasyon ile beraber subaraknoid hemoraji yaygındır. İlk 24 saat içinde travmanın olduğu bölgede travmanın şiddeti ile doğru orantılı olarak kaudale ve rostrale doğru uzanan spinal kord şişmesi ve yumuşaması olur (107,146). Ödem dışındaki eksudasyon bulguları lökosit ve eritrositlerin damar dışına çıkmalarıdır (diapedez). Eritrosit diapedezi çok belirgin olduğunda peteşial kanamalar meydana gelir. Polimorfonökleer lökositler (PNL) travmayı takiben ilk birkaç saat içinde ortamda çoğalırken, 48 saat sonrasında infiltrasyon lenfosit ve makrofaj hakimiyetinde olur. Mikst tip iltihabi infiltrasyon ilk beş gün içinde maksimuma ulaşır (148). Bunge ve ark. (149) insandaki akut faz lezyonlarını 4 patolojik gruba ayırarak incelemiştir:

1- Kontüzyon/Kist: Vakaların % 23'ünde rastlanır. Orta şiddetli kontüzyonel travmalarda görülür.

2- Masif kompresyona bağlı kord laserasyonu: Vakaların % 32'sinde rastlanır. Nöral dokuların çoğunda şiddetli destrüksiyon ve piada yırtılma vardır.

3- Kord laserasyonu: Vakaların % 27'sinde görülür. Ateşli silah yaralanmalarında oluşur. Kord parankiminde yırtılma mevcuttur.

4- Solid kord hasarı: Vakaların % 18'inde karşılaşılr. Kordun santrali hariç tümünde hematomyeli veya kist vardır.

Konnektif doku skarı, pianın yırtık olduğu 2. ve 3. gruplarda gözlenmiştir. Yazarların görüşüne göre, çoğu spinal kord travması vakasında skar gelişimi, aksonal düzelme ve rejenerasyonu önlemede minör role sahiptir (146,149,150).

Spinal kord travmalarında subakut dönemdeki patolojik değişikliklere baktığımızda; akut döneme ait değişiklikler yaralanmayı takip eden 5. günden sonra yavaş yavaş durulmaya başlar. Subakut dönem 5. gün ile 3 ay arasındaki dönemi kapsar (145). Bu fazdaki patolojik değişiklikler akut ve kronik dönem değişikliklerinden farklıdır. Ödem bu dönemde büyük oranda azalmıştır. Küçük boyuttaki kanamalar geri emilmiştir. Büyük alanları işgal eden kanamalar ise organizasyonla giderilmeye çalışılır. Bu nedenle mevcut damarlarda rekanalizasyon izlenir. Damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır. Akut dönemdeki PNL infiltrasyonunun yerini bu dönemde lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu almıştır. Ortamda çoğunluğu oluşturan hücreler ise lipid yüklü (ölen nöron ve parçalanmış myelini fagosite etmiş) ya da kanamayı fagosite etmiş hemosiderin yüklü makrofajlardır. Onarım dokusu hem glial hücrelerin hem de genç myofibroblastların üremeye başlamasıyla gelişir. Genç myofibroblastlar zamanla kollajen üreten olgun fibrositlere dönüşür ve ortamda nedbe dokusu meydana gelir. Ayrıca sinir sisteminin onarımından sorumlu astrositik ağırlıklı gliozisde izlenir (151).

Bizim çalışmamızda da laminektomi ve kord hasarı oluşturulan gruptaki sıçanların omurilik enine kesitlerinin H&E ile patolojik incelemelerinde subakut dönemle uyumlu olarak reaktif astrositler ile yoğun enflamasyon içeren reaktif gliozis, fibrozis alanları ve komşu periferik sinirlerde yağlı dejenerasyon izlenmiştir.

Travmadan etkilenen nöronların aksonlarında kesi olduğunda, aksonun distal kısmında oluşan Wallerian dejenerasyon proksimalde motor traktuslarda ve distalde ise duyuşal traktuslarda daha belirgindir (151). Bu subakut dönem değişiklikleri klinik gelişmelerden de sorumludur. Örneğin, travmadan bir yıl sonra bile nörolojik fonksiyonlarda iyi yönde gelişmeler olabilir. Bu iyileşme, ortamın temizlenmesi ve az

sayıda nöronda aksonal rejenerasyonun devamı ile gerçekleşir. Wallerian dejenerasyon, parçalanmış akson ve myelinin makrofajlar tarafından fagosite edilerek ortamdaki uzaklaştırılmasıdır.

Spinal kord travmasında kronik dönem patolojik değişiklikler incelenecek olursa; kronik dönem travmayı takip eden 3-9 ay arasında izlenen otopsi bulgularıyla ve deneysel çalışmalarla gösterilmiş değişikliklerdir (145). Travma bölgesinde spinal kord üzerindeki duramater ve araknoidal membran kalınlaşmıştır (152). Eski hemorajiler nedeniyle kahverengi gri renk almıştır. Mikroskopik olarak fibrozisin geliştiği ve meningeal hücrelerin proliferasyonu olduğu görülür. Adheziv araknoidit tabloya daima eşlik eder. Akut fazda hakim olan PNL'ler kronik fazda yerlerini makrofajlara bırakırlar. Makrofajlarda oluşan debris fagosite eder. Travmanın olduğu yerde küçük ve büyük kaviteler gelişir. Bunlar birleşerek büyük ebatlara ulaşırlar ve santral kanalla ilişkili hale gelerek santral kaviteyi oluştururlar. Daha sonra rostrale ve kaudale uzayarak posttravmatik siringomyeli sendromuna yol açarlar. Kronik dönemde keskin sınırlı nekroz alanları ile infarkt görünümünü birbirinden ayırt etmek daha kolaydır. Travma alanının uzağında lokalize olan nekrotik sahalar, travma bölgesiyle uyumlu olmayan nörolojik defisitlerin izahına yardımcı olurlar (145,147, 153). İntramedüller skar ve fibrozis değişik derecededir. Travmanın en ciddi hasarı oluşturduğu bölgede tüm glial ve nöronal hücreler hasara uğramış olduğundan iyileşme yalnızca genç bağ dokusu hücreleriyle yani skar dokusu ile gerçekleşecektir. Travma hasarının daha hafif olduğu durumlarda ise skar dokusunun çevresinde astrositlerin artışına bağlı astrogliozis meydana gelir. Skar alanında artık anatomik yapılar seçilemez. Kronik fazda spinal kord, hem travma yerinde hem de travma yerinin rostrali ve kaudalinde atrofiktir (134). Wallerian dejenerasyon bu dönemde de devam eder. Kronik dönemde rejeneratif değişiklikler de görülür, en dikkat çekicisi dorsal ve ventral köklerden Schwann hücrelerinin ortaya çıkışı ile periferik aksonlardan remiyelinizasyon gelişimidir (146,154). Omurilik yaralanmalarında cerrahinin zamanlamasına ilişkin olarak; 1999 yılında Fehling ve Tator, akut nonpenetran omurilik yaralanmalarının tedavisinde dekompresif cerrahinin,

dekompresyon yapılan deneysel çalışmaları gözden geçirdiğinde en çok nörolojik iyileşmenin erken cerrahi ile sağlandığı sonucuna vardı (155,156,157,158).

Omurilik lezyonlarının, morfometrik özellikleri ve klinik sonuçları, hem deneysel hem de insan çalışmalarında, kompresyonun gücü ve süresi, yer değiştirme ve kinetik enerjinin de içinde bulunduğu çok sayıda faktöre dayandığı sonucuna varıldı. İskemi, serbest oksijen radikallerinin başlattığı lipid peroksidasyonu, kalsiyum aracılığı ile oluşan sitotoksisiteyi içeren ikincil hasar mekanizmaları üzerine yapılan deneysel çalışmaların sonuçları, omurilik yaralanmasını takiben geçen birkaç saat içindeki erken dönemin, nöroprotektif etkinin elde edilmesi açısından önemli olduğunu desteklemektedir. Yeni çalışmalarda, erken dekompresif cerrahinin ek bir mortalite ve morbiditeye neden olmaksızın güvenli bir şekilde uygulanabileceğine ait kanıtlar mevcut olsa da birçok araştırmacı medikal komplikasyonlardan kaçınmak için geç cerrahiye savunmaktadır (159).

Akut omurilik yaralanmasına maruz kalan hastalarda cerrahinin zamanlaması için çok merkezli bir çalışma yapılmıştır (160). Bu çalışma, Kuzey Amerikada birçok hastanın opere edildiğini ve cerrahi girişim zamanlamasının oldukça değişken olduğunu ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar, en uygun dekompresif cerrahi zamanı hakkında çok az bir uzlaşma olduğu ve omurilik yaralanmasında uygun dekompresif cerrahi zamanının tespiti için randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varmışlardır.

Birçok araştırmacı, cerrahi tedavinin erken mobilizasyona ve pnömoni ya da derin ven trombozu gibi komplikasyonların oranının azaltılmasına imkan verdiğini iddia ediyor olsalar da, bu araştırmacılar omurilik dekompresyonunun nörolojik sonuçları iyileştirdiğine dair kesin bir kanıt olmadığını bulmuşlardır (161,162) Bunun yanında, hastanın görüntüleme çalışmaları yapılmadan önce erken dönemde anatomik redüksiyon yapılması konusu tartışmalıdır, çünkü özellikle büyük disk herniasyonu olan hastalarda traksiyon sonrası erken nörolojik gerileme rapor edilmiştir (163,164).

Tator'un değerlendirmesinde traksiyon sonrası nörolojik gerileme oranı % 8 olarak rapor edilmiştir. Cerrahi tedavinin uygun zamanlaması için merkezler arasında bir uzlaşısı da mevcut değildir.

### **Omurilikte rejenerasyon;**

Omurilik rejenerasyonunu sağlamaya yönelik deneysel çalışmalara baktığımızda; bazı büyüme faktörleri, özellikle uzun bir zaman diliminde uygulandığında, hasarlı omuriliğin onarım ve rejeneratif kapasitesini artırırlar (65,66). Erişkin sıçan omuriliğinin ependimasındaki prekürsör hücreler, omurilik yaralanması veya diğer hastalıklarda kaybolan nöral dokunun yerini alabilecek nöral prekürsör hücreler olabilirler (65). Hasarlı omurilik trakt liflerinin büyüme potansiyellerini ve lezyon sahasını aşmalarını incelemek üzere çeşitli doku tipleri transplantları ve materyalleri kullanılmıştır. Sonuçlar, hem erişkin hem de genç SSS liflerinin rejenerasyon ve köprünün içine uzanabilme yeteneklerini göstermişlerdir. Periferik sinirler, kök hücreler ve embriyonik SSS greftleri daha etkili gibi görünmektedirler. Bununla beraber, greft köprülerine giren liflerin sayıları sınırlıdır ve rejenerasyon olan lifler genellikle erişkin konakçı SSS'e girerken dururlar. Bu gerçek, işlevsel düzelme için greftlerin ve köprülerin kullanımını büyük oranda sınırlar. Nörit büyümesi inhibitörlerinin IN-1 (19,165) gibi antikörler veya monoklonal antikör 10 D (165) ile nötralize edilmesi, aksonal rejenerasyonu hızlandırır. Eksizyon, X- ışınlama veya glukokortikoid, piromen, tripsin, elastaz veya kollejenaz gibi ajanlarla skarın azaltılmasının, omuriliğin rejeneratif kapasitesini artırdığı bildirilmiştir (166). Doğru akım in vitro olarak, aksonal büyümeyi hızlandırır ve hasarlı omurilik aksonlarının rejenerasyonunda bir miktar induktif etki gösterebilir (168,169,170).

Nörotrofik faktörlerin ve reseptörlerinin pek çoğu gelişmekte olan ya da yetişkin omuriliğinde bulunmaktadır. Sinir sistemine yönelik bir yaralanma, amacı onarıcı veya rejeneratif işlevleri artırmak olan sinir büyüme faktörü (NGF) (68) gibi endojen büyüme faktörlerinin artışı ile sonuçlanır (19). Yaralanmaya cevap olarak



bazı trofik faktörlerin veya reseptörlerinin sentezindeki değişiklikler, nörotrofik faktörlerin uygulanması ile nöronların hayatta kalmalarının ve rejeneratif dallanmalarının arttığı rapor edilmiştir. Erişkin sıçanlarda omurilik tam veya yarı kesilerinde trofik faktörlerin uygulanmasının rubrospinal nöron atrofisini önlediği (67), kortikospinal (171,172) ve rubrospinal (173) yollarda dallanmayı artırdığı gözlenmiştir. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), yaralanmış sıçan omuriliğinde Schwann hücreleri ile miyelinli aksonlarda dikkate değer ölçüde proliferasyon sağlamaktadır (174). Nörotrofik faktörlerin SSS içine uzun süreli salınımındaki zorluk, fibroblast ve astrosit gibi hücrelerin genetik olarak nörotropin sekrete eder duruma gelecek şekilde değiştirilmesi ve bu hücrelerin SSS içine enjekte edilmesiyle aşılmıştır (175). NGF seviyelerini yükseltmek için kullanılan bu teknik ile erişkin sıçan omuriliğinde duyu, noradrenerjik ve motor nöritlerde kuvvetli büyümeler gözlenmiştir (176). Bu tekniğin çekici tarafı genetik olarak modifiye edilmiş hücrelerin lezyondan aylar sonra dahi verilmesinde bile nörit dallanmasını arttırmasıdır. Değişik sistemlerde büyümeyi artırmak için değişik büyüme faktörleri özellikle etkin olabilir (177).

NGF (171) veya nörotropin-3 (172) gibi eksojen büyüme faktörlerinin lokal olarak uzun süreyle uygulanması, anterograd ve retrograd aksonal izleyiciler ile gösterildiği gibi aksonal rejenerasyon ile sonuçlanır. BDNF (174) ve epidermal büyüme faktörü (EGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (FGF2) (65) gibi nörotrofik faktörlerin uzun dönem intratekal verilmesi için miniosmotik pompalar başarıyla uygulanmıştır. Omurilik içinde embriyonik doku veya Schwann hücreleri gibi transplantların faydalı etkilerinden bazıları, bu transplante edilen hücrelerden nörotrofik faktörlerin salınmasına bağlı olabilir.

Gelişmekte olan omurilikte, kollajen gibi in vitro nörit destekleyicisi olan çeşitli hücre adezyon, ekstrasellüler matris ve rehber moleküller bulunmaktadır (178).

Lateral ventriküllerin subependiması içinde prekürsör hücre topluluğunun varlığı bilinmektedir (179,180). Nestin, yetişkin SSS'de nöroepitelyal prekürsör hücrelerin içinde bulunan bir aracı proteindir (181,182,183,184).

Aynı zamanda yetişkin SSS'nin lateral ventriküllerinin subependimasında bulunan multipotent prekürsör hücrelerde in vitro olarak tanımlanmışlardır (185,186).

Omuriliğin gelişimi sırasında, santral kanalın nöroepitelyal tabakasındaki kök hücrelerinde Nestin ekspresyonu saptanmıştır. Bu ekspresyon gelişim tamamlandığında progresif olarak azalmaktadır (187). Nestin immün reaktif hücreler, yetişkin beyninde kök hücrelerin kaynağı olduğu düşünülen lateral ventriküllerin subependimasında in vivo olarak gösterilmiştir (188,189).

Zileli ve arkadaşları, omurilik santral kanal endimasının, yetişkin memeli omuriliği içinde prekürsör hücreler için in vivo kaynak olarak gösterilmiştir (190). Sıçan omuriliğine yapılan akut kompresif yaralanma, endimal hücrelerin proliferasyonu ve migrasyonunu başlatır, benzer süreç amfibilerde de görülür ve fetal memelilerde olduğu zannedilmektedir (49).

Zileli ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, intratekal EGF ve FGF2 infüzyonunun yetişkin sıçan omuriliği endimasındaki prekürsör hücreler üzerine mitojenik etkisi olduğu gösterilmiştir (65). Bugün nöral kök hücrelerinin, büyüme faktörleri ve inhibitörlerin kontrolü altında olduğu bilinmektedir (65,191). Ependimal hücrelerin kök hücre özellikleri, bunların yeni destek hücreler ve aksonal rejenerasyon için matriks sağlamasındaki muhtemel rollerine dikkat çekmiştir. Bu hücrelerin tedavi edici potansiyelleri, kültürü yapılmış kök hücrelerin transplantasyonu yapılarak ya da EGF ve FGF2 gibi eksojen büyüme faktörleri ile endojen kök hücrelerin stimülasyonu ile anlaşılabilir (42).

Hasarlı omurilik 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 dokusunun 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.

Farklılaşmış SSS nöronlarının periferik siniri içine rejenere olabildiğini gösteren ilk başarılı yayınlar 1911 de F. Tello tarafından yapılmıştır (192). Elde edilen verilerden iki sonuç çıkarılmıştır: 1) SSS nöronları periferik sinir ortamında liflerini rejenere edebilirler, 2) bu rejenerasyon denervasyona cevap olarak periferik Schwann hücreleri tarafından kemotrofik nöro-trofik faktörlerin sentezine bağlı olabilir.

Aguayo ve arkadaşları, çok çeşitli SSS aksonlarının, eğer aksonları periferik sinir greftine yeniden yönlendirilirse ve büyümesine izin verilirse kapsamlı şekilde rejenerasyon gösterebileceğini, ancak greftler SSS'ye rekonnekte edildiğinde genellikle aksonal uzamanın PSS-SSS bileşkesinde, greftin distal ucunda durduğunu göstermişlerdir. Aynı grup, birkaç yüz lifin greft içine girdiğini göstermiştir. Anterograd transport ile işaretlenmiş rejenere olan lifler, torasik omurilik seviyesinde SSS'ye yeniden girdiklerinde, greft çıkışından sonra 1-2 mm içinde aniden sonlanırlar (193,194). Periferik sinir transplantları, hasara uğramış çok çeşitli erişkin SSS aksonlarının yanıt verebileceği, büyümeyi teşvik eden uygun mikro ortamı temsil etmektedirler. Carter ve arkadaşları, retinal ganglion hücrelerinin aksonlarını süperior kollikulus'a köprülemek için kesilmiş optik sinirde otolog operiferik sinir greftlerini kullanmışlardır. Burada retinal ganglion hücrelerinin aksonlarının süperior kollikulus içine doğru büyüdüğü ve normal görünümlü terminaller ve sinapslar oluşturdukları ışık ve elektron mikroskobunda tespit edilmiş (195).

1996'da Cheng ve arkadaşları, kesilmiş sıçan torasik omuriliğinde boşluğu doldurmak için çok sayıda interkostal sinir kullanmışlardır (31). Aşağıya doğru uzanan motor traktı köprüleştirmek için, greftler, rostral beyaz cevherden kaudal gri cevhere doğru ve çıkan trakt için kaudal beyaz cevherden rostral gri cevhere doğru yönlendirilmiştir. Çok sayıda interkostal sinir grefti FGF1 içeren fibrin yapıştırıcı ile yerleştirilmiştir. Bu çalışmada, rejeneren olan aksonlar rostral güdükten greft içine girerler, greft içinde büyüyerek kaudal güdüğün gri cevheri içine girerler.

Schwann hücrelerinin çoğalması ve bu hücrelerin hasarlı omurilik içine doğru ilerlemesi, hastalarda akut omurilik yaralanmasının doğal bir sonucu olduğu önceden beri bilinmektedir (69). Omurilik yaralanması sonrası, Schwann hücreleri ön ve arka köklerden proliferen olarak omurilik içine doğru ilerler ve yeniden büyüyen aksonları miyelinize ederler.

Periferik sinirlerin, aksonları rejenerasyonuna teşvik etme yeteneklerinin büyük oranda Schwann hücrelerinin kendine özgü özelliklerine bağlı olabileceğinden, erişkin SSS omurilik liflerinin rejenerasyonu için substrat olarak arındırılmış Schwann hücre greftleri test edilmiştir. Schwann hücreleri NGF (70), BDNF (71), Silier nörotrofik faktörü (CTNF) (72) içeren nörotrofik faktörleri üretirler. Bunun ötesinde nörit büyümesi için önemli olabilecek ekstrasellüler matriks moleküllerini sentezleyebilir ve sekrete ederler (73). Aynı zamanda çok çeşitli hücre adezyon moleküllerini eksprese ederler (74). Bunge ve arkadaşları (75) omurilik yaralanması sonrasında nörolojik fonksiyonları yeniden kazanmak için, hasarlı omurilik içine otolog ya da homolog Schwann hücrelerini transplante ederek, Schwann hücrelerinin miyelinize edici, proliferatif, migratuvar özelliklerini kullanmayı denemişlerdir. Transplante edilen Schwann hücreleri, rejeneren olan aksonu miyelinize ederken, aynı zamanda demiyelinize olmuş aksonu da remiyelinize eder. Schwann hücre transplantasyonu tek başına fonksiyonel iyileşmeyi sağlamıyor gözükse de, Schwann hücreleri nörotrofinler, miyelin ile ilişkili inhibitörlere karşı antikolar ve nöroprotektif ajanlarla kombine kullanılabilir. Klinik uygulamada, periferik sinir

biyopsilerinden saflaştırılmış otolog Schwann hücreleri elde etmek, bunları kültürde çoğaltarak greft konakçı immünolojik rejeksiyon riski olmaksızın omuriliğe transplante etmek mümkündür.

Omurilikte rejenerasyonu sağlamaya yönelik çalışmalardan birisi de, olfaktör glia hücreleri ile omurilik yaralanmalarına müdahale etmektir. Olfaktör mukoza nöronları, hayat boyu bölünebilen tek nöronlardır (76). Mukozadan olfaktör içine doğru aksonların büyümesi özel glial hücreler tarafından sağlanır. Bunlar olfaktör ensheating hücrelerdir. Bu hücreler, hem Schwann hem de astrositik özellikleri paylaşırlar (77) ve PSS-SSS sınırını geçebilen tek glial hücrelerdir. Bunlara ilaveten kültür içinde uygun aksonları miyelinize edebilir (78). Vincent ve arkadaşları, özelleşmiş glial hücrelerin çevresel faktörler varlığında hasarlı omurilikte morfolojik ve fonksiyonel plastisiteyi sağlayıcı etkileri üzerine bir çalışma yapmışlardır (196). Collazos-Castro ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, servikal kontüzyon yaralanması oluşturulan ratlara olfaktör glial hücreler vererek aksonal büyüme ve bunun neticesinde lokomotor iyileşme olduğunu göstermişlerdir (197). Olfaktör glial hücreler, yaralanmış aksonlarda uzun mesafe rejenerasyon için uygun faktörleri sağlayarak, omurilik yaralanmasının tedavisinde yeni imkanlar yaratabilir.

Omurilik lezyonlarında, embriyonik beyin ve omurilik doku transplantları, omuriliğin rejenerasyon çalışmalarında çokça çalışılmış stratejilerdir. Iwashita ve arkadaşları embriyonik sıçan donör omuriliğini, neonatal sıçan konakçı omuriliği içine greftlemişler ve greft boyunca kortikospinal yol aksonlarında önemli sayılabilecek rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme olduğunu gözlemlemişlerdir (198). Nakamura ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, yeni doğan sıçanlarda omurilik yaralanması oluşturularak, sıçan embriyosunun omuriliğinden aldıkları dokuları transplante ederek, bu dokuların migre olarak, astrositlere daha az olmak üzere oligodendrositlere ve nöronal hücelere farklılaştığını göstermişlerdir (199).

## **Deneysel Omurilik Travma Modelleri**

Omurilik yaralanmasının patofizyolojisini araştırmak ve nöroprotektif ajanların etkisini değerlendirmek amacıyla çeşitli deneysel travma modelleri kullanılmıştır.

Deneysel omurilik yaralanma modelleri kullanarak omuriliğin işlevi konusunda bilgi almak için yapılan alışmalar M.Ö. 2.yy'da Gallen'in maymunlar üzerinde yaptığı çalışmalara dek eskidir (19). Deneysel omurilik yaralanmalarıyla ilgili modern çalışmalar 1911 yılında Allen'in 'ağırlık dışürme modeli' olarak bilinen, köpeklerde omurilik üzerine tekrarlanabilir yöntemi tanıtmasıyla başlar. Allen yöntemi, omurilik yaralanmasının ağırlık dışürme modeli (kontüzyon tip yaralanma) olarak bilinmeye başlamıştır. Diğer deneysel çalışmalarda omuriliğin anatomik kesileri, yarı kesileri, fokal ya da çepeçevre balon kompresyonu, fotokimyasal veya termal hasarlama, germe kuvvetleri ve piston travma gibi çeşitli mekanik veya iskemik hasarlar travma modelleri olarak kullanılmaktadır.

Ağırlık dışürme modelinde, cismin ağırlığı ile dışürme mesafesi çarpılarak omuriliğe uygulanan enerji hesaplanır (200). Ağırlık dışürme yönteminde kinetik enerjinin tamamı omuriliğe aktarılamamaktadır. Ağırlık cam tüpün içinden gönderiliyorsa cismin tüpe sirtünmesi, evre dokulara enerji dağılımı, cismin omuriliğe birden fazla çarpması, omuriliğin hayvanlar arasında farklı çapa sahip olması, farklı kan akımı ve BOS dolanımına sahip olması nedeniyle bu yöntem dezavantajlıdır. Her uygulamada aynı şiddette yaralanma oluşmamaktadır. Bu sebeple, aynı şiddette yaralanma oluşturmak için omurilik üzerine gümüş elektrot yerleştirilmiş, elektrot bir osiloskopa bağlanmış ve omuriliğe çarpma anında osiloskopta oluşan keskin dalganın mutlak değeri çarpan kuvvetle orantılı bulunmuştur (201).

Klip kompresyon modeli, 1978'de Rivlin ve Tator tarafından sıçanlarda geliştirilmiştir (202). Klip kompresyon modelinde mekanik travma yanında vasküler

etkilenme ile iskemiye yol açar. Laminektomi sonrası omurilik lateralinden anevrizma klibi konarak belli sürede omuriliği komprese eder. Önceden belirlenen şiddette yaralanma oluşturulabilir. Klip kapanma gücü ve kompresyon süreleri değiştirilerek farklı şiddetlerde yaralanma oluşturulabilir. Ağırlık düşürme ve balon kompresyon yöntemine göre daha güvenli bir yöntemdir (203).

Ventral kompresyon tekniği Benzel tarafından 1990'da tarif edilmiştir (204). İnsan omurilik yaralanmasında vertebra ve bağ dokusunun etkisi olduğu düşünülerek vertebranın da hasar gördüğü bir model olarak öngörülmüştür. L1 düzeyinde lateral yaklaşımla vena kava ve abdominal aorta vertebral kolondan disseke edilir. DeBakey aort klemp, bir bacağı omurganın ventraline, diğer bacağı da omurganın dorsaline gelecek şekilde yerleştirilir. Klemp 20 sn, 3 diş sıkıştırılır, sıçanın alt ekstremitelerinde spazm görülür, klemp serbestleştirilir. Bu modelde kompresyon gücü sabittir. Farklı tür deneklerde farklı yaralanma yaratır. Aynı tür hayvanların omurga kalınlıkları arasındaki varyasyonlar, sonucu etkileyebilir (205).

Kontrollü kontüzyon yöntemi Anderson tarafından 1982'de geliştirilmiştir. Bu yöntemde omurilikte yaratılacak yaralanmanın şiddeti ve hızı, birbirinden bağımsız olarak değiştirilebilir. C6 ve C7 spinöz çıkıntıları klemplerle sabitlenir. Laminektomi yapmadan interlaminer aralıktan omurilik yaralanması oluşturulur. Pnömatik bir silindirden itilen shaft, alanı ayarlanabilir bir çerçeveye çarpar, istenen süre boyunca orada kalır. Verilen havanın devamlılığından dolayı travmanın süresi ve hızı sabittir. 1992'de Stokes ve arkadaşları (206), Anderson'un bu modelini geliştirmiştir. Stokes ve arkadaşları, elektromekanik bir cihaz keşfetmişlerdir. Bu cihazda omuriliğe çarpan shaftın yer değiştirme miktarı, hızı ve shafta verilen kuvvet, transduserler tarafından ölçülerek bilgisayara verilmekte, sonuçta her travmada omuriliğin ne kadar etkilendiği kantitatif olarak belirlenmektedir. Bu modelin avantajları ikincil travmaların önlenmesi, transduserlerin kullanılması ile her hayvan için travma şiddetinin kantitatif belirlenmesi, güç hatalarının önlenmesidir.

Omurilik iskemisi modeli, iskemi ile ilgili çalışmalarda kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Sol renal arterin hemen distalinde aort oklüzyonu omurilikte iskemi oluşturur (207).

Sakamoto ve arkadaşları 2 Mhz radyofrekanslı ısıtıcı çemberi dorsal insizyonla ortaya koydukları T13-L1 vertebralarının üzerine yerleştirmiştir. Proksimal segmente yaptıkları bir laminotomi penceresinde epidural sıcaklığı monitorize etmişlerdir. Isıtma işlemi 45-48.5 derece ve 4-10 dakika arasında değişen düzeylerde yapılmıştır. Travma sonrası sıçanların alt ekstremitelerinde nörolojik kötüleşme, omurilik kan akımında azalma olduğu, histolojik olarak yaralanmaya ait bulguların ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu yöntem diğer modellere göre daha az invazivdir. Mekanik olarak omurga elemanlarında destrüksiyon oluşturmaz (208).

Omuriliğin deneysel olarak yaralanma oluşturulan modellerden birisi de, bistüri ya da lazer ile horizontal planda parsiyel olarak hemiseksiyon yapılması ya da komplet olarak kesilmesidir. Omurilik rejenerasyonunun incelendiği araştırmalar için daha uygundur. Lazer kullanılarak kesilen omuriliklerde bistüri ile kesilenlere göre daha iyi revaskülarizasyon görülmektedir. Ayrıca lazer ile yapılan kesilerde cerrahi travma sabittir, kontaminasyon olmadığı için enfeksiyon olmaz (209). Klinik omurilik yaralanmasında tam kesi nadiren ortaya çıkmasına karşın omurilik yaralanmasıyla ilgili değerli bilgiler vermesi nedeniyle kesi lezyon modelleri son derece önemlidir. Cheng ve arkadaşları omuriliğin bir kısmını almışlardır. Periferik sinir grefti, trofik destek ve stabilizasyon için fibrin glue, asidik fibroblast büyüme faktörleri kullanmışlardır. Nöral dokularda rejenerasyon olduğu görülmüştür (31). Bunge'de benzer bir yaklaşımla omuriliğin bir segmentini çıkarmış, distal ve proksimal uçlar Schwann hücreleri ile doldurulmuş kanallarla birleştirilmiştir. Bunge bu modeli çeşitli rejenerasyon stratejilerini, söz konusu kanalları doldurma ve aşmadaki etkilerini değerlendirmek için kullanmıştır (210). Bazı kesi modelleri ise spesifik traktusların kesilmesini hedefleyecek şekilde özelleştirilmiştir. Li ve arkadaşları selektif dorsal kolon lezyonu oluşturmak için elektrolitik teknik



kullanmıştır. Omuriliğin bir tarafındaki kortikal traktusu kesmişler ve transplante ettikleri olfaktör hücrelerin bu traktusta rejenerasyona neden olup olmadığını araştırmıştır (79). Spesifik traktus kesimi modellerinin en önemli sorunu hedeflenen traktusların kesilememesi gibi bir ihtimalinin bulunmasıdır. Kesildiği sanılan aksonların, sonuçlarının değerlendirilmesi aşamasında görülmesi, yanlışlıkla rejenerasyon olarak değerlendirilebilir.

Çalışmamızda deneysel omurilik yaralanma modeli olarak omurilik yarı kesisi kullandık. Böylelikle, bu yaralanma modeli ile sıçanların alt ekstremitelerinde her iki tarafı nörolojik ve fizyolojik olarak ayrı ayrı mukayese edebilmek, yarı kesisi olduğu için de ağır paraplejik tablolarda oluşabilecek ve hayvanın hayatını kaybettirebilecek mesane ve barsak disfonksiyonu gibi ikincil hasarların önüne geçebilmeyi amaçladık. Sıçanların bu haliyle bakımı ve takibinin, paraplejik olanlara göre daha kolay olması nedeniyle tercih edilmiştir.

### **Kök Hücre**

Kök hücreler; canlı organizmalarda, kendilerini yenileme ve farklılaşma yetenekleri bulunan hücrelerdir. Kök hücreleri bu özellikleri sayesinde sayılarını sabit tutarlar ve ihtiyaç olduğu zamanlarda kendilerinden sonraki hücelere farklılaşarak görev yapacak hücrelerin gelişimini, olgunlaşmasını ve çoğalmasını sağlarlar. Bütün kök hücrelerin kendilerini diğer hücrelerden ayıran üç temel özelliği vardır: Uzun süre bölünerek kendilerini yenilerler, özelleşmemiş hücrelerdir ve sinir, kas, karaciğer, kalp hücresi gibi özelleşmiş hücelere dönüşme kapasiteleri vardır.

Kök hücre kendini yenileme yeteneği olan ve farklılaşarak yeni hücreleri oluşturabilen, yamalanma (engraftment) yapabilen klonal bir hücredir. Kök hücreler başlıca 3 grupta toplanabilir: Fertilize ovum'dan itibaren gelişen embriyo'da önce "sarı kese = yolk sac" adı verilen primitif dokuda "embriyonik kök hücreleri", daha sonra bebeğin doğum anında göbek kordonundaki "kordon kanı kök hücreleri" ve

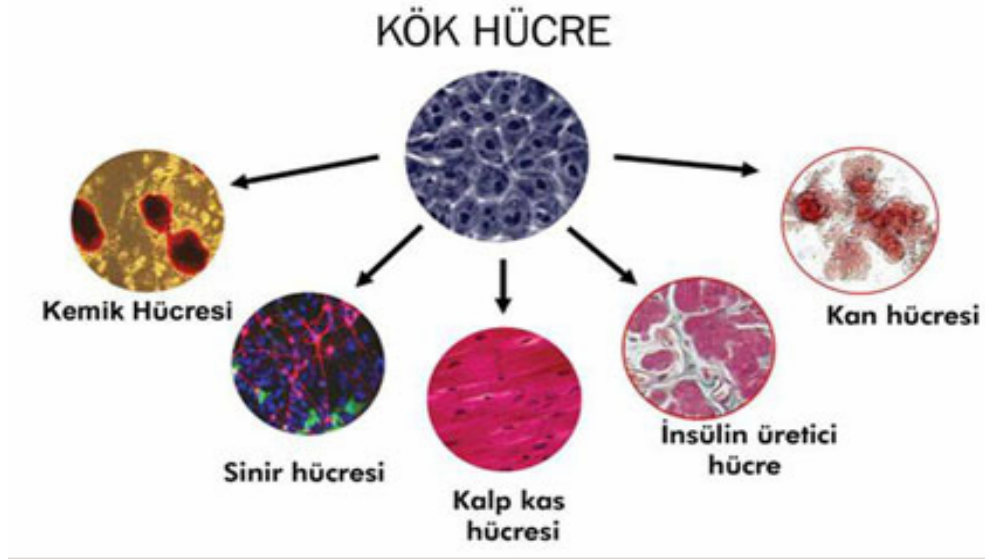
doğum sonrası dönemde “erişkin kök hücreleri” olmak üzere değişik türleri mevcuttur.

Embriyonik kök hücre; embriyodan oluşan, sınırsız yaşam süreleri olan ve birçok hücre dizilerini oluşturabilen hücredir. Embriyonik kök hücreleri, İn-vitro olarak döllenen ve ihtiyaç fazlası embriyolardan veya istem üzerine sonlandırılan gebeliklerden elde edilmektedir. Embriyonik kök hücreler, ilk kez 1981 yılında fare embriyolarından elde edilmiştir.

Embriyonik kök hücre erken embriyonun (4-5. gün) "blastokist" aşamasındaki "iç hücre grubunun" hücre kültürlerinden elde edilir. Ancak bu kültüre hücreler, embriyonun normal gelişimindeki gibi hareket etmezler. Embriyonik kök hücre sonsuz üreme potansiyeline sahiptir; pluripotent bir hücredir, yani her üç germ tabakasından (mezoderm, endoderm ve ektoderm) hücreleri oluşturabilir. Kültürden elde edilen EKH'lerden; Pankreas adacık hücresine benzer insülin salgılayan hücreler (fare ve insan çalışmaları), kasılma gösterebilen kalb kası hücreleri (fare ve insan), kan hücreleri (fare ve insan), bazı beyin kimyasallarını salgılayan sinir hücreleri (fare) gibi hücrelere değişim saptanmıştır. 1998 yılında EKH'lerin in vitro çoğaltılması ve pluripotent potansiyeli; kardiovasküler hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar, omurilik yaralanmaları, diyabet, kanser gibi birçok alanda kullanımları ile ilgili çalışmalar başlatıldı. Ancak bu çalışmalarla birlikte EKH kullanımı ile ilgili etik sorunlar gündeme geldi. Bu nedenlerle araştırmacılar daha az sorun yaşanabilecek diğer kök hücre kaynaklarına yönelmişlerdir. Bu şekilde "Erişkin Tip Kök Hücreler" in yeni doku ve organ oluşturabilme potansiyelleri hayvan ve insan çalışmalarında hızla araştırılmaya başlandı.

Embryonik kök hücrelerinin değişik uyaranlara maruz bırakıldıklarında embriyonik gelişme dışında “gelişim plastisitesi” özelliğine sahip oldukları görülmüştür. Son yıllarda hematopoietik (kan yapımından sorumlu) kök hücrelerinin mezoderm, ektoderm ve endoderm kaynaklı doku hücrelerine farklılaşabildiği

gösterilmiştir. Endoderm'den karaciğer, bağırsak ve pankreas, nöral krest'den nöronlar, nöroglial hücreler ve mesoderm'den, kan hücreleri, kas, kıkırdak ve endotel hücreleri gelişmektedir. Önceleri, kök hücrelerinin yalnızca içinde buldukları dokuların hücrelerini verdiklerine inanılırdı. Örneğin, kemik iliğinde ve kan'da bulunan hematopoietik kök hücrelerinin yalnızca kan yapımından sorumlu olmaları gibi. Ancak, yakın zamanda, uygun uyaranlar ile karşılaşmaları sonucunda bu hücrelerin kas hücrelerine, nöronlara, hepatositlere, kıkırdak, yağ hücresi ve endotel hücrelerine dönüşebilme yeteneğinde oldukları gösterilmiştir. Bu farklılaşmalar özgün biyolojik, immünolojik, biyokimyasal, elektrofizyolojik ve moleküler çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu yeni tanımlanan hücrenin biyolojik farklılaşma süreci "Kök Hücre Plastisitesi" olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 26:Kök hücrelerin farklı hücelere dönüşebilme yetenekleri (plastisite)

*Kordon kanı kök hücreleriyle tedavi başlıca üç şekilde olur;*

Birincisinde kordon kanı üzerinde hiçbir işlem yapılmadan direk hastaya nakil edilebilir (kordon kanı transplantasyonu). Kordon kanı kök hücreleri, enjekte edilen

doku içerisinde etraftan gelen kimyasal ve fiziksel sinyaller sonucu özelleşmiş hücrelere dönüşerek hasta dokuyu yenilemeye başlarlar.

İkincisinde kordon kanı kök hücreleri gen terapisi için araç olarak kullanılır. Kök hücrelerinin DNA dizilerine yeni genler yerleştirildikten sonra hastaya nakledilebilir.

Üçüncü metotta ise kök hücrelerin özelleşmiş dokuya veya organa dönüşme safhası laboratuvar ortamında gerçekleştirilir ve bu hazır doku veya organ hastaya nakledilir.

Dokulardaki kök hücrelerinin başka organlarda bulunan farklılaşmış hücrelere dönüşebilme yetenekleri ya farklı bölgelerdeki kök hücrelerin aynı ortak özelliklere sahip multipotent hücreler olduğunu ve ileri dönemlerde kullanım için yedekte tutuldukları veya bu hücrelerin gereksinim halinde farklı görev yapabilecek in-vivo programlanma kabiliyetine sahip olmaları ile izah edilmektedir (211).

### **Kordon Kanı**

Erişkin kemik iliğinin aksine, göbek kordon kanından alınan saflaştırılmış progenitor hücreler, büyüme faktörü verilmesinde bile klonojenik maturasyona uğrarlar. Broxmeyer ve arkadaşları ve diğer bazı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda, hem term hem de preterm göbek kordon kanının erişkin periferik kanı ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha fazla sayıda progenitor hücre içerdiği gösterilmiştir. Göbek kordon kanı plazması bağımsız olarak progenitor hücreleri çoğaltmayı kolaylaştırma yetisine sahiptir (212).

CFU-GM sayısı ve CFU-GM çoğalma hızı, kordon kanında anlamlı olarak daha yüksektir. Yine, "Kolonisi Oluşturan Ünit - Granulosit, Eritroid, Monosit, Megakaryosit" (CFU-GEMM)'in sayısının ve CFU-GEMM çoğalma hızının erişkin periferik kanı ile karşılaştırıldığında, kordon kanında daha yüksek olduğu

gözlenmiştir. Antijen sunum yetisinin bulunmaması, sitotoksik efektör hücre yapımında yetersizlik, ve kendine has sitokin profili immünolojik özelliklerini farklı kılar (213).

İlk kordon kanı transplantasyonu, 1988 yılında Fransa'da Fanconi Anemili bir hastaya yapılmıştır. 1990 da Minnesotada(USA) ilk kez lösemide kordon kanı transplantı gerçekleştirildi. Dünya da ilk kez, preimplantasyon+IVF ile verici hazırlanarak 2000 yılında Fanconi Aplastik Anemili Molly'e başarı ile uygulandı. Yeterli hematopoetik kök hücreye sahip kordon kanı toplanarak, HLA uyumlu kordon kanından hastaya transplant yapılmış ve kür elde edilmiştir. Bu olgu sonrasında kordon kanı toplama, kordon kanı bankacılığı ve transplantasyon sayısı hızla artmıştır.

Erişkin tip kök hücre, erişkinde farklılaşmış bir dokuda (kan gibi) bulunan farklılaşmamış hücre grubudur. Erişkin kök hücreleri, erişkin bireylerden elde edilen, embriyonal kök hücreleri gibi totipotent ya da pluripotent nitelikte birçok hücre tipine dönüşebilen hücrelerdir. Erişkin tip kök hücreler; a) Kaynaklandıkları dokuların özelleşmiş hücre tiplerine farklılaşabilir, b) Kendilerini yineleme potansiyeline sahiptir, c) Kaynaklandığı doku dışında başka dokuların hücrelerine de dönüşebilir. Bu şekilde kök hücre işlevlerinde yeni bir kavram gündeme gelmiştir; Kök hücre transdiferansiyasyonu veya kök hücre plastisitesi gerçekleşmektedir. Erişkin tip kök hücreler birçok dokuda bulunmaktadır. Bunlar; kemik iliği, dolaşan kan, kornea ve retina, beyin, çizgili kas, diş pulpası, karaciğer, deri, gastrointestinal sistem mukozası ve pankreasıdır. Erişkin kök hücreler kaynaklandıkları bu dokuların hücrelerini oluşturabilir. Örnek; kemik iliğinden kaynaklanan hematopoetik kök hücreler (HKH) olgun kan hücrelerini meydana getirirler. HKH'ler kemoterapi ve/veya radyoterapi ile miyeloablasyon ve immunosupresyon sağlanan hastalara verildiğinde bunların kemik iliğinde yamalanarak yeni kan hücrelerini oluştururlar. Bu özellikleri nedeniyle HKH'ler birçok malign kan hastalıkları, kemik iliği yetmezliği durumları, doğumsal genetik hastalıklar ve immün yetmezlik durumları, oto-immün hastalıkların

tedavisinde yıllardır kullanılmaktadırlar. Bu şekilde HKH nakli yapılan fare çalışmalarında ve insanlarda donör (kök hücre vericisi) kaynaklı hücrelerin kemik iliği dışında da yerleşebildikleri gösterilmiştir. Mesela; erkek fareden dişi fareye kemik iliği ablyasyonundan sonra kemik iliği hücre nakli yapıldığında, alıcı dişi farenin böbrek incelemelerinde Y kromozomu bulunduğu gösterilmiş, ayrıca bazı böbrek tubulus epitel hücrelerinin kemik iliği öncül hücrelerinden oluştuğu belirlenmiştir. Kemik iliği kök hücreleri, Erişkin tip Kök Hücreler arasında klinikte en fazla kullanımı olan ve plastisite için en yoğun çalışmaların yapıldığı gruptur.

Kemik iliği kök hücrelerini; 1)Hematopietik kök hücreler (HKH) 2)Endotelial hücre progenitörleri 3)Stroma hücreleri (mezenkimal kök hücreler) oluşturur.

Hematopietik kök hücre; Kemik iliği, periferik kan ve kordon kanından elde edilebilen, diğer kök hücreler gibi kendini yenileme ve farklılaşma yeteneğine sahip hücrelerdir. Buldukları ortamda sayıları azdır. Kemik iliğinde 10.000-15.000 hücreden biri HKH'dir. Dolayan kanda bu oran 1:100.000'dir. HKH'lerin tanınması; yıllarca CD34 insan HKH ve bunun daha olgun bazı hücreleri için bir yüzey işaretleyicisi olarak kullanıldı. Ancak son yıllarda hem fare hem de insanda HKH'lerin CD34+ ve CD34- alt gruplar içerdiği gösterildi. CD34'ün bir kök hücre aktivasyon belirleyicisi olduğu CD34-kök hücrelerin CD34+ olanlardan daha primitif oldukları ileri sürüldü. CD133 insan HKH'lerinde eksprese edilen bir diğer yüzey işaretleyicisidir, CD34 negatif alt gruplarında ve değişen miktarlarda CD34+ hücrelerde bulunur. Hematopietik potansiyel taşıyan kök hücrelerin pürifikasyonunda kullanılan diğer önemli belirleyiciler "Vasküler endotelial Growth Factor Receptor-2 (VEGF R-2)" veya "Kinase insent domain receptor (KDR)", CD90 (Thy-1), CD-117 (c-Kit), CD164, CxC-Chemokin receptor 4 (CxCR-4). Pglycoprotein, Rhodamine 123, Hoechst 33342, "Stem cell antigen (Sca-1)", AA4, CD45, "Bcrp1/ATP binding casette (ABC)G2" dir.

Mezenkimal kök hücreler (MKH) ve bunların öncül hücreleri olan "Multipotent adult progenitor hücreler" (MAPC) kemik iliği hücrelerinin CD45 negatif kısmında yer alırlar. Bu hücreler CD133 pozitiflerdir. MKH, MAPC ve HKH dışında endotelial, nöral ve adale kök hücreleri de CD133 ekspres ederler. Progenitor hücrelerin bir türü akım sitometrisi (Flow cytometry) ile Hoechst 23342 adı verilen ve DNA'ya bağlanan floresan boya muamelesi sonrası ayrılan "side population" (SP hücreleri) da bulunur. Bu SP hücreleri hem HKH'leri hem de diğer progenitor hücreleri (örneğin adale progenitorleri) içerir. SP hücreleri kemik iliğinde, kordon kanında, fetal karaciğerde, adalede bulunur. Bunlar Bcrp1/ABC G2 ekspres ederler.

Günümüzde kordon kanı nakli ile tedavi edilebilen hastalıklardan bazıları şunlardır:

Akut ve kronik lösemiler, Lenfomalar, Multiple myeloma, Myelodisplastik sendromlar, Aplastik anemiler, Fankoni Anemisi, Orak hücreli anemi, Talasemi, Amegakaryositik trombositopeni, bazı bağışıklık yetmezlikleri, çeşitli genetik hastalıklar, meme kanseri, nöroblastom, renal hücre karsinomudur.

### **Kök hücre plastisitesi kavramı**

Bir kök hücrenin veya daha diferansiyel hücrelerin "lineage" değiştirmesi için başlıca 4 alternatif yol mevcuttur (214).

1) "Transdetermination"; Bazı hücre dizilerini (lineage) oluşturmaya programlanmış olan kök hücre bir diğer kök hücreye değişir ve bu prekürsör hücrelerin hücre tiplerini meydana getirir.

2) Transdiferansiyasyon; Bu olayda farklılaşmış bir hücre bir diğer farklılaşmış hücrenin fenotipini kazanır.

3) Dediferansiyasyon; Bir progenitör veya prekürsör hücrenin dediferansiyasyonu; bunu takiben bir diğer hücre dizine farklılaşmasıdır.

4) Hücre füzyonu; Kök hücre veya daha olgun hücrelerin yönlendirilmiş hücre dizileriyle füzyonu, yeni yönlendirilmiş hücre dizilerinin oluşumuna yol açar. Örneğin; kemik iliği ve karaciğer hücreleri arasındaki füzyon farede hepatositleri oluşturabilir (215,216).

Ancak pankreatik endokrin ve glomerul mezangial hücrelerinde yapılan çalışmalarda hücre füzyonunun öneminin olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda kemik iliği HKH'lerinin füzyon olmadan pankreas endokrin hücrelerine ve glomeruler mezangial hücrelere değiştiği in vivo gösterilmiştir(217,218).

HKH nöral hücrelere farklılaşabilir. Çalışmalarda neonatal ve erişkin fare ve sıçanlara kemik iliği kök hücre transplantasyonu yapıldıktan sonra bu hücrelerin beyine göç ettikleri ve nöral hücrelere farklılaştıkları gösterilmiştir. Bu hücreler korteks, hipokampus, talamus, beyin sapı ve serebellum gibi beyin birçok bölgesinde bulunmuştur. Aynı zamanda bu hücreler nöronal, mikroglial veya astroglial hücrelere özgül işaretleyicileri de taşırlar (219,220,221,222).

Mezey ve arkadaşları ise lösemi veya immün yetmezlik nedeniyle erkek donörden kemik iliği transplantasyonu yapılan kadın hastaların beyinlerinde donör Y-kromozomunun oluştuğunu immünohistokimyasal veya FISH yöntemi ile gösterdiler. Beyindeki bu hücrelerin çoğunun nöronal hücreler olmadığı (örn; endotelial ve dolaşan hematopoietik hücreler), ancak donör kaynaklı hücrelerin ufak bir kısmının oligodendrositleri, astrositleri, mikroglia, meningeal ve ependimal hücreleri içermekte olduğu gözlenmiştir (222).

Diğer çalışmalarda da donör HKH'lerin beyinde dağılımının tesadüfi olmadığı, bu hücrelerin beyinde hasarlanmış bölgeye gittikleri ileri sürüldü. Bunu kanıtlamak ve kemik iliğinden kaynaklanan hücrelerin nörolojik hastalıklarda (multipl skleroz,



Parkinson hastalığı, Spinal kord hasarı gibi) kullanılmasını sağlamak üzere in vivo hayvan çalışmaları devam etmektedir.

Aynı zamanda insan, fare ve sıçanda kemik iliği mononükleer hücrelerin alt gruplarını oluşturan MKH ve MAPC'lerin nöronları, oligodendrositleri ve astrositleri oluşturabildiği in vitro gösterilmiştir (222).

Kordon kanı kök hücrelerinin diğer kök hücre tiplerine göre kullanılmasındaki avantajları; Kordon kanı elde edilmesi, kemik iliği elde etmede olduğu gibi cerrahi işlem gerektirmez yani daha kolay ve ucuzdur. Kordon kanı alımı sırasında anne veya bebek açısından hem risk taşımaz hem de rahatsızlık vermesi söz konusu değildir. Radyasyon, kimyasallar ve enfeksiyonlar gibi dış etkenler nedeniyle ister istemez zarar gören kemik iliği veya periferik kandaki kök hücrelerinin aksine kordon kanı kök hücreleri bu zararlı etmenlerle karşılaşmamıştır yani daha genç ve sağlıklıdır. Kordon kanı kök hücrelerinin gerekli durumlarda çoğaltılmaları kemik iliği kök hücrelerine göre daha hızlıdır. Kordon kanı naklinde aile içi doku uyumu daha fazladır. Kordon kanı kök hücrelerinin bağışıklık sistemi henüz tam gelişmediğinden tam bir uyum olmasa da kordon kanı naklinde başarı sağlanabilir. Bu nedenle kordon kanı, alınan bebeğin kendisi için ihtiyaç olmasa bile anne, baba veya kardeşlerinden biri için kullanılabilir. Potensiyel verici havuzu geniştir. İhtiyaç duyulduğunda erişimi hızlıdır. Çünkü kordon kanı alındıktan hemen sonra gerekli testler yapılarak kullanıma hazır olarak saklanır. Virüs taşıma ihtimali düşüktür. Greft versus host hastalığı gelişme riski diğer kök hücre gruplarına göre daha düşüktür.

Kordon kullanımının dezavantajları; diğer kök hücre kaynaklarıyla yapılan çalışmalara nisbeten kordon kanı ile tedavi yeni bir metoddur ve henüz deneme aşamasındadır. Kordon kanı kök hücreleri ileri yaşlarda ortaya çıkabilecek bazı genetik hastalıkları veya doğum kusurlarını taşıyabilir. Bu riski taşıyan kök hücreler başka bir hastaya aktarıldığında problemlerle karşılaşılabilir. Bu durumu engellemek için kordon kanı saklayan kuruluşlar kanı alınan bebeğin sağlığını uzun süre takip

edebilirler ancak bu işleyiş kişisel hakların korunması açısından endişe vericidir. Çözüm olarak bazı kurumlar kanın alınmasından önce verici aile tarafından detaylı ve aile geçmişi de kapsayan bir form doldurulmasını istemektedirler. Kordon kanı aktarımı yapılacak hastanın ağırlığı, yaşı veya hastalık seviyesine göre ihtiyaç duyulan kök hücre miktarı değişmektedir. Kordon kanı alıcı hastanın durumuna nispeten daha az kök hücre içerebilir ve bu da aktarımın uzun dönemde başarılı olup olmayacağını belirsizleştirir.

Kordon kanı aktarımı sonrasında kök hücrelerin faaliyete geçmesi, kemik iliği veya periferik kan kök hücrelerine göre daha yavaştır. Bu sürecin uzun olması hastaların enfeksiyon kapma olasılığını artırır. Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda ölüme neden olan enfeksiyonlara yakalanma olasılığı, diğer kök hücre tipleriyle tedavi edilen hastalara oranla farklı görülmemiştir. Bir başka konu da kordon kanı kök hücrelerinin ne kadar uzun süre saklanabileceğinin henüz kesinlik kazanmamış olmasıdır. Son olarak kordon kanı saklanabilmesi için Kordon Kanı Bankalarına ücret ödenmesi gerektiğinden bu yolla tedavilerin toplumun tüm kesimlerine ulaşması zaman alabilir (223).

Günümüzde araştırmacılar organ naklinin yerini alabilecek ve organ nakli olanağı olmayan hastalar için kullanılacak kök hücre tedavisi ile ilgili çalışmalar yapmaktadırlar. Dolayısıyla, kök hücre tedavileri henüz araştırma safhasındadır. Ancak, kalp kasının yenilenmesi, diyabet, romatizma grubundaki hastalıklar, sinir sistemi hastalıkları, sinir sistemi ve omurilik yaralanmaları, karaciğer hasarları gibi pek çok konuda umut vaat eden çalışmalar hızla devam etmektedir. Klinik çalışmalarda, ortopedik kusurlar, impotans gibi bazı ürolojik rahatsızlıklar ve deri hastalıklarında kök hücre tedavisi diğer rahatsızlıklara göre daha fazla yol almıştır. Ancak, kök hücre tedavisi omurilik yaralanmalarını da içermek üzere henüz kuramsal temellidir ve pratikte üzerinde çalışmalar halen devam etmektedir.

---

**Tablo XXV: Tedavide kök hücresi kullanılan hastalıklar**

---

**Kanser hastalıkları:**

- Akut Lenfoblastik Lösemi (ALL)
- Akut Miyeloid Lösemi (AML)
- Burkitt Lenfoma
- Kronik Miyeloid Lösemi (KML)
- Kronik Lenfositik Lösemi (KLL)
- Liposarkom
- Miyelodisplastik sendrom (MDS)
- Refractory anemia with excess blasts in transformation (RAEB-t)
- Nöroblastom
- Hodgkin ve Non-Hodgkin Lenfoma
- Retinoblastoma

**Bağışıklık yetersizlikleri :**

**Kemik İliği Hastalıkları:**

- |   |                         |
|---|-------------------------|
| · Kronik Granülomatöz Hastalık          | Şiddetli Aplastik Anemi |
| · Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik(CVID) | Diamond Blackfan Anemi  |
| · Omenn's syndrome                      | Diskeratozis Konenita   |
| · Kombine İmmün Yetmezlik               | Fanconi Anemi           |
| · Retiküler Disgenesis                  | Miyelofibrozis          |
| · Timus Displazisi                      |                         |
| · Wiskott-Aldrich syndrome              |                         |
| · X'e bağlı Lenfoproliferatif Hastalık  |                         |

**Kalıtsal kan hastalıkları :**

- Amegakaryositik Trombositopeni (AMT)
- Evans sendromu
- Kostmann sendromu
- Orak Hücreli Anemi
- $\beta$ -Talasemi (Cooley's anemia)

**Doğuştan gelen metabolik düzensizlikler :**

---

- Adrenolökodistrofi
- Hunter sendromu
- Hurler sendromu
- Krabbe Hastalığı (globoid cell leukodystrophy)
- Langerhans hücreli histiositozis
- Lesch-Nyhan sendromu
- Osteopetrosis
- Tay-Sachs hastalığı
- Diabetes

---

Nörobilimde kök hücrelerin kullanımına ilişkin çalışmalar gözden geçirildiğinde, SSS hastalıklarında son zamanlarda gelişen kök hücre kültürleri ve onların potansiyel rolünün araştırılması büyük ilgi uyandırmaktadır (224,225,226,227).

Omurilik yaralanması modellerinde, kök hücrelerin hem nöronal hem de glial fenotiplere farklılaşarak ve önemli mesafelere göç edip yaşadığı gösterilmiştir (228,229). İnsan teratokarsinomlarından köken alan (NT2N) bir hücre grubu nöral progenitör hücrelerin homojen yığılımına sahiptir (231).

Retinoik asitle invitro tedavi sonrası bu hücre dizilerinin kökeni postmitotik nöronal hücreleri içeren nöronal geçmişi ile sınırlıdır. Bu hücreler nörokimyasal, nörofizyolojik ve morfolojik özellikleri taşırlar (232,233,234,235).

Bu sonuçlar stroke (236,237,238), Huntington hastalığı (239), Parkinson hastalığı (240) ve travmatik beyin hasarı (241) gibi nörolojik durumlarda deneysel hayvan modellerinde NT2N hücrelerin implante edilmesine yol açmıştır.

Nöral kök hücreler; Parkinson hastalığı, Huntington hastalığı, iskemik beyin hasarı ve multipl sklerozda deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır (242).

Deneysel serebral infarkt oluşturulan ratlarda, nöral kök hücreler ratlarda çalışılmış, deneysel serebral iskemi sonrası VEGF sekrete eden nöral kök hücreler transplante edilmiş, transplantasyondan 12 hafta sonra nöral hücrelere diferansiye olduğu görülmüş ve nörolojik tabloda gerileme izlenmiştir (243).

Amyotrofik lateral sklerozda, kök hücre tedavi çalışmalarında kullanılmıştır (244).

Huntington hastalığı ile ilgili hayvansal çalışmalarda insan kök hücre transplantasyonu ile tedavi sonucu motor fonksiyonda iyileşme izlenmiştir (245,246).

Deneysel omurilik yaralanmalarında kök hücrelerin uygulama şekli 3 yolla olmaktadır. Birincisi, lomber ponksiyonla intratekal olarak vermek (247), ikincisi intravenöz yolla (248) ve üçüncü olarak direk lezyonlu bölgeye implante ederek intraspinal yolla (249) gerçekleştirilmektedir.

Deneysel omurilik yaralanmalarında kök hücrelerin kullanımıyla ilgili çalışmalarda, kök hücre biyolojisindeki son ilerlemeler ışığında, hasarlı SSS'nin rejenerasyonu için yeni terapötik yaklaşımlar hedefleyen anlayışlara yol açmıştır. Bu konuda tedavi prensipleri iki alt gruba ayrılır:

1- Endojen nöral kök hücrelerin aktivasyonu

2- Hücre transplantasyon yaklaşımları

Her iki yaklaşımda da nöral kök hücrelerin korunma, aktivasyon, farklılaşma mekanizmaları ve farklılaşmış hücrelerin migrasyon, hayatta kalma, fonksiyonel matürasyonunu içeren sonraki aşamaları anlamak büyük önem taşır (29).

Spinal kord hasarlandığında, Nestin ara filamanı pozitif olan ve lezyonlu bölge dolaylarında santral kanala yakın hücrelerden türeyen farklılaşmamış hücreler çoğalırlar, lezyonlu bölge çevresine göç ederler ve astroglialara farklılaşırlar. Spinal kordda endojen nöral kök hücreler varolmasına ve bir spinal kord yaralanmasından

sonra çoğalmalarına rağmen, hemen hemen hepsi nöronlara veya oligodendroglialara değil astroglialara farklılaşırlar. Dahası, yaralanmanın üstünden zaman geçtikçe astroglialar kistlerin etrafında glial skar oluşturduğundan yaralanmayla hasarlanan aksonların rejenerasyonu, yaralanma bölgesini geçen aksonların uzanımı ve demiyelinize nöral aksonların remiyelinizasyonu imkansız görünmektedir. Bununla birlikte, erişkin memeli spinal kordundan türeyen nöral kök/progenitör hücrelerin hipokampusa transplante edildiklerinde nörogenezise yol açtıkları gösterilmiştir (250).

Mc Donalds ve arkadaşları, travmatik yaralanmadan 9 gün sonra, nöral farklılaşmış fare embriyojenik kök hücrelerinin sıçan omuriliğine transplantasyonu sonrasında transplant kaynaklı hücrelerin hayatta kaldığını ve bu hücrelerin astrosit, oligodendrosit ve nöronlara farklılaşması ile sonuçlandığını göstermişlerdir (80). Bu hücreler, lezyon kenarından 8 mm uzağa migrasyon göstermişlerdir. Bunun yanında, yürüyüş analizleri ile transplantasyon uygulanan sıçanların arka bacakları ile ağırlıklarını taşıyabildikleri, kontrol sıçanlarda arka bacaklarda bunun olmadığı gösterilmiştir.

Sıçanlarda spinal kord yaralanmasının ardından hasarlı spinal kord çevresindeki değişikliklerle ilgili bir çalışmada, çeşitli proinflamatuvar sitokinlerin (Tümör nekrozis faktör TNF alfa, İnterlökin 1 alfa, İnterlökin 1 beta ve İnterlökin 6) mRNA'larının ekspresyonu, yaralanamadan 6-12 saat sonra artar, 4 gün içinde pik yapar (251). Bu proinflamatuvar sitokinlerin, nöronların ve oligodendrositlerin apoptozunu indüklemeye gibi sitotoksik sergiledikleri bilinmektedir; ancak İnterlökin 6, yaralanmanın akut fazında spinal kordda ekspresyonu artar. Bu da, endojen nöral kök hücreler üzerinde rol oynayarak bu hücrelerin astroglialara farklılaşmasını kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Hasarlı spinal kordda artan reaktif astrogliaların, aksonal gelişme inhibitörleri olan kondroidin sülfat proteoglikanlarını eksprese ettiği ve aksonal rejenerasyonu inhibe ettiği bilinmektedir (252). Yaralanmanın akut fazında, nörotoksik veya astrosit indüklemeyi etkileyen birçok proinflamatuvar sitokinlerin

seviyeleri yükselir ve ardından 24 saat içinde keskin bir şekilde düşer (251). Bu durum, akut fazın mikroçevresinin nakledilen hücrelerin hayatta kalması ve/veya nöronal farklılaşması için uygun olmadığını gösterir (253,254). Ancak daha sonraları, mikroçevrenin nöronal farklılaşma ve hayatta kalma için daha tercih edilebilir duruma değiştiği gözlenir. Aslında, in vitro çoğaltılmış nöral kök/prekürsör hücrelerin transplantasyonu, yaralanmadan sonra birkaç gün içinde değil 9 gün sonra gerçekleştirildiğinde, mitojenik nörogenesis ile sonuçlanır (255). Spinal kord yaralanmasının kronik fazı, nörogenesis için kolaylaştırıcı faktör eksikliğinden veya aksonal rejenerasyonu inhibe edebilecek geniş kistlerin ve glial skarların gelişmesinden dolayı terapötik transplantasyon için uygun değildir (253,254).

İnsan umbilikal kordon kanı (HUCB) lökositleri, hematopoietik CD34+ kök hücrelerde zenginleştirilen heterojen bir hücre popülasyonudur (256,257), ancak pluripotent kök hücre özelliklerine sahip küçük bir CD34- mononükleer insan umbilikal kord kanı hücre popülasyonu da tanımlanmıştır (258,259,260). HUCB ilginç özelliklerinden biri, İV infüzyondan sonra hasarlı bölgeleri hedefleyip burlara göç etme yeteneklerinin bildirilmesidir (261,262). Bu hücreler hazır olarak ulaşılabilir, genişletilebilir olduğundan ve venöz dolaşıma girdiğinde sinir dokusunun hasarlı bölgelerini hedefleyebilir olduğundan, transplantasyon için önemli bir hücre kaynağıdır (263).

HUCB hücrelerinin direk implante edilmesi karşılaşma bölgesinde yüksek yoğunlukta terapötik hücre üretirken, bu hücreler transplant bölgesinden daha uzağa göç etmezler. Spinal korda yerleşen HUCB hücrelerinin hepsi astrositik veya nöronal tipe farklılaşmaz. İlave olarak, hasarlı spinal kord bölgesinde 1000'den daha az HUCB hücrelerinin varlığı, motor fonksiyonların yerine gelmesi için yeterlidir. HUCB hücreleri tarafından trofik faktörlerin serbestleştirilmesi, hasarlı dokuyu desteklemek için yeterli olabilir (263).

Saporta ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda anevrizma klip yöntemiyle deneysel omurilik yaralanması oluşturmuş. 5 gruba ayırdığı sıçanları, bir grupta sadece laminektomi oluşturmuş, bir grupta laminektomi ve işaretli umbilikal kord kanı infüzyonu (kuyruk veni yoluyla intravenöz) diğer gruplara omurilik hasarından 1 gün ve 5 gün sonra olmak üzere ayırmış ve diğer gruba sadece omurilik yaralanması oluşturmuş. Sıçanların nörolojik durumları BBB skalası ile değerlendirilmiş. 3 haftalık nörolojik tablalarında 5. günde kordon kanı infüzyonu verilen grupta bile iyileşme gözlemlenmiş. Omurilikten aldığı kesitleri Pontamin Sky Blue ile boyayarak İmmünfloresan mikroskopide incelemiş ve hasarlı omurilik bölgesinde HUCB hücrelerinin var olduğunu hasar olmayan yerlerde bulunmadığını göstermiştir (263).

Kuh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, alt torakal omurlar seviyesinde ağırlık düşürme yöntemiyle deneysel spinal kord hasarı oluşturdukları sıçanlara, hasar oluştuktan 7 gün sonra, bir grubuna insan umbilikal kord kanı, diğer gruba umbilikal kord kanı ve Beyin kaynaklı nöral faktör (BDNF) vermişler. 8 hafta boyunca sıçanların nörolojik durumu BBB skorlaması ile takip edilmiş. Kordon kanı ve BDNF birlikte verilen grupta, iyileşmenin daha belirgin olduğu gözlenmiş. Çalışma sonunda kordon kanı hücrelerinin nöral hücrelere diferansiyasyonu Bromodeoksiüridin ve Nestin ile çift immün floresan boyama (astrositler ve nöral hücre belirleyicisi olarak GFAP Glial fibriler asit protein ve monoklonal antikor ) kullanılarak hasarlı alanda yeni nöronal hücreler gösterilmiştir. Aksonlar florogold yöntemiyle işaretlenerek Metamorf bilgisayar sistemiyle görüntü alınmıştır. Florogold işaretli hücreler özellikle BDNF ile beraber umbilikal kordon kanı verilen grupta sadece umbilikal kordon kanı verilen gruba göre daha belirgin olarak saptanmış. Bu çalışmayla kök hücre tedavisinde hücresel diferansiyasyon ve aksonal rejenerasyon için ilave nörotrofik faktörlerin iyileşmeye katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (264). HUCB hücreleri pluripotent özelliğe sahip ve çeşitli hücre tiplerine dönüşebilirler ve umbilikal kordon kanı kök hücreleri kemik iliği nöral kök hücrelerine göre daha pluripotent özelliğe sahiptir. Kolay elde edilebilirler. Nöral kök hücrelerin hasarlı



lezyon alanına transplante edildiğinde oligodendrosit ve astrositlere diferansiye olabildiği ve aksonlarda rejenerasyon ile hasarlı aksonlarda remiyelinizasyon yapabildiği belirtilmektedir (265,266,267,268). Nöral kök hücrelerin hematolojik ve kemik iliği kök hücrelerine diferansiye olabildiği de belirtilmektedir. Ayrıca HUCB hücrelerinin kas, miyokard, iskelet hücreleri, hepatosit, oligosit ve nöronlara da diferansiye olabildiği gösterilmiştir (258,269,270). HUCBS ve kemik iliği kültürlerinde hücre diferansiyasyonunu gösteren pozitif belirleyiciler NeuN, nörofilaman, monoklonal antikorlar, GFAP, betatubulin III ve Gal-C 'dir (258, 260,269). Nöral kök hücreler, hem hasarlı nöral dokuyu onarabilir hem de NGF, BDNF, glial hücre kaynaklı büyüme faktörü (GDNF), FGF gibi sinir büyüme faktörleri salgırlar. Bu nörotrofik faktörler (NF-3, BDNF, FGF ve NGF), hasar gören aksonlarda rejenerasyona ve nörolojik fonksiyonların düzelmesine yardımcı olurlar (271,272,273,274).

Li ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, sıçanlarda omurilikte yarı kesi oluşturarak bir gruba Bromodeoksiüridin (BrdU) ile işaretli CD34+ insan umbilikal kord kanı hücreleri hasarlı bölgeye intraspinal olarak transplante etmişler, diğer gruba kontrol amaçlı olarak laminektomi ve kord hasarı oluşturmuşlar ve salin tamponlu fosfat verilmiş. Dört haftalık takip periyodu boyunca, CD34+ kord kanı hücreleri verilen grupta verilmeyen gruba göre nörolojik muayenelerinde (Tarlov skoru ile) istatistiksel olarak anlamlı iyileşme gözlemişler ve çalışma sonunuda hasarlı bölgede ve mikro çevresinde immünohistokimyasal olarak BrdU ile işaretli CD34+ hücrelerin % 7'sinde GFAP ve % 2'sinde nöral nükleer spesifik protein saptamışlardır (275).

Zhao ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada, sıçanlarda omurilik yarı kesi oluşturarak hasarlı bölgeye intraspinal olarak bir grupta BrdU ile işaretli CD34+ insan umbilikal kordon kanı hücreleri diğer gruplara ise birinde kemik iliği stromal hücreler diğer gruba ise salinle tampon fosfat solüsyonu verilmiş. Dört haftalık çalışma süresince kordon kanı ve stromal hücre verilen gruplarda diğer gruba göre anlamlı nörolojik düzelme (Tarlov skoru) izlenmiş. Umbilikal kord kanı verilen

grupta transplantasyon sonrası ilk iki haftada fonksiyonel skorundaki iyileşme, kemik iliği stromal hücre verilen gruba göre anlamlı olarak daha belirgin saptanmış. Histolojik değerlendirmelerde CD34+ umbilikal kord kanı hücreleri ve kemik iliği stromal hücrelerin lezyon sahalarına göç ettiği gözlenmiş ve buradaki hücrelerin nöral nükleer antijen ve GFAP eksprese ettiği izlenmiştir (249).

Biz de çalışmamızda, alt torakal bölgede omurilik yarı kesisi oluşturduğumuz sıçanların lezyon sahasına insan umbilikal kord kanını direk implante ettik. Çalışma boyunca elde edilen veriler ile sakrifiye edilmeden önce kaydedilen refleks verileri HUCBs hücreleri verilen gruplar ile verilmeyen grup arasında karşılaştırıldı. Sekiz haftalık çalışma boyunca nörolojik muayene skorları, rotarod testi ve eğik düzlem testi sonuçları ile siyatik sinir-ön kök refleks çalışması sonuçları HUCBs hücreleri verilen gruplarda verilmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

## SONUÇLAR

Sıçanlarda deneysel torakal spinal kord yarı kesisi oluşturarak yaptığımız çalışmada; gruplar arasında nörolojik muayene, rotarod ve eğik düzlem testi performans değerleri ve refleks çalışması ile elde ettiğimiz veriler karşılaştırıldı.

Sıçanların çalışma başlangıcı ve sonundaki nörolojik muayeneleri karşılaştırıldığında; kordon kanı transplante edilen gruplarda edilmeyen gruba göre başlangıçta plejik olan sıçanlarda, çalışma sonunda nörolojik tam iyileşme dikkati çekmektedir.

Rotarod performans değerlerinde, çalışma başlangıcında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunurken, çalışma sonunda sadece laminektomi grubuyla, laminektomi ve omurilik yarı kesi oluşturulan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur.

Eğik düzlem testi sonuçlarına baktığımızda tüm gruplar arasındaki farklılık, çalışma başlangıcında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı iken çalışma sonunda sadece laminektomi ile laminektomi ve yarı kesi oluşturulan grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmuştur. Hem rotarod testi hem de eğik düzlem çalışmaları sonuçları değerlendirmelerinde kord kesisi grubu ile kord kesisi + kordon kanı transplantı grubu arasında belirgin fark varken laminektomi grubu ile kord kesisi+kord kanı transplante edilen grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Yakın geçmişe baktığımızda tamiri imkansız gibi görünen omurilik hasarının günümüzde yapılan deneysel çalışmalarla tamirinin mümkün olabileceği görünmektedir. Önceden beri inanılan SSS nöronlarının rejenerasyon yapma yeteneklerinin olmadığı görüşü, yanlış bir düşüncedir. Gerçekte SSS, aksonal dallanma ve sinaptik reorganizasyon şeklinde önemli bir oranda plastisite gösterir. Omurilikte hasar sonrası aksonlar yoğun rejenerasyona gider.

Günümüze dek klinik ve deneysel literatürlerde omurilik rejenerasyonuna dair çok sayıda iddia olmasına rağmen, memeli omurilik aksonlarında majör fonksiyonel rejenerasyon elde edilememiştir. Son zamanlarda, erişkin omuriliğine göç edebilen ve çoğalabilen kök hücrelerin varlığı ve kök hücre transplantasyonu, köprüleme ve ekzojen büyüme faktörlerin uygulanması gibi aksonal rejenerasyonu kolaylaştıran yöntemlerin, omurilik yaralanması sonrasında belirgin ve anlamlı nörolojik iyileşmeler sağlayabilecekleri düşünülmektedir. Halen devam etmekte olan çalışmaların sonuçları, insan omurilik yaralanmasında etkin rejeneratif tedavilerin bulunma olasılığı artık bir spekülasyon değil gerçekçi bir hedef olmaktadır.

## **SUMMARY**

### **THERAPEUTIC EVALUATION OF HUMAN UMBILICAL CORD BLOOD TRANSPLANTATION ON THE EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY IN RATS**

Eventhough there have been many efforts to recover neuronal dysfunction from spinal cord injuries, there are some limitations in the treatment of spinal cord injuries. Different kinds of treatment approaches are underevaluation including preventive and regenerative therapies. The stem cells obtained from different sources including bone marrow, peripheral blood, umbilical cord blood or embryonic tissues have been noted for its pluripotency to differentiate into various cell types. The human umbilical cord blood cells (HUCBs) are more pluripotent and genetically flexible than others. The HUCBs could be more frequently used for spinal cord injury treatment in the future.

In this study we have performed experimental spinal cord hemisection in thoracal spinal cord in rats. The rats were divided into four groups (n=6 each). One group of rats (GROUP 1) underwent only thoracal laminectomy. One group of rats (GROUP 2) underwent laminectomy and right hemisection in toracal spinal cord. One group of hemisectioned rats (GROUP 3) have been implanted fresh obtained human umbilical cord blood on day 0 post injury and the other (GROUP 4) hemisectioned rat group have received cord blood on days 4 post injury. The rats have been evaluated clinically for their motor functions with; neurologic examination, rotarod performance and inclined plane tests. They have also underwent reflex evaluation before spinal cord removal for histopathological analysis. Our results demonstrated both Clinical and neurophysiological improvement in human umbilical cord blood transplanted groups compared to the nontransplanted group.

Human umbilical cord blood is stem cell rich, easily available, and have less risk to induce graft versus host reaction in recipient. Human umbilical cord blood serum have also noted to have stem cell promoting factors, that's why we did not

make cell isolation in our study. We also used fresh obtained cord blood since storage of cord blood has been reported to have some negative effects on stem cells. Human umbilical cord blood may have a potential therapeutic use for spinal cord injury. Extensive experimental and clinical studies on voluntary subjects should be carried on to outline the exact pros and cons of use of human umbilical cord blood.

## ÖZET

Spinal kord travmalarında nörolojik fonksiyonlarda iyileşmeye yönelik pek çok çaba sarf edilmesine rağmen spinal kord travmalarının tedavisinde birtakım sınırlamalar vardır. Omurilik hasarını önleyici ve rejenerasyon yapıcı tedavileri içeren farklı tiplerde tedavi yaklaşımları bildirilmiştir. Kemik iliği, periferik kan, umbilikal kordon kanı ve embriyonik dokuları içeren farklı kaynaklardan elde edilmiş kök hücreler pluripotent özellikte olup çeşitli hücrelere farklılaştığı bilinmektedir. İnsan umbilikal kordon kanı diğer kaynaklara göre daha fazla pluripotent hücre içermektedir, immün reaksiyon oluşturma riski daha azdır. İnsan umbilikal kordon kanı hücrelerinin, gelecekte spinal kord yaralanmalarının tedavisinde kullanımı daha yaygın olabilecektir.

Bu çalışmada, sıçanlarda, torakal spinal kordda deneysel omurilik yarı kesisi oluşturduk. Bu çalışmada sıçanlar dört gruba ayrıldı (her grup n=6). Sıçanların bir grubunda sadece torakal laminektomi oluşturuldu (1. grup). Bir gruba laminektomi ve torakal spinal korda omurilik sağ yarı kesisi oluşturuldu (2. grup). Yarı kesi oluşturulmuş bir gruptaki sıçanlara yeni elde edilmiş insan umbilikal kordon kanı yaralanma sonrası 0. günde implante edildi (3. grup) ve diğer bir gruptaki yarı kesi oluşturulmuş sıçan grubuna yaralanma sonrası 4. günde insan umbilikal kordon kanı implante edildi (4. grup). Sıçanların motor fonksiyonları nörolojik muayene, rotarod performans testi ve eğik düzlem testleri ile klinik olarak değerlendirildi. Histopatolojik inceleme için spinal kord çıkarılmadan önce sıçanların refleks değerlendirmeleri yapıldı. Sonuçlarımız, insan umbilikal kordon kanı transplante edilen gruplarda transplantasyon yapılmayan grupla karşılaştırıldığında hem klinik hem de nörofizyolojik düzelme göstermiştir.

İnsan kordon kanı, kök hücreden zengindir, kolay elde edilebilir ve alıcıda graft versus host reaksiyon için daha az risk taşımaktadır. İnsan kordon kanı serumu kök hücre promotör faktörleri taşıdığı da bildirilmektedir, bundan dolayı çalışmamızda hücre ayrıştırması yapmadık. Kordon kanı saklanması kök hücreler üzerinde bazı olumsuz etkiler yapmasının rapor edilmesinden dolayı yeni temin edilmiş kordon kanı kullandık. İnsan umbilikal kordon kanı, spinal kord

yaralanması tedavilerinde potansiyel bir tedavi seçeneği olabilir. Gönüllü hastalar üzerinde yoğun deneysel ve klinik çalışmalar, umbilikal kordon kanı kullanımının artı ve eksilerini tamamen göstermek için devam ettirilmelidir.



## KAYNAKLAR

- 1- Lyng E: Trends and perspectives in mortality. In: Demographic trends in the European Region. WHO Regional Publications, 1984
- 2- Stripling TE. The cost of economic consequences of traumatic spinal cord injury. Paraplegia News 1990: 50-54
- 3- Zileli M. Omurilik yaralanmasında epidemiyoloji ve prognoz. In: Zileli M,Ozer AF.eds. Omurilik ve omurga cerrahisi. 2002: 885-892
- 4- Breasted JH. The Edwin Smith Surgical Papyrus: Published in facsimile and hieroglyphic transliteration with translation and commentary in two volumes. University of Chicago Press, Chicago, Illinois 1930, pp 324–327. (Edwin Smith Papirüsü)
- 5- De La Torre JC. Spinal cord injury models. Prog Neurobiolog 1984: 290-344
- 6- Freeman LW, Wright TW. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. Annals of Surgery 1953: 137
- 7- Khan M, Griebel R, Rozdilsky B et al.: Hemorrhagic changes in experimental spinal cord injury models. Can J Neurol Sci 1985: 12: 259-262
- 8- Marketos SG, Skiadas P: Hippocrates. Spine 24 1999: 1381-1391
- 9- Sonntag VKH: History of degenerative and traumatic disease of the spine. In a history neurosurgery. Greenblatt SH (ed). American Association of Neurological Surgeons. Washington 1997: 355-371
- 10- Black P, Markowitz RS, Cooper V: Models of spinal cord injury: Part 1. Static load technique. Neurosurgery 1986: 19: 752-762

- 11- Janssen L, Hansebout RR. Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments. *Spine* 1989; 14: 23-32
- 12- Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosur* 1991; 75: 15-26
- 13- Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. Preliminary report *JAMA* 1911; 57: 877-880
- 14- Collins WF. A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury. *Paraplegia* 1983; 21: 204-219
- 15- Faden AI. Need for standardization of animal models of spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992; 9: 169-172, 1992
- 16- Kirshblum S, Gonzalez P, Cuccurullo S, Luciano L. Epidemiology of spinal cord injury. In *Spinal Cord Injuries USA* 1998: 489-551
- 17- Hancı M, *Vertebromedullar Yaralanmaların Tarihçesi, Medulla Spinalis Yaralanmaları* Ed: Murat Hancı, Önder Aydingöz İstanbul. 2000:1-4
- 18- Karacan I, Koyuncu H, Pekel O, Sümbüloğlu G, Kimap M, Dursun H, Kalkan A, Cengiz A, Yalınkılıç A, Ünalın HI, Nas K, Orkun S, Tekeoğlu I: Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 2000; 38: 697-701
- 19- Schwab ME, Bartholdi D: Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996; 76: 319-370
- 20- Hughes T: *Neuropathology of the spinal cord.* Young RR, Woolsey RM, ed. *Diagnosis and Management of Disorders of the Spinal Cord.* Philadelphia: W B Saunders 1995: 49-675

- 21- Keene JS, Fischer Sp, Vanderbrry R. Significance of acute posttraumatic bony encroachment of neural canal. *Spine* 1984; 14: 799-802
- 22- Shingu H, Ohama M, Ikata T, Katoh S, Akatsu T. A nationwide epidemiologic survey of spinal cord injury in Japan from January 90 to December 1992. *Paraplegia* 1995; 33: 183-188
- 23- Çırak B, Ziegfeld S, Knight VM, Chang D, Avellino AM, Paidas CN. Spinal injuries in children. *J Pediatr Surg.* 2004 ; 39: 607-612
- 24- Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991; 37: 291-302
- 25- Tator CH: Spine-spinal cord relationship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg* 1991; 49: 479-494
- 26- Zileli M, Gülmen V. Deneysel omurilik yaralanması. In: Zileli M, Ozer AF (eds). *Omurilik ve omurga cerrahisi* 2002; 1: 951-956
- 27- Tarlov IM: Spinal cord compression. Mechanism of paralysis and treatment. Springfield III, Charles C Thomas, 1957.
- 28- Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, Anderson DK, Faden AI, Gruner JA, Holford TR, Hsu CY, Noble LJ, Nockels R, Perot PL, Salzman SK, Young W. MASCIS evaluation of open field locomotor scores: Effects of experience and teamwork on reliability. *Journal of Neurotrauma* 1996; 13: 343-359
- 29- Rivlin AS, Tator CH. Regional spinal cord blood flow in rats after severe cord trauma. *J Neurosurg* 1978; 49: 844-858
- 30- Okano H, Okada S, Nakamura M, Toyama Y. Neural stem cells and regeneration of injured spinal cord. *Kidney International* 2005; 68: 1927-1931

- 31- Cheng H, Cao Y, Olson L. Spinal cord repair in adult paraplegic rats: partial restoration of hind limb function. *Science* 1996; 273: 510-513
- 32- Zileli M, Dalbastı T, Övül İ. Deneysel omurilik yaralanmalarında naloxone'un etkisi – ön bildiri . *Ege Nörol.Bil. D* 1985; 2: 21-26
- 33- Oro J. Effect of altering core body temperature on somatosensory and motor evoked potentials in rats. *Spine* 1992; 17: 498-503
- 34- Anderson DK, Meaans ED, Waters TR, Green ES. Microvascular perfusion and metabolism in injured spinal cord after methylprednisolone treatment. *J Neurosurg* 1982; 56: 106-113
- 35- Popp AJ, Feustel P, Kimelberg HK in. Wilkins RH, Rengachary (ed).*Neurosurgery*. McGrawHill 1996: 2623-2637.
- 36- De Girolami U, Frosch MP, Richardson EP. Regional Neuropathology: Diseases of the spinal cord and vertebral column. Graham DI, Lantos PL ed. *Greenfield's Neuropathology & Edition London* 1997:1095-1121
- 37- Hardman JM. Cerebrospinal Trauma. Davis RL, Robertson DM, ed.*Textbook of Neuropathology*. Baltimore, William-Wilkins 1997: 1212-1215
- 38- Faden AI. Pharmacotherapy in spinal cord injury: A critical review of recent developments. *Clinical Neuropharmacology* 1984; 10: 193-204
- 39- Simpson RK, Hsu CY, Dimitrijevic MR. The experimental basis for early pharmacological intervention in spinal cord injury. *Paraplegia* 1991; 29:364-372
- 40- Tator CH. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. In: *Neurosurgery* (eds Wilkins R, Rengachary SS) New York, The Mc Graw-Hill 1996: 2847-2859

- 41- Amar AP, Lewy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999; 45:1027-1040
- 42- Tator CH. Biology of neurological recovery and functional restoration after spinal cord injury. *Neurosurgery* 1998; 42: 696-708
- 43- Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 1995; 5: 407-413
- 44- Blight AR. Delayed demyelination and macrophage invasion: a candidate for secondary cell damage in spinal cord injury. *Cent. Nerv. Syst Trauma* 1985; 2: 299-315
- 45- Fehlings MG, Lewicki M, Tator CH. The relationship between axon counts and neurological function after experimental spinal cord injury. (abstr) *J Neurotrauma* 1989; 6: 218
- 46- Koyanagi I, Tator CH, Theriault E. Silicon rubber microangiography of acute spinal cord injury in the rat. *Neurosurgery* 1993; 32: 260-268
- 47- Esiri MM. Histology. *Oppenheimier's Diagnostic Neuropathology, Practical Manual*. London 1996: 51-61
- 48- Hughes JT, Brownell. Aberrant nerve fibers within the spinal cord. *J Neurol. Neurosurg Psychiatry* 1963; 26: 528-534
- 49- Wallace MC, Tator CH, Lewis AJ. Chronic regenerative changes in the spinal cord injury after cord compression in injury in rats. *Sur. Neurol* 1987; 27:209-219
- 50- Jacobson M. *Developmental Neurobiology*, New York 1978.
- 51- Deniz E. Nöronal Plastisite ve Rejenerasyon. In: *Medulla Spinalis Yaralanmaları* Ed: Murat Hancı, Önder Aydingöz İstanbul 2000:143-150
- 52- Finger S. Brain damage and neuroplasticity: mechanisms of recovery or development? *Brain Res* 1985; 10: 177-186

- 53- Farmer SF. Plasticity of central motor pathways in children with hemiplegic cerebral palsy. *Neurology* 1991; 41: 1505-1510
- 54- Nirkko AC. Human cortical plasticity: Functional recovery with minor movements. *Neurology* 1997; 48: 1090-1093
- 55- Woods BT. Mirror movements after childhood hemiparesis. *Neurology* 1978; 28: 1152-1158
- 56- Purves D, Lichtman JW. *Principles of Neural Development*, Sunderland, MA. Sinauer Associates, 1985.
- 57- Martin ES. Regeneration of lesioned corticospinal tract fibers in the adult rat spinal cord under experimental conditions. *Spinal Cord* 1997; 35: 400-473
- 58- Tator CH, Kaptanoğlu E: Regeneration of the injured spinal cord. In: Zileli M, Ozer AF (eds) *Omurilik ve omurga Cerrahisi* 2002: 841-864
- 59- Khan T, Dautzvardis M, Sayers S. Carbon filament implants promotes axonal growth across the transected rat spinal cord. *Brain Res* 1991; 541:139-145
- 60- Mc Clellan AD. Spinal cord injury: Lessons from locomotor recovery and axonal regeneration in lower vertebrates. *The Neuroscientist* 1998; 4: 250-263
- 61- Björklund A. Regeneration of monoaminergic and cholinergic neurons in the mammalian central nervous system. *Physiological Reviews* 1979; 59: 62-100
- 62- Meiri KF. Growth-associated protein, GAP-43, a polypeptide that is induced when neurons extend axons, is a component of growth cones and corresponds to pp46, a major polypeptide of a subcellular fraction enriched in growth cones. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 3537-3541
- 63- Sehnali L. Axonal regeneration in the rat spinal cord produced by an antibody against myelin-associated neurite growth inhibitors. *Nature* 1990; 343: 269-272

- 64- Fehlings MG, Tator CH. The relationships among the severity of spinal cord injury, residual neurologic function, axon counts, and counts of retrogradely labeled neurons after experimental spinal cord injury. *Exp Neurol* 1995; 132: 220-228
- 65- Kojima A, Tator CH. Epidermal growth factor and fibroblast growth factor 2 cause proliferation of ependymal precursor cells in the adult rat spinal cord in vivo. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59: 687-697
- 66- Laywell ED, Dorries U, Bartsch U, Faissner A, Schachner M, Steindler DA. Enhanced expression of the developmentally regulated extracellular matrix molecule tenascin following adult brain injury. *Proc Natl Acad Sci* 1992; 89: 2634-2638
- 67- Bregman BS, Broude E, McAtee M, Kelley MS. Transplants and neurotrophic factors prevent atrophy of mature CNS neurons after spinal cord injury. *Exp Neurol* 1998; 149: 13-27
- 68- Richardson PM, Verge VMK. The induction of a regenerative propensity in sensory neurons following peripheral axonal injury. *J Neurocytol* 1986; 15: 585-594
- 69- Hughes JT. *Pathology of spinal cord*. Philadelphia, Lippincott, 1966
- 70- Bantlow CE, Heumann R, Schwab ME, Thoenen H. Cellular localization of nerve growth factor synthesis by in situ hybridization. *EMBO J* 1987; 6: 891-899
- 71- Acheson A, Barker PA, Anderson RF, Murphy RA. Detection of brain derived neurotrophic factor-like activity in fibroblasts and Schwann cells: Inhibition by antibodies to NGF. *Neuron* 1991; 7: 265-275
- 72- Rende M, Muir D, Ruoslahti E, Hagg T, Varon S, Manthorpe M. Immunolocalization of ciliary neurotrophic factor in adult rat sciatic nerve. *Glia* 1992; 5:25-32

- 73- Bunge MB, Holets VR, Bates ML, Clarke TS, Watson BT. Characterization of photochemically induced spinal cord injury in the rat by light and electron microscopy. *Exp Neurol* 1994; 127:76-93
- 74- Daniloff JK, Levi G, Grumet M, Reiger F, Edelman GM. Altered Expression of neuronal cell adhesion molecules induced by nerve injury and Repair. *J Cell Biol* 1986; 103: 929-945
- 75- Bunge RP. Expanding roles of Schwann cell. Ensheatment, myelination, tropism and regeneration. *Curr Opin Neurobiol* 1993; 3: 805-809
- 76- Farbman A. Olfactory neogenesis: Genetic or environmental control? *Trends Neurosci* 1990; 13: 362-365
- 77- Doucette R. Olfactor ensheating cells: potential for glial cell transplantation into areas of CNS injury. *Histol Histopathol* 1995; 10: 503-507
- 78- Devon R, Doucette R. Olfactory ensheating cells myelinate dorsal root ganglion neurites. *Brain Res* 1992; 589:175-179
- 79- Li Y, Field PM, Raissman G. Repair of adult rat corticospinal tract by transplants of olfactory ensheating cells. *Science* 1997; 277: 2000-2002
- 80- Ramon-Cueto A, Plant GW, Avila J, et al. Long-distance axonal regeneration in the transected adult rat spinal cord is promoted by olfactory ensheating glia transplants. *J Neurosci* 1998; 18: 3803-3815
- 81- Mc Donald JW, Liu XZ, Qu Y, et al. Transplanted stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nature Medicine* 1999; 5:1410-1412
- 82- Genç O, Demir Ş, Taşçı N, Kaptanoğlu B, Marangoz C. The effects of calcium channel blocker flunarizine on spinal reflexes in the cats. *Acta Physiologica Pharmacologica et Therapeutica Latinoamericana* 1999; 49: 119-123



- 83- Kubeck JP, Merola A, Mathur S, Brkaric M, Majid K. End Organ Effects of High-Dose Human Equivalent Methylprednisolone in a Spinal Cord Injury Rat Model. *Spine* 2006; 31: 257–261
- 84- Kaptanoğlu E. Omurilik yaralanması ve patofizyolojisi. In: Editör: Aksoy K. *Temel Nöroşirürji* 2005; 2:1144-1155
- 85- Korsmeyer SJ: Bcl-2 initiates new category of oncogenes Regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-886
- 86- Ducker TB, Kindt GW, Kepme LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1971; 35: 700-708
- 87- Nemecek ST. Morphological evidence of microcirculatory disturbances in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol* 1978; 20: 395-405
- 88- Kaptanoğlu E, Tator C: Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. In: *Omurilik ve Omurga Cerrahisi*. Editörler: M.Zileli F.Özer 2002: 813-832
- 89- Demopoulos HB, Flam ES, Seligman ML, et.al. Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: effect of very high doses of methylprednisolone on the functional outcome, morphology and chemistry of experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol Pharmacol* 1981; 60: 1415-1424
- 90- Young W, Huang P, Kume Kick. Cellular, ionic, and biomolecular mechanisms of the injury process: Edit. Benzel EC, TatorCH. 1995; 4: 27-42
- 91- Hall ED, Braughler JM. Effects of intravenous methylprednisolone on spinal cord lipid peroxidation and (Na,K)-ATPase activity. Dose-response analysis during the 1 st hour after contusion injury in the cat. *J Neurosurg* 1982; 57: 247-253

- 92- 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* 1993; 79: 500-507
- 93- 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* 1998; 89: 699-706
- 94- Hurlbert RJ. Methylprednisolone for acute spinal cord injury: an inappropriate standart of care. *J Neurosurg* 2000: 175-179
- 95- Nesathurai S. Steroids and spinal cord injury: revisiting the NASCIS 2 and NASCIS 3 trials. *J Trauma* 1998; 45: 1088-1093
- 96- Buki A, Okonkwo DO, Povlishock JT. Postinjury cyclosporin A administration limits axonal damage and disconnection in traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1999; 16: 511-521
- 97- Fujimoto T, Nakamura T, Ikeda T, et al. Effects of EPC-K1 on lipid peroxidation in experimental spinal cord injury. *Spine* 2000; 25: 24-29
- 98- Anderson DK, Saunders RD, Demediuk P. Lipid hydrolysis and peroxidation in injured spinal cord: partial protection with methylprednisolone or vitamin E and selenium. *Centr Nerv syst Trauma* 1985; 2: 257-267
- 99- Kaptanoğlu E, Caner HH, Sürücü S, Akbıyık F. Effect of mexiletine on lipid peroxidation and early ultrastructural findings in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg (Spine 2)* 1999; 91: 200- 204
- 100- Kaptanoğlu E, Şen S, Beşkonaklı E, Sürücü S, Tuncel M, Kılınç K, Taşkın Y: Antioxidant actions and early ultrastructural findings of thiopental and propofol in experimental spinal cord injury. *J Neurosurg Anesthesiol* 2002; 14: 114-122

- 101- Kaptanoğlu E, Palaoğlu S, Demirpençe E, Akbıyık F, Solaroğlu İ, Kılınç A. Different responsiveness of central nervous system tissues oxidative conditions and to the antioxidant effect of melatonin. *J Pineal Res* 2002; 33: 1-4
- 102- Kaptanoğlu E, Solaroğlu İ, Okutan Ö, Sürücü S, Akbıyık F, Beşkonaklı E. Erythropoietin exerts neuroprotection after acute spinal cord injury in rats: effect on lipid peroxidation and early ultrastructural findings. *Neurosurg Rev* 2004; 27: 113-120
- 103- Nashmi R, Fehlings MG. Role of voltage gated K<sup>+</sup> channels in the pathophysiology of spinal cord injury. *Modulator* 2001; 14: 5-9
- 104- Stys PK, Waxman SG, Ransom BR: Ionic mechanisms of anoxic injury in mammalian spinal CNS white matter: Role of Na<sup>+</sup> channels and Na<sup>+</sup>-Ca<sup>++</sup> exchanger. *J Neurosci* 1992; 12: 430-439
- 105- Guha A, Tator CH, Piper I. Increase in rat spinal cord blood flow with the calcium channel blocker, nimodipine. *J Neurosurg* 1985; 63: 250-259
- 106- Ross IB, Tator CH: Further studies of nimodipine in experimental spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 1991; 8: 229-238
- 107- Lucas JH, WangGF, GrossGW. NMDA antagonists prevent hypothermic injury and death of mammalian spinal neurons. *J Neurotrauma* 1990; 7:229-236
- 108- Salzman SK, Puniak MA, Liu ZJ. The serotonin antagonist mianserin improves functional recovery following experimental spinal trauma. *Ann Neurol* 1991; 30: 533-541
- 109- Aarsman AJ, Mynbeek G, Van den Bosh H. Lipocortin inhibition of extracellular and intracellular phospholipases A<sub>2</sub> is substrate concentration dependent. *FEBS Lett* 1987; 219: 176-180

- 110- Dawson TM, Steiner JP, Dawson VL. Immunosuppressant FK506 enhances phosphorylation of nitric oxide synthase and protects against glutamate neurotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 9808-9812
- 111- Liu J, Farnner JD Jr, Lane WS. Calcineurin is a common target of cyclophillin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66: 807-815
- 112- Liu D, Thangnipon W, McAdoo DJ. Excitatory amino acids rise to toxic levels upon impact injury to the rat spinal cord. *BrainRes* 1991; 547: 344-348
- 113- Choi DW. Excitotoxic cell death. *J Neurobiol* 1992; 23: 1261-1276
- 114- Regan FR. The vulnerability of spinal cord neurons to excitotoxic injury: Comparison with cortical neurons. *Neurosci Lett* 1996; 213: 9-12
- 115- Alessandri B, Bullock R. Glutamate and its receptors in the pathophysiology of brain and spinal cord injuries. *Prog Brain Res* 1998; 116: 303-330
- 116- Faden A, Lemke M, Simon R, Noble L. N-methyl-DAspartate antagonist MK-801 improves outcome following traumatic spinal cord injury in rats: Behavioral, anatomic, and neurochemical studies. *J Neurotrauma* 1988; 5: 33-45
- 117- Süzer T, Coşkun E, Islakel H, Tahta K. Neuroprotective effect of magnesium on lipid peroxidation and axonal function after experimental spinal cord injury. *Spinal Cord* 1999; 37: 480-484
- 118- Kaptanoğlu E, Beşkonaklı E, Okutan Ö, Sürücü S, Taşkın Y. Effect of magnesium sulphate in experimental spinal cord injury: evaluation with ultrastructural findings and early clinical results. *J Clin Neurosci* 2003; 10: 329-34
- 119- 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* 1992; 586: 140-143

- 120- Mukhin A, Fan L, Faden AI. Activation of glutamate receptor subtype mGluR1 contributes to post-traumatic neuronal injury. *J Neurosci* 1996; 16: 6012-6020
- 121- Bakshi R, Faden AI. Competitive and non-competitive NMDA antagonists limit dynorphin A-induced rat hindlimb paralysis. *BrainRes* 1990; 507: 1-5
- 122- Flamm ES, Young W, Collins WP. A phase 1 trial of naloxone treatment in acute spinal cord injury. *J Neurosurg* 1985; 63: 390-397
- 123- Balentine ID. Pathology of experimental spinal cord trauma. *Lab Invest* 1978; 39: 236-253
- 124- Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 341-358
- 125- Katoh S, Ikata T, TsuboM, HamadaY, Masry MSE. Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury. *Injury* 1997; 28: 215-217
- 126- Schwartz M, Lazarov-Spiegler O, Rapalino O, et al. Potential repair of rat spinal cord injuries using stimulated homologous macrophages. *Neurosurgery* 1999; 44: 1041-1046
- 127- Rapalino O, Lazarov-Spiegler O, Agranov E, et al. Implantation of stimulated homologous macrophages results in partial recovery of paraplegic rats. *Nature Medicine* 1998; 4: 814-821
- 128- Giulian D, Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* 1990; 27: 33-42
- 129- Koberne AI, Evans DE, Rizzoli HY. The effects of ischemia on long-tract neural conduction in the spinal cord. *J Neurosurg* 1979; 50: 639-644

- 130- 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 Neurophysio* 1989; 174: 241-259
- 131- Kaptanoğlu E, Palaoğlu S, Sürücü S, Hayran M, Beşkonaklı E. Ultrastructural scoring of acute spinal cord injury in the rat. *J Neurosurg (Spine 1)* 2002; 97: 49-56
- 132- Delbarre B, Floyd RA, Delbarre G, Calinon F. Glutamate accumulation and increased hydroxyl free radical formation in the abdominal aorta and heart of gerbil after ischemia/reperfusion insult. *Free Rad Biol Med* 1992; 13: 31-34
- 133- Carlos TM, Harlan JM. Leucocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068-2101
- 134- Hallenbeck JM, Jacobs TP, Faden AI. Combined treatment with PGI<sub>2</sub>, indomethacin, and heparin improves neurological recovery after spinal trauma in cats. *J Neurosurgery* 1983; 58: 749-754
- 135- Crowe MJ, Breshnahan JC, Shuman SL, Masters JN, Beattie MS. Apoptosis and delayed degeneration after spinal cord injury in rats and monkeys. *Nat Med* 1997; 1: 73-76
- 136- Emery E, Aldana P, Bunge MB. Apoptosis after human spinal cord injury. *J Neurosurgery* 1999; 89: 911-920
- 137- Shuman SL, Bresnahan JC, Beattie MS. Apoptosis of microglia and oligodendrocytes after spinal cord contusion in rats. *J Neurosci Res* 1997; 50: 798-808
- 138- Springer JE, Azbill RD, Knapp PE. Activation of the caspase-3 apoptotic cascade in spinal cord injury. *Nature med* 1999; 5: 943-946

- 139- Citron BA, Arnold PM, Sebastian C, et al. Rapid upregulation of caspase-3 in rat spinal cord after injury: mRNA, protein and cellular localization correlates with apoptotic cell death. *Exp Neuro* 2000: 213-226
- 140- Kaptanoğlu E, Caner H, Solaroğlu I, Kılınç K. Mexiletine treatment-induced inhibition of caspase-3 activation and improvement of behavioral recovery after spinal cord injury. *J Neurosurg Spine* 2005: 3: 53-56
- 141- Bethea RJ, Nagashima H, Acosta MC. Systemically administered interleukin-10 reduces tumor necrosis factor alpha production and significantly improves functional recovery following traumatic spinal cord injury in rats. *J Neurotrauma* 1999: 16: 851-863
- 142- Li M, Ona YO, 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* 2000: 99: 333-342
- 143- Bascis A, Colangelo AM, Vicini S, et al. Interleukin-10 prevents glutamate-mediated cerebellar granule cell death by blocking caspase-3-like activity. *J Neurosci* 2001: 21: 3104- 3112
- 144- Ozawa H, Keane RW, Marcillo AE, Diaz PH, Dietrich WD. Therapeutic strategies targeting caspase inhibition following spinal cord injury in rats. *Exp Neurol* 2002: 177: 306-313
- 145- Dolan EJ, Tator CH. The effect of blood transfusion, dopamine, and gamma hydroxybutyrate on posttraumatic ischemia of the spinal cord. *J Neurosurg* 1982: 56: 350-358
- 146- Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, et al. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms following spinal cord injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001: 60: 422-429

- 147- Hu YM, Benedict MA, Ding LY. Role of cytochrome c and dATP/ATP hydrolysis in Apaf-I-mediated caspase-9 activation and apoptosis. *EMBO J.* 1999; 18: 3586- 3595
- 148- Balakumran A. Calcium channel blockers induce thymic apoptosis in vivo in rats. *Tox Appl Pharmacol* 1996; 139: 122-127
- 149- Bunge RP, Puckett WR, Becerra JL, et al. Observation on the pathology of human spinal cord injury. A review and classification of 22 new cases with details from a case of chronic cord compression with extensive focal demyelination. *Adv Neurol* 1993; 59: 75-89
- 150- Braughler JM, Hail ED. Current application of "high-dose" steroid therapy for CNS injury. A pharmacological perspective. *J Neurosurg* 1985; 62: 806-810
- 151- Brinley FJJ, Tiffert T, Scarpa A. Mitochondria and other calcium buffers of squid axon studied in situ. *J Gen Physiol* 1978; 72: 101-127
- 152- Faden AI, Chan PH, Longar S. Alterations in lipid metabolism, Na<sup>+</sup> -K<sup>+</sup> ATPase activity, and tissue water content of spinal cord following experimental traumatic injury. *J Neurochem* 1987; 48: 1809-1816
- 153- Lemke M, Demediuk P, McIntosh TK, Vink R, Faden AI: Alterations tissue Mg<sup>++</sup>, Na<sup>+</sup> and spinal cord edema following impact rats. *Biochem Biophys Res Com* 1987; 147: 1170-1175
- 154- Kumar K, Grossmann M, Krause GS, et al. Ultrastructural and ionic studies in global ischemic dog brain. *Acta Neuropathol (Berl)* 1987; 73: 393-399
- 155- Carlson GD, Minato Y, Okada A, et.al. Early time dependent decompression for spinal cord injury: vascular mechanisms of recovery. *J Neurotrauma* 1997; 14: 951-962



- 156- Croft TJ, Brodkey JS, Nulsen FE. Reversible spinal cord trauma: a model for electrical monitoring of spinal cord function. *J Neurosurg* 1972; 36: 402-406
- 157- Delamarter RB, Sherman J, Carr JB. Pathophysiology of spinal cord injury: recovery after immediate and delayed decompression. *J Bone Joint Surg (Am)* 1995; 77: 1042-1049
- 158- Dolan EJ, Tator CH, Endrenyi L. The value of decompression for acute experimental spinal cord compression injury. *J Neurosurg* 1980; 53: 749-755
- 159- Duh MS, Shepard MJ, Wilberger JE, Bracken MB. The effectiveness of the surgery on the treatment of acute spinal cord injury and its relation to pharmacological treatment. *Neurosurgery* 1994; 35: 240-249
- 160- Tator CH, Fehlings MG, Thorpe K, Taylor W. Current use and timing of spinal surgery for management of acute spinal cord injury in North America: Results of a retrospective multicenter study. *J Neurosurg (Spine 1)* 1999; 91: 12-18
- 161- Marshall LF, Knolton S, Garfin S, et.al. Deterioration following spinal cord injury: a multicenter study. *J Neurosurg* 1987; 66: 400-404
- 162- Wilberger JE. Diagnosis and management of spinal cord trauma. *J Neurotrauma* 1991; 8: 21-30
- 163- Doran SE, Papadopoulos SM, Ducker TB, et.al. Magnetic resonance documentation of coexistent traumatic locked facets of the cervical spine and disk herniation. *J Neurosurg* 1993; 79: 341-345
- 164- Eismont FJ, Arena MJ, Gren BA. Extrusion of an intervertebral disk associated with traumatic subluxation or dislocation of cervical facets: case report. *J Bone Joint Surgery (Am)* 1991; 73: 1555-1560
- 165- Schwab M, Schnell L. Channeling of developing rat corticospinal tract axons by myelin associated neurite growth inhibitors. *J Neurosci* 1991; 11: 709-722

- 166- Lozanno AM, Labes M, et al. An antineuronal monoclonal antibody that reverses neurite growth inhibition by central nervous system myelin. *J Neurosci Res* 1995; 42: 306-313
- 167- Stichel CC, Muller HW. Experimental strategies to promote axonal regeneration after traumatic central nervous system injury. *Prog Neurobiol* 1998; 56: 119-148
- 168- Fehlings MG, Tator CH. The effect of direct current field polarity on recovery after acute experimental spinal cord injury. *Brain Res* 1992; 579: 32-42
- 169- Fehlings MG, Tator CH, Linden RD. The effect of direct current field on recovery from experimental spinal cord injury. *J Neurosurg* 1988; 68: 781-792
- 170- Hurlbert RJ, Tator CH, Theriault E. Dose response study of the pathological effect of chronically applied direct current stimulation on the normal rat spinal cord. *J Neurosurg* 1993; 79: 905-916
- 171- Fernandez E, Pallini R, Lauretti L, Mercanti D, Serra A, Calissano P. Spinal cord transection in adult rats: Effects of local infusion of nerve growth factor on the corticospinal tract axons. *Neurosurgery* 1993; 33: 889-893
- 172- Schnell L, Schneider R, Kolbeck R, Barde YA, Schwab ME. Neurotrophin-3 enhances sprouting of corticospinal tract during development and after adult spinal cord lesion. *Nature* 1994; 367: 170-173
- 173- Ye JH, Houle JD. Treatment of chronically injured spinal cord with neurotrophic factors can promote axonal regeneration from supraspinal neurons. *Exp Neurol* 1997; 143: 70-81
- 174- Namiki J, Kojima A, Tator CH. Effect of brain derived neurotropic factor, nerve growth factor, and neurotrophin-3 on functional recovery and regeneration after spinal cord injury in adult rats. *J Neurotrauma* 2000; 17: 1219-1231

- 175- Blesch A, Tuszynski M. Ex vivo gene therapy for Alzheimer's disease and spinal cord injury. *Clin Neurosci* 1996; 3: 268-274
- 176- Tuszynski MH, Gabriel K, Gage FH, Suhr S, Meyer S, Rosetti A. Nerve growth factor delivery by gene transfer induces differential outgrowth of sensory, motor and noradrenergic neurites after adult spinal cord injury. *Exp Neurol* 1996; 137: 157-73
- 177- Nakahara Y, Senut MC, Gage FT, Tuszynski MH. Grfts of fibroblasts genetically modified to secrete NGF, BDNF, NT-3 or basic FGF elicit differential responses in the adult spinal cord. *Cell Transplant* 1996; 5: 191-204
- 178- Fayaz I, Tator CH. Modeling axonal injury in vitro: injury and regeneration following acute neuritic trauma. *J Neurosci Methods* 2000; 102: 69-79
- 179- Lois C, Alveraz-Buylla A. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian brain can differentiate into neurons and glia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 2074- 2077
- 180- Lois C, Alveraz-Buylla A. Long distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science* 1994; 264: 1145-1148
- 181- Cattaneo E, McKay R. Proliferation and differentiation of neuronal stem cells regulated by nerve growth factor. *Nature* 1990; 347: 762-765
- 182- Fredrikson K, McKay RDG. Proliferation and differentiation of rat neuroepithelial precursors in vivo. *J Neurosci* 1988; 8: 1144-1151
- 183- Hockfield S, McKay RDG. Identification of major cell classes in the developing mammalian nervous system. *J Neurosci* 1985; 5: 3310-3328
- 184- Lendahl U, Zimmerman LB, McKay RDG. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell* 1990; 60: 585-595

- 185- 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* 1996; 16: 1091-1100
- 186- Weiss S, Dunne C, Hewson J et al. Multipotent stem cells are present in the adult mammalian spinal cord ventricular neuroaxis. *J Neurosci* 1996; 16: 7599-7609
- 187- Tohyama T, Lee VM-Y, Rorke LB et al. Nestin expression in embryonic human neuroepithelium and in human neuroepithelial tumor cells. *Lab Invest* 1992; 66: 303-313
- 188- Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, et al. In vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci* 1996; 16: 2649-2658
- 189- Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: A relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* 1994; 13: 1071-82
- 190- Namiki J, Tator CH. Cell proliferation and nestin expression in the ependyma of the adult rat spinal cord after injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999; 58:489-98
- 191- McKay R. Stem cells in the central nervous system *Science* 1997; 276: 66-70
- 192- Tello F. La influencia del neurotropismo en la regeneracion de los centros nerviosos. *Trab Lab Invest Biol* 1911; 9: 123-159
- 193- David S, Aguayo AJ. Axonal elongation into peripheral nervous system "bridges" alter central nervous system injury in adult rats. *Science* 1981; 214: 931-933
- 194- Richardson PM, McGuinness UM, Aguayo AJ. Axons from CNS neurons regenerate into PNS grafts. *Nature* 1980; 284: 264-265

- 195- Carter D, Bray GM, Aguayo AJ. Regenerated ganglion cell axons can form well differentiated synapses in the superior colliculus of adult hamsters. *J Neurosci* 1989; 4042-4050
- 196- Vincent AJ, West AK, Chuah MI. Morphological and functional plasticity of olfactory ensheathing cells. *J Neurocytol* 2005; 34:65-80
- 197- Collazos-Castro JE, Muneton-Gomez VC, Nieto-Sampedro M. Olfactory glia transplantation into cervical spinal cord contusion injuries. *J Neurosurg Spine*. 2005; 3: 308-317
- 198- Iwashita Y, Kawaguchi S, Murata M. Restoration of function by replacement of spinal cord segments in the rat. *Nature* 1994; 367: 167-170
- 199- Nakamura M, Okano H, Toyama Y, Dai HN, Finn TP, Bregman BS. Transplantation of embryonic spinal cord-derived neurospheres support growth of supraspinal projections and functional recovery after spinal cord injury in the neonatal rat. *J Neurosci Res*. 2005; 81: 457-468.
- 200- Dohrmann GJ, Panjabi MM, Banks D. Standardized spinal cord trauma: Biomechanical parameters and lesion volume. *Surg Neurol* 1976; 6: 263-267
- 201- Molt JT, Poulos D, Bourke RS. Evaluation of experimental spinal cord injury by measuring spontaneous spinal cord potentials. *J Neurosurg* 1978; 48: 985-992
- 202- Rivlin AS, Tator CH. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol* 1978; 10: 39-43
- 203- Kahn M. Acute spinal cord injury in the rat: Comparison of three experimental techniques. *Can J Neurosci* 1983; 10: 161-164
- 204- Benzel EC. A new spinal cord injury model: A ventral compression technique. *J Spinal disorders* 1990; 4: 334-338

- 205- Zileli M, Dalbastı T, Övül İ. Sıçanda somatosensoriyel uyartılmış potansiyel monitörizasyonu. *Ege Nörol Bil D.* 1985: 4: 6-9
- 206- Stokes BT, Reier PJ. Fetal grafts alter chronic behavioral outcome after contusion damager to the adult rat spinal cord. *Soc Neurosci Abstr* 1990: 16: 37
- 207- Matsushita A. Spinal cord function in postischemic rigidity in the rat. *Brain Res* 1970: 19: 395-410
- 208- Sakamoto T, Monafı W, Hickey W. Noncontusive segmental spinal cord injury using radiofrequency current. *J Trauma* 1998: 45: 345-352
- 209- Çolak A, Nurlu G, Açıkgöz B et al: Efficacy of high dose amino acid solution on spinal cord injury induced by focal Nd YAG laser irradiation. *Acta Neurochir* 1995: 133: 73-79
- 210- Chen A, Xu XM, Kleitman N, Bunge MB. Methylprednisolone administration improves axonal regeneration into Schwann cell grafts in transected adult rat toracic spinal cord. *Exp Neurol* 1996: 138: 261-276
- 211- Keller G, Snodgrass HR. Human embryonic stem cells: The future is now. *Nature Med* 1999: 5: 151-152
- 212- Broxmeyer HE, Gluckman E, Auerbach AD, Douglas GW, Friedman H, Cooper S, Hangoc G, Kurtzberg J, Bard J, Boyse EA. Human Umbilical cord blood: A clinically useful source of ransplatable hematopoietic stem/progenitor cells. *Int J Cell Cloning* 1980: 8: 76
- 213- Broxmeyer H, Hangoc G, Cooper S, Ribeiro R, Graves V, Yoder M, Wagner J, Vadhan-Raj S, Benninger L, Rubinstein P, Broun E. Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. *Proc Natl Acad Sci* 1992: 89: 4109
- 214- Watt SM. Stem cell plasticity. *Journal of Haemat.* 2003: 122: 877-891.

215- Vassilopoulos G, Wang PR., Russel D.W. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature*. 2003; 422: 901-904.

216- Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M. Cell fusion is the principal source of bone marrow derived hepatocytes. *Nature*. 2003; 422: 897-901

217- Ianus A, Holz GG, Theise ND. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence cell fusion. *Journal of Molecular Medicine* 2003; 81: 288-296.

218- Masuya, M, Drake CJ, Fleming PA. Hematopoietic origin of glomerular mesangial cells. *Blood* 2003; 101: 2215-2218

219- Eglitis, MA, Mezey, E. Hematopoietic cells differentiate into both microglia and macroglia in the brain of adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1997; 94: 4080-4085

220- Kopen, GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA* 1999; 96: 10711-10716

221- Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI. From bone marrow to brain: Expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000; 290: 1775-1776

222- Mezey E., Keys S, Vogelsang G. Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 2003; 100: 1364-1369.

223- Jung Y, Jahagirdar BN Reinhardt RI. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49

224- Garbuzova-Davis S, S. Saporta, and P. Saberg, Intravenous infusions of human umbilical cord blood stem cells benefit rodents with ALS, spinal cord injury,USF studies find.  
<http://www.hsc.usf.edu/publicaffairs/releases/cordbloodstudies03.html>, 2003

- 225- Svendsen CN, Caldwell MA, Ostenfeld. Human neural stem cells: isolation, expansion and transplantation. *Brain Pathol* 1999; 9: 499-513
- 226- Ourednik V, Ourednik J, Park KI, Snyder EY. Neural stem cells; a versatile tool for cell replacement and gene therapy in the central nervous system. *Clin Genet* 1999; 56: 267-278
- 227- Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433-1438
- 228- Wickelgren I. Stem cells. Rat spinal cord function partially restored. *Science*; 286: 1826-1827, 1999
- 229- Liu Y, Himes BT, Solowska J, et al. Intraspinal delivery of neurotrophin-3 using neural stem cells genetically modified by recombinant retrovirus. *Exp Neurol* 1999; 158: 9-26
- 230- McDonald JW, Liu XZ, Qu Y, et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999; 5: 1410-1412
- 231- Andrews PW. Retinoic acid induces neuronal differentiation of a cloned human embryonal carcinoma cell line in vitro. *Dev Biol* 1984; 103: 285-293
- 232- Andrews PW. Human teratocarcinoma stem cells: glycolipid antigen expression and modulation during differentiation. *J Cell Biochem* 1987; 35: 321-332
- 233- Abraham I, Sampson KE, Powers EA, et al. Increased PKA and PKC activities accompany neuronal differentiation of NT2/D1 cells. *J Neurosci Res* 1991; 28: 29-39
- 234- Lee VM-Y, Andrews PW. Differentiation of NTERA-2 clonal human embryonal carcinoma cells into neurons involved the induction of all three neurofilament proteins. *J Neurosci* 1986; 6: 514-521



- 235- Pleasure SJ, Lee VM-Y. NTera 2 cells: a human cell line which displays characteristics expected of a human committed neuronal progenitor cell. *J Neurosci Res* 1993; 15: 585-602
- 236- Borlongan CV, Saporta S, Poulos SG, Othberg A, Sanberg PR. Viability and survival of hNT neurons determine degree of functional recovery in grafted ischemic rats. *Neuro Rep* 1998; 9: 2837-2842
- 237- Borlongan CV, Tajima Y, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Sanberg PR. Transplantation of cryopreserved human embryonal carcinoma-derived neurons (NT2N cells) promotes functional recovery in ischemic rats. *Exp Neurol* 1998; 149: 310-321.
- 238- Saporta S, Borlongan, Sanberg PR. Neural transplantation of human neuroteratocarcinoma (hNT) neurons into ischemic rats. A quantitative dose-response analysis of cell survival and behavioral recovery. *Neurosci* 1999; 91: 519-525
- 239- Hurlbert MS, Gianani RI, Hutt C, Freed CR, Kaddis FG. Neural transplantation of hNT neurons for Huntington's disease. *Cell Transplant* 1999; 8: 143-151
- 240- Baker KA, Hong M, Sadi D, Mendez I. Intrastratial and intranigral grafting of hNT neurons in the 6-OHDA model of Parkinson's disease. *Exp Neurol* 2000; 162: 350-360
- 241- Philips MF, Muir JK, Saatman KE, et al. Survival and integration of transplanted postmitotic human neurons following experimental brain injury in immunocompetent rats. *J Neurosurg* 1991; 90: 116-124
- 242- Ostenfeld T, Svendsen CN. Recent advances in stem cell neurobiology. *Adv Tech Stand Neurosurg.* 2003; 28: 3-89.
- 243- Zhu W, Mao Y, Zhou LF. Reduction of neural and vascular damage by transplantation of VEGF-secreting neural stem cells after cerebral ischemia. *Acta Neurochir Suppl.* 2005; 95: 393-397

- 244- Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, Mareschi K, Oliveri G, Olivieri C, Pastore I, Marasso R, Madon E. Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4: 133-134
- 245- McBride JL, Behrstock SP, Chen EY, Jakel RJ, Siegel I, Svendsen CN, Kordower JH. Human neural stem cell transplants improve motor function in a rat model of Huntington's disease *J Comp Neurol* 2004; 475: 211-219
- 246- Lee ST, Chu K, Park JE, Lee K, Kang L, Kim SU, Kim M. Intravenous administration of human neural stem cells induces functional recovery in Huntington's disease rat model. *Neurosci Res.* 2005; 52: 243-249
- 247- Lepore AC, Bakshi A, Swanger SA, Rao MS, Fischer I. Neural precursor cells can be delivered into the injured cervical spinal cord by intrathecal injection at the lumbar cord. *Brain Res.* 2005; 31: 206-216
- 248- Bakshi A, Hunter C, Swanger S, Lepore A, Fischer I. Minimally invasive delivery of stem cells for spinal cord injury: advantages of the lumbar puncture technique. *J Neurosurg Spine.* 2004; 1: 330-337
- 249- Zhao ZM, Li HJ, Liu HY, Lu SH, Yang RC, Zhang QJ, Han ZC. Intraspinal transplantation of CD34+ human umbilical cord blood cells after spinal cord hemisection injury improves functional recovery in adult rats. *Cell Transplant.* 2004; 13: 113-122
- 250- Shihabuddin LS, Horner PJ, Ray J, Gage FH. Adult spinal cord stem cells generate neurons after transplantation in the adult dentate gyrus. *J Neurosci* 2000; 20: 8727-8735
- 251- Nakamura M, Houghtling RA, MacArthur L, et al. Differences in cytokine gene expression profile between acute and secondary injury in adult rat spinal cord. *Exp Neurol* 2003; 184: 313-325
- 252- Morgenstern DA, Asher RA, Fawcett JW. Chondroitin sulphate proteoglycans in the CNS injury response. *Prog Brain Res.* 2002; 137: 313-332

- 253- Okano H. The stem cell biology of the central nervous system. *J Neurosci Res* 2002; 69: 698-707
- 254- Okano H. Neural stem cells: progression of basic research and perspective for clinical application *Keio J Med* 2002; 51: 115-128
- 255- Ogawa Y, Sawamoto K, Miyata T, et.al. Transplantation of in vitro expanded fetal neural progenitor cells results in neurogenesis and functional recovery after spinal cord contusion injury in rats. *J Neurosci Res.* 2002; 69: 925-933
- 256- Mayani H, PM Lansdorp. Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells* 1998; 16:153-165
- 257- Broxmeyer HE. Primitive hematopoietic stem and progenitor cells in human umbilical cord blood: an alternative source of transplantable cells. *Cancer Treat Res* 1996; 84: 139-148
- 258- Zigova T, Song S, Willing AE, Hudson JE, Newman MB, Saporta S, Sanchez-Ramos J, Sanberg PR. Human umbilical cord blood cells express neural antigens after transplantation into the developing rat brain. *Cell Transplant* 2002; 11: 265-274
- 259- Ha Y, Choi JU, Yoon DH, Yeon DS, Lee JJ, Kim HO and Cho YE. Neural phenotype expression of cultured human cord blood cells in vitro. *Neuroreport* 2001; 12: 3523-3527
- 260- Buzanska L, Machaj EK, Zablocka B, Pojda Z and Domanska-Janik K. Human cord blood derived cells attain neuronal and glial futures in vitro. *J Cell Sci* 2002; 115: 2131-2138
- 261- Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Willing AE, Sanchez-Ramos J, Chopp M. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke* 2001; 32: 2682-2688

- 262- Lu D, Sanberg PR, Mahmood A, Li Y, Wang L, Sanchez-Ramos J, Chopp M. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant* 2002; 11: 275-281
- 263- Saporta S, Kim JJ, Willing AE, Fu ES, Davis CD, Sanberg PR. Human Umbilical Cord Blood Stem cells infusion in spinal cord injury: Engraftment and beneficial influence on behavior. *J Hemato and Stem Cell Res.* 2003; 12: 271-278
- 264- Kuh SU, Cho YE, Yoon DH, Kim NK. Functional recovery after human umbilical cord blood cells transplantation with brain-derived neurotrophic factor into the spinal cord injured rat. *Acta Neurochir* 2005; 147: 985-992
- 265- Dezawa M. Central and peripheral nerve regeneration by transplantation of Schwann cells and transdifferentiated bone marrow stromal cells. *Anat Sci int.* 2002; 77: 12-25
- 266- Franklin RJ. Remyelination of the demyelinated CNS: the case for and against transplantation of central, peripheral and olfactory glia. *Brain Res Bull* 2002; 57: 827-832
- 267- Ishii K, Toda M, Nakai Y, Asou H, Watanabe M, Nakamura M, et al. Increase of oligodendrocyte progenitor cells after spinal cord injury. *J Neurosci Res* 2001; 65: 500-507
- 268- Nakamura M, Toyama Y. Transplantation of neural stem cells into spinal cord after injury. *Nippon Rinsho* 2003; 61: 463-468
- 269- Goodwin HS, Bicknese AR, Chien SN, Bogucki BD, Quinn CO, Wall DA. Multilineage differentiation activity by cells isolated from umbilical cord blood: expression of bone, fat and neural markers. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; 7: 581-588
- 270- Sanchez-Ramos JR. Neural cells derived from adult bone marrow and umbilical cord blood *J Neurosci Res* 2002; 69: 880-893

271- Bregman BS, McAtee M, Dai HN, Kuhn PL. Neurotrophic factors increase axonal growth factor after spinal cord injury and transplantation in the adult rat. *Exp Neurol* 1997; 148: 475-494

272- Diener PS, Bregman BS. Neurotrophic factors prevent the death of CNS neurons after spinal cord lesions in newborn rats. *Neuroreport* 1994; 5: 1913-1917

273- Houle JD, Ye JH. Survival of chronically-injured neurons can be prolonged by treatment with neurotrophic factors. *Neuroscience* 1999; 94: 929-936

274- Vroemen M, Aigner L, Wingler J, Weigner N. Adult neural progenitor cell graft survive after acute spinal cord injury and integrate along axonal pathways. *Eur J Neurosci* 2003; 18: 743-751

275- Li HJ, Liu HY, Zhao ZM, Lu SH, Yang RC, Zhu HF, Cai YL, Zhang QJ, Han ZC. Transplantation of human umbilical cord stem cells improves neurological function recovery after spinal cord injury in rats. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*.2004; 26: 38-42