

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASINDA İNSAN
UMBİLİKAL KORDON KANINDAN ELDE EDİLMİŞ
KÖK HÜCRE NAKLİNİN VE ERİTROPOİETİNİN
SPİNAL KORD İYİLEŞMESİ VE NÖROLOJİK
FONKSİYONLARA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ZAHİR KIZILAY

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR.BAYRAM ÇIRAK

DENİZLİ-2010

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASINDA İNSAN
UMBİLİKAL KORDON KANINDAN ELDE EDİLMİŞ
KÖK HÜCRE NAKLİNİN VE ERİTROPOİETİNİN
SPİNAL KORD İYİLEŞMESİ VE NÖROLOJİK
FONKSİYONLARA ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ZAHİR KIZILAY

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR.BAYRAM ÇIRAK

DENİZLİ-2010

Doç.Dr. Bayram ÇIRAK danışmanlığında Dr. Zahir KIZILAY tarafından yapılan “Deneyisel Omurilik Yaralanmasında İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin ve Eritropoietinin Spinal Kord İyileşmesi ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi” başlıklı çalışma jürimiz tarafından Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Doç.Dr. Bayram ÇIRAK

ÜYE Prof.Dr. M.Erdal COŞKUN

ÜYE Doç.Dr.Feridun ACAR

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

13.../07/2010

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANI ✓

TEŞEKKÜR

Altı yıllık ihtisasım boyunca karşılaşılan sorunlarda anlık pratik çözümler üretebilmeyi, başarımın ince ayrıntılarda saklı olduğunu gösteren, bilgi ve deneyimlerini sıklıkla ve usanmadan bana öğreten sayın hocalarım Prof.Dr. Mehmet Erdal COŞKUN'a, Doç.Dr. Feridun ACAR'a tez çalışmaları sırasında karşılaştığım sorunlarda çözümler üreten, hep destek veren ve benim kadar yorulan tez hocam sayın Doç.Dr. Bayram ÇIRAK'a, şuan aramızda olmayan yetişmemde emeği geçen sayın hocalarım, Prof. Dr. Tuncer SÜZER ve Prof.Dr. Kadir TAHTA'ya, çalışmaları sırasında hep desteklerini arkamdan hissettiren, araştırma görevlisi arkadaşlarıma, kordon kanının toplanmasına yardımcı olan Doç.Dr. Başak YILDIRIM'a ve Kadın hastalıkları ve doğum Kliniğinde görevli tüm asistan arkadaşlarıma, deneysel çalışmaları sırasında yardımcı olan Dr.A. Haydar ERKEN'e, kök hücrenin ayrıştırılması sırasında yol gösteren Prof.Dr. Gülçin ABBAN'a, dokuların histolojik kesitlerinin değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç.Dr. Nagehan YALÇIN'a, çalışmanın istatistiklerinin yapılmasında emeği geçen Doç.Dr. Beyza AKDAĞ'a, kök hücrenin ayrıştırılması sırasında büyük ekipman desteği sağlayan sayın Yrd.Doç.Dr. Ergun METE'ye, benim bu günlere gelmemde emeği olan tüm öğretmenlerime, aileme, her konuda yardımlarını esirgemeyen Yüksel KIYMAZ'a, dualarıyla hep yanımda olan Messude KOCACAN'a ve benimle en az benim kadar çalışan ve desteğini hiçbir zaman eksiltmeyen tek yol arkadaşım, eşim Aslıhan ŞAHAN KIZILAY'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
TARİHÇE	3
EPİDEMİYOLOJİ	7
DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI	11
DeneySEL omurilik yaralanması modelleri	11
DeneySEL omurilik yaralanması takip parametreleri	14
OMURİLİK YARALANMASINDA PATOFİZYOLOJİ	17
Primer yaralanma	18
Sekonder yaralanma (ikincil yaralanma)	19
Nörojenik şok	19
Vasküler yaralanma	19
Eksitotoksisite	20
Kalsiyum aracılı sekonder yaralanma	21
İmmünolojik ikincil yaralanma	22
Apoptosis	24
Mitokondrilerin sekonder yaralanmadaki rolü	25
İkincil yaralanmaya katkısı olan diğer mediatörler	26
NÖRAL PLASTİSİTE VE REJENERASYON	26
Nöral plastisite	27
Nöral rejenerasyon	27
OMURİLİK REJENERASYONUNDA HÜCRESEL TERAPİ	30
Schwann hücre terapisi	30
Olfaktör glial hücre terapisi	30
Mikroglial greftler	31
KÖK HÜCRE TERAPİSİ	31
Embriyonik kök hücre	32
Embriyonik germ hücre	32
Umbilikal kordon kanı kaynaklı kök hücre	33
Amniyotik sıvı kaynaklı kök hücre	33
Wharton jeli kaynaklı kök hücre	34

Fetal kaynaklı nöronal kök hücre	34
Periferik kan kaynaklı kök hücre	35
Kemik iliği kaynaklı kök hücre	35
GEREÇ VE YÖNTEM	37
DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANMASI	37
DENEYİN YAPILIŞI	37
YENİDOĞAN UMBİLİKAL KORDON KANININ ALINMASI	41
KORDON KANINDAN CD34+ KÖK HÜCRE ELDE EDİLMESİ	42
ELDE EDİLEN CD34+ KÖK HÜCRELERİN SAYIMI	44
SPİNAL KORD KESİ ALANINA CD34+ HÜCRELERİN EKİMİ	44
ROTAROD PERFORMANS TESTİ	45
BBB SKORLAMASI İLE LOKOMOTOR SİSTEM MUAYENESİ	46
PATOLOJİK İNCELEME	46
İSTATİSTİKSEL ANALİZ	47
BULGULAR	48
BBB skorlamsı ile lokomotor sistem muayene bulguları	48
Rotarod performans testi bulguları	51
Çift yönlü eğik düzlem testi bulguları	52
Patolojik inceleme bulguları	54
TARTIŞMA	63
SONUÇLAR	95
ÖZET	96
SUMMARY	98
KAYNAKLAR	100

TABLolar ÇİZELGESİ

	Sayfa No
Tablo-1 Yetişkin omurga- omurilik yaralanmalarında etyoloji	7
Tablo-2 Yetişkinlerde omurilik yaralanma seviyeleri	8
Tablo-3 Yetişkinlerde omurilik yaralanmasında nörolojik sekelin derecesi	9
Tablo-4 Çocukluk çağı omurilik yaralanmalarının etyolojik nedenleri ve yaşlara göre dağılımı	9
Tablo-5 Çocukluk çağı omurilik yaralanma seviyeleri	10
Tablo-6 Akut omurilik yaralanmasında yaş dağılımı	10
Tablo-7 Genişletilmiş deneysel omurilik yaralanması modelleri	11
Tablo-8 Modifiye Tarlov Testi	14
Tablo-9 Sıçanların altı hafta süresince BBB lokomotor değerleri	49
Tablo-10 Altı haftalık BBB skorlarının ölçümü sonrası gruplara göre dağılım	50
Tablo-11 Dört grupta yer alan ratların altı hafta süresince elde edilen rotarod değerleri (saniye)	51
Tablo-12 Altı haftanın sonunda grupların rotarod performanslarının değerlerinin Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirilmesi.	52
Tablo-13 Deneklerin altı hafta boyunca ölçülen çift yönlü eğik düzlem açı değerleri	53
Tablo-14 Altı haftalık ölçümlerin sonunda ortalama çift yönlü eğik düzlem ölçümleri Kruskal-Wallis varyans analiziyle değerlendirilmesi.	54

ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

		Sayfa No
Şekil-1	Ratlarda laminektomi sonrası medulla spinalisin ortaya konması	39
Şekil-2	Rat spinal kordunda tam kesi oluşturulması ve hemostaz	39
Şekil-3	Deneysel modelde kullanılan eritropoietin alfa	40
Şekil-4	Rivlin ve Tatorun eğik düzlemi	41
Şekil-5	Umbilikal kordon kanının santrifüjü sonrası oluşan bulutsu kısım	42
Şekil-6	Hücre sayımı öncesi elde edilen CD34+ kök hücrelerin biriktirilmesi	44
Şekil-7	Elde edilen CD34+ kök hücrelerin steril otomatik pipetle transplantasyonu	44
Şekil-8	CD34+ hematopoetik kök hücrelerin ekimi sonrası transplant alanı	45
Şekil-9	Rotarod performans cihazı	45
Şekil-10	Grup 1’de yer alan bir sıçan omuriliğinin, sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)	54
Şekil-11	Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAPX4)	55
Şekil-12	Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (Sinaptofizin X4)	55
Şekil-13	Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)	56
Şekil-14	Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)	56
Şekil-15	Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAP X4)	57
Şekil-16	Grup 2’de bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin X4)	57

Şekil-17	Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)	58
Şekil-18	Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)	58
Şekil-19	Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAP X4)	59
Şekil-20	Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin X4)	59
Şekil-21	Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)	60
Şekil-22	Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)	60
Şekil-23	Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal plan histolojik kesiti (GFAP X4)	61
Şekil-24	Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin)	61
Şekil-25	Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)	62

KISALTMALAR DİZİNİ

AMPA-Kainate: Alfa-amino-3-hidroksi-5-metilisoksazol-4-propionat-kainat

BBB Skorlaması: Basso-Beattie-Bresnahan Skorlaması

BDNF: Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör

CNTF: Silier Nörotrofik Faktör

COX-1: Siklooksijenaz-1

COX-2: Siklooksijenaz-2

CSPG: Kondorotin Sülfat Proteoglikan

EAA: Eksitotoksik Aminoasitler

EPO: Eritropoietin

EPO-R: Eritropoietin Reseptörü

FACS: Flörsanla Aktive Hücre Ayırma

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

FLIP: FLICE İnhibitör Protein

GAP: Büyümeyle İlişkili Protein

G-CSF: Granülosit-Koloni Stimülan Faktör

GDNF: Glial Kaynaklı Nörotrofik Faktör

GFAP: Glial Fibriler Asit Protein

GSK: Glikojen Sentaz Kinaz

GVH: Greft Versus Host

HKH: Hemapoetik Kök Hücre

HSPCs: Hemapoetik Kök ve Progenitör Hücre

5-HT: Beş Hidroksi Triptamin

H&E: Hematoksilen Eozin

ICAM-1: İnter Selüler Adezyon Molekül-1
ICE: İnterlökin Konvertin Enzim
INF: İnterferon
JAK-2: Janus Kinaz-2
Kda: Kilo Dalton
KSPG: Keratan Sülfat Glikoprotein
LVCaC: Düşük Voltajlı Kalsiyum Kanalı
MAG: Myelinle İlişkili Glikoprotein
Map 2: Mikrotübülle İlişkili Glikoprotein 2
MEP: Motor Evok Potansiyel
MPO: Myeloperoksidaz
MSCs: Mezankimal Stromal Kök Hücre
NASCIS-1: National Acute Spinal Cord Injury Study-1
NF κ B: Nükleer Faktör Kappa Beta
NGF: Sinir Büyüme Faktörü
NMDA: N-Metil-D-Aspartat
NO: Nitrik Oksit
NT-3: Nörotrofin-3
oMgp: Oligodentriosit Glikoprotein
PARP: Poly (ADP-ribose) polimeraz
PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGCs: Primordial Germ Hücre
PI3K: Fosfotidilinositol 3 Kinaz
PNL: Polimorfonükleer Lokosit
PSS: Periferik Sinir Sistemi

RNA: Ribonükleik Asit

SEP: Sensoryal Evok Potansiyel

SSS: Santral Sinir Sistemi

TNF: Tümör Nekroz Faktör

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

WJCs: Warton Jeli Kaynaklı Kök Hücre

XIAP: X bağı Apoptotik İnhibitör Protein

GİRİŞ

Uygarlık ve teknolojiye ilerlemeler insan yaşamını daha konforlu ve sağlıklı kılmakla birlikte teknolojiye hızlı ilerleme, çağımızda özellikle zamanın kullanılmasındaki verimliliğin artırılmasında iletişim ve taşıma araçlarının hızının artmasına neden olmuştur. Artan hız beraberinde çeşitli sorunları ortaya çıkartmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde artan trafik, spor ve iş kazaları bunlardan birkaçıdır. Bu ülkelerde ölüm oranının en sık nedenleri içerisinde vasküler hastalıklar ve kanser ilk iki sırayı almakla birlikte üçüncü en sık sebep trafik kazalarıdır. Trafik kazalarının üçüncü en sık sebep olması, kazaya bağlı santral sinir sistemi ve spinal kord yaralanmalarında mortalite ve morbiditenin artışına neden olmuştur.

Kazalara bağlı omurilik yaralanmalarında yaralanan omurilik seviyesine göre ölüm ve sakat kalma oranları değişmektedir. Özellikle servikal travmalarda travmaya bağlı ortaya çıkan erken vasküler ve solunum problemleri mortalite ve morbiditeyi artırır. Artan morbidite kaza sonrasında hastaların rehabilitasyon problemlerini, iş kayıplarını ve tedavi giderlerinin artmasına neden olmuştur.

Ülkemizde bu kazalara bağlı morbidite ile ilişkili sağlıklı veriler yoktur, batı ülkelerindeki istatistiklere bakıldığında Amerika Birleşik Devletlerinde (ABD) 28 ile 55 milyon insanın travmatik spinal kord yaralanması olduğu ve bunlara her yıl yaklaşık 10.000 kişinin eklendiği açıklanmıştır. Nedenler içerisinde %36–48 motorlu araç kazaları, %5–29 oranında zor kullanma, %17–21 ile düşmeler, %7–16 oranında eğlence aktiviteleri sırasındaki kazalar olarak sıralanmıştır. Tüm bunlara bağlı spinal kord yaralanmasında ortalama yaş 31,7'dir. Onbeş ile 25 yaşları arasında frekansı oldukça büyüktür, kadın erkek oranı 1/4 olarak bildirilmiştir. Bu hastaların ortalama yaşam sürelerinde tedavi masrafları 500.000 ile 2 milyon dolar arasında değişmekle birlikte her yıl Amerika Birleşik Devletlerine bakım ücretlerinin maliyeti yıllık yedi milyar doları aşmıştır (1).

Bu hastalarda meydana gelen fiziksel ve psikolojik değişiklikler sadece kendilerini değil aile ve toplumuda etkilemektedir. Hastaların erken rehabilitasyonunun bir multidisipliner koruma organizasyonu ile yapılması

mortalitenin düşmesine, bası yaralarının azalmasına, nörolojik bozuklukların iyileşmesine katkıda bulunmakta ve hastanede yatış süresini kısaltmaktadır. ABD 'de 2004 yılında yapılan bir araştırmada spinal kord travması olan hastaların %34,1'i inkomplet tetrapleji, %23'ü komplet parapleji, %18,3'ü komplet tetrapleji, %18,5'i inkomplet parapleji olduğu ve bu hastaların %1'inden azında tam iyileşme olduğu gözlemlenmiştir (2). Yıllık ölüm oranlarına bakıldığında ölüm oranının özellikle travmanın ilk bir yılında yüksek olduğu görülmüştür.

Bu hastalarda kaza sonrası meydana gelen nörolojik fonksiyonların kaybının tedavisinde çağdaş bilimin ulaştığı noktanın yetersizliği, hastaların ailelerine ve ülkelerine gerek ekonomik gereksede sosyal bağımlılıklarını artırmıştır. Trafik kazasına geçiren hastaların %81'i 0-44 yaşlar arasında ve %88'ini çalışan aktif bireyler oluşturmaktadır (3). Hastalarda gelişen bu bağımlılıktaki artış, gelişen cerrahi teknikler, alternatif tedavi arayışları neticesinde son yıllarda omuriliğe olan ilgi artmış ve omurilik ile ilgili olan çalışmaların sayısı artmıştır. Kompresyon modeliyle oluşturulan ya da kısmi kesile oluşturulan omurilik felçli deneysel modellerde kalan liflerin omuriliğin iyileşmesinde rol oynayabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle klip kompresyon, kısmi kesile, ağırlık düşürme ile oluşan travma omurilik felç modellerinin yetersiz olduğunu düşünmekteyiz. Bu sebeple çalışmamızda, akut deneysel omurilik tam kesisi yapılarak tam parapleji oluşturulan ratlarda, eritropoietinin ve insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrenin tek tek ve birlikte spinal kordun iyileşmesi ve nörolojik fonksiyonları üzerine etkisini klinik, morfolojik ve patolojik olarak incelemeyi amaç edindik.

GENEL BİLGİLER

TARİHÇE

Spinal kord yaralanmaları sadece günümüz modern hayatının değil çok eski çağlardan beri insanlığın karşılaştığı önemli bir sağlık problemidir. Omurganın travmatik yaralanmalarında ne omurga ne de medulla spinalis yalnız başına etkilenmez. Omurilik, omurga tarafınca sarılarak korunmakta ve spinal kolonun çıkığı veya kırığı gibi durumlarda genellikle beraberinde spinal kord yaralanmasında bulunur (4). Günümüzde omurilik yaralanmaları yalnız başına değerlendirilmeyip vertebral kolonu da içine alan kombine cerrahi ve medikal tedaviler uygulanmaktadır. Son yarım yüzyılda özellikle omurga cerrahisinde ki tekniklerin ve tecrübenin gelişmesi travmatik omurilik yaralanmalarında omurga cerrahisini ön plana çıkartmış ve sınıflamalar daha çok omurganın kırık çıkığına göre yapılmıştır.

Tıp tarihinde omurilik yaralanmaları hakkındaki ilk bilgiler firavunların özel hekimi *Imhotep* (MÖ:2686–2613) tarafından yazıldığı sanılan Edwin Smith Papiruslarıdır. Bu belgede altısı omurga kırığı olmak üzere kırk sekiz olgudan bahsedilmiştir (5).

Hippocrates (MÖ:460–370), kazalara bağlı yaralanmalarda ilk olarak traksiyonla redüksiyonu tanımlamıştır (4). *Hippocrates*, omurganın anatomisi ile ilgilenmiş, omurganın yapısını ve omurgaya yapışan tendonları tarif etmiş, spinöz çıkıntı kırıklarını, spinal dislokasyonu, skolyoz ve post travmatik kifozu tanımlamıştır (5). *Hippocrates*, ayrıca omurgayı redükte etmek üzere bir de traksiyon cihazı tanımlamıştır (6).

Aulus Cornelius Celsus, servikal travma sonrası akut solunum zorluğu ve ani ölüm gelişebileceğini bildirmiştir (7). *Celsus*, alt servikal travmaların paraparezi ve idrar inkontinansına yol açabileceğini bildirerek bu olgularda immobilizasyon ve eksternal stabilizasyondan bahsetmiştir (8).

Kapadokya'lı bir yunan olan *Aretaeus* (MS:81–138) uzun yıllar sonra tarihte yeni bilgilerle ortaya çıkmış ve motor liflerin çaprazlaştığını saptamıştır (9).

Galen (MS:130–201) bu konuya eğilmiş, hayvan ve insan kas-iskelet sistemi ile sinir sistemini incelemiştir. Skolyoz, kifoz ve lordozu tanımlayarak bunları düzeltmeye çalışmıştır. Deneysel olarak omurilik yaralanmasında zedelene düzeyin altında paralizi ve duyu kaybı olduğunu göstermiştir (5).

Orbasius (MS:325–400) bu dönemin hekimlerinden olup, hipokratın redüksiyon cihazına ağırlık ekleyerek spinal travmaların tedavisinde ve deformitelerin düzeltilmesinde kullanmıştır (10,11).

Aegina’lı paulus (MS:625–690) orta çağın ünlü hekimlerinden olup kendinden önceki verileri yedi ciltlik ansiklopedide toplamıştır (5). Omuriliği komprese eden bir omurga kırığı vakasında, bir çıkırla dislokasyonu redükte edip laminektomi yaptığını bildirmiştir. Bir spinal fraktürün tedavisinde elle ekstansiyonu tavsiye etmiştir (4). Aegina’lı paulus’un çalışmaları orta çağ sonrası için oldukça önemlidir. Bu çalışmalar ondan sonra gelecek olan ibn-i sina, razi, al-zahrawi ve sabuncuoğlu şerafettin’in çalışmalarına ışık kaynağı olmuştur (5).

Orta çağın en iyi hekimlerinden olan İbni-Sina (MS 981–1037), omurganın fonksiyonel anatomisi üzerinde durmuş ve hipokratın kullandığına benzer traksiyon sistemlerini kullanmıştır (12).

İbni-Sina ile aynı çağda yaşayan endülüslü hekim *Abulkasim Al-Zahrawi* (MS 936–1013) birçok cerrahi uygulama yapmış, cerrahi aletler geliştirmiştir. *At-Tasnif* adlı eserinde, spinal travma başta olmak üzere birçok spinal patolojiyi gözden geçirmiştir. Al-zahrawi, disloke olmuş omurga için redüksiyon cihazı tanımlamıştır (13).

İslam tıbbında bu gelişmeler olurken, avrupada rönesans öncesi ilk olarak selornoda olmak üzere tıp fakülteleri kurulmuş ve parmalı Roland (1230) burada çalışmıştır. Roland, bir spinal fraktürü manuel olarak ekstansiyonla tedavi etmiştir (4). Roland, 1210 yılında yazdığı *Chirurgica* isimli yapıtında gövde, pelvis ile boyun arasındaki bantlarla spinal travmalarda traksiyon önermiştir (14,15).

Rönesans sonrasında *Ambroise Pare* (1564–1598) spinal travmalarda laminektomiye önermiştir (4). Fransız *Ambroise Pare* gövdeyi anterior ve posteriordan desteklemek için demir korseyi ilk olarak kullanmıştır. Benzer fraktür ve dislokasyonlarda hipokrat'ın ekstansiyon metodunun değişik bir versiyonunu tanımlamıştır. Ayrıca omurilik ve sinir köklerinin yaralanmasına neden olan omurga kırıklarında yerinden oynayan kemik parçalarını cerrahi ile çıkarmıştır (16,17).

Fabricius Hildanus, servikal kırıklı dislokasyonların tedavisinde klemp kullanmayı önermiştir (5). Eğer servikal dislokasyonda klemp kullanma ile redüksiyon sağlanamaz ise internal redüksiyonla düzeltilmesini önermiştir (17). Sonraki yıllarda giderek artan sayıda cerrahi girişime tanık olmaktadır. *Geraud*, 1753'de ve *Louis* 1762'de omuriliğe saplanan şarapnel parçalarını çıkarmış ve daha sonra hastalarında kısmi veya tam düzelleme olduğunu bildirmişlerdir. *Louis* ve *Geraud* kendisinden sonra gelecek cerrahları cesaretlendirmişlerdi (5). *Chopart* ve *Desault*, 1796'da vertebrada kırık olmasa bile omurilik yaralanması olabileceğini, kırık olmasa bile laminektomi yapıp kan ve skar dokusunun çıkarılmasını önermişlerdir (18). *Tyrell* ve *Morgan*, 1827-1826'da travma sonrası spinal hematumlu vakalarını yayınladılar. *Morgan* tedavi ettiği hastaların tamamının kazadan altı gün sonra öldüğünü bildirmiştir (19). *Rogers*'in 1835'deki serisinde, aynı şekilde umut kırıcı sonuçların alınması, cerrahları spinal cerrahiye savunular ve karşı olanlar olarak ikiye bölmüştür (20).

Thorburn, 1889 yılında yazdığı ‘‘*A contribution to the surgery of the spinal cord*’’ eserinde 1814 ve 1889 yılları arasında spinal travma nedeniyle operasyon geçiren ve İngilizce literatürde yer alan elli altı olguyu gözden geçirmiştir (21).

Brown Sequard, 1846 yılında sensoryal liflerin ilk defa çaprazlaştığını gösterdi. Daha sonra *Burdach* (1826), *Turck* (1849), *Clarke* (1851), *Lissauer* (1855), *Goll* (1860), *Flechsigg* (1876) ve *Gowers* (1880) deneysel çalışmalarla liflerin yönlerini ve lokalizasyonlarını açıkça ortaya koymuşlardır (22,23).

Herbert Burrell, 1905 yılında kapalı redüksiyonun başarısız olduğu durumlarda açık redüksiyonu savunmuş ve spinal kord travmalarını sınıflandırmıştır (24). *Krause*

(1857–1937) laminayı her iki tarafta değişik yerden delerek, üstteki ve alttaki özel bir delikle birleştirip, böylece intakt bir parça çıkarmış ve ameliyat sonunda yerine koymuştur (25). Spinal kompresyon kırıklarında, 1930’lu yıllardan itibaren yaygın bir şekilde laminektomi yapıldığı bilinmektedir (26).

Omurga cerrahisinde bu gelişmelerin sağlandığı dönemde, omuriliğe ilgi arttı ve ondokuzuncu yüzyılın ikinci yarısında başlayan çalışmalar omurilik ile ilgili bilgi birikiminin temelini oluşturdu. *Myles*, 1894 yılında kaza sonrası yapılacak olan dekompresif laminektomiyi anlattı. *Harrison*, 1910 yılında aksoplasmik akımın mekanizmasını gösterdi. *Lorento do No*, 1921 yılında vertebralı amfibyumların larvalarında gözlemlendiği rejenerasyondan bahsetti (27,28).

Allen, 1911 yılında köpeklerde omurilik üzerine ağırlık düşürerek deneysel omurilik modelini geliştirdi ve deneysel omurilik yaralanmasında çığır açtı. Bu modelde, omurilik üzerine belirli bir yükseklikten ağırlık düşürülerek travma oluşturulmuş, oluşturulan travmanın şiddeti ağırlık ile yüksekliğin çarpımı (gr-cm) olarak ifade edilmiştir. Bu alışma, 345 gr-cm şiddetindeki bir yaralanmanın omurilikte orta şiddetli bir travmaya neden olduğu, 420 gr-cm şiddetindeki yaralanmanın ise spastik parapareziye, 450 gr-cm şiddetindeki travmanın kalıcı paraplejiye yol açtığını gösterdi (28,29,30,31,32). Bu modelin en büyük dezavantajı omuriliğin sadece posterior kolonunun etkilenmesidir. Halbuki insanlarda travmatik yaralanmalarda daha çok omurilik anterior kolon yaralanması gözlenir. Bu alışma, insandaki spinal kord yaralanması biyomekaniğini en iyi taklit eden modeldir (33,34). Ayrıca Allen yaptığı araştırmada omurilik travması sonrasında oluşan en son nörolojik kötüleşmede sekonder yaralanma mekanizmalarında katkı sağladığını buldu (35).

İkinci dünya savaşı sonrasında *Tarlov*, 1953’de epidural mesafede balon şişirerek omurilik yaralanması modelini oluşturdu. Bundan 25 yıl sonra *Rivlin* ve *Tator* omuriliğe anevrizma klibi yerleştirdi ve omuriliği komprese ederek klibin kapanma gücü ve süresi ile omurilik yaralanma şiddeti arasında ilişki olduğunu gösterdi. *Watson*, 1986’da lazer ile omurilik insizyonu yaptı. *Stokes* ve *Reier*, 1990’da omuriliğe yapılacak olan darbenin şiddetini ve hızını önceden belirleyip

darbenin sonunda öngörülen travmanın olup olmadığını denetleyen elektro-mekanik bir cihaz geliştirdi. *Faden*, omurilik yaralanmalarında hayvan modellerindeki farklılıkların en aza indirgenmesi gerektiğini belirtti (36).

Çok çeşitli yaralanma mekanizmalarının bulunması hayvan deneylerinde, travma sonrasında çok fazla sayıda potansiyel nöroprotektif ajanın keşfine imkan sağladı. Nöroprotektif araştırma sonuçlarının umut kırıcı olması, çalışmaların fetal doku ve kök hücre nakli gibi nöral rejenerasyon araştırmalarının öne çıkmasına ve hız kazanmasına sebep olmuştur (35).

EPİDEMİYOLOJİ

Omurilik yaralanması ile ilişkili sağlıklı verilerin bulunmadığı ülkemizde travma nedenlerinin sıklığının içerisinde ilk sırayı alan trafik kazalarının Amerika Birleşik Devletlerinin istatistiği ile benzerlik gösterdiğini düşünmekteyiz. Amerika Birleşik Devletlerinde 28 ile 55 milyon insanın travmatik omurilik yaralanması olduğu ve bunlara her yıl yaklaşık 10.000 kişinin eklendiği biliniyor. Nedenler içerisinde %36–48 motorlu araç kazaları, %5–29 oranında zor kullanma, %17–21 ile düşmeler, %7–16 oranında da eğlence aktiviteleri sırasındaki kazalar olarak sıralanmaktadır. Bu istatistiklerde kadın/erkek oranı ¼ olarak tespit edilmiştir (1). Yapılan başka bir çalışmada yetişkinlerdeki omurilik yaralanmalarının etyolojik nedenleri Tablo-1’de özetlenmiştir.

Tablo-1: Yetişkin omurga- omurilik yaralanmalarında etyoloji

Yaralanma nedeni	İnsidans (%)
Trafik kazaları	40–50
İş kazaları	10–25
Spor ve eğlence kazaları	10–25
Düşmeler	20
Cebir kullanma bağlı	10–25

Ülkemizde omurilik yaralanmalarının epidemiyolojisi ile ilgili net rakamlar yoktur. Ancak ülkemizde yapılan bölgesel 163 vakalık bir çalışmada erkek/ kadın oranı da 3.29 olduğu bildirilmiştir. Bu seride pediyatrik hastalar %7,9 olarak diğer

serilerden yüksektir. Travma nedenleri, trafik kazası %46,5, düşmeler %30.3, obje çarpması %10.1, spor yaralanması % 3.2, penetran yaralanma %1,6 olarak ortaya konmuştur (38).

Japan Medical Society of Paraplegia tarafından tüm merkezlere gönderilen anketlerle hazırlanan bir epidemiyolojik araştırmanın sonucunda, üç yıllık bir döneme ait spinal kord yaralanmalarının görülme sıklığı 40.2 milyon popülasyon / yıl olarak tespit edildi. Erkek/ kadın oranı 4/1, ortalama yaş ise 48,6±19 olarak gözlemlendi (39). Ayrıca bu çalışmada servikal omurilik yaralanması %75 oranında, torakolomber yaralanma %25 oranında görüldü. Yetişkinlerde omurilik yaralanma seviyeleri tablo-2 de özetlenmiştir.

Tablo-2: Yetişkinlerde omurilik yaralanma seviyeleri

Yaralanma seviyesi	İnsidans (%)
Servikal (C1 den C7-T1)	55
Torakal (T1-T11)	15
Torakolomber (T11-T12 den L1-L2 ye)	15
Lumbosakral (L2-S5)	15

Yaralanma nedenleri arasında diğer tüm serilerde olduğu gibi trafik kazaları (%43,7) ilk sırayı aldı. İkinci sırayı yüksekten düşme (%28,9), üçüncü sırayı ise zeminde düşme (%12,9) aldı (39).

National Spinal Cord Injury Statistical Center'ın, 2004 yılında yayınladığı bir çalışmada USA'da yıllık 11.000 yeni travmatik omurilik yaralanma vakasının olduğu ve prevalansın 40 milyon nüfusta 250 000 olduğu bildirildi. Ulusal Sakatlık ve Rehabilitasyon Araştırma Merkezine başvuran hastaların %34,1'i inkomplet tetrapleji, %23'ü komplet parapleji, %18,3'ü komplet tetrapleji, %18,5'i inkomplet parapleji olduğu saptandı ve bu hastaların %1'inden azında tam iyileşme gözlemlendi (2). Tablo-3'de yetişkinlerde omurilik yaralanması sonrası ortaya çıkabilecek klinik durum *ASIA* sınıflandırması yapılarak özetlendi.

Tablo-3: Yetişkinlerde omurilik yaralanmasında nörolojik sekelin derecesi

Nörolojik yaralanmanın şiddeti	İnsidansı (%)
Komplet ASIA-A	45
İnkomplet ASIA-B	15
İnkomplet ASIA-C	10
İnkomplet ASIA-D	30

Pediyatrik yaş grubunda omurilik yaralanmalarının gerçek insidansını bilmek oldukça zordur. Çünkü beraberinde kafa travmasını içeren, hatta ölüme sonuçlanan politravmalar olmaktadır. Pediyatrik yaş grubunda, en sık travmatik omurilik yaralanmasının nedeni motorlu taşıt kazalarıdır. Bu yaralanmaları sporla ilgili yaralanmalar ve düşmeler izlemektedir (40,41). Diğer nedenler içerisinde çocuk suistimali ve çocuğa karşı şiddet uygulanması vardır (42,43).

Çırak ve arkadaşlarının 1991–2002 yılları arasında yaptığı bir başka çalışmada çocukluk çağı omurilik yaralanmalarının yaşa göre dağılımları, etyolojik nedenleri ve yaralanma seviyeleri gösterilmiştir (44). Bu çalışmanın sonuçları Tablo-4 ve tablo-5’de özetlenmiştir.

Tablo-4: Çocukluk çağı omurilik yaralanmalarının etyolojik nedenleri ve yaşlara göre dağılımı

Etyoloji (%)	Trafik kazaları	Düşmeler	Spor	Yayaya ait	Çarpışmalar	Bisiklet	Dalma	Ateşli silah
0–1 Yaş	%71	%12	-	-	%18	-	-	-
2–5 Yaş	%37	%48	-	%11	%4	-	-	-
6–9 Yaş	%29	%34	%10	%17	%4	%4	%1	-
10–14 yaş	%24	%18	%29	%9	%9	%5	%3	%2

Tablo-5: Çocukluk çağı omurilik yaralanma seviyeleri

Yaralanma Seviyesi (%)	0-C4	C5-7	T1-10	T11-L1	L2-S	TOPLAM
0-1 Yaş	%63,6	%18,2	%9,1	%9,1	%0	%7,6
2-5 Yaş	%48,4	%16,1	%9,7	%6,5	%19,4	%21,4
6-9 Yaş	%60	%16,7	%3,3	%6,7	%13,3	%20,7
10-14 Yaş	%37	%13,7	%12,3	%5,5	%31,5	%50,3

Spinal yaralanmalar, pediyatrik yaşta iki dönemde artış gösterir. Beş yaş altı ve 10 yaş üstünde. Çocukluk çağında rapor edilen eş zamanlı servikal omurilik yaralanma oranı %10 ile %53 arasındadır (45,46). Servikal yaralanmalar torakal yaralanmalara göre daha fazla nörolojik defisite neden olur. Çocuk ve adölesanlarda 41 yıllık izlem sonunda yapılan bir araştırmada, servikal yaralanma oranı ortalama 100 binde 7.41 olarak bulundu (47). Spinal kord travması sonrası oluşan komplikasyonlar açısından çocuklarda yetişkinler gibi aynı riski taşımaktadır (48). Çeşitli raporlarda servikal yaralanmaların tüm diğer spinal yaralanmalara göre %42-%63 oranında daha fazla görüldüğü belirtilmiştir (45,49). Omurilik yaralanmasından şüphe edilen 30 çocukta yapılan otopsi çalışmasında, direk ölüme sebep olabilecek yüksek servikal omurilik yaralanması %26,7 olarak tespit edilmiştir (50).

Tablo- 6: Akut omurilik yaralanmasında yaş dağılımı

Yaş	İnsidans (%)
Doğum-10	10
11-20	20
21-30	25
31-40	15
41-50	10
51-60	10
60 üstü	10
Toplam	100

DENEYSEL OMURİLİK YARALANMASI

Deneysel omurilik travma modelleri oldukça önemli anatomik, biyokimyasal, nörofizyolojik ve fonksiyonel bilgiler verir (51). Deneysel omurilik yaralanmalarında kullanılan yöntemlere bakıldığında birçok travma modeli tanımlanmıştır (52,53). Bu modellerde elde edilen veriler, insanda oluşan omurilik yaralanmaları hakkında hem patofizyolojiyi anlamak hem de standart bir tedavi geliştirilmesi için kullanıldı. Hayvan modelleri ile omurilik lezyonlarının morfolojisi ve fonksiyonel iyileşmeleri korele edilerek rasyonel yaklaşımlar geliştirilmeye çalışıldı. Birçok deneysel model ile insanda akut omurilik yaralanması taklit edilmiştir (54). Bu deneysel çalışma modelleri arasında en sık kullanılanlar; kompresyon, akut kinetik kompresyon, akut statik kompresyon, fotokimyasal statik yaralanma, tam omurilik kesisi, yarı omurilik kesisi ve soğuk uygulama modelidir.

Tablo 7: Genişletilmiş deneysel omurilik yaralanması modelleri

A- Travmatik yaralanma
1-Akut kinetik kompresyon: Kaf, Klip, Balon Kompresyon, Vertebral Dislokasyon ve İmpaktör.
2-Akut Statik Kompresyon: Ağırlık uygulama
3-Ağırlık Düşürme
4-Akselerasyon-Deselerasyon
5-Distraksiyon
6. Kesi: Parsiyel veya Komplet (Laser, Bistüri)
B-Non Travmatik Yaralanma
1-İskemi: Aort Oklüzyonu, selektif arteriyel veya venöz oklüzyon
2-Tümör kompresyonu: Ekstradural
3-Kimyasal, Fotokimyasal

Deneysel omurilik yaralanması modelleri

Kinetik kompresyon modeli, bir saniyeden daha kısa bir süre, statik kompresyon ise bir saniyeden daha uzun süre ile gerçekleştirilen omurilik kompresyon modelidir.

Allen, 1911 yılında ilk kez köpek omuriliğine ağırlık düşürdü. Freeman, 1953 yılında Allen'in modelini modifiye etti. Cismin yüksekliği ile ağırlığı çarpılarak omuriliğe uygulanan enerji hesaplanmaya çalışıldı. Ağırlık düşürme en yaygın kullanılan, kolay ve nispeten değişmez yaralanma oluşturan bir modeldir. Klip kompresyon, balon ile kompresyon ve ağırlık düşme modelleri bir çalışmada karşılaştırılmış ve ağırlık düşme modelinin klinik modellere daha uygun olduğu bildirilmiştir (55).

Kontrollü kontüzyon modeli, 1982 yılında Anderson tarafından geliştirildi. Bu modelde, omurilikte oluşturulacak yaralanmanın şiddeti ve hızı birbirinden bağımsız olarak değiştirilebilir. Bu yöntemde C6 ve C7 spinöz çıkıntıları klemplerle sabitlenip, laminektomi yapmadan interlaminer aralıktan omurilik yaralanması oluşturuldu. Storke ve arkadaşları, 1992 yılında Anderson'un bu modelini modifiye etti. Bu modelde transduserler tarafınca ölçülen kuvvet, bilgisayara verilmekte ve sonuç olarak her travmanın omuriliği ne kadar etkilediği kantitatif olarak ölçülebilmektedir (55).

Rivlin ve Tator, 1978 yılında klip kompresyon modelini geliştirdi (50). Bu modelde, laminektomi sonrasında omurilik değişik sürelerde (3 saniye, 1 dakika ve 5 dakika) anevizma klipi ile komprese edildi. Bu model, kompresyon süresince travmanın şiddeti ile nörolojik yaralanmanın şiddeti arasındaki ilişkiyi göstermesi açısından önemlidir. Bu deneysel modelde, travmanın etkisi klipin kapanma gücü ve kompresyon süresi ile doğru orantılı olarak artmıştır (51). Bu modelin avantajı omuriliğin klip konulan segmentinin tamamının travmaya maruz bırakılarak, aynı anda iskemiye yol açarak insanlarda meydana gelen travma sonrası omurilik yaralanmalarına benzer bir model oluşturmasıdır (56,57).

Spinal kord yaralanmaları sonrasında sağlam kalan az sayıda lif nedeniyle zaman içinde bazı nöral fonksiyonların iyileşme gösterebildiği, yukarıda bahsedilen modellerin bir kısmında posterior omurilik yaralanması yapıldığı haldeki motor yolların anterior omurilikte olduğu düşüncelerinden yola çıkılarak farklı modeller oluşturulmuştur.

Ventral kompresyon tekniği, Benzel tarafından 1990 yılında tarif edildi. Bu model, insan omurilik yaralanmasında kemik ve bağ dokusunun etkisi olduğu düşünülerek vertebranın da hasar gördüğu bir model olarak öngörölmüştür (58).

Spinal kord kesi modellerinden en sık kullanılan iki model, tam ve parsiyel kesidir. Bu yöntem omuriliğin bistüri ya da lazer ile horizontal planda parsiyel ya da komplet olarak kesilmesidir. Omurilik rejenerasyonunu inceleyen araştırmalar için daha uygundur. Çünkü klinik omurilik yaralanmalarına benzememektedir. Lazer kullanılarak kesilen omuriliklerde bistüri ile kesilenlere göre daha iyi revaskülarizasyon görölmektedir. Ayrıca lazer ile yapılan kesilerde cerrahi travma sabit ve kontaminasyon olmadığı için enfeksiyon riski düşüktür (55).

Klinikte omurilik yaralanmasında tam kesi nadiren ortaya çıkmasına karşın omurilik yaralanması ilgili değerli bilgiler vermesi nedeniyle kesi lezyon modelleri son derece önemlidir. Tam keside travma modelinin eksiksiz yapılabilmesi için kordun tamamının kesildiğinden kesin olarak emin olunmalıdır. Bu modelin en büyük avantajı yapılan birçok çalışmada omuriliği tam kesilmiş deney hayvanlarının yerel lokomotif yeteneklerinin kesinlikle tanımlanmasıdır. Bu tip keside bu bölümde bahsedilen modellerin hepsinde bulunan spontan nöral iyileşme ihtimali yoktur. (51,59).

Parsiyel omurilik kesi modelinde omurilik selektif olarak kesilir. Oluşturulan lezyonun önemi, oluşan nörolojik defisit tam omurilik kesisine nazaran daha yumuşak olmasıdır. Böylelikle operasyon sonrasında hayvanın korunması oldukça kolaylaşmaktadır (51). Spesifik traktus kesi modellerinin en önemli dezavantajı hedeflenen traktusların kesilememe gibi bir ihtimalin olmasıdır. Kesildiği sanılan aksonların sonuçlarının değerlendirilmesi aşamasında bu nedenle, yanlışlıkla rejenerasyon olarak değerlendirilebilir (55). Anlatılan bu modellerin en büyük özelliği kolaylıkla uygulanabilirliği ve tekrar edilebilirliğidir.

Omuriliğin iskemi ile yaralanması modelinde lumbosakral bölgeye balon kateter yerleştirilerek abdominal aortada geçici oklüzyon yaratılır. İskeminin limiti

20 dakikadır. Bu modelde tedavi sonrası kötülemeden 24–48 saat sonra arka bacaklarda sıklıkla bazı iyileşme olduğu gösterilmiştir (60).

Tümör kompresyon modelinde genellikle akciğer adeno karsinomu kullanılır. Bu model orta hat anteriordan 3 cm'lik cilt insizyonu açılarak yapılır. Daha sonra diseksiyona derindeki kemik *high speed drill* yardımıyla görülene kadar alınır ve kemik içerisinde bir kavite oluşturulur. Bir mm³ tümör parçası açılan kavite içerisine yerleştirilir. Açılan delik polimetil metilakralat ile kapatılarak deneysel model oluşturulur (61).

Deneysel omurilik yaralanması sonrası, travmanın deney hayvanı üzerinde ki etkilerinin standart olarak değerlendirilmesinde kullanılan çeşitli parametreler geliştirilmiştir (62).

Deneysel omurilik yaralanması modellerinde takip parametreleri

Tarlov sıçanın motor fonksiyonlarını altı sınıfta toplayarak subjektif muayeneyi kantitatif hale getirmiştir. Tarlov plejik sıçana '0' puan, normal sıçana 5 puan verdi. Daha sonra Stoke ve Reier, Tarlovun testini modifiye ederek modifiye Tarlov testini oluşturdu (55).

Tablo–8: Modifiye Tarlov Testi

0	Flask paralizi
1	Sadece hareket var. Ancak bu hareket refleks olmamalı ve bilekte görülmemeli.
2	Bir ekstremitenin 3 eklemi arasında koordinasyon var.
3	İnkordine duruş ile gövdeye aktif destek.
4	Arka ve ön ekstremiteler arasında bilek ve ayak kontrolü olmadan koordinasyon olabilir, gövde desteğinde değişiklik var.
5	Normal duruş, hızlı dönüşlerde denge kaybı olmadan gövdeyi destekleme.

Bir diğerk test Rivlin ve Tator'un eğik düzlem testidir. Rivlin ve Tator tarafından 1977 yılında geliştirilmiş objektif bir yöntemdir. Bu yöntemde sıçan eğik düzlem testi üzerine yerleştirildikten sonra düzlemin açısı giderek artırılır, bu artış sırasında hayvanın beş saniye süreyle devrilmeden kalabildiği en yüksek açı, o sıçanın eğik düzlem derecesi olarak belirlenir. Bu testte sıçan, eğik düzleme baş aşağıda ya da yukarı (sağ ya da sola) pozisyonda yerleştirilebilir. Bu test iki yönlü eğik düzlem testi olarak isimlendirilir. Bu sistem omurilik yaralanması sonrasında rubrospinal traktus ve primidal olmayan traktusların bütünlüğünü gösterir. Aynı zamanda eğik düzlem testi, klip kompresyon testinin güvenilirliğini ve sensitivitesini artıran bir test olduğu gösterilmiştir (63).

Basso- Beattie- Bresnahan (BBB) lokomotor skalası ilk olarak Basso, Beattie ve Bresnahan tarafınca isimlendirilmiş ve kişilerin ilk harfleri alınarak kısaltılmıştır. Bu test dünyanın her yerinde omurilik yaralanması oluşturulan sıçanlarda, lokomotor fonksiyonların test edilmesinde kullanıldı. Bu test ile açık alan testi modifiye edildi ve sıçanların arka bacaklarının lokomotor fonksiyonları 0'dan 21'e kadar derecelendirildi. Kalçada, dirsekte ve ayak bileğinde isole hareketler sıfırdan yediye kadar puan verildi. Puanın, sekiz ile on üç arasında olması pençenin dönmesi ve arka bacaklar ile koordinasyonu sağlaması anlamındadır. Skorun 14 ila 21 arasında olması kuyruk pozisyonunun, gövde stabilizasyonunun, ayak parmak uçlarıyla basmanın ve predominant pençe pozisyonunun geri döndüğünü gösterir. Bu testler sırasında video kamera kayıtlama önerilmektedir (63).

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 (64).

Fonksiyonel manyetik rezorans görüntüleri kusursuzdur. Bu metotta ratların ön ve arka bacaklarına bipolar stimulator elektrotları yerleştirilir. Bacak elektrotları uyarıldıktan sonra somatosensoryal korteks ve/veya subkortikal sensoryal alanlar kayıt edilir. Bu metot, motor ve sensoryal fonksiyonların iyileşmesi arasındaki farklılıkları anlamamıza katkı sağlar (63).

Omurilik yaralanması sonrası oluşan sistemik ve lokal değişiklikler karşılıklı olarak birbirinden ayrı tutulamaz. Bu sebeple sistemik kan akımı ve omurilik kan akımı omurilik yaralanmış hastaların yönetiminde kritik öneme sahiptir (65). Bu nedenle travma sonrası omurilik kan akımının ölçümü için deneysel modeller geliştirildi. Bu modellerde genel anestezi altında trakeostomi açılan ratlarda, travma seviyesi ve travma komşuluğundaki seviyede hidrojen klirensi ölçülerek travma alanındaki kan akımı kayıt altına alındı (65). Omurilik kan akımının ölçülmesinde ayrıca C14-antiprin otoangiografik yöntem (sadece bir kez ölçüm yapılır ve hayvan öldürüldükten sonra yapılır) ve radyoaktif mikrosfer yöntemleri de vardır (55).

MEP piramidal yolları monitörlediği için motor fonksiyonların düzelmesini kontrol etmede SEP'e göre daha değerlidir (55). Bu yöntemde anestezi altında olan deney hayvanlarında MEP'i ortaya çıkarmak için perkutan olarak yerleştirilen paslanmaz çelik özelliğine sahip uyarı elektrotları ile transkranyal yolla motor korteks uyarılır. Daha sonra uyarının cevabı arka bacak periferik iskelet kaslarından kaydedilir. Kullanılan kas genellikle gastrokinemustur (63). Bunun yanında inen yolların projeksiyonu fonksiyonel olarak tayin etmek için sensoryomotor kortekste, elektiriksel stimölasyon ile sensoryal evok potansiyel (SEP) üretilir, bu SEP'ler dorsal rootlardan kaydedilir (66). Bu şekilde somato-sensoryal evok potansiyeller ortaya çıkar. SEP omurilik yaralanması sırasında dorsal kolondaki aksonlar üzerindeki stresi monitörlenmektedir. Travma sonrası SEP ölçümleri, olacak olan iyileşmeyi tahmin etmede iyi bir yöntemdir (55). Elektrofizyolojik tekniklerin avantajları, kas aktivasyonlarından kesinlikle emin olunması, refleks latansı ve refleks cevabının rölatif gücü hakkında bilgi edinilmesidir. Bu metodun dezavantajları implantlarla elektiriksel stimölasyon yaratılması ve kayıtlama için kayıtlama cihazının gerekmesidir (63). Gerek MEP gerekse de SEP kayıtları sırasında ısı monitörizasyonu yapılması gerekmektedir. Çünkü kayıt sırasında ısı değişikliğine bağlı latans değişiklerinin olduğu saptanmıştır (67).

Omurilik yaralanmalarının biyokimyasal değerlendirilmesinde, hücre içine girerek sitotoksik olaylar zincirini başlatan kalsiyum iyonunun ölçümü mümkündür. Laktat, piruvat, aspartat, glutamat düzeylerinin ölçümü omurilikte invivo olarak

mikrodiyaliz yöntemiyle yapılabilir. Ayrıca katalaz, süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzimlerin ölçümleride yapılabilir (55).

Omurilikte travmanın spesik traktuslara olan olumlu ya da olumsuz etkilerini belirlemede akson tarayıcıları yöntemi kullanılır. Bu amaçla radyasyon etkili veya flouresan izleyiciler (tracer) aynı amaçla kullanılmaktadır. *Horseradish peroksidaz* en yaygın olarak kullanılan yöntemdir (55).

OMURİLİK YARALANMASINDA FİZYOPATOLOJİ

Omurilik yaralanması, ilk olarak bir mekanik veya primer yaralanma sonrası moleküler veya hücrel olayları takiben ortaya çıkan ikincil olaylar ve buna bağlı ilerleyici omurilik dokusu kaybıdır (68).

İkincil hücre ölümü dalgası esas olarak nöronları ve oligodentrositleri etkiler ve böylelikle rostral ve kaudal'de etkilenen alanlara yayılır. İkincil yaralanmanın mekanizması omuriliğin vaskülarizasyonunun azalması veya iskemi, glutamaterjik eksitotoksisite, oksidatif hücrel stres, lipit proksidasyonu ve inflamasyonu içerir. Bunlardan yalnız biri veya birçoğu birleşerek apoptosisi tetikleyebilir (68).

Yaralanmadan sonra başlayan bu ikinci hasar kaskadının durdurulması ya da yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacıdır. Akut omurilik yaralanmasında ikincil hasardan koruma nöroproteksiyon (nöral koruma) olarak adlandırılır. Hasarlı aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeli kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik ve klinik iyileşme rejenerasyon olarak adlandırılmaktadır (69).

Özellikle son yirmi yılda omurilik yaralanmalarında farmakolojik birçok çalışma yapılmış ancak bunlardan hiçbiri insanda uygulanacak standart tedavi şekline gelmemiştir. Yaralanmış omurilikte rejenerasyonu uyarmak amacıyla, skarın küçültülmesi, x-ışınlama, elektriksel uyarı, nörotrofik faktörler, greftlemeler, omentum transplantasyonu, nörit büyüme inhibitörlerinin nötralizasyonu gibi yaklaşımlar denendi. Son yıllarda yaralanmış omuriliğe *Schwann* hücreleri, olfaktör hücreler, embriyonik ya da erişkin kök hücre gibi hücrelerin ekilmesi popülerite kazandı ve bu

girişimlerin hepsi hücre tedavileri olarak adlandırıldı (70). Deneysel aşamadaki çalışmalar, omurilik hakkındaki bilgi dağarcığımızı artırdı. Yapılan deneysel çalışmalar, yaralanma sonrası ortaya çıkan omurilik hasarının karmaşık olduğunu, birincil ve ikincil yaralanma olarak iki aşamada geliştiğini ortaya koymuştur (71,72,73).

Primer yaralanma

Birçok değişik mekanik stresin omurilikde uygulanması, akut travmatik omurilik yaralanması ile sonuçlanabilir (74). Aşırı eğilme, aşırı çekilme, aksial kompresyon, rotasyon veya dislokasyon gibi birçok mekanizma da akut omurilik yaralanmasına neden olabilir (74,75,76). Makaslanma sonrasında da tam omurilik kesisi ve/veya doku kaybı meydana gelebilir veya *'firearm weapon'* yaralanması ile sonuçlanabilir (74,75). Omuriliğin gerilmesi, geçici nörolojik defiste neden olur, bunun en yumuşak şekli konküzyondur ve omurilik üzerinde ki gerilimin dahada artması tam ve kalıcı nörolojik hasara neden olur (1,75). Travmatik omurilik yaralanmasında yaygın olan inanis, kemiklerin parçalı kırığının persistant kompresyonun birlikte akut travmatik spinal kord yaralanmasını oluşturmasıdır (75). Birincil yaralanmanın derecesi yaralanmaya neden olan gücün büyüklüğüne, etki süresine ve omurilik tarafından abzorbe edilen enerji miktarına göre değişir (70). Travma sonrasında periferik ve santral sinir sistemi gibi nöral elamanlar parçalanmış ve yer değiştirmiş kemik fragmanlar, disk metaryali ve ligamanlar ile direk basıya uğrar. Kan damarları yaralanır, aksonlar yırtılır ve nöral hücre membranları bozulur (1). Dakikalar içerisinde santral gri maddede mikrohemorajiler oluşur ve birkaç saat içerisinde radial ve aksiyal yönde yayılır. Dakikalar içerisinde yaralanma seviyesinde spinal kord şişerek spinal kanalın içini tamamen doldurur. Venöz basıncın artması sekonder iskemiyle tetikler. Kan akımında otoregülasyon bozulur ve sistemik hipotansiyon ve spinal şok ile sonuçlanır. Böylelikle spinal kordda iskemi daha da artar (1). Spinal şokun şiddeti yaralanmayı oluşturan kuvvetin gerginliğine ve yaralanmanın olduğu düzeye göre değişir. Spinal şok, hızlı destek tedavisi gerektiren bir durumdur (77).

İskemi, parçalanmış nöral membranlardan kimyasal toksinlerin salınımını artırır ve yer değiştiren elektrolitler ikincil (sekonder) yaralanma kaskadını tetikler (1,78).

Sekonder yaralanma (ikincil yaralanma)

İkincil yaralanma, birincil yaralanmayı izleyen dakikalar ve saatler içinde başlayıp haftalarca devam eden bir süreçtir (79,80,81,82). Primer mekanik yaralanmalar, sekonder yaralanmalar için nidus oluşturarak yaralanmanın genişlemesini sağlar (83). Travma sonrası oluşan glial skar dokusu, inhibitör faktörler ve düzeyi azalan trofik faktörler yetişkinlerdeki santral sinir sistemi rejenerasyonunu sınırlandırır (84). İkincil mekanizmalar arasında nörojenik şok, hemoraji ve reperfüzyon iskemisi gibi vasküler nedenler, eksitotoksiste, kalsiyum aracılı sekonder yaralanma, sıvı elektrolit bozukluğu, immünolojik yaralanma, apoptosis, mitokondrilerin fonksiyonlarının bozulmasını sayabiliriz. İkincil yaralanmanın ortaya çıkmasındaki en önemli etkenlerden biri, enerji yetersizliğidir. Bunun erken dönemdeki başlıca nedeni, bozulmuş perfüzyona bağlı iskemidir. Hipoperfüzyondan gri madde daha fazla etkilenir. Bu nedenle hipoperfüzyon doğrudan nöral yaralanmayı başlatabilir.

İkincil omurilik yaralanmalarına yönelik araştırmaların amacı, birincil yaralanmadan sonra hala canlılığını ve distal nöronlarla olan bağlantılarını sürdürmekte olan lezyon bölgesindeki nöronları korumaya, dayanıklılığını artırmaya veya bunlara zarar verecek olan patolojik süreçleri durdurmaya yönelik farmakolojik ajanların bulunması ve kullanılmasıdır.

Nörojenik şok

Omurilik yaralanması nörojenik şokla sonuçlanabilir. Nörojenik şok vazomotor girdilerin artan paralizisi ile doku perfüzyonunun bozulması olarak tanımlanmıştır. Bu süreç bradikardi ve hipotansiyon ile periferik resistansta azalma ve kardiyat output'un azalmasıyla karakterizedir. Bu etkiler semptomatik tonusun azalması, vagal tonusun artmasına bağlı miyokardiyak fonksiyonların depresyonudur (37).

Vasküler yaralanma (hemoraji ve iskemik-reperfüzyon)

Vasküler yaralanma, hemorajik ve iskemik yaralanmanın her ikisinde neden olur. Yaralanma bölgesinde mikrosirkülasyonda özellikle venüllerin ve kapillerin zarar gördüğü gözlenir. İlk mekanik travma nedeniyle rostral ve kaudalde bazı değişiklikler

görülür. Direk mekanik yaralanmalarda anterior spinal arter gibi geniş damarlarda rölatif kısıtlamalar olduğu gözlenir (37,52). Bu yaralanmanın neticesinde küçük alanlarda kanama veya peteşial kanamalar gelişir.

Direk travma ve olası teşvik edici ajan veya ajanların omurilikte vazospazma neden olduğu gösterilmiştir (32). Ayrıca intravasküler tromboz, post-travmatik iskemiyeye katkıda sağlar. İskeminin muhtemel ikincil sebepleri, tromboz ve vazospazma bağlı olarak kan akımının azalması ve mikro sirkülasyonun bozulmasıdır (37,83). Azalmış perfüzyon durumunda hiperemik bir periyod ya da lüks perfüzyon olabileceği üzerinde tartışmalar da vardır. Bu varsayımın oluşumunda, laktat gibi asit metabolitlerinin birikimiyle perivasküler bölgede pH'nın düşmesi sorumlu tutulmaktadır. Böylece reperfüzyon yaralanmayı ve hücre ölümünü artırmaktadır (37,83). İskemi süresince oksijen kaynaklı serbest radikaller artar (süperoksid, hidroksil radikalleri ve nitrik oksid ve diğer yüksek enerjili oksidanlar gibi) (78,83). Özellikle erken reperfüzyon döneminde belirgin olarak artış gösterirler (83). Bu yüksek reaktif oksijen ve nitrojen molekülleri oksidatif strese katkı sağlayarak sekonder omurilik yaralanmasına katkı sağlarlar. Bu oksijen ve nitrojen molekülleri nitrikoksit sentetaz, fosfolipazın kalsiyum aracılığı ile aktivasyonu, ksantin oksidaz, enflamatuvar hücreler, *fenton* ve *haber-weiss* reaksiyonu içeren multipl hücresel yollar ile üretilirler (78,83). Ne zaman ki oksidan stres hücre antioksidan üretimini geçer, o zaman bu olay nörotravmaya neden olur. Bu reaktif moleküllerin artan üretimi daha sonra protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidasyonuna neden olur (78,79). Bu moleküllerin aracılığıyla mitokondrial respiratuvar zincir enzimlerinin inaktivasyonu, gliseraldehit 3-fosfat dihidrogenazın inaktivasyonu, Na-K ATPaz'ın inhibisyonu, membran sodyum kanallarının inaktivasyonu ve anahtar proteinler zarar görür.

Eksitotoksisite

Glutamat santral sinir sisteminde major eksitator nörotransmitterdir. Omurilik yaralanması sonrasında çok fazla miktarda salınır ve eksitotoksik hücre ölümünden sorumludur (87). Glutamatın fazla birikimi omurilikte direk ve indirek zararlı sonuçlanır (38,83,79). Glutamatın hücre reseptör aktivasyonu özellikle NMDA (*N-methyl-D-aspartate*) ve AMPA-kainate (*alfa-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate-kainate*) reseptör subtipleri, iskemik zararın oluşumunda kritik öneme

sahiptir (87). Eksitoksisitenin santral sinir sistemi (SSS) yaralanmasında merkezi bir rolü olduğu kabul edilir. Glutamat reseptör aktivasyonu sonucu hücre içi erken sodyum birikimi gözlenir (79,88). Üretim sonrasında sitotoksik ödem ve hücre içi asidoz gelişir (56,79,83). Na-K ATPaz'ın bozulması hücre içerisinde sodyum ve su birikimini ve potasyumun hücre dışına kaybını dahada artırır (37,56,79). Gerçekte hücre içi kalsiyum birikiminin SSS'de toksik hücre ölümünde son ortak yol olduğu gösterilmiştir. Glutamat nörotoksitesi, reaktif oksijen ürünleri ve nitrojen spesmenlerinin aracılığıyla olur. Eksitoksisite, özellikle NMDA reseptörleri aracılığıyla kompleks olayları başlatılır ve bundan sonra reaktif moleküller oluşur. Bu reaktif moleküller hücre zarı ve hücre organellerinde bulunan lipidin peroksidasyonunu başlatarak nöral hücre ölümüne katkıda sağlar (56,79,83). Na-K ATPaz'ın inaktivasyonu, membran sodyum kanallarının inaktivasyonuna, direk olarak mitokondrial oksidatif zincir enzimlerin inaktivasyonuna, gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz inhibisyonuna neden olur (56,78,79).

Kalsiyum aracılı sekonder yaralanma

Yüksek intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu değişik mekanizmalar ile ikincil yaralanmaya neden olur. Bu mekanizmalardan biri de mitokondrial fonksiyonların engellenmesidir. Hipoksi ve ilk yaralanmanın sekonder iskemisi nedeniyle zarar görmüş olan hücrelerde, hücre solunumu inhibe eder (83). İntrasellüler kalsiyum artışı kalsiyuma bağımlı bir dizi proteaz ve lipazları aktive eder, bu enzimler kalpainler, fosfolipaz A2, lipoksijenaz ve sikloksijenaz enzimleridir (79). Deneysel omurilik yaralanmalarında omurilik penumbra inflamatuvar hücre ve aktive glial dokuda kalpain aktivitesi de artar (88,89). Axon-Myelin unitin yapısal proteinlerini içeren SSS'de önemli yapısal bileşenlerinde kalpainler azalabilir. Ek olarak kalsiyuma bağımlı proteazlar ve kinazlar hücre membranlarını yıkar ve nöroflamentöz gibi hücre ultrasutruktürel yapılarının belirli bileşenlerinin dağılmasına yol açar. Lipaz, lipoksijenaz ve sikloksijenaz aktivasyonundaki artış araşidonik asidin tromboksanlara, prostaglandinlere ve lokotrienlere dönüşmesine neden olur ve bu metabolitlerin seviyelerindeki artış yaralanma anında omurilik yaralanması ile ilişkilidir. Hatta ödem dokusunda ve sodyum potasyum ATPaz'ın inhibisyonu ile ilişkili olarak travmadan yaklaşık yirmi dört saat sonra gecikmiş artış gözlenir (37,83,79). COX-1'in devamlı bir birikimi, mikroglia ve makrofaj ekspresyonunu

artırdığı görülmüştür ve deneysel omurilik yaralanması sonrasında endotelyumda COX-1 dışı vurumunda artış olduğu görülmüştür (79,90). Araşidonik asit dönüşüm ürünleri, düşen kan akımına katkıda bulunur. Bunu da vasokonstrüksiyon ve trombosit agregasyonu ile sağlarlar (79,83). Ayrıca araşidonik asit dönüşüm ürünleri, inflamatuvar yanıt ve lipid peroksidasyonuna da katkı sağlarlar. Bu lipid peroksidasyonu sonucu serbest radikaller oluşur. Oluşan bu radikaller membranlara zarar vermeye devam eder ve bu süreç daha fazla lipid peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu ile sonuçlanır. Bu devam eden süreç endojen antioksidanlar olan alfa-tokoferol ve süperoksit dismutazla durdurulmaya çalışılır (83).

Son zamanlarda ikincil yaralanmaya katkı sağladığı kabul edilen COX-2'ler deneysel modeller ile çalışılmıştır. Deneysel omurilik yaralanmalarında COX-2'nin messenger RNA ve protein sekresyonunu artırdığı gösterildi (91). Omurilik eksitoksisitesinden ve membran yaralanmasına bağlı ortaya çıkan yaygın substratlardan COX-2 sorumlu olabilir. Kalsiyumun salınımı, membranla ilişkili fosfolipazın aktivasyonuna neden olur ve araşidonik asidin açığa çıkmasında katkı sağlar. Ekstrasellüler eksitator nörotransmitterlerin artışı nöral aktiviteyi artırır ve kortikal nöronlarda COX-2 ekspresyonunun induksiyonu ile sonuçlanır (83). Sonuç olarak direk toksisite ve nöral ölümle sonuçlanabilir. Yapılan birçok deneysel çalışmada, omurilik yaralanmaları sonrasındaki sonuçlar selektif COX-2 inhibitörleri geliştirmiştir (83,92).

Ekstrasellüler potasyum artışı nöronlarda aşırı depolarizasyonla sonuçlanır, bu da nöronlarda iletimi olumsuz etkiler. Diğer elektrolit bozukluklarından magnezyum düşüklüğüne daha az ilgi duyulmuştur. Hücre içinde magnezyumun azalması ayrıca hücre içi kalsiyum birikimine katkı sağlar (83,79). Magnezyumun NMDA reseptörünü bloklayarak nöronal hücreleri koruduğu düşünülmektedir.

İmmünolojik ikincil yaralanma

Spinal kord yaralanması, SSS'deki bazı hücrelerin aktivitesinde değişikliği neden olur. Bazı glial hücreler eksitotoksik aminoasit seviyesi ve pH regulasyonunu içeren değişik mekanizmaların yardımıyla SSS'de hemostazı sağlar. Spinal kord yaralanmasından sonra bu glial hücreler hemostazın sağlanmasında başarısız olur.

Doku asidozu ve eksitotoksik süreçte bu olaya katkı sağlar. Diğer glial hücreler bazı bileşikler salgılayabilir, bu bileşikler nöral gelişimi etkileyebilir. Bu bileşikler nörotrofik büyüme faktörleri içerir. Bu faktörler aracılığıyla zarar gören nöronal ağ yeniden düzenlenebilir, bunu da zarar görmüş nöronlardan yeni aksonal dalları uyarak yapar. İşte inhibitör faktörler bu aktiviteyi engelleyebilirler. Bununla birlikte SSS'i yaralanması sonrasında açığa çıkan hücre yıkım ürünlerinin temizlenmesi fonksiyonunu üstlenirler. Bazı oksidatif ve lizozomal enzimlerin etkinliğinin artması hücrel yaralanmayı dahada artırabilir (37,83).

Travma sonrasında bifazik lokosit yanıtı vardır. Başlangıçta nötrofil infiltrasyonu baskındır. Bu lokositler, litik enzimlerin salınımı sonrasında nöronlarda, glial hücrelerde ve kan damarlarında yaralanmanın şiddetini artırabilirler. İkinci faz ise yaralanan dokuların fagositozu için makrofaj *recruitment* ve migrasyonudur (93).

İmmunolojik aktivasyonun progresif doku kaybını artırdığı ve/veya SSS'i yaralanması sonrasında nöronal rejenerasyonu inhibe ettiği hakkında bilgiler vardır. Yaralanmış spinal korda, bazı immün hücrelerin fonksiyonel önemi tartışmalıdır. Makrofaj ve mikroglialar, nöronal rejenerasyonun önemli bileşenleri olarak kabul edilmiş ve oligodendrosit lizisi, nöral hücre ölümü ve demiyelizasyona katkı sağladığı ileri sürülmüştür (94). Spinal kordun direk kontüzyonu, santral sinir sistemi myelin'inin bir komponentine karşı kendi immün sisteminin sentizisasyonla sonuçlanabilir (95).

Lokosit infiltrasyonunun ikinci fazı primer yaralanmadan hemen sonra ilk 24 saat içinde başlayan korunmuş aksonlarda demiyelizasyona katkı sağlar ve bunu takip eden birkaç gün süresince pik yapar (93). Bu süreç beyaz ve gri cevherde kavite alanların oluşumuna katkı sağlar. Wallerian dejenerasyon belirgin hale gelir ve ardından skar gelişir. Skarlaşma astrositler ve fibroblastlara katkı sağlayan glial hücreler aracılığı ile olur (93).

Yaralanmış SSS'inde, immün hücrelerin toplanması birçok protein aracılığı ile sağlanır. Bu mediatörlerden biri ICAM-1'dir. ICAM-1, immün yanıtta doku içerisinde nötrofil infiltrasyonunu artırarak katkı sağlar. Buna rağmen ICAM-1'in akut spinal

kord yaralanmasından sonra ikincil hasardaki rolü tam olarak tanımlanmamıştır. Spinal kord yaralanması sonrasında ICAM-1'in sekonder yaralanma ile ilişkisi özellikle ICAM-1'e karşı geliştirilmiş bir monoklonal antikor yardımıyla myeloperoksidaz aktivitesinin süprese edilerek, spinal kord ödemi azalttığı ve omurilik kan akımını artırdığı gösterilmiştir (96). Diğer önemli mediyatörler P-Selektin gibi adezyon moleküllerini ve interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi sitokinlerdir (97,98). Bir deneysel çalışma ile interlökin-10'nun (IL-10) TNF'nin üretimini azalttığı gösterilmiş ve böylelikle spinal kord yaralanması sonrasında diğer immün hücrelerin ve monositlerin aktivasyonu üzerinde bir kısıtlayıcı etki oluşturarak etki gösterdiği ortaya konmuştur (99). Ayrıca bu araştırmada travmatik spinal kord yaralanmasının nükleer faktör-kappa β aktivasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Nükleer faktör-kappa β bir ailesel transkripsiyon faktörü olarak tanımlanır (100). İmmün modülasyonun cevabının spinal kord yaralanması ile ortaya çıkması önemlidir. Çünkü sekonder yaralanmanın azaltılmasında bir potansiyel teropatik hedefdir (101).

Apoptosis

Apoptosis, programlanmış hücre ölümü olarak da isimlendirilmektedir. Bu temel hücresel süreç neredeyse bütün dokularda ve organlarda görülmektedir (102). Apoptosis, birçok değişik durumda gözlenen programlanmış hücre ölümünün morfolojik bir tanımıdır (103). Apoptosis sitokinler, inflamatuvar yaralanma, serbest radikallerin zararı ve eksitoksisiteyi içeren birçok değişik yaralanma ile tetiklenebilir (83). Son zamanlarda travmatik spinal kord yaralanması sonrasında apoptosis tanımlanmıştır (104).

Akut spinal kord yaralanmalarından sonra ikincil yaralanma sürecinde, oligodendriositlerin ortadan kaldırılması apoptosisin bir sonucu olarak düşünülmüştür (102). Bunun nedeni, apoptosis'in oligodendrositlerde spinal kord yaralanması sonrasında post-travmatik demiyalizasyon gelişimine katkı sağlamasıdır. (83). Oldukça iyi bilinen intraselüler *caspas 3*'ün aktivasyonu sonucu gelişen Walleryan dejenerasyonda oligodendriositlerin apoptosisi ile ilişkili görülmektedir (102). Apoptosis, nöronlarda hücre kaybını artırır ki bu da sonuçları negatif yönde etkiler. İntraselüler apoptosis yolları geniş olarak çalışılmış ve apoptosisle ilişkili bir *Homolog*

ailenin protein ürünleri memeli hücrelerde idendtiyiye edilmiş ve *CED3/ICE* (İnterlökün1Beta Converting Enzim) ailesi olarak isimlendirilmiştir. Hatta bunlar *caspas* olarak bilinir. Son zamanlarda bu gen ailesinin 10 farklı üyesi tanımlanmıştır. Bunlardan oldukça iyi bilinenleri ve apoptosisle yoğun olarak ilişkilendirilenler, *caspas-3* ve *caspas-9*'dur (102). Özellikle *caspas-3* birçok değişik stimülasyonla indüklenmiş nöral apoptosiste major etken olarak gösterilmiştir (105). Spinal kord yaralanması sonrasında nöronlarda apoptosis, *fas ligand* ve *fas* reseptörleri aracılığı ekstrensek yolla gerçekleşir veya makrofajlar yardımıyla nitrik oksit sentetaz aktivasyonu indüklenebilir.

Apoptosiste iki ana yol tanımlanmıştır; ekstrensek reseptörden bağımsız veya intreksek reseptöre bağımlı apoptosis mekanizmaları oldukça iyi karakterize edilmiş ve her ikisinde spinal kord yaralanmasında aktive olduğu gösterilmiştir (106). Reseptöre bağımlı apoptosis ekstraselüler sinyaller ile artar, bunlardan en önemlisi TNF alfa'dır ve bu nedenle ekstrensek ismini alır. TNF yaralanmış spinal kordda hızlıca toplandığı bilinmektedir ve nöronlarda, mikroglia ve dentrositlerde *fas* reseptörünün aktivasyonu ile *caspas-8*, *caspas-3* ve *caspas-6* gibi efektör caspasların aktivasyonu artırır (107).

Gecikmiş nöronal mod ve spinal kord yaralanması sonrası glial hücre ölümü apoptosisedir. Apoptosis, santral sinir sistemi yaralanması sonrasında nöronal hasarın genişleyen ilerlemesi olarak kabul edilir (101). Dolayısıyla apoptosisin inhibisyonu nörolojik iyileşmeyi teşvik edebilir. Bu nedenle apoptosisin spinal kord yaralanmasındaki kesin katkısı ve potansiyel tedavi sonuçları daha fazla açıklama beklemektedir.

Mitokondrilerin sekonder yaralanmadaki rolü

Mitokondriler, spinal kord yaralanmasından sonra olan hücre ölümünde merkezi bir rol üstlenirler. Mitokondri, serebral metabolizma ve intraselüler kalsiyum hemostazında kritik öneme sahiptir. Hatta mitokondri oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarında oksijenin kullanımı için ev sahipliği yapar ve böylelikle reaktif oksijen ürünlerinin hücre içi birincil kaynağını oluşturur. Hüresel metobolik akımın yönetimide mitokondriye bağlıdır. Mitokondri tarafınca yönetilen birçok fonksiyonlardan herhangi birinin tehlikeye düşmesi direk olarak ölümle sonuçlanır

veya indirek olarak hücrenin strese toleransını azaltır. SSS'i yaralanmasında mitokondride oksidatif fosforilizasyon ve hücre solunum yeteneğinin de bozulma olur. SSS'nin travmatik yaralanması sonucu mitokondriyal kalsiyum transportunun inhibisyonu ile kalsiyum sekresyon/uptake ne bağlı solunum bozulur ve böylelikle hücre içi kalsiyum homeostazı bozulur. Buna ek olarak hücre ölümünde, mitokondri içi membranında kalsiyumun indüklediği permabilite değişikliği gözlenir. Bu tür değişiklikler mitokondriyal membran potansiyelini azaltır ve mitokondrinin osmotik şişmesine ve mitokondriyal lizise katkı sağlar (83). Travmatik yaralanma sonrası eksitator nörotransmitterlerin birikmesiyle oluşan hücre yaralanmada mitokondrinin önemli olduğu gösterilmiştir. Aşırı mitokondriyal Ca^{+2} birikmesine karşı olarak yükselen sitozolik Ca^{+2} , eksitotoksik hücre ölümünün asıl nedenidir. Eksitotoksikiteye ek olarak mekanik stres, enflamatuvar reaksiyonlar ve değişik trofik sinyal transduksiyonu santral sinir sisteminde travmalardaki mitokondriyal hasara katkı sağlar (59). Bunlara ek olarak, mitokondri dışı membranındaki geçirgenliğin artışı, sitozolde apoptojenik proteinlerin salınımını kolaylaştırır. Böylelikle nöronal ölümde, apoptosisin indüksiyonu önemli bir mekanizmayı temsil eder.

İkincil yaralanmaya katkısı olan diğer mediatörler

Primer yaralanmayı takiben nörotransmitterler ve birçok peptid seviyesinde değişiklik olur. Özellikle, yaralanmadan sonra endojen opioidlerde artış meydana gelir. Opioid reseptörlerindeki aktivasyon eksitotoksik sürece katkıda bulunabilir. Lambda ve delta reseptörlerinin aktivasyonu eksitotoksik süreci uzatabilir. Kappa reseptörlerinin aktivasyonu ile kan akımı azaltılır ve eksitotoksik süreç teşvik edilir. Asetilkolin ve 5-Hidroksitriptamin (5-HT, Serotonin) gibi belirli nörotransmitterlerin seviyesinde artış meydana gelir. 5-HT vazokonstriksiyonu artırarak sekonder yaralanmaya katkı sağlar ve endotelial permabilite ve trombosit aktivasyonunu artırır (83).

NÖRAL PLASTİSİTE VE REJENERASYON

Son yarım yüzyıla kadar hasarlanmış insan sinir dokusunun kendisini tamir etme kapasitesinin hemen hemen hiç olmadığına ve her hangi bir nedenle hasarlanan sinir dokusuna bağlı olarak kaybolan fonksiyonların geri dönüşümsüz olduğuna inanılırdı.

Bunun aksine son yarım yüzyılda yapılan çalışmalarla nöral plastisite ve rejenerasyon ile bunun mümkün olabileceğini görülmüştür.

Nöral plastisite

Nöral plastisite, sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama uyum yeteneğini ifade eder. Sinir dokusunda meydana gelen hasarın etkisinin azaltılması ve iyileşmesinde rol oynar.

Santral sinir sisteminde ki nöral hücrelerin kısmi veya tam olarak hasarlanması kortikal ve subkortikal alanlarda işlevsel değişiklikler ile sonuçlanır. Burada plastisite kendisini akson sayısındaki artış ve çeşitlilik ile dentritik gelişim ve sinaptik bağlantılardaki değişikliklerle de gösterir. Bu dentritik ve sinaptik bağlantılardaki gelişim nöralarda yapısal reorganizasyon olarak isimlendirilir (108).

Nöral rejenerasyon

Hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarına devam etmeleri, kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere ulaşması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması ile nörolojik ve klinik iyileşme rejenerasyon olarak adlandırılmaktadır.

Periferik sinir sisteminde (PSS) spontan aksonal rejenerasyon olurken bunun SSS'de olmamasının mekanizmalarını anlamak için birçok çalışma yapılmıştır. Bu araştırmalar neticesinde transeksiyon sırasında bile primer suture edilmiş bir periferik sinirde güçlü bir aksonal rejenerasyon olmasına karşın spinal kord yaralanmasından sonra oldukça zayıf bir aksonal rejenerasyon ve fonksiyonel iyileşme gözlemlenmiştir. Bunun nedeni periferik sinirde hasar sonrası aksonal gelişim için gerekli genetik kodlama hızla işlevini yerine getirmekte ve *Schwann* hücreleri ise bu süreç için uygun ortam hazırlamaktadır. Buna karşın SSS'de ki bir nöron, inhibitör mekanizmalarla yarışmasının sonucu olarak genetik kodlamayı işleme sokmakta başarısız olmakta ve bu inhibitör ortamlara yeni aksonlar uzatmak zorunda kalmaktadır. Bu nedenle SSS de fonksiyonel iyileşme ya hiç olmamakta ya da yetersiz kalmaktadır (109).

Nöral gelişimin erken safhalarında gerek PSS’de, gerekse SSS’de ekstraselüler matriksi aksonal büyümeyi destekleyen glikoproteinler içermektedir. Laminektin ve fibronektin bu tipte proteinler olup, yetişkin PSS’de bulunmasına rağmen, SSS’de bulunmamaktadır. Böylelikle memeli santral sisteminde kritik öneme sahip bu moleküllerin bulunmaması, aksonal rejenerasyonu mümkün kılmaz. Bunun yanı sıra gelişmekte olan aksonlarda aktif büyüme ile birlikte görülen intraselüler proteinler taşınırlar. Bunlardan GAP-43 pek çok erişkin SSS yapısında genel olarak bulunmamakla birlikte, hasara karşı bir miktar cevap verebilme yeteneğine sahip hipokampus gibi santral yapıların nöronlarında varlığı gösterilmiştir.

Son yirmi yılda aksonal gelişim için spinal kordu, periferik sinirlerden daha uygunsuz ortam haline getiren birçok molekül tanımlanmıştır. Rejenerasyon için hasar bölgesindeki myelinin ve glial skar dokusunun önemli iki engel olduğu kanıtlandı. Myelinin aksonal gelişimi hangi mekanizmalar ile engellediği tam olarak açığa kavuşmamıştır. Myelinin iyi tanımlanmış üç adet protein yapısındaki inhibitör içeriği Nogo, miyelinle ilişkili glikoprotein (MAG) ve oligodentrosit-miyelin glikoprotein’dir (oMgp). Özellikle Nogo, MAG ve oMgp ile etkileştiği ve bu moleküllerin bazı inhibitör etkilerine aracılık ettiği gösterildi. Bu sebeple Nogo reseptörü üzerindeki ilgi daha da arttı. Kompakt bir yapı olan glial skar içerisinde astrositler, oligodentrosit öncülleri, meningeal hücreler ve mikroglialar yer alır. Bu reaktif astrositler glial skar içerisindeki en belirgin hücre grubu olup, fiziksel bariyer oluşturduğu gibi inhibitör etkilere sahip olan bir seri kondoritin sülfat proteoglikan (CSPG) ve keratan sülfat proteoglikan (KSPG) üretirler. CSPG nin etkisine karşın en iddialı terapi yöntemi enzimatik olarak yıkılmasıdır. Bu nedenle chondroitinase ABC enzimi giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Bu enzimin parsiyel spinal kord hasarında intratekal uygulamasının kortikospinal yolda akson gelişimini ve fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği rapor edilmiş ve hücre transplantasyonu ile glial skar gelişiminin engellendiği ve bu şekilde akson gelişimini hızlandırdığı gösterildi. Bu anlatılan mekanizmalar, santral nöronların neden rejenerasyon kapasitelerini kaybettiklerini açıklayabilmektedir (109,110,111).

Omurilik yaralanmasında birinci hasar mekanik çarpmanın etkisi ile pek çok şekilde gerçekleşse de, mekanik yaralanmanın tetiklediği sekonder hasar, omurilikteki

hasarın zaman içerisinde artmasına neden olur. Bu hasarın artması klinik kötüleşmeyle sonuçlanır. Primer yaralanma sonrası ortaya çıkan sekonder yaralanma kaskadının durdurulması veya yavaşlatılması klinik tedavinin asıl amacını oluşturdu. Bu amaçla ilaç tedavileri ve cerrahi tedavi yöntemleri gündeme gelmiştir. Spinal kordun sekonder yaralanmadan korunması amaçlı son 20 yılda birçok çalışma yapıldı. Bu araştırmalarda birçok farmakolojik ajan kullanıldı (112).

Özellikle eritropoietin üzerinde de birçok çalışma yapıldı. Eritropoietin, intrauterin dönemden geç gestasyonel döneme kadar karaciğer tarafınca üretilir. Daha sonra üretim kademeli olarak karaciğerden böbreğe taşınır. Gen lokalizasyonu 7q11-q22 olan eritropoietin, ilk olarak 193 aminoasitlik prohormon olarak sentezlenir ve daha sonra 165 aminoasit'den oluşan 30,4 kDa ağırlığına sahip matur glikoprotein yapıda aktif hormon haline dönüşür. Eritropoietinin, karaciğer ve böbreğin dışında beyin korteksi, serebellum, hipokampus, pitüiter gland, plasenta, testis, dalak gibi organlarda da minimal olarak üretildiği gösterildi. Birçok çalışmayla spinal kord yaralanması sonrasında eritropoietin ve eritropoietin reseptörünün varlığı nöronlarda ve glial hücrelerde eksprese olduğu kanıtlandı. Özellikle spinal kord yaralanması sonrası eritropoietin üretiminin artması klinik olarak büyük öneme sahiptir. Buradaki eritropoietin artışı hipoksiye verilen fizyolojik bir yanıttır. Ayrıca araştırmacılar, beyaz madde içindeki kapiller damarlar üzerinde ve ventral horn çevresinde ki motor nöronların dentritik uzantıları ve sinir gövdelerinde eritropoietin reseptörü olduğunu gösterdiler (113). Spinal kord travması ve travmatik beyin yaralanmaları sonrası morfolojik, fonksiyonel ve kognitif fonksiyonlardaki iyileşmenin muhtemel mekanizmaları eritropoietin ve eritropoietin varyantlarının apoptosisi engellemesi, anti-enflamatuvar etkisi, anti-oksidan etkisi, kan-beyin bariyerinin restorasyonu, nörogenesis ve angiogenesisin stimülasyonu ile açıklanmıştır (114). Eritropoietinin anti-apoptotik mekanizması tam olarak açıklanmasa da eritropoietinin janus-tyrosin-kinaz-2 (JAK 2) ve nukleer faktör kappa β (NF- $\kappa\beta$) kaskadlarının çapraz olarak tetiklenmesi ile apoptotik hücre ölümünü engellediği düşünülmektedir (108).

SSSde ikincil yaralanmanın etkisinin azaltılması ya da durdurulmasına yönelik birçok farmakolojik ajan denenmiştir. Yapılan bu araştırmaların çoğunda deneysel hayvan modelleri yapılarak insan modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Araştırmalardan

çıkan sonuçlar olumlu olsada insanlar için standart bir tedavi şekline gelecek herhangi bir farmakoterapi bulunamamıştır. Bu da araştırmacıların farklı tedavi seçenekleri aramaya yönelmesine neden olmuştur. Son yıllarda hücresel tedavi yöntemlerinin rejeneratif spinal kord çalışmalarında deneysel kullanımı gündeme gelmiştir. Deneysel kök hücre kullanımı ile spinal kord yaralanmasında tedavi araştırmaları son dekatta oldukça yaygınlaşmıştır. Hayvan çalışmalarında oldukça iyi sonuçlar alınmasına karşın insanlarda kullanımı konusunda yeterli veri ve çalışma yoktur.

OMURİLİK REJENERASYONUNDA HÜCRESEL TERAPİ

Schwann hücre terapisi

Schwann hücreleri PSS'de nöronların çevresinde myelin kılıf üreterek PSS yaralanması sonrası aksonların rejenerasyonunda anahtar bir görev üstlenirler. Deneysel hayvan çalışmaları sonrasında spinal kord yaralanmalarında schwann hücrelerinin kullanılabilceği gösterildi. *Schwann* hücreleri sinir büyüme faktörü (NGF), beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), siliyer nörotrofik faktör (CNTF), nörotrofin-3 (NT-3), fibroblast büyüme faktörü (FGF) içeren nörotrofik faktörler üretirler (111). Bunlara ek olarak birçok *schwann* hücre kaynaklı faktör bazı aksonal rejenerasyon inhibitörlerinin etkisini azaltır. SSS akson rejenerasyonunda glial skar dokusunun dominant bir rol oynadığına inanılmaktadır. Glial skar dokusu içindeki astroglial alanda *schwann* hücreleri kaybolan oligodentrositler ve astrositler ile bağlantı kurmakta zorlanır ve böylelikle astroglial skar içerisine doğru büyüyen yeni oluşan aksonlar ile bağlantı kurmayı başaramaz. Bu nedenle özellikle son yıllarda schwann hücrelerinin migrasyonunun ve aktivasyonunun artırılmasına yönelik çalışmalar artmıştır (115).

Olfaktör glial hücre terapisi

Olfaktör mukozadaki nöronlar, doğumdan sonra büyüeyebilen ve erişkin hayatı boyunca bölünmeye devam edebilen tek nöronal hücrelerdir. Bununla birlikte, mukozadan olfaktör içine doğru aksonal büyüme özel glial hücreler tarafınca desteklenmektedir. Bu özel hücreler, hem schwann hücre hemde astrositik özellikleri paylaşırlar. Bunlar PSS-SSS sınırını geçtiği bilinen tek glial hücrelerdir. Ek olarak kültür içinde uygun aksonları myelinize etmek kabiliyetine sahiptirler. Olfaktör glial

hücreler, yaralanmış aksonlara uzun mesafe rejenerasyon için uygun faktörleri sağladıklarından, bu hücreler omurilik yaralanmasının tedavisinde yeni imkânlar sağlayabilir (109,115).

Mikroglial greftler

Omurilik yaralanmasından sonra rejenerasyon amaçlı kullanılan transplant dokularından biriside mikroglia greftleridir. Omurilik yaralanması sonrası mikroglial hücreler dereceli şekilde hızla aktive olurlar. Aktive olma sürecinde TGF-beta1 ve sitokinler içeren çeşitli ajanlar ve FGF2, NGF, NT-3 gibi doku tamirinde açıkça fonksiyona sahip büyüme faktörleri sekrete ederler. Bu ilk aktivasyon döneminde, mikroglial hücreler fagositik özelliğe sahip değilken nöral yaşam ve nörit büyümesi için muhtemelen destekleyicidir. Aktivasyondan sonra ki dönemde nöral dejenerasyon başladığında, aktive olmuş mikroglial hücreler fagositik hücrelere dönüşürler ve salgıladıkları TGF-beta1 gibi sitokinlerle dokuda yaralanma alanında glial skar dokusunun oluşumunu desteklerler (116).

Geçen son üç dekatta, SSS'in rejenerasyonunu kısıtlı kalmasına neden olan birçok mekanizma tanımlanmıştır (117). Spinal kord yaralanması sonrası oluşan hasarın azaltılmasına ve rejenerasyonun desteklenmesine yönelik birçok farmakolojik ajan kullanılmasına rağmen insanlarda standart bir tedavi algoritmi oluşturulamamıştır. Rejenerasyonun desteklenmesi için birçok hücrenel tedavi yöntemi geliştirilmiştir. Özellikle son kırk yıldır bilim dünyasının dikkatini çeken kök hücre bir diğer rejenerasyon amaçlı kullanılan hücrenel tedavi şeklidir. Birçok kök hücre (*stem cell*) grubu tanımlanmasına karşın farklı kök hücre grupları farklı özelliklere sahiptir.

KÖK HÜCRE TERAPİSİ

Kök hücre, canlı vücudunda çok uzun süre bölünerek kendisini yenileyen aynı zamanda vücudun ihtiyacına göre farklılaşarak doku hücrelerine dönüşen hücre tipidir. Kök hücreler köken aldıkları dokuya göre isimlendirilirler. Hematopoetik kök hücre veya embriyonik kök hücre gibi. Bir hücrenin kök hücre olabilmesi için üç temel özelliğe sahip olması gerekir (118).

1-Uzun süre bölünerek kendini yenileyebilme özelliğine sahip olması

2-Özelleşmemiş hücre olması

3-Sinir, kas, karaciğer, kalp kası gibi özelleşmiş hücre tiplerine dönüşebilmesidir.

Embriyonik kök hücre

İnvitro fertilizasyondan sonra blastosist kitlesinin içinden elde edilir. *Stem cell* kaynakları içinde plastisitesi en yüksek olandır. İki önemli özelliği vardır, pluripotent özelliği ve kendini tekrar yenileyebilme özelliğidir. Her üç germ yaprağından hücrelere farklılaşabilme özelliğine sahiptir. İnvitro olarak pluripotent özelliğini kaybetmeden büyüyebilir (118,119,120). Pek çok bilim adamı embriyonik kök hücrelerin araştırmalar açısından ideal olduğunu çünkü bedeni oluşturan tüm hücre ve dokulara dönüşebilme kapasitelerinin olduğunu belirtmişler. Fakat embriyonik kök hücrenin elde edilebilmesi için yaklaşık beş günlük embriyo kullanılması ahlaki, dini, sosyolojik ve politik tartışmaların yaşanmasına neden olmaktadır. Bu sebeple alternatif kök hücre kaynakları araştırılmaktadır (118). Embriyonik kök hücre üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan biri olan Lars Bjorklund ve ark (120) 2002 yılında yaptıkları deneysel parkinson modelinde, striatum içerisine yerleştirilen embriyonik kök hücrelerin dopaminerjik nöronlar içerisinde diferansiye olduğu ve bazı fonksiyonları restore ettiğini gözlenmiştir. Bu deney aynı zamanda bu hücre tipi ile ilişki ana bir riski ortaya koymuştur. Bu risk transplante edilen embriyonik kök hücrelerin kontrolsüz olarak bölünerek teratom formasyonuna dönüşerek deney hayvanlarının prematür olarak ölmesine neden olmuştur. Bu sebepten dolayı andiferansiye embriyonik kök hücrenin transplantasyonu, uzun olmayan dönemde gözden geçirilmemiş potansiyel bir terapatik yaklaşım olarak görülmüştür. Daha sonra teratom oluşumunun aşılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde embriyonik kök hücrenin invitro veya invivo ortamda büyüme faktörleri ile birlikte kullanımıyla embriyonik kök hücrenin oligodentrositlere ve buna benzer hücrelere dönüştüğü gösterilmiştir (119,121,122).

Embriyonik germ hücre

İnsan doku örneklerinde pratik ve etik güçlüklerle ilişkili olarak insanda germ hücre gelişimin erken dönemlerinin detaylı araştırmaları engellenmiştir (123). Primordial germ hücreleri yetişkin hayvanların gametlerinin embriyonik prokürsörleridir (124). Genel olarak insanlarda ve memelilerde primordial germ hücreleri (PGCs) olarak bilinen germ hücreleri spesifik bir pluripotent popülasyondan

köken alırlar. İnsanda ilk PGCs embriyonun dışında yol sak içerisinde 2–3 haftalıkken gelişir. Daha sonra gelişen embriyoda gonadal çıkıntıya migre olur. İnsanda bu migrasyon 4.–6. hafta arasında gerçekleşir (125). Son birkaç yılda yapılan araştırmalar neticesinde murine embriyonik kök hücrelerinin primordial germ hücrelerine dönüşebileceği gösterilmiştir (123).

Umbilikal kordon kanı kaynaklı kök hücre

Kordon kanı hematoopoetik kök hücrelerin (HKH) elde edilmesi için bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Hem intrauterin dönemde hem de doğumda HKH fetal dolaşımında bulunur, fakat doğumdan birkaç saat sonra eritrosit, lökosit ve trombosit gibi tüm kan hücrelerinin öncülerini sağlayan kemik iliğine göç ederler. Yaklaşık 100 ml kadar olan bu kan doğumla birlikte atılır (126). Kordon kanı kök hücrelerinin avantajı: genç hücreler olmaları, yaşayabilme yeteneklerinin yüksek olması, fazla sayıda elde edilebilir olmaları, alıcıya kolay uyum sağlayabilmeleri, doğumda kordon kanı immun sisteminin rölativ immatur olması greft versus host (GVH) gelişimi açısından riski azaltır, alıcıya taşınabilir enfeksiyon riski oldukça düşüktür (127,128). Yeni doğanın göbek kordonunda CD34+ ve CD 133+ hücreleri içeren yaklaşık olarak 300.000 kök hücre bulunmaktadır. Göbek kordonu, 1988 yılından bu yana kanı birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bu hastalıklar Fanconi aplastik anemisi, lösemi, meme kanseri, prostat kanseri, over kanseri, aplastik anemi, immün sistem ve depo hastalıklarında, kanser irradasyonu sonrası kemik iliği rekonstrüksiyonu amaçlı kullanılmaktadır (128).

Kordon kanından elde edilmiş kök hücreler, santral sinir sistemi yaralanmaları ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi amaçlı deneysel hayvan modellerinde kullanılmıştır. Bu çalışmalarla transplante edilen hücrelerin fonksiyonel ve hücresel boyutta iyileşmeyi arttırdığı, etkilenen alanın boyutlarını azalttığı gösterilmiş ve transplante edilen dokuların yaralanma alanında değişik nöronal dokulara dönüştüğü gözlenmiştir. (129,130).

Amniyotik sıvı kaynaklı kök hücre

İnsan amniyotik epitel hücrelerinin sahip olduğu bazı özellikler nöral ve glial hücrelerin özelliklerine benzer (131). İnsan amniyotik epitel hücreleri fertilizasyonun

sekizinci günü amnioblastlardan oluşur. Tek bir vericide yaklaşık olarak 2×10^8 hücre bulunur ve bu da transplantasyon için yeterlidir. Amniyotik epitel hücrelerin transplantasyonu, immun yanıt oluşturmaz. Çünkü insan amniyotik epitel hücrelerinin membranlarında insan lokosit antijeni ifade edilmez. Bu amniyotik epitelyal hücreler BDNF ve NT-3 gibi bazı nörotrofinler üretirler. Bunlarla birlikte nöronal ve glial hücrelerin markırlarını ifade ederler. Bu nedenle bu hücreler deneysel spinal kord yaralanmasında değerlendirilebilirler (132).

Wharton jeli kaynaklı kök hücre

Wharton peltesi veya jeli, göbek kordonundaki jelatinöz bir bağdokudur ve miyofibroblast benzeri stromal hücrelerden, kollojen liflerden ve proteoglikandan oluşmuştur. İki arter ve bir ven içeren wharton jeli, ilk olarak 1656 yılında Thomas Wharton tarafından tanımlandı (118,133).

Mezenkimal stromal hücreler (MSCs) göbek kordonunun birkaç komponentinden elde edilebilir. Bu komponentler umbilikal kordon kanı, umbilikal ven subendoteliumu ve wharton jelidir. MSCs wharton jelinin belli belirsiz olan üç tabakasından elde edilir. Bu tabakalar perivasküler alan, intervasküler alan ve subamniyondur. Wharton jel hücreleri (WJCs) kemik iliği stromal kaynaklı hücrelere ve diğer mezenkimal hücrelere benzer (134,135). Nestin gibi prekürsör hücre markırlarını ifade eder. WJCs çeşitli faktörlerle indüklendiğinde adipoz doku, kemik, kıkırdak, iskelet kası hücrelerine, kalp kası hücrelerine benzer hücrelere ve nöronal hücrelere dönüşebilme özelliğine sahiptir (135).

Yang ve ark (136), 2008 yılında yaptığı bir çalışmada spinal kord tam kesisi yapılan sıçanlarda WJCs elde edilmiş kök hücrelerin kesi yerine ekimi sonrasında 16 hafta takip edilen ratların BBB skorlamasına göre takipleri neticesinde WJCs kaynaklı kök hücrelerin transplantasyonunun spinal kord yaralanmasında faydalı olduğu gösterilmiştir.

Fetal kaynaklı nöronal kök hücre

Fetal kaynaklı nöral kök hücreler, serebral kortekste, hipokampus, striatum, olfaktör bulbu, supraventriküler zon ve spinal kord da yer alır (137). Bu hücreler

farklılaşmamış hücreler olarak, sinir sisteminin en az bulunan ve en pirimidal hücreleridir.

Nöral kök hücrelerin taşınması gereken özellikler şu şekilde belirlenmiştir: multipotent hücre olmaları ve sinir sistemi hücrelerinde nöron, astrosit ve oligodentrositlerin bütün alt tiplerine farklılaşabilmeleri, sinir sistemi hücre tiplerine farklılaşabilme ve sinir sisteminin dejenere veya hasarlanmış bölgelerinde yeniden çoğalabilme yeteneğinde olmalı, seri olarak transplante edilebilmeli, kendi kendini yenileyebilir olmalı, aynı potansiyel ve özelliklere sahip yeni hücreler üretebilme yeteneği olmalıdır (127).

Periferik kan kaynaklı kök hücre

Periferik olgun kan hücrelerinin yenilenmesinde kemik iliği kaynaklı hematopoetik kök ve progenitör hücreler (HSPCs) sorumludur. Yetişkin memelilerde, HSPCs lerin büyük bir kısmı kemik iliğinde yer alır, az sayıda hücre periferik dolaşıma salınır. HSPCs periferik dolaşıma migrasyonu yorucu fiziksel egzersiz, miyelosupresif kemotropi, kemokinler ve hemapoetik büyüme faktörlerine yanıt olarak ortaya çıkabilir. Bu mobilizasyon interlökin-8 (IL-8) ve granülosit koloni-stimulan faktörün (G-CSF) kullanılmasıyla enjeksiyondan dakikalar sonra oluşabilir (138).

Günümüzde HSPCs'nin elde edilmesi için kemik iliği kullanımı giderek azalmaktadır. Kemik iliği yerine daha non-invaziv ve kolay bir yöntem olan çeşitli sitokinlerle indüklenmiş mobilize periferik kan kullanılmaktadır (139).

Kemik iliği kaynaklı kök hücre

Bu hücrelerin en önemli özellikleri kendi kopyalarını yaparak yine bir kök hücre olarak yollarına devam etme veya diferansiye olup bir progenitör hücre dizine dönüşerek birçok matur hücre oluşturabilmeleridir. Ayrıca migrasyon yapabilme ve programlı hücre ölümü yoluna girebilme özellikleri de vardır. Diğer kök hücreler gibi hematopoetik kök hücreler de birçok farklı tipte hücre ve dokuya diferansiye olabilme kapasitesine sahiptir. Rekonstitüsüyonu takiben kemik iliği hücrelerinin sadece kan hücrelerine dönüşmediği kas hücreleri, beyin hücrelerine, karaciğer hücrelerine, deri, akciğer, böbrek, barsak hücrelerine ve pankreatik hücrelere dönüşebildikleri

gösterilmiştir. Günümüzde büyük ve karışık bir hücre grubu içinde az sayıda bulunabilen kök hücrelerin tanınması veya tespiti için floresanla aktive hücre ayırma (FACS) yöntemiyle mümkün olmaktadır. İnsan hematopoetik kök hücreleri için tanımlanmış belirteçler; Lin, CD34, CD38, CD43, CD45RO, CD45RA, CD59, CD90, CD109, CD117, CD133, CD166, HLA-DR dir. Klinik çalışmalarda temel olarak CD34 belirteci kullanılmaktadır. Kemik iliği, mobilize periferik kan, umbilical kordon kanı hematopoetik kök hücre kaynağı olarak kullanılmaktadır (139).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Araştırmanın deneysel bölümü Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı'nda, histolojik incelemeler Patoloji Anabilim Dalı'nda, göbek kordon kanının alınması ve saklanması Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği tarafından yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu'nun, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun ve Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü Kök Hücre Nakilleri Bilimsel Danışma Kurulu Başkanlığı'nın onayı alındı. İnsan umbilikal kordon kanı vericisi olarak çalışmaya katılacak olan yeni doğum yapacak bir gebeden ve eşinden çalışmaya katılmak için gönüllü olur formu alındı. Tüm çalışma boyunca hayvan çalışma etiğine sadık kalındı.

DENEY HAYVANLARININ HAZIRLANIŞI

Çalışmada deney hayvanı olarak aynı yaş grubunda ortalama ağırlığı 180 gram olan altı aylık, dişi, yirmi adet erişkin *sprague dawley* cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar, içerisinde kereste talaşı bulunan alt tarafı plastik, üst tarafı besin ve suya kolay ulaşabilecekleri şekilde tasarlanmış tel kafesler içerisine konuldu. Kafesler haftada üç kez temizlendi. Hayvanlara yem olarak süt-pelet karışımı yem, içecek su olarak şehir şebeke suyu verildi. Yem ve su kapları yeterli besin ve su alabilmeleri için sürekli kontrol edildi. Hayvanların tamamı çalışma boyunca oda ısısında (ortalama 22 derece), %50 nem ortamında oniki saat aydınlık, oniki saatlik karanlık siklusu bulunan odalarda bakıma alındı. Hayvanlara her yapılan girişim hijyenik şartlarda, veteriner hekim kontrolünde yapıldı.

DENEYİN YAPILIŞI

Operasyon öncesi deneye katılan tüm deney hayvanları rotarod performans testi üzerinde yürümeye alıştırmak amaçlı bir hafta boyunca, günde iki defa, üç dakika süreyle yürütüldü. Gruplardaki tüm ratlar rotarod sistemi üzerinde üç dakika süreyle yürümeyi öğrendikten hemen sonra deney hayvanları beşer tane *sprague dawley* cinsi sıçandan oluşan dört gruba ayrıldı.

Grup 1: Sadece laminektomi ve spinal kord tam kesisi yapılan kontrol grubu

Grup 2: Laminektomi + spinal kord tam kesisi yapılan, aynı seansta spinal kord kesisinden hemen sonra kesi alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 10 mikrolitresinde 3×10^4 CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu verilen grup.

Grup 3: Laminektomi + spinal kord tam kesisi yapılan, aynı seansta kesiden yarım saat sonra 150 IU/kg intraperitoneal eritropoietin alfa (EPREX 2000, 0,5 ml, Santa Farma, Gürel ilaç Ticaret A.Ş. İstanbul) verilen grup

Grup 4: Laminektomi + spinal kord tam kesisi yapılan, aynı seansta spinal kord kesisinden hemen sonra kesi alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 10 mikrolitresinde 3×10^4 CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu verildi. Kesiden yarım saat sonra intraperitoneal olarak 150 IU/kg dozunda eritropoietin alfa (EPREX 2000, 0,5 ml, Santa Farma, Gürel ilaç Ticaret A.Ş. İstanbul) verilen grup.

Çalışmaya başlamadan önce tüm sıçanlara operasyondan yarım saat önce tek doz 25 mg/kg Sefazolin sodyum (Cefozin, Bilim İlaç Sanayi ve Ticaret AŞ, Türkiye) intraperitoneal olarak verildi.

Çalışmamızda tüm sıçanlara anestezi olarak intraperitoneal 5m/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) tek enjektörde steril olarak karıştırılarak yapıldı. Sıçanlar 4–5 dakika içerisinde derin anesteziye girdi. Daha sonra sıçanlar *prone* pozisyona getirilerek alt trokal ve üst lomber bölge jilette traşlanarak kıldan temizlendi. Gerekli saha temizliği yapıldıktan sonra traş yapılan alana *polyvinyl pyrolidone iod* kompleksi (Batticon %10, Adeka İlaç ve Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş. Samsun) ile cerrahi sterilizasyon yapıldı.

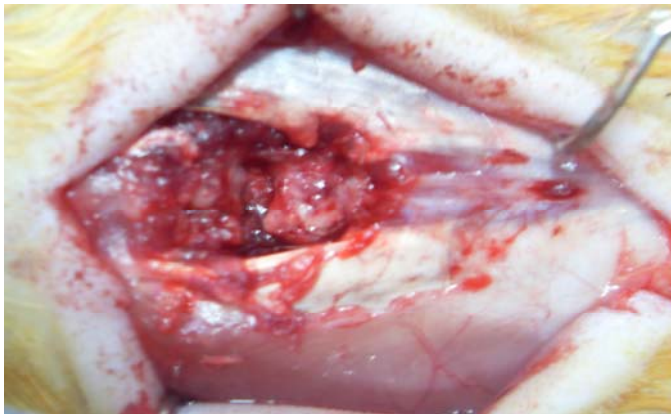
Alt torakal bölge hedef alınarak cerrahi Loop (UNIVET, MKU35, Italy) eşliğinde orta hat cilt insizyonu yapıldı, cilt, cilt altı geçildikten sonra cilt ekartörü yerleştirilerek operasyon loju ortaya kondu. Yüzeysel fasya açılarak ekartör

yerleştirildi. Daha sonra spinöz çıkıntılarının bilateralindeki paravertebral adale fasyası açılarak mikrodisektör yardımıyla bilateral paravertebral adale subperiostal diseksiyonla laminaların üzerinden sıyrılarak laminalar ortaya kondu. Paravertebral adale diseksiyonu sonrasında ucu keskin ve yukarıya bakan bir makas ile tahmini olarak T9 ve T11'e total laminektomi yapıldı (Şekil-1).



Şekil-1: Ratlarda laminektomi sonrası medulla spinalisin ortaya konması

Laminektomi sonrasında hemostaza geçildi. Hemostaz sonrasında 11 nolu bistüri ile total kord kesisi yapıldı (Şekil-2). Mikro disektör yardımıyla kesinin total kord kesisi olup olmadığı kontrol edildi. Daha sonra hemostaza geçildi. Kesi alanında özellikle rat kaynaklı kan olmamasına dikkat edildi.



Şekil-2: Rat spinal kordunda tam kesi oluşturulması ve hemostaz

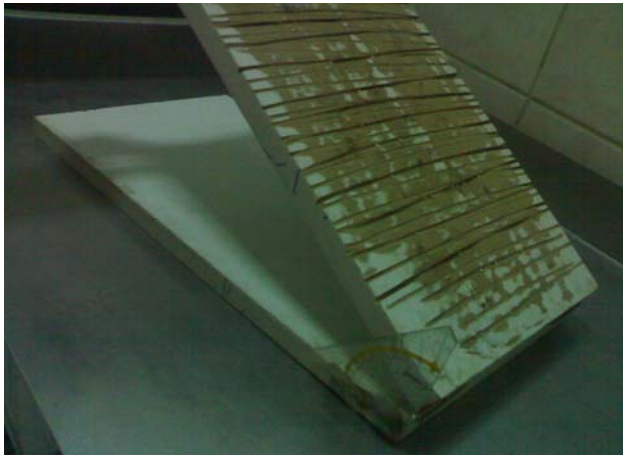
Birinci gruptaki ratlara sadece total laminektomi ve total spinal kord kesisi yapıldı. İkinci gruptaki ratlara spinal kord tam kesisi yapıldıktan sonra aynı seansta kesi alanına ve kesi uçlarına olmak üzere taze umbilikal kordon kanından elde edilmiş 10 mikrolitresinde 3×10^4 CD34+ hücre bulunduran kök hücre süspansiyonu enjekte edildi. Özellikle ekim sırasında ekilen hücreden hariç operasyon lojunda kan olmamasına özenle dikkat edildi. Üçüncü gruba ise spinal kord tam kesisi yapıldıktan yarım saat sonra 150 İU/kg intraperitoneal eritropoietin alfa (EPREX 2000, 0,5 ml, Santa Farma, Gürel ilaç Ticaret A.Ş. İstanbul) yapıldı. Dördüncü gruptaki ratlara total laminektomi, tam spinal kord kesisi sonrası kesi alanına ve kesi uçlarına 3×10^4 CD34+ hücre içeren kök hücre süspansiyonu enjekte edildikten sonra kesiden yarım saat sonra 150 İU/kg dan intraperitoneal eritropoietin alfa (EPREX 2000, 0.5 ml, Santa Farma, Gürel ilaç Ticaret A.Ş. İstanbul) verildi (Şekil-3). Daha sonra tüm gruplarda katlar hemostaz yapılarak anatomiye uygun olarak kapatıldı. Çalışma süresi altı hafta olarak belirlendi. Altı hafta boyunca ratların beslenmesi ve kafes bakımına özenle devam edildi. Spinal kord tam kesi sonrasında tüm ratlarda oluşan mesane disfonksiyonu için tüm ratlara ilk hafta günde dört defa, ikinci hafta, üçüncü hafta, dördüncü hafta, beşinci hafta ve altıncı haftada günde iki defa mesane sıvazlaması yöntemi ile miksiyon yaptırıldı. Üriner sistem enfeksiyonundan korumak amaçlı günde bir defa intraperitoneal 25 mg/kg dan sefazolin sodyum 15 gün boyunca yapıldı. Beş gün boyunca yara yerleri *batticon* ile silinerek yara yeri enfeksiyonundan korundu.



Şekil-3: Deneysel modelde kullanılan eritropoietin alfa

Altı haftalık çalışma süresi boyunca sıçanlarda,1.,2.,3.,4.,5.ve 6. haftalarda arka bacak nörolojik muayenesi, arka bacakların yürüyüş sırasındaki eklem hareketleri ve

kuvvet durumuna göre BBB lokomotor skorlaması yapıldı. BBB skorlamasında 0'dan 21'e kadar puanlar verilerek değerlendirilme yapıldı. Aynı gün içerisinde her gruptaki tüm sıçanlara arka bacakların kuvvet ve lokomotor fonksiyonuna yönelik rotarod performans testi yapıldı. Bu testte sıçanların rotarod sistemi üzerinde kalabildiği en uzun süre rotarod performans değeri olarak kaydedildi. Çalışmada 180 saniye rotarod sistemi üzerinde kalabilen sıçan normal olarak değerlendirildi. Rotarod sistemi ile birlikte arka bacakların kuvvetini ölçmek için diğer bir test olan Rivlin ve Tatorun çift yönlü eğik düzlem testi yapıldı (Şekil-4).



Şekil-4: Rivlin ve Tatorun eğik düzlemi

Bu test ile sıçanların yanında açıölçer bulunan, üst kısmı açılı olarak yükselebilen tablanın yer aldığı zemin üzerinde baş yukarı ve baş aşağı yönde beş saniye süreyle kalabildiği en yüksek açılar toplanarak ortalama değeri alındı. Ölçülen açı değeri çift yönlü eğik düzlem skoru olarak kaydedildi. Altıncı haftanın sonunda tüm sıçanlara yüksek doz intraperitoneal anestezik madde verilerek ötanazi yapıldı. Daha sonra operasyon lojları boylu boyunca açılarak rostralde ve kaudalde sağlam medulla spinalis alanına kadar total laminektomi yapılarak tüm ratların medulla spinalisleri çıkarıldı. Tüm medulla spinalisler %10'luk formalin solüsyonunun içerisinde yatırılarak iki gün boyunca fikse edildi.

YENİDOĞAN UMBİLİKAL KORDON KANININ ALINMASI

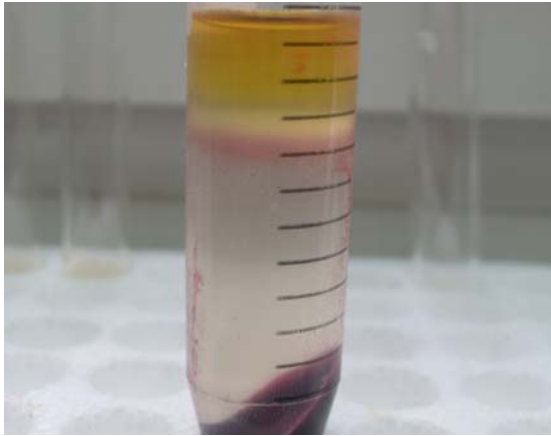
Pamukkale Üniversite Tıp Fakültesi Hastenesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne doğum amaçlı yatırılan bir gebeye ve eşine doğum öncesi göbek bağı

kesildikten sonra bebeği ve plasenta arasında bulunan kordon bağından, yapacak olduğumuz tıbbi araştırma için kan alınacağı ve bu alınan kanın deneysel omurilik yaralanması yapılan sıçanlarda kullanılacağını ve yapılacak bu işlemin doğum sonrasında bebeğe ve kendisine herhangi bir zararı olmayacağı, alınan kan örneğinin başka bir çalışma ya da herhangi bir amaçla kullanılmayacağı anlatılarak gönüllü olur formu alındı. Daha sonra gebenin doğumu sonrasında, bebeğin göbek kordonu kesilip plesantaya yakın olan kısmından heparinize edilmiş 20 cc lik enjektör yardımıyla umbilikal venden yaklaşık 50 cc umbilikal kordon kanı alındı.

KORDON KANINDAN CD34+ KÖK HÜCRE ELDE EDİLMESİ

Alınan kordon kanı soğuk zincirde Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarı'na getirildikten sonra umbilikal kordon kanından CD34+ hematopoetik kök hücre elde edilmesi yedi basamakta gerçekleştirildi.

1.Basamak: 2 ml kordon kanı, direk olarak 5 ml *ficolle* yayılarak 3000 rpm de 20 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrası *ficolle* ile plazma arasında kalan bulut kısım (şekil-5) 5ml kapasiteli, 12x75 mm boyutlarındaki *polystyrene* içeren tüpe toplandı (Falcon 5 ml, Becton Dickinson, Catalog 352058).



şekil-5: Umbilikal kordon kanının santrifüjü sonrası oluşan bulutsu kısım

2.Basamak: Tüpe konan hücre süspansiyonu üzerine steril otomatik pipet ile her 1 ml hücre için 100 mikrolitre insan CD34+ seleksiyon kokteyli ilave edildi (Easysep

Human CD34+ Selection Cocktail, StemCell Technologies, Catalog number 18056) iyice karıştırıldı, karışım oda ısısında 15 dakika süre ile inkübe edildi.

3.Basamak: Hücre-monoklonal antikor karışımı üzerine magnetik nanopartiküller (EasySep Magnetic Nanoparticles 1 ml, StemCell Technologies, Catalog number 18056) steril otomatik pipet ile her 1 ml hücre için 50 mikrolitre ilave edildi ve karışım iyice karıştırılarak oda ısısında on dakika süre ile inkübe edildi.

4.Basamak: Tüp içerisindeki miks süspansiyon *recomend medium* ile 2,5 ml tamamlandı. Daha sonra karışım nazikçe steril bir pipetle yukarı aşağı doğru hareketlendirilerek karıştırıldı. Daha sonra tüp mıknatıs (EasySep Magnet, StemCell Technologies, Catalog number 18000) içerisine yerleştirilerek beş dakika süreyle bekletildi.

5.Basamak: Tüp magnetin içerisinden çıkarılmadan süpernatant kısım bir kerede atıldı. Böylece tüpte yalnızca seleksiyonu istenen hücreler kaldı. Bu işlem 3–4 saniye yapıldı. Daha sonra tüp ve mıknatıs tekrar düz pozisyona getirildi .

6.Basamak: Tüp mıknatıstan çıkartıldı ve 2,5 ml kültür medium ilave edildi. Elde edilen karışım pipetle 3–4 kez karıştırıldı. Tüp mıknatısına tekrar kondu ve beş dk süreyle beklendi.

7.Basamak: Dördüncü, 5. ve 6. basamaklar tekrar edildi ve beşinci basamak bir kez daha tekrar edildi. Böylece tüpte kalan hücreler en az iki kez kültür solüsyonu ile yıkanarak uygun hücre süspansiyonu elde edildi. Bu işlem sonrası pozitif seleksiyonla elde edilen hücreler kullanıma hazırdır (Şekil–6).



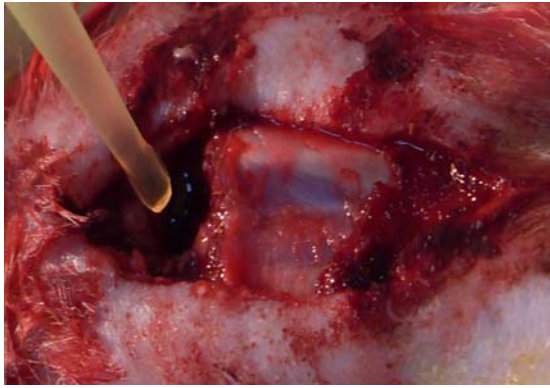
Şekil-6: Hücre sayımı öncesi elde edilen CD34+ kök hücrelerin biriktirilmesi

ELDE EDİLEN CD34+ KÖK HÜCRELERİN SAYIMI

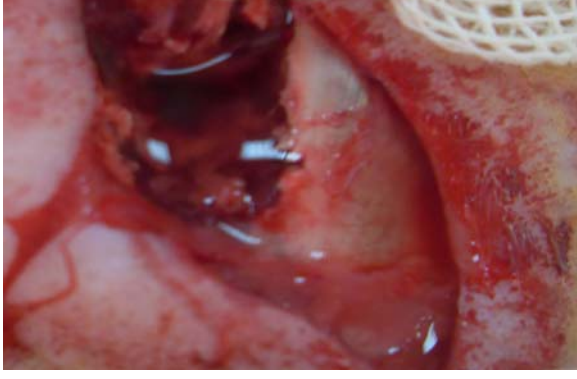
Pozitif seleksiyonla seçilen hücreler tripan blue ile muamele edilerek ışık mikroskobu altında hemostometri ile sayıldı. Hücre süspansiyonunun 10 mikrolitresinde 3×10^4 hücre olduğu gözlemlendi.

SPİNAL KORD KESİ ALANINA CD34+ HÜCRELERİN EKİMİ

Spinal kord tam kesisi yapıldıktan sonra kesi alanındaki boşluğa ve kesi uçlarına seleksiyonu yapılan hücreler steril otomatik pipetler ile transplante edildi (Şekil-7, 8). Her transplantasyon sonrası otomatik pipet uçları değiştirildi. Transplant alanına 10 mikrolitresinde 3×10^4 hücre olan hücre süspansiyonu ekildi.



Şekil-7: Elde edilen CD34+ kök hücrelerin steril otomatik pipetle transplantasyonu



Şekil-8: CD34+ hematopoetik kök hücrelerin ekimi sonrası transplant alanı

ROTAROD PERFORMANS TESTİ

Rotarod performans testi, hayvanların motor kordinasyon ve performanslarının değerlendirildiği davranışsal bir testtir. Cihazın çalışma prensibi, hayvanların belirli yükseklikte (15 cm), belirli hızda (10 devir/dakika) elektrik enerjisiyle dönen bir mil üzerinde belirli bir süre içerisinde yürüyebilmesi ve aşağıya düşmemesi esasına dayanır (Şekil-9).



Şekil-9: Rotarod performans cihazı

Rotarod performans testinde kullanılan cihazda birbirine bitişik dört kabin bulunmaktadır. Bu kabinlerin genişliği 15 cm, derinliği 30 cm ve duvar yüksekliği 50 cm dir. Hayvan aşağıya düşmemek için milin döndüğü yönün tersi yönünde yürümeye çalışır. Bizim çalışmamızda çalışma grupları oluşturulmadan önce 10 devir/dakika hızda dönen mil üzerinde üç dakika ve üzerinde kalan sağlıklı ratlar seçilerek çalışma gruplarına alındı. Daha sonra bir hafta boyunca ratlara günde iki defa üç dakikanın

üzerinde mil üzerinde yürütülerek yürüme egzersizleri yaptırıldı. Hayvanlarda motor kordinasyonun bozulması durumunda hayvanın yürüyemediği ve mil üzerinden düştüğü gözlemlendi. Aşağıya düşen ratlar tekrar dönen mil üzerine konuldu. Grupları oluşturan tüm ratlara beş defa yürüme şansı verildi ve ratların yere düştüğü anda süre durduruldu. Mil üzerinde kalabildiği en uzun süre rotarod performans değeri olarak kaydedildi. Rotarod performans testi altı hafta boyunca haftalık olarak yapıldı ve kaydedildi.

BBB SKORLAMASI İLE LOKOMOTOR SİSTEM MUAYENESİ

BBB skorlaması deneysel omurilik yaralanması yapılan ratlarda lokomotor sistemin değerlendirilmesi için yapıldı. Bu skorlamada 0'dan 21'e kadar ratların arka bacak hareketlerine puanlama yapıldı. Bu puanlamada ratlara haftalık olarak yapılarak elde edilen skor ratın BBB lokomotor skoru olarak kaydedildi.

PATOLOJİK İNCELEME

Altı haftanın sonunda gruplarda ki ratların tamamına intraperitoneal yüksek doz anestezi verilerek yaşamları sonlandırıldı. Daha sonra ratların eski operasyon bölgesindeki kılırları traş edilerek cildi insizyon için hazırlandı. Cilt açılarak laminektomi alanı ve cilt altı dokuları arasındaki yapışıklıklar açıldıktan sonra omurga ortaya kondu. Cerrahi olarak laminektomi proksimalin'den ve distalin'den laminalar alınarak omurilik kesi seviyesi ortaya kondu. Disektör yardımıyla omurga cismi dorsal yüzeyi ve kesi yeri arasındaki yapışıklıklar açıldı ve daha sonrasında kesi alanı ortada kalacak şekilde omurilik rostral ve kaudal sağlam kısımlardan kesilerek çıkarıldı. Materyaller iki gün süreyle %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde bırakılarak fikse edildi. İki gün sonra medulla spinalisler 16 saat doku takip cihazı içerisinde bekletildikten sonra çıkarılan materyaller 56 derecelik parafinle bloklanarak kesime hazır hale getirildi. Daha sonra materyaller 2,5 µ kalınlığında sagittal planda kesilerek hematoksilen eosin, synaptophysin, Map 2 ve GFAP ile boyanarak incelendi ve kesitlerin geçtiği alanlardan fotoğraf çekildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deneysel spinal kord tam kesisi yapılan ratlarda, performans testleri olarak kullanılan rotarod sistemi ile eğik düzlem testindeki veriler Kruskal-Wallis Varyans Analizi ve Benferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile BBB lokomotor skorları ise Ki-kare testi kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Altı haftalık çalışma süresi boyunca gruplarda yer alan deneklerin BBB skorlaması ile lokomotor muayeneleri, Rotarod performans değerleri, çift yönlü eğik düzlem performans değerlerinin ortalaması haftalık olarak not edildi. Altıncı haftada gruplardaki deneklere yüksek doz intraperitoneal anestezik verilerek exitus yapılarak omurilikleri incelenmek üzere bir bütün halinde çıkarıldı.

Cerrahi bulgular: Altıncı hafta sonunda deneklerin önceki insizyon yerleri açıldığında kontrol grubunda yapışıklığın en fazla olduğu, kök hücre grubunda en az olduğu gözlemlendi. Laminektomi sonrasında bir bütün şeklinde omurilikleri çıkarılan deneklerin kesi proksimal ve distalindeki omurilik kalınlıkları arasında farklılıklar vardı. Omurilik kalınlığı açısından denekler değerlendirildiğinde Grup 3 ve Grup 4'deki omurilik kalınlıkları birbirine yakındı. Grup 1'deki ratların omurilik kalınlığı en azdı.

BBB Skorlaması ile Locomotor Sistem Muayene Bulguları

Deneklerin lokomotor sistem muayeneleri BBB skorlamasına göre 0'dan 21'e kadar puanlar verilerek değerlendirildi. Sıfır puan verilen ratların yürüyüş sırasında arka ekstremitelerinin proksimal ve distalinde herhangi bir hareket görülmemiştir. Bir puan verilen ratların lokomotor sistem muayenesi kalça veya diz bölgesinde sınırlı hareket olarak kaydedildi. İki puan verilen deneklerin lokomotor muayeneleri bir eklem noktasında geniş hareket olarak kaydedildi. Üç puan verilen deneklerin lokomotor muayenesi iki eklem noktasında genişleyen hareket olarak kaydedildi. Locomotor muayenesine dört puan verilen deneklerin muayenesi üç eklem noktasında sınırlı hareket olarak değerlendirildi. Locomotor muayenesine beş puan verilen deneklerin muayenesinde iki eklem noktasında sınırlı hareket, bir eklem noktasında geniş hareket var olarak kaydedildi. Locomotor muayenesine altı puan verilen deneklerin muayenesi ise iki eklem noktasında geniş hareket, üçüncü eklem noktasında sınırlı hareket var olarak kaydedildi. Grup 1'de altı haftanın sonunda sadece bir denekte BBB skoru 1 oldu. Grup 2'de altı haftanın sonuna da en düşük BBB skoru 3 olarak tespit edilirken en yüksek değer 6 olarak kaydedildi. Grup 3'de en düşük BBB skoru 1, en yüksek BBB skoru ise 3 olarak tespit edildi. Grup 4'de en düşük BBB

skoru 2 olarak, en yüksek BBB skoru 3 olarak ölçüldü. Gruplardaki ratların altı haftalık BBB skorlarının ölçümü (Tablo-9) özetlenmiştir.

Tablo-9: Sıçanların altı hafta süresince BBB lokomotor değerleri

Gruplar	1. hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta
1/1	0	0	0	0	0	0
1/2	0	0	0	0	0	0
1/3	0	0	0	0	0	0
1/4	0	0	0	0	0	0
1/5	0	0	0	0	0	1
2/1	0	0	0	1	3	5
2/2	0	0	0	1	2	4
2/3	0	0	0	1	3	3
2/4	0	0	0	2	5	6
2/5	0	0	0	1	3	3
3/1	0	0	0	0	1	2
3/2	0	0	0	1	2	3
3/3	0	0	0	1	2	3
3/4	0	0	0	0	1	1
3/5	0	0	0	1	2	3
4/1	0	0	0	2	3	3
4/2	0	0	0	2	3	3
4/3	0	0	0	2	3	3
4/4	0	0	0	1	2	3
4/5	0	0	0	1	2	2

Tablo-10: Altı haftalık BBB skorlarının ölçümü sonrası gruplara göre dağılım

	GRUPLARDA BBB SKORLARI				TOPLAM
	0	1	2	3 ve 3+	
GRUP 1	29 %96,7 %38,2	1 %3,3 %7,7			30 % 100,0 % 25
GRUP 2	15 %50 %19,7	4 %13,3 %30,8	2 %6,7 %16,7	9 %30,3 %47,4	30 %100,0 % 25
GRUP 3	17 %56,7 %22,4	6 %20,0 %46,2	4 %13,3 %33,3	3 %10,0 %15,8	30 % 100,0 % 25
GRUP 4	15 %50 %19,7	2 %6,7 %15,4	6 %20,0 %50,0	7 %23,3 %36,8	30 % 100,0 % 25
TOPLAM	76 %63,3 %100,0	13 %10,8 %100,0	12 % 10,0 % 100,0	19 % 15,8 % 100,0	120 % 100,0 % 100,0

Deney gruplarının altı haftalık BBB skorlarının ölçümü sonrası grupların birbiriyle ve kendi içinde yüzdelerle dağılımı (Tablo-10) de özetlenmiştir. Bu tabloya göre altı hafta süresince beşer denekten oluşan her gruba 30 ölçüm yapılmıştır. Toplamda altı hafta boyunca 180 ölçüm yapılmıştır. Bu ölçümler sonucunda BBB skoru 0 olarak ölçülen deneklerin %38,2'si Grup 1'de, %19,7'si grup 2 de, % 22,4 Grup 3'de, %19,7 si Grup 4'de yer almaktadır. BBB skoru 1 olarak ölçülen deneklerin % 7,7 Grup 1 de, % 30,8'i Grup 2'de, % 46,2'si Grup 3'te, % 15,4'ü Grup 4 içerisinde yer almaktadır. BBB skoru 2 olarak ölçülen deneklerin % 16,7'si grup 2 de, % 33,3'ü grup 3'de, % 50'si grup 4 de yer almaktadır. BBB skorlamasına göre puanı 3 ve 3'ün üzerinde ölçülen deneklerin % 47,7'si grup 2'de, % 15,8'i grup 3'de, % 36,8'i grup 4 de yer almaktadır.

Grupların kendi içerisindeki ölçümlerine bakıldığında BBB skoru 0 olan deneklerin grup 1 içerisindeki yüzdesi % 96,7, Grup 2 içerisindeki yüzdesi % 50, Grup 3 içerisindeki yüzdesi %56,7, grup 4 içerisindeki yüzdesi %50 olarak tespit edilmiştir.

BBB skoru 1 olarak ölçülen deneklerin grup 1 içerisindeki yüzdesi % 3,3, Grup 2 içerisindeki yüzdesi %13,3, grup 3 içerisindeki yüzdesi %20,0, grup 4 içerisindeki yüzdesi %6,7 dir. BBB skoru 2 olarak ölçülen deneklerin kendi grupları içerisinde değerlendirildiğinde BBB skoru 2 olan deneklerin grup 2'deki yüzdesi %6,7, grup 3 içerisindeki yüzdesi %13,3, grup 4 içerisindeki yüzdesi %20,0 olarak tespit edildi. BBB skoru 3 ve 3 + olan deneklerin Grup 2'deki yüzdesi %30,3, Grup 3'deki yüzdesi %10,0, Grup 4'deki yüzdesi % 23,3 olarak ölçülmüştür.

Rotarod Performans Testi Bulguları

Altı haftalık çalışma süresince deneklerin lokomotor sistemlerinin değerlendirilmesine yönelik rotarod performans testi yapıldı. Deneklerin rotarod performans değerleri aşağıdaki tabloda (Tablo-11) özetlenmiştir.

Tablo-11: Dört grupta yer alan ratların altı hafta süresince elde edilen rotarod değerleri (saniye)

HAFTALAR		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA
GRUPLAR							
GRUP 1	1/1	1,20	2,37	1,98	1,88	1,93	1,96
	1/2	2,30	3,12	2,83	2,78	2,85	2,34
	1/3	1,30	2,50	1,79	1,92	1,86	2,20
	1/4	1,70	2,00	2,69	2,76	2,74	2,44
	1/5	1,30	2,59	1,90	1,83	1,92	2,02
GRUP 2	2/1	1,60	1,90	2,21	4,45	5,52	5,73
	2/2	1,40	2,20	2,50	3,53	4,86	4,97
	2/3	1,30	3,00	3,16	3,21	4,43	4,45
	2/4	1,40	2,00	2,74	3,72	5,89	5,88
	2/5	1,30	3,58	2,76	3,88	5,65	6,22
GRUP 3	3/1	1,80	3,39	2,37	2,46	2,70	2,66
	3/2	2,20	2,80	3,17	3,20	3,23	3,30
	3/3	3,20	2,63	2,19	2,25	2,19	2,32
	3/4	1,16	3,10	2,33	2,12	2,23	2,22
	3/5	3,10	3,46	2,27	2,38	3,45	2,98
GRUP 4	4/1	1,50	3,38	3,82	3,76	3,81	3,79
	4/2	4,50	10,38	10,80	10,25	8,30	5,43
	4/3	1,79	10,92	5,55	6,38	6,50	3,12
	4/4	1,30	12,85	6,47	6,26	6,13	5,47
	4/5	2,60	6,18	6,73	6,85	5,84	3,34

Altı hafta sonunda elde edilen saniye cinsinden rotarod performans verileri gruplar arasında Kruskal-Wallis varyans analizi ile karşılaştırıldı (Tablo–12).

Tablo–12: Altı haftanın sonunda grupların rotarod performanslarının değerlerinin Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirilmesi

ROTAROD GRUP	ÖLÇÜM SAYISI	SANIYE
Grup 1	30	33,83
Grup 2	30	65,28
Grup 3	30	51,68
Grup 4	30	91,20

Altı haftalık rotarod performans değerlerinin ölçümleri sonucunda Grup 1’de de ortalama açı değeri 33,83, grup 2’de ortalama açı değeri 65,28, grup 3’de ortalama açı değeri 51,68, grup 4’de ortalama açı değeri 91,20 olarak ölçüldü. Grup 1 ve Grup 2 arasında, Grup 1 ve Grup 3 arasında, Grup 1 ve Grup 4 arasında farklılık olduğu ve bununda istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü.

Çift Yönlü Eğik Düzlem Testi Bulguları

Çalışmamızda çift yönlü eğik düzlem testi kullanılarak altı hafta boyunca deneklerin baş aşağı ve baş yukarı pozisyonda eğik düzlemde beş saniye süreyle kalabildikleri açı toplanarak değer ikiye bölündü ve böylelikle elde edilen değer o ratın çift yönlü eğik düzlem açı performansı olarak kaydedildi. Grupların altı hafta boyunca ölçüleri değerleri aşağıda ki tabloda özetlenmiştir (Tablo–13).

Tablo-13: Deneklerin altı hafta boyunca ölçülen çift yönlü eğik düzlem açısı değerleri

HAFTALAR		1.HAFT.	2.HAFT.	3.HAFT.	4.HAFT.	5.HAFT.	6.HAFT.
GRUPLAR							
1.GRUP	1/1	47,50	55,00	62,50	65,00	65,00	62,50
	1/2	47,50	52,50	60,00	60,00	60,00	60,00
	1/3	50,00	52,50	57,50	60,00	57,50	60,00
	1/4	45,00	57,50	57,50	57,50	60,00	60,00
	1/5	50,00	55,00	60,00	62,50	60,00	62,50
2.GRUP	2/1	50,00	60,00	65,00	67,50	70,00	72,50
	2/2	47,50	57,50	67,50	67,50	67,50	70,00
	2/3	47,50	60,00	67,50	72,50	72,50	72,50
	2/4	52,50	60,00	70,00	72,50	72,50	72,50
	2/5	50,00	57,50	67,50	67,50	72,50	72,50
3.GRUP	3/1	52,50	55,00	65,00	62,50	62,50	65,00
	3/2	52,50	60,00	67,50	67,50	62,50	67,50
	3/3	52,50	62,50	70,00	67,50	65,00	67,50
	3/4	50,00	57,50	67,50	65,00	67,50	67,50
	3/5	52,50	57,50	65,00	67,50	67,50	67,50
4.GRUP	4/1	47,50	62,50	70,00	70,00	67,50	70,00
	4/2	50,00	57,50	67,50	65,00	67,50	67,50
	4/3	47,50	60,00	70,00	70,00	70,00	70,00
	4/4	52,50	62,50	72,50	70,00	72,50	70,00
	4/5	50,00	62,50	72,50	70,00	70,00	70,00

Altıncı haftanın sonunda ratların çift yönlü eğik düzlem açısı değerlerinin ortalaması Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi (Tablo-14).

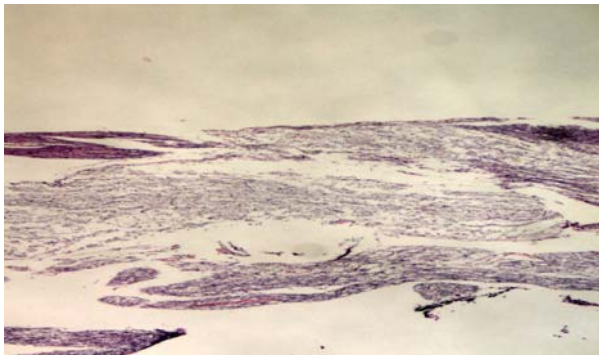
Tablo-14: Altı haftalık ölçümlerin sonunda ortalama çift yönlü eğik düzlem ölçümleri Kruskal-Wallis varyans analiziyle değerlendirilmesi.

ÇİFT YÖNLÜ EĞİK DÜZLEM GRUPLAR	ÖLÇÜM SAYISI	SANİYE
Grup 1	30	35,18
Grup 2	30	73,60
Grup 3	30	58,80
Grup 4	30	74,42

Grup 1’de ortalama açı değeri 35,18 derece, Grup 2’de ortalama açı değeri 73,60 derece, Grup 3’de ortalama açı değeri 58,80 derece, Grup 4’de 74,42 derece olarak ölçüldü. Grup 1 ve Grup 2 arasında, Grup 1 ve Grup 3 arasında, Grup 1 ve Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı-($p<0,01$)

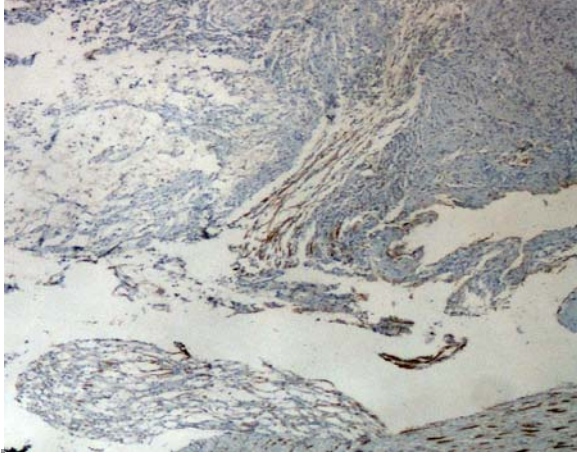
Patolojik İnceleme Bulguları

Grup 1’de yer alan sıçanların hematoksilen eozin ile boyanmış histolojik kesitlerinde makrofajlardan zengin granülasyon dokusu ve ödem izlendi.



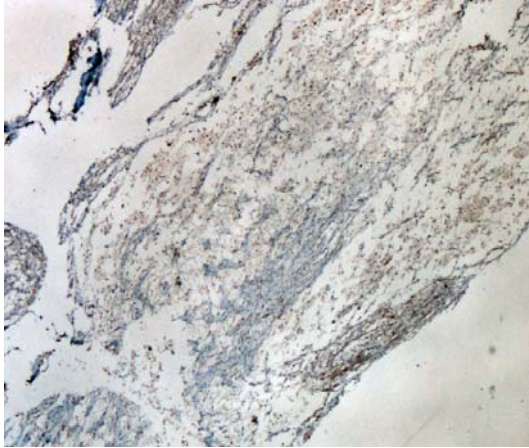
Şekil-10: Grup 1’de yer alan bir sıçan omuriliğinin, sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)

Grup 1’de yer alan sıçanların GFAP ile boyanmış sagittal plandaki histolojik kesitlerinde, makrofaj infiltrasyonu, ödem ve granülasyon dokusunda GFAP negatif olarak tespit edildi.



Şekil-11: Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAPX4)

Grup 1’de yer alan sıçanların sinaptofizin ile boyanmış sagittal plandaki kesitinde granülasyon dokusunun makrofajdan zengin, ödem ve sinaptofizin negatif olarak tespit edildi.



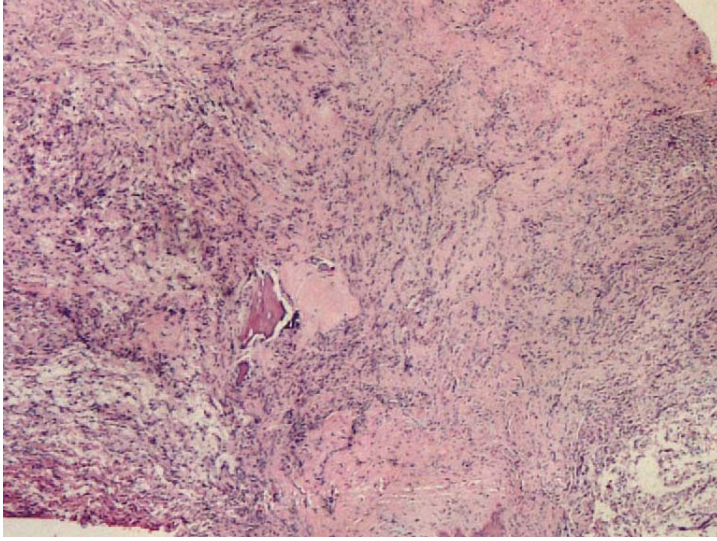
Şekil-12: Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (Sinaptofizin X4)

Grup 1’de yer alan sıçanların MAP ile boyanmış sagittal plandaki histolojik kesitlerinde granülasyon dokusu içinde nonspesifik MAP (+) tespit edildi.



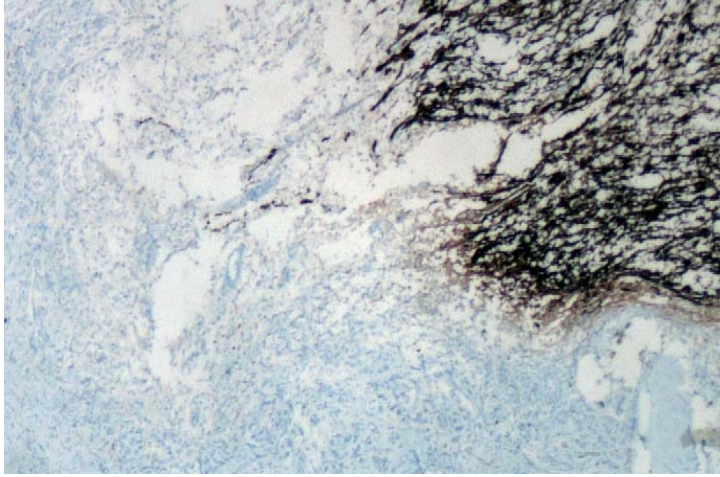
Şekil-13: Grup 1’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)

Grup 2’de yer alan sıçanların sagittal planda hematoxilen eozin ile boyanan kesitlerinde makrofajdan zengin granülasyon dokusu ve ödem izlendi.



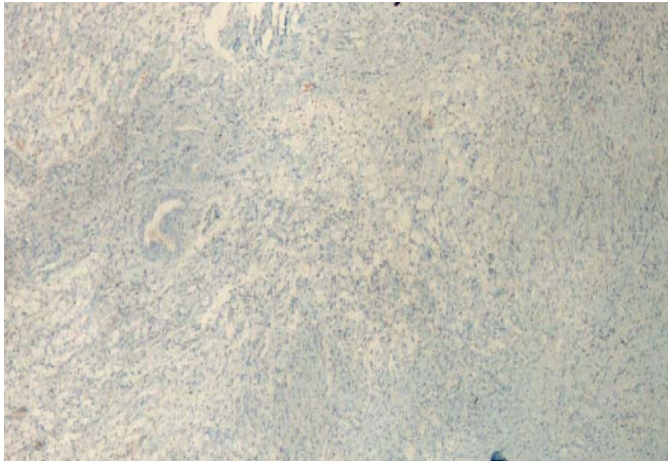
Şekil-14: Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)

Grup 2’de yer alan sıçanların sagittal planda GFAP ile boyanan kesitlerinde granülasyon dokusunda GFAP (-) olarak tespit edildi.



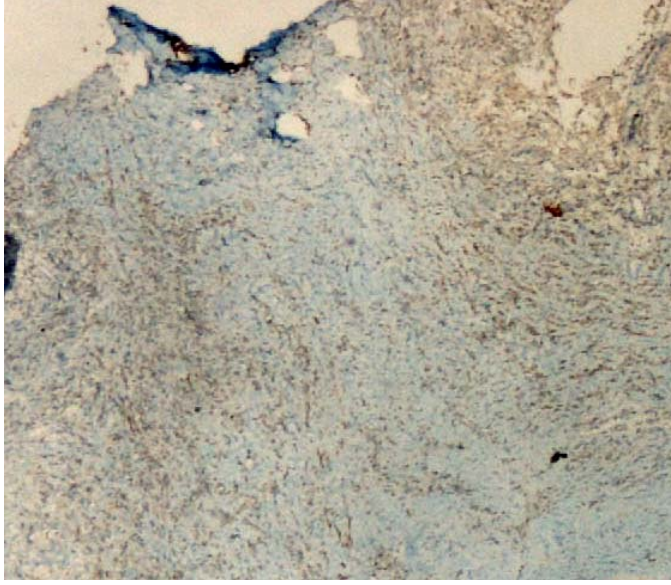
Şekil-15: Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAP X4)

Grup 2’de yer alan sıçanların sagittal planda sinaptofizin ile boyanan kesitleri incelendiğinde granülasyon dokusunda Sinaptofizin (-) olarak tespit edildi.



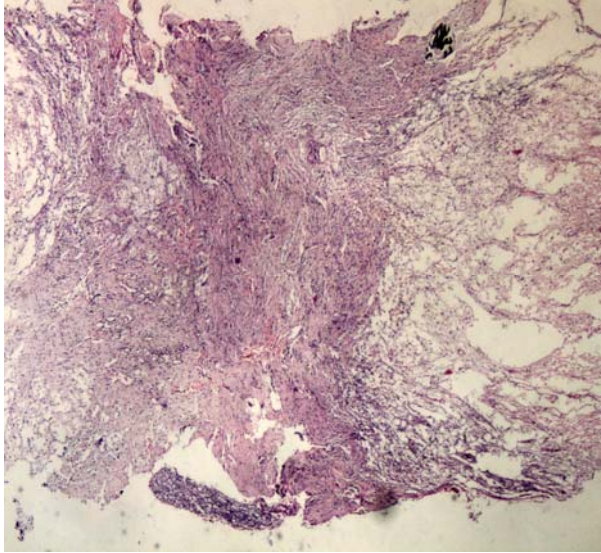
Şekil-16: Grup 2’de bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin X4)

Grup 2’de yer alan sıçanların sagittal planda MAP ile boyanmış kesitleri incelendiğinde granülasyon dokusunda nonspesifik MAP (+) görüldü.



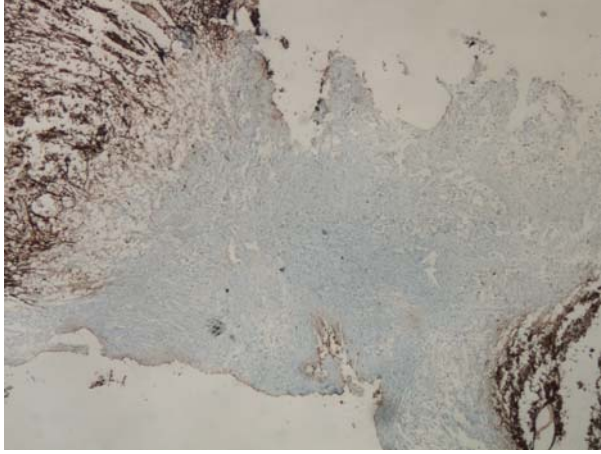
Şekil-17: Grup 2’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)

Grup 3’de yer alan sıçanların histolojik kesitleri sagittal planda hematoxilen eozin ile boyandığında kesi alanında fibrozis ve granülasyon dokusunda makrofaj hakimiyeti görüldü.



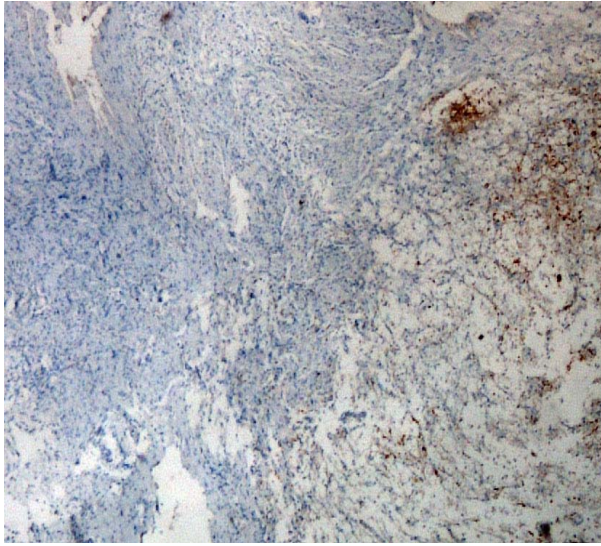
Şekil-18: Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)

Grup 3’de yer alan sıçanların sagittal planda GFAP ile boyanan kesitlerinde granülasyon dokusunda GFAP (-) olarak tespit edildi.



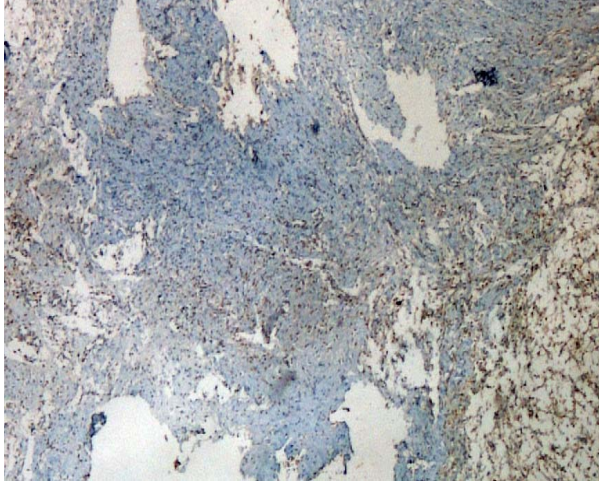
Şekil-19: Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (GFAP X4)

Grup 3’de yer alan sıçanların sagittal planda sinaptofizin ile boyanan kesitleri incelendiğinde granülasyon dokusunda sinaptofizin (-) olarak tespit edildi.



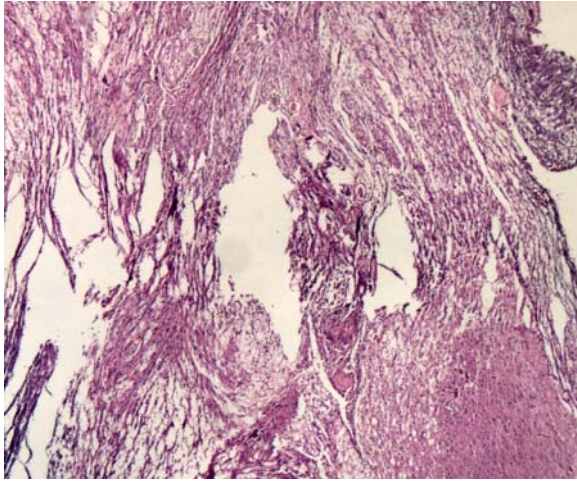
Şekil-20: Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin X4)

Grup 3’de yer alan sıçanların sagittal planda MAP ile boyanmış histolojik kesitleri incelendiğinde granülasyon dokusunda MAP (-) olarak tespit edildi.



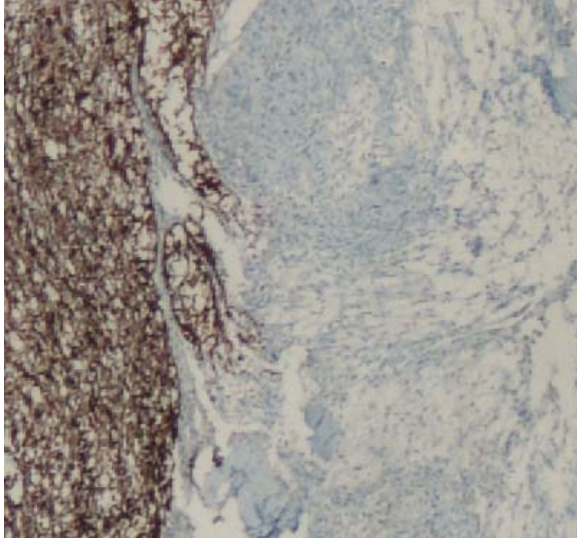
Şekil-21: Grup 3’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)

Grup 4’de yer alan sıçanların hematoxilen eozin kesitlerinde granülasyon dokusu içinde makrofaj infiltrasyonu ve ödem tespit edildi.



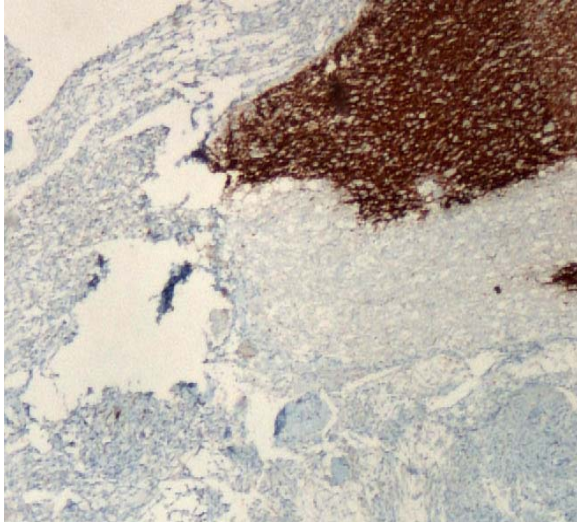
Şekil-22: Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (H&E X4)

Grup 4’de yer alan sıçanların sagittal planda GFAP ile boyanmış kesitlerinde normal glial dokudan granülasyon dokusuna geçişte ve granülasyon dokusu içinde GFAP (-) olarak tespit edildi.



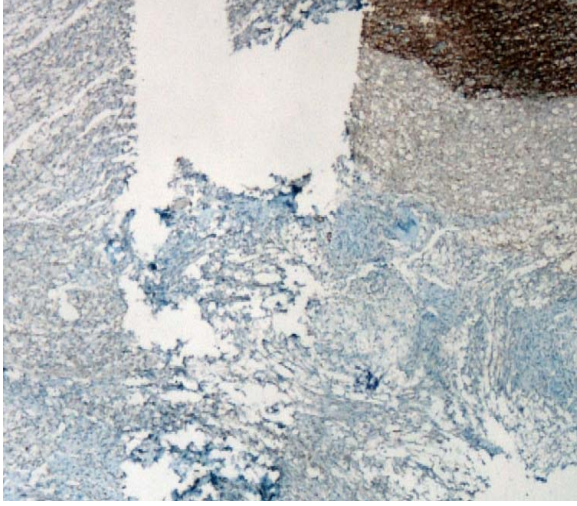
Şekil-23: Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal plan histolojik kesiti (GFAP X4)

Grup 4’de yer alan sıçanların sagittal planda sinaptofizin ile boyanan kesitlerinde granülasyon dokusunda sinaptofizin (-) tespit edildi.



Şekil-24: Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (sinaptofizin X4)

Grup 4’de yer alan sıçanların sagittal planda MAP ile boyanmış kesitleri incelendiğinde granülasyon dokusu içinde MAP (-) olarak tespit edildi.



Şekil-25: Grup 4’de yer alan bir sıçanın sagittal planda histolojik kesiti (MAP 2 X4)

TARTIŞMA

Yaşadığımız yüzyılda insan popülasyonundaki artışa paralel olarak iş kazaları, motorlu araç kazaları, darp, düşme gibi mekanik travmalara bağlı insan omurilik yaralanmalarında artış olmuştur. Omurilik yaralanması sonrası bir kısım hastada geçici paraliziler oluşurken, daha ağır omurilik yaralanmasına maruz kalanlarda kalıcı plejiler oluşmuştur. Geçici paralizelere sahip olan hastalar fizik tedavi programları ile kısmi güç kayıpları düzeltilebilmesine karşın asıl sorunu oluşturan kalıcı plejiye sahip olan hastalarda hala bir çözüm bulunamamıştır.

Omurilik yaralanmasına bağlı felçlerin yaş dağılımına bakıldığında sıklıkla gençleri ve genç erişkinleri etkilendiği görülmektedir. Bu yaş grubunun etkilenmesi beraberinde iş kayıplarını ve yüklü miktarda tedavi masraflarını getirmektedir. Gelişmiş ülkeler artan tedavi masraflarını ve iş kayıplarını azaltılmak için kazaların engellenmesine yönelik birincil korumayı desteklemek amaçlı çalışmalar yapmış ve omurilik yaralanması sonrası oluşan morbiditenin düzeltilmesi yönünde yapılan araştırmalara destek vermişlerdir.

Omurilik yaralanmasına bağlı oluşan hasarı, tamamıyla önleyebilecek ya da tedavi edebilecek bir yöntem tüm araştırmalara rağmen hala mevcut değildir.

Omurilik yaralanması sonrası oluşan patofizyolojiyi anlamaya yönelik birçok deneysel çalışma yapılmıştır. Bu yapılan çalışmalarla insana yakın deneysel model oluşturulmaya çalışılmıştır. Bu çalışmalar göstermiştir ki spinal kord yaralanması sonrası oluşan patofizyoloji iki süreçte gerçekleşmektedir. Birincil yaralanma, kaza anında başlayıp daha sonra da yerini günler ya da haftalar boyunca süren moleküler ve hücrel değişimler kaskadını tetikleyen ikincil yaralanmayı içerir. Omurilik yaralanması sonrası oluşan bu ikincil yaralanma döneminde travma sonrası yaralanan veya canlılığını korumaya çalışan nöronların da etkilenmesinin devam etmesi nedeniyle bilimsel çalışmalar özellikle sekonder yaralanma sürecinde yoğunlaşmıştır.

Omurilik yaralanması sırasında oluşan primer yaralanmadan hemen sonra başlayan sekonder yaralanma süreci nörojenik şok, serbest radikal üretimi, lipid

peroksidasyonu, kalsiyum ve diğler iyon kanalları, büyüme faktörleri, nörotrofik faktörler, inflamasyon süreci, endojen opioid reseptörleri, kalpain aktivasyonu, apoptotik hücre ölümü ve rejenerasyonu içerir. Etkin nöroprotektif tedavinin bulunması için omurilik yaralanmasının patofizyolojisi daha iyi anlaşılmalıdır (56,81,83).

Birincil omurilik yaralanmasının dört karakteristik özelliğı vardır. Bunlar artmış devamlı basının etkisi, yalnız başına geçici basının etkisi, distraksiyon, laserasyon ve tam kesidir. Bunların içerisinde en önemli ve etkili olanı artmış devamlı basının etkisidir. Özellikle bu durum patlama kırıklarında belirgindir. Patlama kırıkları sonrası parçalanmış kemik fragmanlar ve disk metaryali arkada omuriliğe devamlı bası oluşturarak omuriliğın yaralanması sürecinin devam etmesine katkı sağlar. İkinci önemli mekanizma, dejeneratif servikal omurga hastalığına sahip hastalarda hiperekstansiyon yaralanmaları ile birlikte görülen sadece geçici basıdır. Üçüncü önemli mekanizma olan distraksiyon, omurganın axial planda zorla gerilmesidir. Bu distraksiyonel güçler fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyon sırasında görülür hale gelir. Bu zorla gerilme sırasında omurilikte gerilme, omurilik veya omuriliğı besleyen damarlarda yaralanmaya neden olabilir. Bu durum özellikle çocuklarda radyolojik anormallik olmadan omurilik yaralanmalarının temelini oluşturur. Laserasyon, fazla distraksiyon veya parçalanmış kemik fragmanların omuriliğı yaralaması sonrası oluşabilir. Laserasyon, küçük bir yaralanmadan, tam kesiye kadar değışik derecelerde olabilir (44,74,75,76,140).

Santral gri madde mekanik etkiyle yaralanmada periferik beyaz maddeye göre ilk yaralanma eğilimindedir. Bu durum santral gri maddenin yumuşak kıvamı ve damar yapıların fazlalığından kaynaklanmaktadır. Bu sebeple omurilik içerisinde hemoraji erken dönemde oluşur ve ilk mekanik yaralanmadan sonra omurilik içerisindeki kan akımı bozulur. Kan akımının bozulması hipoksi ve iskeminin etkisiyle lokal enfarktüslerle sonuçlanır. Yaralanma alanının içinden geçen nöronlarda fiziksel parçalanma ve myelin kalınlığında incelmeler görülür. Ayrıca sinir iletisi yaralanan alan yakınındaki ödem ve mikrohemoraji bağılı olarak bozulabilir. Santral gri maddedeki geri dönüşümsüz hasar yaralanma sonrası ilk

saatler içerisinde gerçekleşirken, beyaz maddedeki geri dönüşümsüz hasar yaralanmadan sonraki yetmiş iki saat içerisinde gerçekleşmektedir.

Omurilik yaralanmasının akut faz patolojik değişikliklerini incelediğimizde ilk aşamada gri cevherde yaygın peteşial kanamalar oluşur. Yaralanma bölgesindeki kanama yaklaşık iki saat kadar sürer ve çoğunlukla venöz kaynaklıdır. Oluşan tablo ilk 12–24 saat içinde santral hemorajik nekroz halini almaya başlar ve hemorajik alanlar birleşme eğilimindedir. Artık bu dönemde beyaz madde ile gri maddeyi ayırdetmek zorlaşır. Yirmi dört saat sonra posttravmatik enfarkt olarak isimlendirilen iskemi süreci başlar. Kontüzyon ve laserasyonla beraber subaraknoid hemoraji yaygındır. İlk 24 saat içinde travmanın olduğu bölgede travmanın şiddetiyle doğru orantılı olarak kaudale ve rostrale doğru uzanan spinal kord şişmesi ve yumuşaması olur. Ödem dışındaki eksudasyon bulguları lökosit ve eritrositlerin damar dışına çıkmalarıdır. Eritrosit diapedezi belirgin olduğunda peteşial kanamalar meydana gelir. Polimorfonükleer lökositler (PNL) yaralanmayı takiben birkaç saat içinde ortamda çoğalırken, kırk sekiz saat sonra yaralanma alanında lenfosit ve makrofaj hakimiyeti gelişir. Miks tip iltahabi reaksiyon ilk beş gün içerisinde maksimuma ulaşır (141).

Beşinci günden sonra subakut dönem başlar. Omurilik yaralanmalarında subakut dönem yaralanmanın beşinci günü ile üç ay arasındaki dönemi kapsar. Bu dönemde ödem belirgin olarak azalmıştır. Küçük çaplı kanamalar bu dönemde rezorbe olmuş büyük çaplı kanamalar ise organize olmuştur. Bu dönemde damarların çoğunun lümeninde fibrin trombüsleri vardır, mevcut damarlarda rekanalizasyon izlenir. Ortamda çoğunluğu oluşturan hücreler ise lipid yüklü ya da kanamayı fagosite etmiş hemosiderin yüklü makrofajlardır. Onarım dokusu hem glial hücrelerin hem de genç myofibroblastların çoğalmaya başlamasıyla gelişir. Genç myofibroblastlar zamanla kollajen üreten olgun fibroblastlara dönüşür ve ortamda nebde dokusu birikir. Ayrıca bu dönemde astrositik gliozis de izlenir (141).

Bizim çalışmamızda altıncı hafta sonunda alınan histolojik kesitler incelendiğinde, kesinin olduğu alanda geniş bir fibrosiz dokusu, granülasyon dokusu ve özellikle *erythropoietin* grubunu oluşturan ratların histolojik kesitlerinde,

makrofaj infiltrasyonu görüldü. Bazı kesitlerde de myelin dejenerasyonu görüldü. Bu bulgularla bizim çalışmamızın histolojik kesitleri subakut dönemle uyumlu olarak bulundu.

Omurilik hasarı sonrası kronik dönem, yaralanmayı takip eden üç-dokuz ay arasında görülen süreci içerir. Bu dönemde yaralanma sonrası omurilikteki değişiklikler incelendiğinde travma bölgesinde ki duramater ve araknoid membran kalınlaşmıştır. Mikroskopik olarak fibrozisin geliştiği ve meningial hücrelerin proliferasyonu izlenir. Adheziv araknoiditin her zaman tabloya eşlik ettiği görülür. Bu dönemde makrofaj hakimiyeti görülür. Travmanın olduğu yerde küçük büyük kaviteler oluştuğu gözlenir. Daha sonraki dönemde bu kavitasyonlar birbirleriyle ve santral kanalla birleşerek büyük santral kavitasyonlar oluştururlar. İntramedüller skar ve fibrosis değişik dereceldedir. Travmanın en ağır olduğu alanda iyileşmeye çati oluşturacak dokuların kalmaması nedeniyle doku iyileşmesi skar dokusuyla gelişecektir. Yaralanma sonrası hasarın az olduğu alanlarda santraldeki skar dokusunun çevresinde astrositlerin artışına bağlı astrogliosis gelişir. Bu dönemde omurilik yaralanma alanının rostralinde ve kaudalinde atrofiye uğramıştır. Wallerian dejenerasyonla birlikte rejenerasyon da bu dönemde devam eder (141).

Ducker bu patolojik değişikliklerin zamana bağlı olarak artarak, hasardan sonraki altı güne kadar kötüleştiğini göstermiştir (142). Nemecek bu ciddi nekrozu ‘‘ otodestruksiyon ‘‘ olarak tanımlamıştır (143).

Birincil omurilik yaralanması sekonder yaralanmanın başlaması için bir nidus oluşturur. İkincil yaralanma süreci, nörojenik şok, vasküler yaralanma, eksitotoksisite, kalsiyum aracılı sekonder yaralanma ve sıvı elektrolit bozuklukları, immünolojik yaralanma, apoptosis, mitokondrial fonksiyonların bozulması ve diğer süreçleri içerir.

Omurilik yaralanması nörojenik şokla sonuçlanabilir. Bu dönem bradikardi, periferik direncin düşmesiyle birlikte hipotansiyon ve kardiyak girdilerin azalmasıyla karakterizedir. Nörojenik şokda bu etkilerin nedeni semptomatik tonusta azalma, miyokardiyal fonksiyonların vagal tonusun artışıyla azalması ve kalbin kendisindeki

ikincil değişikliklerdir. Eğer nörojenik Şok tedavi edilmezse, nöral dokudaki yaralanma daha da Őiddetlenebilir (37,81,83,112).

Omurilik yaralanmasında vasküler yaralanma mekanizması kanama, iskemik ve reperfüzyon hasarını içerir. Vasküler yaralanmalar özellikle omurilik yaralanması olan alanda görülür ve rostralde ve kaudalde farklılıklar gösterir. Bu yaralanma sonucunda küçük alanlarda hemoraji veya peteşial kanamalar görülür, daha sonra bu kanamaların ilerlemesiyle hemorajik nekroz formasyonu gelişir. Yapılan birçok deneysel çalışmayla omurilikte direk yaralanma sonrası veya çeşitli ajanların etkisiyle vasospazm geliştiği gösterilmiştir. Bunlara ek olarak vasküler tromboz da posttravmatik iskemiye katkı sağlayabilir (37,81,83,112).

Tator ve Koyanagi omurilik yaralanması sonrası ölen dokuz insan kadavra spesmeni üzerinde yaptıkları çalışmada, yaralanmadan sonra üçüncü ve beşinci günler (akut dönem) arasında ölen hastaların omuriliğinde ağırlıklı olarak gri madde olmak üzere gri madde ve beyaz maddede hemorajiler gözlemişlerdir. Özellikle hemorajik gri madde çevresindeki beyaz maddenin rengine azalma, myelinde yırtılma, axonal ve periaxonal şişme tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada beyaz madde posterior kolonunda yaralanma alanından daha uzakta da yaralanma alanları tespit etmişlerdir. Anterior spinal arter, posterior spinal arter ve sulcal arterlerde herhangi bir tıkanma saptamamışlardır. Arterlerdeki bu duruma karşı yaralanmış posterior kolondaki intramedüller vende oklüzyon saptamışlardır. Kronik kadavra spesmenlerinde ise (yaralanmadan üç ile dokuz ay sonra) geniş kavitasyonların oluşmasıyla büyük doku kayıplarının olduğunu tespit etmişler ve hemorajik nekrozun nedenini anterior sulcal arterin yaralanmasına bağlamış ve bu arterin yaralanması sonrası santral myelomalazinin oluşmasına neden olduğunu bildirmişlerdir (72).

Ayrıca omurilik yaralanması sonrası vasküler hemostaz mekanizmasında da anormallikler görülmüştür. Oksijenden üretilmiş serbest radikaller bu iskemi döneminde üretilir. Laktat gibi asidik metabolitlerin üretimi perivasküler alanda pH düşmesine neden olur. Bu dönemde lüks perfüzyon veya hiperemi denilen bir periyod da gelişir. Bu dönemde üretilen serbest radikaller ve diğer toksik ürünler aracılığıyla hücrel ölüm ve yaralanma artabilir. İlk kez 1970'lerde Demopoulos

tarafından ortaya atılan hipotezde serbest oksijen radikallerinin ve ürünlerinin ilerleyici doku hasarına yol açtığı bildirilmiştir (56,81,83,112,144).

İskemi ve hipoksi sonrasında mitokondrideki yetersiz elektron transferi neticesinde süperoksit radikalleri oluşur. Fizyolojik koşullarda oluşan serbest radikaller enzimatik antioksidan mekanizmalar ya da non-enzimatik antioksidanlar veya metal bağlayıcılar ile inaktive edilerek doku hasarından korunur. SSS askorbat, glutasyon, ve tokoferol gibi antioksidan mekanizmalara yüksek oranda sahiptir (145). Ancak omurilik yaralanması sonrası dokuda alfa-tokoferol, retinoik asit, askorbik asit, selenyum, coenzim Q gibi antioksidan mekanizmalar hızla azalır. Oluşan serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek sıklıkla lipid peroksitler oluştururlar ve bunun sonucunda daha fazla serbest radikaller oluşur. Serbest oksijen radikallerinin yaptığı endotel hasarına bağlı olarak kan omurilik bariyeri de bozulur. Bunun sonucu zararlı maddelerin birikimi artar. SSS'de süperoksit dismutaz, katalaz ve glutasyon peroksidaz aktivitelerinin az olması serbest radikal hasarına yatkınlığı artırır. Ayrıca serbest radikaller ile kolayca reaksiyona girebilen doymamış yağ asitleri ve kolesterol ile serbest radikal oluşturma reaksiyonlarını katalizleyen askorbik asit ve demirin fazla miktarda olması, SSS'nin travmatik ve iskemik yaralanmadan daha çok etkilenmesine neden olur. Bu yüksek enerjili reaktif oksijen ve nitrojen türleri omurilik yaralanmasının ikincil yaralanmasına katkı sağlar. Bu serbest radikaller nitrik oksid sentetaz, fosfolipazın kalsiyum aracılı aktivasyonu, ksantin oksidaz, inflamatuvar hücreler, *Fenton* ve *Haber-Weiss* gibi birçok hücresele yolla üretilir (56,81,83,140).

İlginç bir protein olan ısı şok proteini normalde intraselüler bir proteindir. Hücrenin strese veya yaralanmaya maruz kalması durumunda oluşur. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ısı şok proteininin spinal kord yaralanması sonrası sekonder yaralanmada önemli bir rol üstlendiği bulunmuştur. Spinal kord yaralanması sonrasında ependimal hücreler, mikroglial hücreler ve endotelial hücreler tarafınca üretilir. Omurilik yaralanması sonrası etkinliği özellikle motor nöronların travmadan korunması üzerinedir (146).

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. Metil prednizolonun akut omurilik yaralanmasında diğer farmakolojik ajanlara karşı etkinliğini göstermek için üç büyük çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan ilki, *National Acute Spinal Cord Injury Study (NASCIS I)* dir. Bu çalışma bir kontrol grubu olmadan 330 hasta üzerinde yapılarak, yüksek doz metil prednizolonun düşük doz metil prednizolona karşın etkinliği gösterilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda hayal kırıklığı yaşanmış ve yüksek dozun düşük doza üstünlüğü gösterilememiştir. NASCIS I'den sonra metilprednizolonun akut omurilik yaralanmasında etkinliğini tam olarak anlamak için deneysel modeller yapıldı. Bu deneysel çalışmalar sonucunda metilprednizolonun etkinliğini göstermesi için geniş bir doz gerektiği, yaralanmadan kısa bir süre sonra yapılması gerektiği ve yararlı etkisinin dokudaki yayılımı ve eliminasyonu ile paralellik gösterdiği görülmüştür. Ayrıca bu çalışmalarda metilprednizolonun 30 mg/kg dozunda uygulandığında lipid peroksidasyonunu engellediği, 60 mg/kg kullanıldığında da lipid peroksidasyonunu etkilemediği görülmüştür. Daha sonra 1985–88 yılları arasında NSACIS II yapılmıştır. Bu çalışmanın özelliği çokmerkezli, randomize, çift-körlü, plasebo kontrol çalışması olmasıdır. Bu çalışmada hastalara on beş dakika içerisinde 30 mg/kg bolusu takiben kırk beş dakikalık duraklama süresi sonrasında yirmi üç saat süreyle 5,4 mg/kg/saat'ten metil prednizolon verildi. Diğer hasta grubuna opioid reseptör antagonistisi olan naloksan 5,4 mg/kg bolus olarak verilerek kırk beş dakika sonra da 4 mg/kg/saat'ten yirmi üç saatlik naloksan verildi. Bu çalışmanın sonucunda metilprednizolonun ilk sekiz saat içerisinde uygulandığında nörolojik düzelmeyi belirgin şekilde kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Naloksan veya geç metilprednizolon uygulamasının hiçbir fayda sağlamadığı gösterilmiştir. NASCIS II'den sonra NASCIS III çalışması yapılmış ve ilk sonuçları 1997 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmada metilprednizolonun yirmi dört saat ve kırk sekiz saat uygulamasının 21 aminosteroid trilazad mesylate kullanımı ile etkinliğini karşılaştırmak için planlanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda akut omurilik yaralanması olanlarda yaralanmanın ilk üç saatinde metilprednizolon alan hastaların yirmi dört saat süreyle idame tedavisi alması gerekirken, travmadan üç ile sekiz saat sonra steroid tedavisi alan hastaların kırk sekiz saatlik tedavi alması gerektiği gösterilmiştir. Ayrıca bu

çalışmada lipid peroksidasyonunu önlemede etkinliği metilprednizolona göre daha fazla olan trilazad'ın klinikte kullanımı için gerekli açıklama gösterilememiştir. Metilprednizolonun omurilik yaralanmasında kullanımına yönelik bu kadar büyük çalışmalara rağmen pek çok araştırmacı hala metilprednizolon kullanımını tartışmaktadır (81,112).

Sean ve ark (145). tarafından yapılan bir deneysel omurilik yaralanması modelinde metilprednizolonun lipid peroksidasyonunu engellemede ilk on iki saat içerisinde etkin olduğu, yirmi dört saat ve beş gün sonra etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir.

Doku iskemisinin önlemesine yönelik yapılan başka bir çalışma Schroeder ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada perfluorakarbon eşliğinde omurilik yaralanması olan alana yüksek doz oksijen verildiğinde deney grubunda doku oksijen değerlerinin kontrol gruplarına göre altı kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma sonucunda doku hipoksisinin geri çevrilebileceğini ve doku yaralanmasının azaltılabilmesi için bu çalışmanın umut vadedtiğini bildirmişlerdir (147).

Glutamat ve Aspartat SSS'in major eksitator aminoasitleridir. Yaralanmadan sonra çok fazla miktarda salınırlar. Zararlı etkilerini direk veya indirek olarak gösterebilirler. Özellikle NMDA ve AMPA-kainate reseptörlerinin aktivasyonu iskemik yaralanmada kritik öneme sahiptir. Olney, glutamat reseptör aktivasyonunun artışıyla sonuçlanan nöronal yaralanmaya eksitotoksikite olarak tanımlamıştır (83). Eksitotoksikite SSS'i yaralanmasında merkezi bir rol üstlenir. Hücre içinde erken intraselüler sodyum birikimi Glutamat reseptör aktivasyonu sonucu görülür ve daha sonra sitotoksik ödem ve intraselüler asidoz gelişir. Na-K ATPaz'ın bozulması hücre içinde sodyumun ve suyun aşırı birikmesine, intraselüler K (potasyum) kaybına neden olur. Eksitotoksikite, özellikle NMDA reseptör aracılığıyla kompleks bir kaskadın oluşmasıyla başlar ve daha sonra reaktif moleküllerin üretimiyle sonuçlanır. Bu reaktif moleküller çeşitli mekanizmalarla lipid peroksidasyonunu başlatır, Na-K ATP az, membran sodyum kanallarının inaktivasyonuna neden olur, mitokondriyal solunum enzimlerini direk olarak inhibe eder, gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazı inaktivasyonuna neden olur (81,83,140).

Glutamat ve aspartat salınımının omurilik yaralanması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Orta şiddetli yaralanmalarda iki-dört kat yükselme olurken, şiddetli yaralanmalarda on kat kadar yükselme olabilir. Travmatik beyin ve omurilik yaralanmasından sonra glutamat reseptörlerinin hızla azalması hücrenin kendisini, eksitotoksisiteden koruma çabası olabilir. NMDA reseptör antagonisti olan memantin ile yapılan bir çalışmada iskemik ve travmatik omurilik hasarı yapılan ratlarda memantin nöroprotektif etkisini gösterir kanıt bulunamamıştır.

Bunun aksine Gomez ve ark (148), yaptığı bir çalışmada MK801 ve U-50488H ile NMDA reseptörlerinin antagonize edilmesiyle birlikte omurilik kontüzyon modelinde yararlı etkilerinin olduğunu göstermişlerdir.

Wrathall ve ark (149), selektif bir AMPA-Kainate reseptör antagonisti olan NBXQ' u spinal kord yaralanmasından dört saat sonra lokal olarak kullanmış ve çalışmanın sonucunda yaralanma alanına komşu gri maddenin korunduğunu göstermişlerdir. Fakat yapılan bu çalışmada kontrol grubu ile deney grubu arasında fonksiyonel iyileşme açısından bir farklılık olmadığı gözlenmiştir.

Omurilik yaralanması sonrası ikincil yaralanma mekanizmalarından biri de kalsiyum aracılı sekonder yaralanma ve elektrolit bozukluklarıdır. Yüksek kalsiyum konsantrasyonu değişik mekanizmalar aracılığıyla sekonder yaralanmaya katkı sağlar. Bu mekanizmalardan biri de mitokondriyal fonksiyonlara müdahale etmektir. Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artması calpainler, fosfolipaz A2, lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi bir dizi kalsiyum bağımlı proteaz ve lipazı harekete geçirir. *Calpain* aktivasyonu ve ifadesi deneysel omurilik yaralanmasında lezyonun penumbrasında aktive olmuş glial ve enflamatuvar hücrelerin artışına neden olur. Bunlara ek olarak kalsiyuma bağımlı proteaz ve lipazların aktivasyonu hücre membranının yıkılmasına ve nörofilament gibi hücrenin en küçük yapısal birimlerinin çözülmesine neden olur. Omurilik yaralanması sonrası lipaz, lipooksijenaz ve siklooksijenazın aktivasyonu araşidonik asidin tromboksan, prostaglandin ve leukotrienlere dönüşümüyle sonuçlanır ve bu ürünler omurilik yaralanması ile ilişkili olarak yaralanma anında artış gösterir. Hatta omurilik yaralanmasından yaklaşık yirmi dört saat sonra araşidonik asitin geçikmiş bir

yükselişi görülür, bu durum doku ödemi ve Na-K ATPaz'ın inaktivasyonu ile ilişkilidir. COX-1'in deneysel omurilik yaralanmalarında mikroglia, makrofaj ve endotelium dan salınımının arttığı da gösterilmiştir. Araşidonik asidin dönüşümüyle oluşan ürünler trombosit agregasyonu ve vazokonstrüksiyona neden olarak kan akımının azalmasına katkı sağlarlar. Ayrıca bu ürünler bir enflamatuvar yanıtı ve lipid peroksidasyonuna katkı sağlar. Bunlara ek olarak lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin oluşumuna katkı sağlayarak lipid peroksidasyonu ve serbest radikal oluşumu arasında kısır bir döngü oluşur. Serbest radikallerin oluşum siklusu endojen antioksidanlar tarafından durdurulmadan devam eder (37,79,81,83,88,140).

COX-2 son zamanlarda çalışılan, sekonder yaralanmayı artıran bir üründür. Omurilik yaralanmasından sonra COX-2 mRNA'sı ve protein üretimini indüklenir. Ayrıca COX-2 membran yaralanmasında ve omurilik yaralanması sonrası eksitotoksisitede önemli bir ürün olabilir. Kalsiyum hücre içine girişi membranla ilişkili fosfolipazın aktivasyonu ve araşidonik asidin ortaya çıkmasına neden olabilir. Bunun sonucu direk toksisite aracılığıyla hücre ölümüyle sonuçlanır (83,91,92).

Kalsiyum'un omurilik yaralanması sonrası sekonder yaralanmada etkinliğini azaltmaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda nimodipin geniş bir şekilde kullanılmıştır. Nimodipinin kullanılma nedeni öncelikli etkisinin SSS'de dolaşım fonksiyonları üzerine olan etkisindedir. Nimodipin damar düz kaslarında hücre içi kalsiyum birikmesini engelleyerek postravmatik iskemi ve vazospazm gelişimini engellemek için kullanılmıştır. Guha ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kalsiyum kanal blokörü olan nimodipinin deneysel omurilik yaralanması oluşturulan ratlarda omurilik kan akımını artırdığı gösterilmiştir (112). Ayrıca Fehlings ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada omurilik yaralanması oluşturulan ratlarda nimodipinin postravmatik iskemiye geri çevirdiğide gösterilmiştir (112). Bununla beraber bazı başka çalışmalarda kalsiyum kanal blokörlerinin nörotoksisiteyi engelleme üzerine yararlı etkisi gösterilememiştir. Bu durum kalsiyum kanal blokörlerinin nörotoksisitedeki diğer mekanizmalara etkisinin olmamasıyla açıklanabilir. Nimodipinden başka Na-Ca kanal antagonistleri olan benzamil ve bepridilde deneysel omurilik yaralanması modellerinde kullanılmış ve invitro etkinliği gösterilmiştir (112).

Omurilik yaralanması sonrasında sekonder yaralanma mekanizmalarından biri de immünolojik yaralanmadır. Bu dönemde spinal kord yaralanmasından sonra bifazik lokosit yanıtı görülür. İlk olarak nötrofil hakimiyeti vardır. Nötrofillerin yaralanan dokuya göçü sonrası nötrofillerden litik enzimlerin salınımı kan damarlarında, glial ve nöronal dokularda yaralanmanın şiddeti artırabilir. İkinci faz makrofajların *recruitment* ve migrasyonudur. Bu makrofajların görevi ileri derecede zarar gören dokuları fagosite etmektir. Bu immünolojik reaksiyonun başlamasının, SSS yaralanması sonrasında nöronal rejenerasyonu engellediği veya etkilenen dokunun boyutlarını artırdığıyla ilgili bilgiler vardır. Özellikle makrofaj ve mikrogliaların nöronal rejenerasyonun integral bir bileşeni olması yanında buna karşın oligodentrosit lizisi, nöronal hücre ölümü ve demiyelizasyona katkı sağladığını bildiren görüşler de vardır. Bu görüşe kanıt olarak travma sonrası lokosit infiltrasyonunun ikinci fazında primer yaralanma sonrası ilk yirmidört saat içerisinde yaralanmış nöronlarda demiyelizasyonu başlatması ve bunun takip eden birkaç gün süreyle artarak devam etmesi gösterilmektedir. Skar formasyonu primer olarak astrositler ve diğer glial hücreler aracılığıyla gerçekleşmekte, fibroblastlarda bu sürece katkı sağlamaktadır (81,83,93,94)

Bu immün hücrelerin yaralanan SSS dokusu içerisinde toplanması birçok protein ailesi tarafından yönetilir. Bu proteinlerden biri intraselüler adezyon molekül 1 (ICAM-1) dir. ICAM-1 etkisini, yaralanma sonrası yaralanan dokuya nötrofillerin infiltrasyonunu teşvik ederek gösterir. Omurilik yaralanması sonrası immun yanıtın oluşmasına katkı sağlayan diğer mediatörler *P-selectin*, sitokinlerin indüklediği İnterlökin-1 β , İnterlökin-6, TNF, *Nuclear factor-kappa β* dir. İmmun yanıtın azaltılmasının etkilerini anlamaya yönelik birçok çalışma yapılmıştır (81,96,97).

Hamada ve ark (96), yaptığı çalışmada ağırlık uygulamak suretiyle oluşturulan omurilik travması sonrası ICAM-1 değerlerinin travmanın şiddetiyle orantılı olarak arttığı maksimum değerine travmadan altı saat sonra ulaştığı gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada ICAM-1 antikorunun kullanılması sonrası kontrol grubuyla denek grubu karşılaştırıldığında motor kaybın antikor kullanılan grupta daha az olduğu gözlemlenmiştir. Diğer bir çalışmada Naidu ve ark (150), tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada aortaya geçici bir balon yerleştirilerek geçici iskemi modeli oluşturulmuş

ve sonrasında ICAM-1 antikoru verilen grupta nörolojik defisit azaldığı ve nöral korumayı indüklediği gözlenmiştir (150).

Hayvanlarda, 1980'li yıllarda yapılan deneysel omurilik yaralanması modellerinde nonspesifik opioid reseptör antagonistleri olan naloksan üzerinde genişçe çalışılmış ve sonrasında spinal şoku geri çevirdiği ve omurilik kan akımını artırdığının bulunması ilgiyi opioid antagonistleri üzerine çekmiştir. Daha sonra araştırmacılar omurilik yaralanması sırasında dinorfin salınımını arttığını tespit etmişlerdir. İntratekal dinorfin uygulanmasıyla paralizi ve hücre hasarı bulguları ortaya çıkması, 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. 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 artırdığı ve zararlı etkilerini EAA üzerinden yaptığı gösterilmiştir. Opiat reseptör antagonistleri testiküler testesteron sekresyonunu artırır. Testesteron nöroprotektif olabilir, reaktif gliozisi ve astrositik proliferasyonu azaltırken, periferik sinir rejenerasyonunu hızlandırır. İkincil hasarın önlenmesindeki opiat reseptörlerinin bloke edilme mekanizması dolaylı yoldan ve kompleks bir olaydır. Naloksan opiat reseptörlerinin alt tip blokeridir. Deneysel çalışmalarda nöroprotektif etkinliği gösterilmiştir. TRH, YM 14673 (TRH analogu), WIN 44, 441-3 ve norbinaltorpimin kappa opiat reseptör blokajı yaparak omurilik yaralanmasında nörolojik iyileşmeyi artırır. Nalmefen hem mü hem de kappa reseptör blokajı yapar ve omurilik yaralanmasında nöroprotektif olduğu bildirilmiştir (81,112,141).

Travmatik omurilik yaralanmasından sonraki hücre ölümünün bir kısmından da apoptozis ve nekroz sorumludur. Apoptosis, eksitotoksikite, serbest radikal yaralanması, inflamatuvar yaralanma, sitokin aracılı yaralanmalar gibi birçok değişik yaralanma tipiyle tetiklenebilir. Omurilik yaralanmasından sonra apoptotik kaskad astrositler, mikroglia, oligodentositler ve nöronlarda aktive edilir. Mikroglialarda

sekonder inflamatuvar yaralanma apoptosise katkı sağlar. Nöronlarda apoptosise hücre kaybına katkı sağlar. Omurilik yaralanmasından sonra apoptosise oluşumunda iki yolun da aktive olduğu gösterildi. Bu yollar ekstrinsek ve intrinsek yollardır. Ekstrinsek yol, reseptöre aracılığıyla gelişen apoptosise dir ve ekstrasellüler uyarılarla aktive olur. En iyi bilinen uyarıcı TNF'dir. TNF'nin omurilik yaralanması sonrası dokuda hızlıca birikmesi nöronlarda ve mikroglialarda fas reseptörünün aktivasyonuna neden olurken oligodentrositlerde *caspas-8* içeren bir dizi programlanmış *caspas* aktivasyonuna neden olur. Etketör *caspas* olarak bilinen *caspas-3* ve *caspas-6* aktivasyonu sonucu yaralanmış hücrenin programlı ölümüyle sonuçlanır. Ayrıca ekstrinsek yol nitrik oksid sentazın aktivasyonu ile uyarılabilir. Diğer bir yol olan reseptörden bağımsız apoptosise hücre içi sinyallerle aktive olur. Bu sebeple intrinsek yol olarak isimlendirilir. İntrinsek yolun aktivasyonu hücre içinde yüksek düzeyde kalsiyum iyonunun artışının harekete geçirdiği geri dönüşsüz mitokondri yaralanması, sitokrom c'nin salınımı ve bir dizi *caspas* aktivasyonu ile olur (81,83,140).

Apoptotik hücre ölümünün engellenmesi veya azaltılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda *caspas-3* inhibitörünün deneysel omurilik yaralanmalarında nöroprotektif etkisinin olduğu görülmüştür. Bcl-2'nin apoptosise nöroprotektif olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bir sentez inhibitörü olan *cycloheximide*'in omurilik yaralanması olan ratlarda kullanıldığında davranışsal sonuçlarında gelişme olduğu gözlemlenmiştir (112).

Görüldüğü gibi omurilik yaralanması sonrası ikincil hasar döneminde karmaşık bir süreç başlamakta ve gelişen süreç bir öndeki süreci tetikleyerek olayın dahada karmaşık bir olay haline gelmesine neden olmaktadır. Omurilik yaralanması sonrası oluşan sekonder yaralanma sürecinin anlaşılması beraberinde yeni tedavi seçenekleri veya kombine tedavi seçeneklerinin araştırılmasına neden olmuştur. Biz de bu çalışmada apoptosise inhibisyonu, anti-enflamatuvar, antioksidan, kan-beyin bariyerinin restorasyonu, nörogenesis ve angiogenesis özellikleri bilinen *erythropoietin* alfabayı kullandık (114).

Normal durumda eritropoietin, SSS'nin gelişimine katkı sağlar. Birçok çalışmayla eritropoietinin (EPO) ve EPO-R'nin fetal omurilikte glial hücreler ve nöronlarda üretildiği kanıtlanmıştır. Araştırmacılar EPO-R'nin omurilikte lokalizasyonunun beyaz madde içerisindeki kapillerde, beyaz cevher gövdesinde, ventral hornun çevresindeki motor nöronların proksimal dendritlerinde olduğunu göstermişlerdir (108,151). Bilim adamlarının EPO üzerinde durmalarının nedeni omurilik yaralanması sonrası EPO'nun ifadesinin artmasıdır. Omurilik yaralanması sonrası bu üretimin artmasının nedeni hipoksiye verilen fizyolojik bir yanıttır. Eritropoietin etkinliğini kompleks bir bağlanma alanı içeren EPO-R ve β ortak reseptörü üzerinde gösterir. Beta reseptörü IL-3, IL-5 ve granülosit makrofaj koloni stimülan faktörde (GM) ortaktır. İnvitro çalışmalarda EPO'nun glukoz yoksunluğu, eksitotoksinlerin ve hipoksinin indüklediği hücre ölümünde nöronları koruduğu gösterilmiştir. İnvivo olarak bir omurilik sinir kökünün yaralanmasını takiben EPO'nun dorsal kök ganglion nöronlarında apoptosisi engellediği gösterilmiştir. EPO'nun antiapoptotik etkinliği muhtemel olarak birçok yolla gerçekleşir. Araştırmalar *janus kinase-2* (JAK2), sinyal dönüştürücüler ve *transcription-5*'in aktivasyonun Bcl-xL gibi yaşamsal proteinlerin sentezine neden olduğunu göstermiştir. *Phosphatidylinositol-3 kinase* (PI3K), UT-7 lösemik hücre serisinde aktive edilir. PI3K aktivasyonu protein kinaz B (Akt) kendine katılmasını sağlar. PI3K-Akt yolunun aktivasyonu Bcl-xL'nin upregülasyonu ile sonuçlanır ve inhibitör kappa B'nin inhibisyonu sonrasında *Nuclear factor - κ B* (NF- κ B) tarafınca *platelet-derived* büyüme faktörü aracılığıyla antiapoptotik sinyal verir. Bunlara ek olarak *Jak2*, *Ras-mitojen-aktiveted protein kinase*'ı aktive eder. Bu yolağın aktivasyonu glikojen-sentaz kinaz 3β (GSK3 β) liderliğinde *caspas* aktivasyonunun inhibisyonuna neden olur. En son olarak fosfolipaz (PLC) düşük voltajlı kalsiyum kanallarının aktivasyonunun modülasyonunu sağlar (LVCaC) ve böylelikle nitrik oksit (NO) üretimini artırır, eksitotoksik nörotransmitterlerin salınımını azaltarak antiapoptotik etkinliği gösterir (108,152,153).

Eritropoietin'in omurilik yaralanması sonrası anti-enflamatuvar etkinliği nasıl gösterdiği açık değildir. Ayrıca anti-enflamatuvar etkinliğini göstermede enflamatuvar sitokinlerin antogonizmasıyla açıklanamamaktadır. Fakat EPO'nun omurilik yaralanması sonrasında glial hücreler tarafınca üretilen TNF'yi inhibe

ettiğinin bilinmesi EPO'nun anti-enflamatuvar etkinliğini açıklamaya yetmemektedir (108).

Omurilik yaralanması sonrasında EPO'nun vasküler yapıların restorasyonu ve bütünlüğünü korumada etkinliği gösterilmiştir. EPO'nin endotelial hücrelerde Aktl aktivasyonu ve sistein proteazın mitokondrial modülasyonu aracılığıyla apoptosisi engellediği bulunmuştur. Aynı zamanda EPO'nun indüklenmiş VEGF destekleyerek dokuların oksijenizasyonunu artırdığı ve endotelial hücrelerde sıkı bağlantı noktalarını güçlendirdiği gösterilmiştir (108). Ayrıca son çalışmalarda VEGF'nin kendisinde nöronlar için nöroprotektif ve trofik özelliği taşıdığı rapor edilmiştir (152).

EPO'nun omurilik yaralanması sonrası diğer etkilerine bakıldığında nöronal rejenerasyonu desteklediği ve yaralanma alanını sınırlayarak etki gösterdiği bilinmektedir. EPO'nun aktivasyonu hücre düzeyinde birçok değişik fenomenin oluşumuna neden olur. Bunlar hücre içine kalsiyum girişinin azalması, astrositlerde glutasyon peroksidazın üretiminin artması, lipid peroksidasyonunu azaltması, omurilikte varolan nöral kök hücrelerin proliferasyonunu artırarak bu hücrelerden nöronlar, astrositler ve oligodentriosit üretimini sağladığı gösterilmiştir (108).

EPO ile ilgili literatür gözden geçirildiğinde Vasileous ve ark (108), yaptığı bir çalışmada gruplardaki ratlara klip kompresyon metoduyla omurilik yaralanması oluşturulmuş, farklı dozlarda EPO'nun dozu ile ilişkili olarak fonksiyonel sonuçlarını incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda düşük doz EPO'nun yüksek doz EPO'ya göre fonksiyonel sonuçlarının daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada EPO uygulanan grupların kontrol grubuna göre fonksiyonel sonuçlarının daha iyi olduğunu da tespit etmişlerdir.

Okutan ve ark (154), yaptığı başka bir çalışmada kontüzyon modeli oluşturulan ratlarda eritropoietin kullanımının *caspas-3* aktivitesi ve myeloperoksidazın aktivitesine etkisi ve spinal kord yaralanması sonrası erken fonksiyonel iyileşme üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Bu araştırma neticesinde kontrol grubuyla travma grubu arasında myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi arasında anlamlı farklılık

saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada EPO ve metilprednizolon kullanımının MPO düzeyini anlamlı oranda azalttığı tespit edilmiştir. Çalışmadaki *caspas-3* düzeylerine bakıldığında travma grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Yine bu çalışmada EPO ve metilprednizolon kullanımının *caspas-3* düzeyini anlamlı şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada erken dönem BBB skorlarına bakıldığında kontrol grubu ve travma grubu arasında farklılık olduğu ve EPO grubunun BBB skorlamasının diğer gruplardan anlamlı olarak farklı olduğu tespit edilmiştir.

Kaptanoğlu ve ark (155), yaptığı bir çalışmada ağırlık düşürülerek oluşturulan omurilik yaralanması sonrası lipid peroksidasyonuna bakılmış ve daha sonra deney gruplarına metilprednizolon ve üç farklı dozda EPO verilerek elektromikroskop eşliğinde ultrasütüktürel yapılar incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda metilprednizolon ve EPO'nun dokuda lipid peroksidasyon ürününü azalttığı gösterilmiştir. Fakat en iyi kimyasal sonuçlar en yüksek doz olan 5000 IU/kg EPO dozunda görülmüştür. Beş bin ve 1000 IU/kg EPO dozunun lipid peroksidasyon ürününü azaltma miktarının metilprednizolondan daha iyi olduğu görülmesine karşın elektromikroskopik ultrasütüktürel nöron korumanın benzer olduğu saptanmıştır.

Bir ilginç çalışma da King ve ark (156), tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada omurilik hemisection yapılan ratlarda EPO ve bir EPO varyantı olan *carbamyated* EPO (CEPO) kullanılmış ve omurilik yaralanmasından üç gün sonra patolojik kesitler incelenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda omurilik kesisinden sonra EPO ve CEPO verilen grupların lezyon alanları, apoptosisi, *schwann* hücre infiltrasyonu, makrofaj infiltrasyonu kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda CEPO ve EPO verilen gruplarda lezyon alanlarının benzer oranda etkilendiği ve etkilenen lezyon alanı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak da anlamlı bulunmuştur. Ayrıca apoptosis oranlarına bakıldığında EPO ve CEPO verilen gruplarda apoptosis oranlarının birbirine yakın olduğu fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Schwann hücre infiltrasyonlarına bakıldığında EPO ve CEPO verilen gruplarda schwann hücre infiltrasyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir. Lezyon alanı ve lezyon çevresinde ki sağlam dokudaki lezyon

makrofaj infiltrasyonlarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Grasso ve ark (153), klip kompresyon metoduyla yaptıkları deneysel omurilik yaralanması modelinde yaralanan alanda EPO ve EPO-R düzeyini yaralanmadan sonra sekizinci saatte, ikinci günde, sekizinci günde ve on dördüncü günde değerlendirdiklerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulmuşlardır. Bu çalışmada EPO ve EPO-R'nin nöronlarda, glial hücrelerde ve endotelial hücrelerde ve ependimal hücrelerde ifade edildiğini gözlemişlerdir. Bu ifadenin yaralanmanın sekizinci gününe kadar pik yaptığı ve daha sonra azalarak devam ettiğini gözlemişlerdir. Yaralanmanın ondördüncü günü EPO düzeyinin anlamlı olarak azalmasına rağmen EPO-R değerindeki düşmenin EPO kadar olmadığını tespit etmişlerdir.

Fu ve ark (157), yaptığı bir çalışmada, 14 haftalık insan fetusunun abortus sonrası beyninden elde ettikleri nöral kök hücreleri kültür ortamında ekerek bir eritropoietin varyantı olan CEPO ile IFN- γ uygulamasının MHC (*major histocompatibility complex*) ifadesi ve nöral kök hücrelerin nöronal diferansiyonunu üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, tek başına eritropoietin ve IFN- γ uygulanması kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve kontrol grubuna karşı nöronal diferansiyon açısından bir üstünlüğünün olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmada ilginç olan kontrol grubunda ve IFN- γ uygulanan grupta tau pozitif hücrelerde kısa dallanmalar olduğu gösterilmiştir. Bunların aksine CEPO uygulanan grupta tau pozitif olan hücrelerde daha uzun filizlenmeler olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda yapılan Western analizinde CEPO'nun tau proteini artırmasının yanında p-Akt ve Stat aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir. IFN- γ ve CEPO'nun MHC markını üzerine etkisine bakıldığında, CEPO eklenen grupta MHC-1 protein ifadesinde artış olduğu gösterilmiştir. Bunun aksine diferansiye ve nondiferansiye hücrelerde yalnız IFN- γ uygulanan grup ve IFN- γ ile CEPO'nun birlikte uygulandığı grupta, MHC-1 proteinin ifadesinde bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. MHC-II üzerine etkisine bakıldığında IFN- γ uygulanmış nöral kök hücrelerde CEPO'nun MHC-II proteininin ifadesini azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmadan çıkarılan sonuç, IFN- γ uygulanması transplant rejeksiyonu için potansiyel bir etken olabilir ve CEPO

uygulanması nöranal kök hücreler ve immun sistem üzerinde MHC protein aktivasyonunu artırsa da transplant rejeksiyonunu Jak/Stat ve PI3K/Akt yolunun aktivasyonu ile en aza indirir.

İkincil yaralanma süreciyle birlikte nöral rejenerasyon başlar. Nöral rejenerasyonun anlaşılması için omurilik yaralanması sonrası oluşan rejenerasyon çabasının ve sonuçlarının bilinmesi gerekir. Omurilik yaralanmasından hemen sonra bu süreç başlar ve günler, haftalarca ve hatta aylar sonrasında da devam eder.

Sinir sisteminin kendi içerisinde veya içinde bulunduğu ortama uyum sağlama yeteneğine nöral plastisite olarak isimlendirilir. Sinir dokusunda meydana gelen hasarın etkisinin azaltılması ve iyileşmesinde rol oynar. Santral sinir sisteminde nöranal hücrelerin kısmi veya tam olarak hasarlanması kortikal ve subkortikal alanlarda işlevsel değişikliklere neden olur, plastisite burada kendini akson sayısının artışı ve dentritik gelişim sinaptik bağlantılardaki değişikliklerle gösterir. Bu dentritik ve sinaptik bağlantılardaki değişim nöronlarda yapısal reorganizasyon olarak isimlendirilir (108).

Nöral rejenerasyon ise hasarlı ve aksotomize nöronların yaşamlarını devam ettirmesi, kesilmiş aksonların uzaması, lezyon bölgesini geçmesi, uygun hedeflere uzanması ve sonuçta fonksiyonel sinapsların oluşması nörolojik ve klinik iyileşme rejenerasyon olarak isimlendirilir.

Memelilerde santral sistemi yaralanması, aksonların rejenerasyonu ve tekrar doğru sinaptik bağlantı kurmalarını azaltarak kalıcı güçsüzlüğe neden olabilir. Santral sinir sisteminin major hücre tipi olan astrositler spinal hemostazın sağlanmasında kritik öneme sahiptir. Santral sinir sistemi yaralanmasıyla astrositler reaktif hale gelirler, intermediate filament proteinlerinin üretimi artar ve bunun sonucunda yaralanma alanında glial skar oluşur. Oluşan skar dokusu SSS de aksonal rejenerasyonun ve fonksiyonel sonuçların iyileşmesi önündeki en büyük engeldir. Bu mekanik ve biyokimyasal bariyer başarılı bir rejenerasyonun oluşumunu önler ve çeşitli büyümeyi negatif yönde etkileyen moleküllerin sentezinin artmasını sağlar (158).

SSS yaralanması sonrası oluşan glial skar dokusu, rejenerasyonun önündeki en büyük engeldir. Nöral rejenerasyonun artırılması ve oluşan glial skar dokusunun azaltılması hedefi bilimsel çalışmalarında yönünü belirlemiştir. Deneysel omurilik çalışmalarında rejenerasyonun araştırılması amaçlı glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF) ve nörotrofin ailesinin üç üyesi olan sinir büyüme faktörü (NGF), nörotrofin-3 (NT 3) , beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) kullanılmıştır (159).

Bu çalışmalardan birinde torakal bölgede yapılan bir yarım kesi modelinde, torakal bölgeden NT3 verildikten sonra kortikospinal traktın rostraldeki aksonlarda filizlenme gözlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada kesinin diğer kısımdaki kortikospinal trakt aksonları ve yaralanmanın distalindeki alanda aksonal tekrar büyüme başlatmadığı gözlemlendi. Başka bir çalışmada BDNF, NGF, GDNF'nin rostralden enjeksiyonu sonrasında NT3'ün tek dozda kortikospinal trakta yaptığı etki gözlenmedi. Büyüme faktörlerinin uygulanmasını kolaylaştırmak için osmotik mini pompa sistemleri, kollajen araçlar, jel süngerler, genetiği modifiye edilmiş hücreler kullanıldı. Bu araçların kullanılmasıyla birlikte nörotrofik faktörler uzun süre verilebildi (159).

Grill ve ark (160), yaptığı bir başka çalışmada dorsal hemisection yapılan ratlara genetiği modifiye edilmiş NT3 sekresyonu yapan fibroblastlar kesi alanına yerleştirilmiştir. Ekimden üç ay sonra sonuçları değerlendirildiğinde, NT3 grefti kullanılan deney grubunda parsiyel fonsiyonel iyileşme olduğu gözlemlenmiş ve histolojik kesitlerde kortikospinal trakt ve yaralanma alanının distalinde aksonlarda büyüme tespit etmiştir.

Liu ve ark (161), yaptığı başka bir çalışmada genetiği modifiye edilmiş GDNF sekresyonu yapan fibroblastları parsiyel sevikal kesi sonrası rubrospinal traktı tamamen kesilen alanı içerisine yerleştirilmiş ve fonksiyonel sonuçları genetiği modifiye edilmemiş fibroblast ve gelfoam yerleştirilen ratlarla karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda genetiği modifiye edilmiş fibroblastların kullanıldığı grupta lezyon oluşturulan alanın kaudaline rubrospinal yolun aksonlarının büyüdüğü fibroblast ve gelfoam kullanılan gruplarda ise aksonal rejenerasyon gözlemlenmemiştir. Ayrıca bu çalışmada genetiği modifiye edilmiş fibroblastların

ekimi yapılan grupta ratların ön bacaklarında fonksiyonel iyileşme olduğu gözlenmiştir.

Omurilik yaralanması sonrası rejenerasyon amaçlı kullanılan bir başka yöntem hücresel tedavileridir. Deneysel omurilik yaralanma modellerinde oligodendrosit, schwann hücresi gibi glial hücreler veya onların progenitor hücrelerinin kullanılması sonrasında demyelinize olmuş aksonlarda remyelizasyonu büyük bir ölçüde sağladığı ve fonksiyonel sonuçları iyileştirdikleri gösterilmiştir (140).

Schwann hücreleri sinir büyüme faktörü (NGF), Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Siliyer nörotrofik faktör (CNTF), NT-3, FGF içeren nörotrofik faktörler üretirler (111). Bunlara ek olarak birçok *schwann* hücre kaynaklı faktör bazı aksonal rejenerasyon inhibitörlerinin etkisini azaltır. SSS akson rejenerasyonunda glial skar dokusunun dominant bir rol oynadığına inanılmaktadır. Glial skar dokusu içinde ki astroglial alanda *schwann* hücreleri kaybolan oligodendrositler ve astrositler ile bağlantı kurmakta zorlanır ve böylelikle astroglial skar içerisine doğru büyüyen yeni oluşan aksonlar ile bağlantı kurmayı başaramaz. Bu nedenle özellikle son yıllarda *schwann* hücrelerinin migrasyonunun ve aktivasyonunun artırılmasına yönelik çalışmalar artmıştır (115).

Chau ve ark (162), yaptığı bir çalışmada rat siyatik sinirinde elde ettikleri schwann hücrelerini torakal bölgede oluşturdukları yarım kord kesisi içine yerleştirmiş ve beraberinde etkinliği invitro ortamda gösterilen kondoroitinaz ABC enzimini bir mini pompa eşliğinde vermişlerdir. Yapılan araştırmanın sonucunda schwann hücresiyle birlikte kondoroitinaz ABC enziminin verildiği grupta axonların glial skar dokusunu geçtikleri tespit edilmiştir.

Olfaktör mukozadaki nöronlar, doğumdan sonra büyüeyebilen ve erişkin hayatı boyunca bölünmeye devam edebilen tek nöronlardır. Bununla birlikte, mukozadan olfaktör içine doğru akson büyümesi özel glial hücreler tarafınca desteklenmektedir. Bu özel hücreler, hem schwann hücre hemde astrositik özellikleri paylaşırlar. Bunlar PSS-SSS sınırını geçtiği bilinen tek glial hücrelerdir. Ek olarak kültür içinde uygun aksonları myelinize etmek kabiliyetine sahiptirler (109,115).

Uzun yıllar boyunca omurilik yaralanması sonrası SSS'nin kendi kendini tamir edemediğine inanılırdı. Reynold ve Weiss'in, 1992 yılında yetişkin beyninde nöral kök hücreyi keşfetmesiyle birlikte eski düşüncelerin tekrar değerlendirilmesi gündeme geldi. Yetişkin omuriliğinde kök hücrelerin santral kanalın sub-epandimal bölgesi veya epandimal tabakasında olduğu bulundu. Daha sonra elde edilen bu hücreler invitro ortamda çoğaltılarak yetişkin sıçanlarda deneysel omurilik yaralanmalarında kullanıldı ve fonksiyonel iyileşmeyi artırdığı gözlemlendi. Deneysel omurilik yaralanmaları sonrasında yetişkin nöral kök hücrelerin proliferasyon gösterdiği ve yaralanma alanına göç ederek yaralanma alanında ki astrositlerin içinde değişerek glial skar dokusunun oluşumuna katkı sağladığı gösterildi. Son yıllardaki çalışmalarda omurilik yaralanması sonrası ekilen nöral kök hücrelerin BDNF, GDNF, NGF gibi büyüme faktörlerini sentezlediği gösterildi (163).

SSS'de Parkinson hastalığında, hungtington hastalığında, amyotrofik lateral sklerozda, alzheimer hastalığında, iskemide, spinal kord yaralanmasında, multipl skleroz gibi hastalıkların deneysel modellerinde nöral kök hücreler ve diğer kök hücreler kullanıldı (120).

Kök hücreleri diğer hücrelerden ayıran iki önemli karakteristik özellik vardır. Kendi kendini yenileyebilme kabiliyeti ve özel foksionlara sahip diğer hücrelere dönüşebilme yeteneğidir. Kök hücrenin bilinen üç ana kaynağı vardır. Embriyo, yetişkin ve göbek kordon kanıdır (164).

Embriyonik kök hücre, blastokist olarak isimlendirilen embriyonun, gelişimin erken döneminde iç hücre tabakasının epiblast dokusundan kaynaklanır. Embriyonik kök hücrenin çoğalabilme ve pluripotent özelliği vardır (164). Pluripotent özellik bir hücrenin, canlıdaki tüm hücrelere dönüşebilme özelliğidir. Beş günlük bir embriyonun kaynak olarak kullanılması nedeniyle etik sorunlarla karşılaşmaktadır.

Yetişkin kök hücrelerin kaynağı kemik iliği, periferik kan, gözün kornea ve retina tabakası, karaciğer, cilt, pankreas ve gastrointestinal sistemdir. Bu hücrelerin özelliği, bölünebilme ve kendinden çok daha farklı hücrelere dönüşebilme özelliğidir. Yetişkin kök hücrelerin pluripotent özelliği yoktur (164).

Embriyonik kök hücrede etik sorunların aşılammaması, yetişkin kök hücrede ise kök hücre kaynaklarının sınırlı olması, konakçıya ait hastalıkların transplant ile taşınabilmesi, elde edilme sonrasında ek işlemlere ihtiyaç duyulması, yetişkin kök hücrelerin transplantı sonrasında GVH hastalığının gelişebilmesi yeni kök hücre kaynaklarının araştırılmasına neden olmuştur.

Göbek kordon kanı ilk olarak Fanconi aplastik anemisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. İnsan göbek kordon kanı kök hücrelerinin avantajı genç hücreler olmaları, yaşayabilme yeteneklerinin yüksek olması, fazla sayıda elde edilebilir olmaları, alıcıya kolay uyum sağlayabilmeleri, doğumda kordon kanı immun sisteminin rölatif immatur olması greft versus host (GVH) hastalığı riskinin düşük olması açısından önemlidir, dönora taşınabilir enfeksiyon riski oldukça düşüktür (127,128).

Broxmeyer ve arkadaşları, 1986 yılında göbek kordon kanının CD 34+ hücreler, diğer kök hücreler ve progenitör hücreler açısından zengin bir kaynak olduğunu ve invitro ortam da artan bir proliferasyon kapasitesinin olduğunu bildirdi. İnsan göbek kordon kanı 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 oligodendrisit ve astrositlere diferansiye olabildiği ve aksonlarda rejenerasyon ile hasarlı aksonlarda remiyelinizasyon yapabildiği belirtilmiştir. Son araştırmalarla insan göbek kordon kanından elde edilen kök hücrelerin omurilik yaralanması sonrası tedavide kullanılabileceği yönündedir. Son zamanlarda birçok bilim adamı göbek kordon kanından elde edilen kök hücrelerin invitro ortamada nöronal diferansiyasyon gösterebileceğini bildirdiler (165,166,167,168).

Literatürde göbek kordon kanından elde edilen hemapoetik kök hücre ile yapılan birçok çalışma vardır. Bu çalışmalardan bir kısmı da deneysel omurilik yaralanması sonrası kök hücre transplantasyonunun nörolojik fonksiyonlar üzerine olan etkisinin araştırılmasıdır.

Nishio ve ark (165), ratlarda yuksekten agirlik dusurulmesi metoduyla yaptiklari bir deneysel omurilik yaralanmasi modelinde omurilik yaralanmasindan bir hafta sonra omurilikteki yaralanma bölgesine insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş 6×10^4 CD34+ kök hücre ekti. İkinci, dördüncü ve altıncı haftada deneklerde BBB skorlarını ve patolojik kesitleri incelediler. Çalışmanın sonucunda CD34+ hücre ekilen grupta BBB skorlarında iyileşmenin daha yüksek olduğu, yaralanma sonrası omurilikteki kistik kavite alanlarının küçüldüğü ve yaralanma sonrası geride kalan beyaz maddenin hacminin arttığını ve yaralanan aksonlarda rejenerasyonun olduğu gözlemlendi. Aynı zamanda bu çalışmada ekilen kök hücrelerin ekimden sonra en az üç hafta süreyle hayatta kaldıkları ve beşinci haftada ortadan kaybolduklarını bildirdiler. Üç hafta boyunca hayatta kalan kök hücrelerde nöronal markır tespit etmediklerini bildirdiler.

Kao ve ark (169), ratlarda klomp kompresyon metoduyla yaptiklari bir deneysel omurilik yaralanmasi çalışmasında, deneysel modeli oluşturan ratlar dört gruba ayrılmış. Birinci gruba sadece laminektomi yapılmış. İkinci gruba laminektomi, omurilik yaralanması ve kuyruk veninde umbilikal kordon kanından elde edilmiş 5×10^5 CD 34- hücre infüzyonu yapılmış. Üçüncü gruba laminektomi ve omurilik yaralanması yapılmış. Dördüncü gruba ise laminektomi, omurilik yaralanması ve kuyruk veninden umbilikal kordon kanından elde edilmiş 5×10^5 CD34+ hücre verilmiş. Daha sonra bu gruplar kontrol-sham grubuyla çift yönlü eğik düzlem, VEGF ve GDNF ifadesi açısından karşılaştırılmış. Çalışmanın sonucunda omurilik yaralanmasının birinci, dördüncü ve yedinci gününde kaydedilen çift yönlü eğik düzlem sonuçları karşılaştırıldığında en iyi motor performansın CD34+ hücre grubunda olduğu tespit edilmiş. Gruplardaki VEGF ve GDNF ifade düzeylerine bakıldığında CD34+ hücre ekimi yapılan grupta yaralanmanın dördüncü gününden yedinci güne kadar VEGF ve GDNF ifadesinin olduğu tespit edilmiş. Fakat bu çalışmada CD34- hücre ekimi yapılan grupta VEGF ve GDNF ifadesi tespit edilememiştir.

Saporta ve ark (170) klomp kompresyon metoduyla yaptığı deneysel omurilik yaralanması modelinde, deney grupları beş guruba ayrıldı. Birinci gruba omurilik yaralanması yapılmadan sadece laminektomi yapıldı. İkinci gruba sadece

laminektomi ve kordon kanı transfüzyonu yapıldı. Üçüncü gruba laminektomi, omurilik yaralanması ve yaralanmadan bir saat sonra (Akut yaralanma dönemi) göbek kordon kanı transfüzyonu yapıldı. Dördüncü gruba laminektomi, omurilik yaralanması ve yaralanmadan beş gün (Subakut yaralanma dönemi) sonra kordon kanı transfüzyonu yapıldı. Beşinci gruba ise sadece omurilik yaralanması yapıldı. Omurilik yaralanması yapılan grupların fonksiyonel sonuçları açık alan testiyle karşılaştırıldığında üç hafta sonunda beşinci gün kordon kanı verilen grubun sonuçlarının daha iyi olduğu gözlenmiştir. Ratların patolojik kesitleri pontamin sky blue ile incelendiğinde kordon kanı transfüzyonu sırasında verilen hücrelerin omurilik yaralanması olan alanda gözlemlendiği bildirildi.

Zhao ve ark (171), yaptıkları deneysel omurilik yarı kesisinde, bir gruba göbek kordon kanından elde edilmiş BrdU ile işaretlenmiş 5×10^5 CD34+ kök hücre, bir diğer gruba da kemik iliği stroması kaynaklı 5×10^5 hücre, kontrol grubuna da salinli tampon fosfat solüsyonu verdiler. Dört haftalık çalışma süresince kordon kanı, stromal kaynaklı hücre verilen grup ve kontrol gurubu tarlov skorlamasına göre karşılaştırılmış ve çalışmanın sonucunda göbek kordon kanından elde edilen CD34+ hücre verilen grupta transplantasyon sonrası ilk iki haftada fonksiyonel skorundaki iyileşmenin, kemik iliği stromal kaynaklı hücre verilen gruba göre anlamlı olarak belirgin olduğu saptanmıştır. Çalışmanın histolojik değerlendirilmesinde CD34+ göbek kordon kanı hücreleri ve kemik iliği stromal hücrelerin lezyon sahasına göçettiği gözlenmiş ve yaralanma alanına göç eden hücrelerin nöral nükleer antijen ve GFAP eksprese ettiği izlenmiştir.

Dasari ark (172), yaptığı bir çalışmada umbilikal kordon kanından elde edilen kök hücrelerin ağırlık düşürülerek oluşturulan spinal kord yaralanmasından sonra kontüzyon alanına ekiminin fonksiyonel iyileşme üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada umbilikal kordon kanından elde edilen kök hücreler ficol yardımıyla zenginleştirilerek invitro ortamda kültüre ekilmiştir. Ekilen hücrelere nöral diferansasyonu sağlamak için kültür ortamına retinoik asit eklenmiştir. Ekilen hücrelerde yedinci gün nöranal diferansasyon olduğu gösterilmiştir. Diferansiye olan hücrelerin nöron (netsin ve NF 200) ve oligodendriosit (CNPase ve O1) yönünde markırlar ifade ettikleri bildirilmiştir. Travmanın yedinci günü kontrol

grubuna fosfatla tamponlanmış salin, kök hücre grubuna ise 25×10^5 adet umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre transplante edilmiştir. Aynı zamanda kök hücre grubuna transplantasyondan sonra ki üç gün boyunca siklosporin verilmiştir. Sekiz hafta sonunda deney grupları *caspas* aktivasyonları, BBB skorları, apoptosis ve Fas ifadeleri açısından değerlendirilmiştir. Western Blot analiz yöntemiyle *caspas 3* aktiviteleri değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre transplantasyonu yapılan grupta *caspas 3* aktivasyonunun daha az olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekilen grupta antiapoptotik etkinliğe sahip sitozolik proteinler olan FLIP (FLICE inhibitör protein) ve XIAP (X-Linked inhibitör apoptotik protein) düzeylerinde artış saptanırken çekirdekte sentezlenen ve apoptosis yürüten PARP (*poly (ADP-ribose) polimeraz*) proteininin seviyesinde azalma olduğu gösterilmiştir. Western Blot analiziyle Fas aktiviteleri değerlendirildiğinde umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre transplantasyonu yapılan grupta kontrol grubuna göre yaralanma alanında FasL, Fas ve FADD ligandlarında azalma olduğu tespit edilmiştir. BBB skorlarına bakıldığında ise kontrol grubuna göre umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekilen grupta anlamlı düzeyde lokomotor gelişme olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın, moleküler boyutta umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekiminin spinal kord yaralanması sonrasında meydana gelen oligodendriosit kaybından sorumlu olan apoptosisin, kök hücre ekimi sonrasında *caspas 3* inaktivasyonunu ve bununla birlikte aktive olan apoptosisin ekstrinsek yolunun inhibisyonunun anlaşılması açısından önemlidir.

Kuh ve ark (173), yaptığı başka bir çalışmada insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş mononükleer hücreleri yedi gün süreyle kültür ortamında ekerek yüksekten ağırlık düşürme yoluyla oluşturdukları spinal kord yaralanması oluşturulan ratlarda travmadan yedi gün sonra kontüzyon alanına ekmişlerdir. Bu çalışmada kontrol grubu (sadece travma oluşturulan grup), travmadan yedi gün sonra 10 µl umbilikal kordon kanından elde edilmiş mononükleer hücre transplantasyonu yapılan grupta ve 10 µl BDNF ile 10 µl umbilikal kordon kanından elde edilmiş mononükleer hücre karışımı eklenen grupta fonksiyonel sonuçlarını BBB skorlaması ile karşılaştırmışlardır. Sekizinci haftanın sonunda BDNF ve mononükleer hücre ekimi yapılan grubun, sadece mononükleer hücre ekimi yapılan grup ve kontrol

grubuna göre BBB skorlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar olduğunu saptamışlardır.

Yamasaki ve ark (101), ratlarda statik yüklenme yöntemiyle yaptıkları deneysel omurilik yaralanmasında *stem cell* faktörün, *caspas 3* ifadesi üzerine etkilerini incelenmişlerdir. Bu çalışmada ilk olarak PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile travma oluşturulmayan grupta ve travma oluşturulan grupta *stem cell* faktör düzeyine bakılmıştır. Çalışmada spinal kord yaralanması oluşturulan grupta travmadan bir gün sonra *stem cell* faktörün PCR ile ölçülebildiği, maksimal değerine travmanın üçüncü gününde ulaştığı ve beşinci günden itibaren azaldığı gösterilmiştir. Spinal kord yaralanması olmayan grupta ise PCR ile *stem cell* faktör düzeyi ölçülemediği. Aynı zamanda bu çalışmada spinal kord yaralanması oluşturulan gruba travmadan on beş dakika ve kırk sekiz saat sonra intraperitoneal *stem cell* faktör uygulanarak yaralanma alanındaki *caspas 3* aktivasyonu kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Karşılaştırmanın sonunda her iki grupta *caspas 3* aktivasyonu görülmesine rağmen *stem cell* faktörün intraperitoneal uygulandığı grupta *caspas 3* aktivasyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın önemi spinal kord yaralanması sonrasında oluşan endojen *stem cell* faktöre dışarıdan ekstra *stem cell* faktör verilmesiyle birlikte spinal kord yaralanmasının boyutlarının azaltılabileceğinin gösterilmesidir.

Bizim çalışmamızda denek gruplarından Grup 1'e sadece spinal kord tam kesisi yapıldı. Grup 2'e ise spinal kord tam kesisinden hemen sonra kesi alanına umbilikal kordon kanından elde edilmiş 3×10^4 adet CD34 + kök hücre ekimi yapıldı. Grup3'e spinal kord tam kesisinden yarım saat sonra intraperitoneal human rekombinant eritropoietin 150 IU/kg olarak verildi. Grup 4'e omurilik tam kesisinden hemen sonra 3×10^4 adet yenidoğan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34 + kök hücre ekimi yapıldı ve tam kord kesisinden yarım saat sonra intraperitoneal 150 IU/kg rekombinant human eritropoietin verildi. Grupların altı haftalık takipler sonrasında haftalık olarak lokomotor sistemi rotarod performans cihazıyla, çift yönlü eğik düzlem testiyle ve BBB skorlamasıyla değerlendirdik.

Çalışmamızın sonucunda BBB skorları açısından grup 2, grup 3 ve grup 4'ü kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda anlamlı farklılıklar olduğunu gözlemledik. Grup 3'te ve Grup 4'te en büyük BBB skorlaması değeri 3 olarak kaydettik. Grup 2'deki en yüksek BBB skoru 6 olarak kaydettik. Grup 1'de sadece bir ratta BBB skorunu 1 olarak değerlendirilirken diğer deneklerin BBB skorları 0 olarak kayıt edildi. Ratların BBB skorlarının ölçümleri sırasında çevresel faktörlerden ve ratın o anki psikolojik durumundan etkilenmediğini gözlemledik.

Gruplardaki rotarod performans test sonuçlarına baktığımızda ise istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulduk ($p < 0,01$). Grup 1 (kontrol) ortalama değer 33,83sn, grup 2 (kök hücre grubu) 65,28sn, Grup 3 (yalnız erythropoietin) 51,68sn, Grup 4 (kök hücre ve erythropoietin) 91,20sn olarak tespit ettik. Grup 4'deki rotarod performans değeri yüksekliği diğer yapılan BBB skorlaması ve çift yönlü eğik düzlem testi ile çeliştiğini gördük. Kesi sonrasında haftalık yapılan rotarod ölçümleri sırasında Grup 4'deki bazı ratların rotarod sistemi üzerinde arka bacaklarını kullanmadan daha uzun süre kalabildiklerini ve ratların BBB skorlaması artıça arka bacaklardaki geniş hareketlerin ratların rotarod performans cihazı üzerinde yürümesine engel olduğunu gözlemledik. Bununda Grup 4'de istatistiksel açıdan anlamlı farka neden olduğunu düşünmekteyiz. Aynı zamanda ratların rotarod performans ölçümlerinin çevresel etkenlerden ve ratın psikolojik durumundan etkilendiğinde yapılan deneysel çalışma sırasında gözlenmiştir.

Çift yönlü eğik düzlem testine baktığımızda ise yine grupların kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları olduğunu tespit ettik ($p < 0,01$). Gruplardaki çift yönlü eğik düzlem sonuçlarına bakıldığında grup 1 'de ortalama değer 35,18 derece, grup 2'de 73,60 derece, grup 3'de 58,80 derece, grup 4'de 74,42 derece olarak kaydettik. Tek yönlü eğik düzlem yerine çift yönlü eğik düzlem testini seçmemizin nedeni ön bacakların eğik düzlem testine olan etkisini azaltmaktır. Çünkü ratların baş yukarı eğik düzlemde 80 dereceye kadar tutanabildiklerini gözlemledik. Denekleri baş aşağıya koyduğumuzda ise arka bacakları tam plejik olan ratlarda 50 derecenin üzerine çıkamadıklarını gözlemledik. Ayrıca çalışma sırasında ratların çift yönlü eğik düzlem ölçümlerinin çevresel faktörlerden, ratın o anki

psikolojik durumundan etkilendiğini ve ratların geniş arka bacak hareketlerinden etkilendiğini gözlemledik.

Yaptığımız deneyde kullanılan parametrelerin lokomotor sisteminin değerlendirilmesi açısından karşılaştırdığımızda her ne kadar Grup 4 ve Grup 2'deki eğik düzlem ölçümleri birbirine yakın olsa da aslında en objektif yöntemin BBB skorlaması olduğu gördük. Çünkü BBB skorlaması ratın psikolojik durumu ve çevresel faktörlerden etkilenmemektedir. Diğer yöntemler olan rotarod ve çift yönlü eğik düzlem testleri ratlara her ne kadar handlink eğitimi yapılırsa da ölçümler sırasında ratın psikolojik durumundan ve çevresel faktörlerden etkilendiğini gördük. Bu nedenle bu yöntemlerin subjektif yöntemler olduğunu düşünmekteyiz.

Literatür gözden geçirildiğinde umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrenin spinal kord tam kesisi sonrası ekiminin ve eritropoietinin birlikte kullanımı ile ilgili literatür bilgisine rastlamadık. Ayrıca literatür gözden geçirildiğinde spinal kord tam kesisi yapılarak oluşturulan akut modellerde, insan umbilikal kordon veninden elde edilmiş taze CD34+ kök hücrelerin human rekombinant eritropoietin ile birlikte kullanımı ile ilgili bir literatürde herhangi bir bilgi yoktur. Bu açıdan çalışmamız öncü bir çalışma özelliğini taşımaktadır.

Değişik şekillerde oluşturulan deneysel spinal kord yaralanması modellerinde umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrenin gerek IV gerekse de direk olarak travma alanına ekiminin travma alanında ki hücrelerin apoptosisini ve yaralanma alanın küçülttüğü bir çok çalışmayla gösterilmiştir. Hatta bu çalışmalarda hücre düzeyde çalışmalar yapılarak apoptosise neden olan caspas aktivasyonunun kök hücre tarafından azaltıldığı gösterilmiştir. Fakat kronik dönemde hücre rejenerasyonun önündeki en büyük engel olan glial skar dokusunun oluşumuna kök hücre ekiminin etkisiyle ilişkili literatürde yeterli bilgi yoktur. Çünkü oluşturulan deneysel modellerde sıklıkla klip kompresyon ve belirli bir yükseklikten belirli bir ağırlık düşürme metodu uygulanmaktadır. Bu yöntemlerde travma alanının kronik süreçte akibeti, etkilenme şiddetiyle orantılı olarak en kötü senaryo ile omurilik santralinde kistik kavitasyon oluşmasıdır. Spinal kord tam kesisi modelinde ise spinal kord posterior kolonu ve anterior kolonu posteriordan anteriorada doğru kesilmekte,

motor ve duyuşal lifler kesi alanı içerisinde kalmaktadır. Ekim yapılan bu alanda kök hücreler gerek büyüme faktörlerinin etkisi altında gerekse inhibitör faktörlerin etkisinde kalmaktadır. Diğer spinal kord yaralanma modeli olan klip kompresyon metodunda klabin kapanma gücü ve süresi dokuda oluşan hasarın boyutuyla direk ilişkilidir. Bir başka metod olan yüksekte ağırlık düşürme metodunda etkilenen nöral dokunun boyutları ise yükseklik, ağırlığın miktarı ve etkilenen yüzey alanıyla doğru orantılıdır. Bu sebeple travma sırasında travma alanından kaçan veya az etkilenen nöronlar sonuçları etkileyebilir ve sonuçların yanlış değerlendirilmesine neden olabilir. Aksine spinal kord tam kesi modelinde ise proksimal nöronların distal nöronlarla olan bağlantısı tamamen kesilmektedir. Bu sebeple rejenerasyon amaçlı çalışmalar için en uygun deneysel modeldir.

Travmanın erken döneminde bütünlüğü bozulan nöronal dokulardan çeşitli büyüme faktörleri salgınmakta ve periferik sinirlerde bulunan schwann hücrelerinin yaralanma alanına göç ederek zarar gören aksonlarda myelinizasyonu başlatması bir rejenerasyon çabasıdır. Fakat travma alanında oluşan diğer faktörler göz önüne alındığında makrojaflar ve geç dönemde glial hücreler tarafınca debride dokuların ortadan kaldırılması ve yerine fibroblastlar aracılığıyla glial fibrosis dokusunun oluşması bu rejenerasyon çabasını negatif yönde etkilemektedir (141,174). Literatürde ki deneysel spinal kord yaralanması modellerinde ve kök hücrenin rejenerasyona olan etkisi incelendiğinde sıklıkla klip kompresyon metodu ve ağırlık düşürme metodu uygulandığı gözlenmektedir. Ayrıca yapılan bu çalışmalarda denek grupları oluşturulurken travma alanına kök hücre ekimi travmadan genellikle altı gün sonra ekilmektedir. Oysaki spinal kord yaralanması oluşturulan deneysel çalışmalar göstermiştir ki travmanın spinal korda etkisi altıncı günde (subakut dönem) minimuma inmektedir. Bu da akut omurilik yaralanmasında kök hücre terapisinin etkinliğini göstermekte yetersiz kalmaktadır.

Diğer bir tartışma, deneysel modellerde kullanılan eritropoietin düzeylerinin fonksiyonel sonuçlara olan etkisidir. Deneysel çalışmalarda eritropoietinin antiinflamatuvar, antiapoptotik, rejenerasyon üzerine olumlu etkileri ve santral kanaldaki ependimal kök hücrelerin diferansiyasyonunda olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Hatta yapılan bu çalışmalarda kullanılan eritropoietin düzeylerinin

fonksiyonel sonuçlar üzerine etkinliği açısından çelişkili sonuçlar da olsa yapılan bu çalışmalarda spinal kord yaralanması sonrasında eritropoietin kullanımının fonksiyonel sonuçları olumlu yönde etkilediği ortaktır. Biz de çalışmamızda gruplardan birine tek olarak 150 IU/kg dozunda eritropoietin alfa kullandık. Fonksiyonel sonuçlarımız literatürle benzerlik göstermektedir. Oysaki tüm grupların patolojik kesitleri incelendiğinde glial skar dokusunun tüm gruplarda ortak olduğu görülmektedir. Bu da şu soruyu akla getirmektedir, eritropoietin kullanımı fonksiyonel sonuçları olumlu yönde etkilese de morfolojik sonuçlara olan etkisi aynı olumlu düzeyde olmamakta mıdır? Aslında bu sorunun yanıtı da çelişkilidir. Çünkü yapılan bir deneysel çalışmada yüksek doz eritropoietin kullanımı ile düşük doz eritropoietin kullanımının lipid peroksidasyonuna etkisi karşılaştırıldığında yüksek dozda nöronal korumanın daha iyi olmasına rağmen üçüncü gündeki elektromikroskopik özellikleri karşılaştırıldığında yapısal değişikliklerin birbiriyle benzer olduğu gösterilmiştir. Hatta yapılan bir başka çalışmada düşük doz eritropoietin kullanımının fonksiyonel sonuçlarının yüksek doz eritropoietine göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Bu çelişkili görünen durum şöylede açıklanabilir. Travma sonrası endojen EPO ve EPO-R düzeylerinde artış olmaktadır. EPO ve EPO-R'nin artışı aslında travma sonrasında oluşan sekonder yaralanma döneminde vasküler tromboza bağlı hipoksiye bir yanıt olarak artmaktadır. Travma sonrasında oluşan bu yanıt travma alanındaki mikro çevredeki rejenerasyon ve plastisiteyi destekleyen faktörlerle birlikte endojen üretilen ve rejenerasyonu negatif yönde etkileyen faktörlerle yarışmakta, yaralanma boyutlarıyla ilişkili olarak da bu çaba boşa çıkmaktadır. Endojen üretilen EPO, yaralanma sonrası geçen süreyle ilişkili olarak seviyesi giderek azalmasına rağmen, EPO-R düzeylerinde aynı azalmayı görmemekteyiz. Bu durum yaralanan dokuda hala iskemik sürecin devam ettiği şeklinde de düşünülebilir. Eksojen verilen yüksek doz EPO belki de subakut dönemde reseptör düzeyin down regülasyona neden olarak bu rejenerasyon sürecini negatif yönde etkileyebilir. Oysaki akut dönemde verilen yüksek doz EPO hücre içerisinde lipid peroksidasyonu engelleyerek olumlu etki gösterebilir. Subakut dönemde reseptör düzeyindeki değişiklikler fonksiyonel sonuçları olumsuzda etkiliyor olabilir.

Diğer bir tartışma konusu da ekilen hücre tipi ve hücre sayısıdır. Literatürdeki çalışmalar gözden geçirildiğinde farklı sayıda farklı tipte hücre kaynaklarından elde edilen kök hücre transplantlarının spinal kord yaralanmalarında kullanıldığı görülmektedir. Biz de çalışmamızda yenidoğan umbilikal kordon kanından elde edilmiş 3×10^4 adet CD34+ kök hücreyi spinal kord yaralanma alanına ektik. Fonksiyonel sonuçları literatürde karşılaştırdığımızda fonksiyonel sonuçların benzer olduğunu gözlemledik. Kök hücre grubunun patolojik kesitleri incelendiğinde glial skar dokusu içerisinde sinaptofizin (-), MAP (+), GFAP (-) olarak boyandığını tespit ettik. Patolojik kesitlerinde literatürle karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir (165). Hücre sayısı açısından literatür gözden geçirdiğinde farklı sayıda hücre ekimiyle karşılaşılmaktadır ve hatta sıklıkla $3-5 \times 10^5-10^8$ hücre ekilmektedir. Hücre sayılarının spinal kord iyileşmesi ve fonksiyonu üzerine etkisinin karşılaştırıldığı herhangi bir çalışma yoktur. Bu durum belkide başka bir çalışmayla değerlendirilebilir. Bizim çalışmamızda spinal kord tam kesisi sonrasında (Akut travmadan hemen sonra) 3×10^4 adet CD34+ kök hücrenin kesi alanına ekiminin spinal kord nörolojik fonksiyonları üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızın öncü bir çalışma özelliği taşımasının nedeni ilk defa spinal kord tam kesisinde eritropoietinin ve yenidoğan umbilikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücrenin bir biri ile ve birlikte kullanımının spinal kord nörolojik fonksiyonlara olan etkisinin karşılaştırılmasıdır. Çalışmamızda ilginç olan BBB skorlarına göre grupların lokomotor skorlamalarına bakıldığında en yüksek puanların Grup 2 de (Yalnız kök hücre ekimi yapılan grup) olmasıdır. Kök hücre ile birlikte eritropoietin ve eritropoietinin yalnız başına kullanımının BBB skoruna etkisinin bakıldığında ise eritropoietinin kök hücre ile birlikte kullanımının yalnız eritropoietin kullanımına istatistiksel olarak üstün olduğu görülmüştür. Fakat grup içerisindeki en yüksek BBB skorlarına bakıldığında ise her iki grupta da en yüksek BBB skoru 3 olarak tespit edildi. Bu sonuçlar, tartışmanın iki boyuta taşınmasına neden olmaktadır. Tartışmanın birinci boyutu, insan umbilikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücre ile birlikte eritropoietin (Grup 4) kullanımının yalnız başına kök hücre ekimi yapılan (Grup 2) gruba göre BBB skorlarının düşük olmasının muhtemel nedenleri. Tartışmanın ikinci boyutu ise kök hücreyle birlikte eritropoietin (Grup 4) kullanımının yalnız başına eritropoietin (Grup 3) kullanımına her ne kadar

istatistiksel üstünlüğü olsa da bunun BBB skoruna yansımamasıdır. Bizce bunun muhtemel sebepleri birçok nedene bağlı olabilir. Bunlar, eritropoietinin spinal kord tam kesisinde insan umbilikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücre ile birlikte kullanımının kök hücrenin spinal kord yaralanması üzerine olan olumlu etkilerini baskılaması, ekilen kök hücrenin farklı yönde farklılaşmasına neden olması ya da kök hücre ile birlikte eritropoietin kullanımının beklenen sinerjizmayı göstermemesidir. Tartışmanın birinci ve ikinci boyutunun cevabı belki de ortak bir nedene bağlı olabilir. Çünkü spinal kord yaralanması sonrasında ekilen kök hücrenin ve eritropoietinin reseptör düzeyindeki etki alanları aynı hedefi içine alabilir, örneğin *caspas-3* inaktivasyonu gibi. Bu durum reseptör düzeyinde sinerjizma yaratarak eritropoietin ile kök hücrenin birlikte kullanıldığı deneklerin (Grup 4) BBB skorlarının oranın tek başına eritropoietin kullanılan gruptan üstün olmasını açıklayabilir. Aynı zamanda bu ortak reseptör teoremi, tek başına kök hücre kullanımının, kök hücre ile birlikte eritropoietin kullanımına üstlüğünü de açıklayabilir.

Sonuç olarak, çalışmamızda insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrenin akut spinal kord tam kesisinde ekiminin fonksiyonel sonuçları açısından tek başına eritropoietinin veya eritropoietinin kök hücre kullanımına üstün olduğu gösterilmiştir. Tüm gruplarda oluşan glial skar dokusunda rejenerasyonun önündeki en büyük engel olduğu birkez daha gösterilmiştir.

SONUÇLAR

Sıçanlarda deneysel torakal spinal kord tam kesisi oluşturarak yaptığımız çalışmada; gruplar arasında BBB skorları, çift yönlü eğik düzlem sonuçları, rotarod performans testi ile elde edilen veriler kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

Omurilik tam kesisi yapıldıktan sonra sıçanların başlangıç ve sonuç skorları BBB skorlamsı ile karşılaştırıldığında en yüksek skorlu deneklerin Grup 2’de olduğu, Grup 3 ve Grup 4’de BBB skorlarının birbirine yakın olduğu gözlemlendi. Tüm gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olduğu tespit edildi.

Ratların rotarod performans skorları değerlendirildiğinde tüm grupların kontrol grubuna göre rotarod performans değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde Grup 4’ün rotarod performans değerlerinin en yüksek olduğu tespit edildi.

Çift yönlü eğik düzlem sonuçlarına bakıldığında, tüm gruplar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu saptandı. Grup 2 ve Grup 4’ün çift yönlü eğik düzlem test değerlerinin birbirine yakın olduğu, Grup 2 ve Grup 4’ün çift yönlü eğik düzlem sonucunun grup 3’ten daha iyi olduğu tespit edildi.

Tüm grupların patolojik kesitleri incelendiğinde subakut dönemle uyumlu bulgular gözlemlendi. Ayrıca tüm gruplarda kesinin geçtiği alanda fibrosiz olduğu gözlemlendi.

Omuriliğin travma sonrası restorasyonuna yönelik birçok çalışma yapılmaktadır. Bunların içerisinde en iddaalı olanları hücresel tedavi yöntemleridir. Yakın bir geçmişe kadar omurilik hasarının geri dönüşümsüz olduğuna inanılırken bu gün in vitro ve in vivo ortamlarda kök hücre transplantalarının glial hücrelere dönüşümü sağlanmış ve omuriliğe ekim sonrası restorasyona yardımcı olduğu ve nörolojik fonksiyonlarda iyileşme sağladığı görülmektedir. Artık bilim dünyası için omurilik yaralanması dokunulmazlığını kaybetmiştir.

ÖZET

Deneyisel Omurilik Yaralanmasında İnsan Umbilikal Kordon Kanından Elde Edilmiş Kök Hücre Naklinin ve Eritropoietinin Spinal Kord İyileşmesi ve Nörolojik Fonksiyonlara Etkisi, Zahir KIZILAY.

Spinal kord yaralanması sonrası sekonder yaralanma sürecinde ortaya çıkan kompleks yıkım sürecinin durdurulması ya da minimuma indirilmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde insanda standart bir tedavi şekli ortaya çıkarılamamıştır. Farmakolojik ajanların tedavi sürecindeki yetersizliği omuriliğin sekonder yaralanma sürecinde ve restorasyonunun sağlanmasına yönelik hücresel tedavi yöntemlerinin gelişmesine neden olmuştur. Biz de çalışmamızda insan umbilikal kordon kanından elde edilen kök hücreleri kullandık. Çünkü insan umbilikal kordon kanı kök hücre yönünden zengin bir kaynak ve greft versus host hastalığı gelişme oldukça düşüktür.

Biz de çalışmamızda kök hücre kaynağı olarak yenidoğan insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücrelerini kullandık. Çalışmamızda ratlar dört gruba ayrıldı ve her grupta denek sayısı beş adet rattan oluşmaktaydı (n=5). Tüm gruplara T9–11 arası total laminektomi ve spinal kord tam kesisi yapıldı. Grup 2'e sadece spinal kord tam kesisinden hemen sonra insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş CD34+ kök hücre ekimi yapıldı. Grup 3'e spinal kord tam kesisinden yarım saat sonra intraperitoneal 150 IU/kg eritropoietin alfa yapıldı. Grup 4'e spinal kord tam kesisinden hemen sonra insan umbilikal kordon kanından elde edilen CD34+ kök hücre ekimi ve spinal kord kesisinden yarım saat sonra eritropoietin alfa 150 IU/kg yapıldı. Çalışmanın süresi altı hafta olarak belirlendi. Denek gruplarının lokomotor sistem muayneleri BBB skorlaması, rotarod performans değerleri ve çift yönlü eğik düzlem testleri ile değerlendirildi. Deneklerin lokomotor sistem ölçümleri altı hafta boyunca haftalık olarak ölçüldü. Altıncı haftanın sonunda tüm gruplar kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Gruplardaki ratların histopatolojik inceleme Hematoksilen eosin, GFAP, MAP boyaları ile yapıldı.

Çalışmanın sonucunda, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'ün kontrol grubuna üstün olduğu tespit edildi. Fakat insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücre ekimi yapılan grubun (Grup 2) diğer gruplara üstün olduğu görüldü. Histopatolojik incelemelerde tüm gruplarda glial skar dokusunun geliştiği ve kesitlerin subakut dönemle uyumlu olduğu görüldü.

Çalışmamızda, spinal kord yaralanması sonrasında omurilikte oluşan hasarın tamirinde insan umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrelerin kullanılabiliceği gösterilmiştir. Akut omurilik yaralanmasından sonra oluşan glial skar dokusu, rejenerasyonun ve plastisitenin önünde büyük bir engel teşkil etmektedir. Umbilikal kordon kanından elde edilmiş kök hücrelerin ve glial skar dokusunun azaltılmasını sağlayacak farklı bir farmakolojik ajan veya hücre grefti ile birlikte kullanılması bir seçim olabilir. Hücre greftleri diğer potansiyel tedavi seçeneği olabilir.

SUMMARY

The effect of human umbilical cord blood derived stem cell transplant and erythropoietin on the neurological function and improvement in the experimental spinal cord injury, Zahir KIZILAY.

Different studies evaluated different pharmacological agents for stopping and minimizing the process of the complex destruction in the secondary injury period after SC injury. All those studies did not yield a standart therapeutic regiment in complete neurologic injury. Insufficiency of pharmacologic efforts to treat SC injury took the attempst of neuroscientists to the cellular therapeutics such as stem cell transplantation to the injured tissue. In our study we used Human Umbilical Cord Blood Stem Cell since, Human Umbilical Cord Blood is a rich source of stem cell, has a lower risk of graft versus host disease.

In our study, we used CD34+ stem cells obtained from newborn human umbilical cord blood. We had 4 groups and in each group there were 5 rats (n=5). Total laminectomy and complete spinal cord transection was performed at T9–11 level to the all groups. CD34+ stem cell obtained from the human umbilical cord blood was transplanted to the injured spinal cord in group 2 just after the transection. 150 IU/kg Erythropoietin alpha (recombinant human erythropoietin alpha) was applied to Group 3 half an hour after the spinal cord injury. CD34+ stem cell transplanted soon after the SC injury and Eritropoietin alfa was applied half an hour after the SC injury to group 4. Total duartion of the experiment was 6 weeks. The locomotor system examination was evaluated according to the BBB scoring system, rotarod performance tests, and incling plane tests. The locomotor system values evaluated weekly during 6 weeks. All the groups were compared with the control group at the end of 6th week. The histopatological evaluations of rats in each group were done by hematoxilen eosin. GFAP, MAP paints.

At the end of the study, we observed that the results in Group 2, Group 3 and Group 4 were found to be superior to the that of control group. Histopatological

observations have demonstrated that all groups have had the glial scar tissue and have had compatible with the subacute period.

We have demonstrated that human umbilical cord blood stem cell can be used in the regeneration studies of SC injury. The glial scar tissue is still the main problem in front of regeneration and plasticity. To overcome this problem use of the umbilical cord blood stem cell together with different pharmacological agent may be a choice. Cell grafts may be another potential treatment option .

KAYNAKLAR

- 1-McDonald JW, Sadowsky C. Spinal cord injury. Lancet 2002;359: 417–425.
- 2-Lim PAC, Tow AM. Recovery and Regeneration after Spinal Cord Injury: A Review and Summary of Recent Literature. Ann Acad Med Singapore 2007;36: 49–57.
- 3-Lynge E: Trends and perspectives in mortality. In: Demographic trends in the European Region. WHO Regional Publications, 1984.
- 4-Silver JR. History of the treatment of spinal injuries. Postgrad Med J 2005;81: 108–114.
- 5-Guclu B, Naderi S. Dünya ve Türkiye’de spinal travmaların tarihçesi. Editör: Hancı M, Çağlı S. Omurga ve omurilik yaralanmaları. Ankara: Türk Nöroşirurji Derneği, spinal ve periferik sinir cerrahisi grubu yayınları, 2007:1–6.
- 6-Marketos SG, Skiadas PK: Hippocrates. The fathers of spine surgery. Spine 1999;24: 1381–1387.
- 7-Castro I, Santos DP, Christoph De H, Landerio JA. The history of spinal surgery for disc disease: an illustrated timeline. Arq Neuropsiquiatr 2005;63: 701–706.
- 8-Goodrich JT. History of spine surgery in the ancient and medieval worlds. Neurosurg Focus 2004;16: E2.
- 9-Büyükkınacı S, Ofluoğlu E, Toplamaoğlu H. Spinal kord tarihi. Sinir Sistemi Cerrahisi Der 2008;1: 67–72.
- 10-Naderi S, Andalkar N, Benzel EC. History of the spine biomechanics: part 1-the pre-greco-roman, greco-roman and medieval roots of spine biomechanics. Neurosurgery 2007;60: 382–391.

11-Albertsone CD, Naderi S, Benzel EC: History of spine surgery. In: Benzel EC, editor. Spine surgery. Techniques, Complication Avoidance and Management. Philadelphia, Elsevier Churchill livingstone, 2005: 1–21.

12-Naderi S, Acar F, Arda MN: Functional anatomy of the spine by avicenna in his eleventh century treatise Al-Quanun fi al-tibb (the canons of medicine). Neurosurgery 2003;52: 1449–1453.

13-Acıduman A, Er U. Ebu'l Kasım Ez-Zehravi ve eseri El-Tasrif'te spinal travma ile ilgili bölümler. J Turk Spinal Sur 2009;20: 109–118.

14-Sonntag VKH: history of spinal disorders. In: menezes AH and Sonntag VKH (ed.s): Principles of spinal surgery. McGraw-Hill, New York, 1996:3–23.

15-Wiltse LL: The history of spinal disorders. In: Frymoyer JW (ed): The adult spine. Principles and practice. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997, 3–40.

16-Kanter AS, Bradford DS, Okonkwo DO, Rengachary SS, Mummaneni PV. Torakolomber spine deformity: Part 1, A historical passage to 1990. J Neurosurg Spine 2009;11: 631–639.

17-Lifshutz J, Colohan A. A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury. Neurosurg Focus 2004;16: E5.

18-Hanigan WC, Sloffer C. Nelson's wound: treatment of spinal cord injury in 19th and early in 20th century military conflicts. Neurosurg Focus 2004;16: E4.

19-Kreppel D, Antoniadis G, Seeling W. Spinal hematoma literature survey with meta analysis of 613 patients. Neurosurg Rev 2003;26: 1–49.

20-Rogers DLA. A case of fractured spine with depression of the spinous processes and the operation for its removal. Am J Med Sci 1835;16: 91–94.

- 21-Thorburn W. A contribution to the surgery of the spinal cord. London: Charles Griffin and Company,1899.
- 22-Naderi S, Türe U, Pait TG. History of the spinal cord localization. *Neurosurg Focus* 2004;16: E15.
- 23-Pearce JM. The development of the spinal cord anatomy. *Eur Neurol* 2008;59: 286–291.
- 24-Sanan A, Rengachary SS. The history of spinal biomechanics. *Neurosurgery* 1996;39: 657–68.
- 25-Krause F. Surgery of the brain and spinal cord based on personal experinces. Editörler: Haulbold H, Thorek M. New York: Rebman, 1912: 1909–1912.
- 26-Naderi S, Zileli M, Özer F. Omurga cerrahisinin tarihçesi. Editörler: Zileli M, Özer AF. Omurilik ve omurga cerrahisi. İzmir: Meta Basım, 2002: 1–13.
- 27-De La Torre JC. Spinal cord injury models. *Prog Neurobiolog* 1984;22: 290–344.
- 28-Khan M, Griebel R, Rozdilsky B, Politis M. Hemorrhagic changes in experimentals spinal cord injury models. *Can J Neurol Sci* 1985;12: 259–262.
- 29-Freeman LW, Wright TW. Experimental observations of concussion and contusion of the spinal cord. *Ann Surg* 1953;137: 433–443.
- 30-Black P, Markowitz RS, Cooper V: Models of spinal cord injury: Part 1.Static load technique. *Neurosurgery* 1986;19: 752–762.
- 31-Janssen L, Hansebout RR. Pathogenesis of spinal cord injury and newer treatments. *Spine* 1989;14: 23–32.

- 32-Tator CH, Fehlings MG. Review of the secondary injury theory of acute spinal cord trauma with emphasis on vascular mechanisms. *J Neurosurg* 1991;75: 15–26.
- 33-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
- 34-Collins WF. A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury. *Paraplegia* 1983;21: 204–219.
- 35-Anderberg L, Aldskogius H, Holtz A. Spinal cord injury-scientific challenges for the unknown future. *Upsala J Med Sci* 2007;112: 259-288.
- 36-Faden AI. Need for standardization of animal models of spinal cord injury. *J Neurotrauma* 1992;9: 169–172.
- 37-Sekhon LH, Fehlings MG. Epidemiology, demographics, and pathophysiology of acute spinal cord injury. *Spine* 2001;26: 2–12.
- 38-Çağlı S. Spinal travma; Etyoloji ve Epidemiyoloji. Editörler: Hancı M, Çağlı S. Omurga ve omurilik yaralanmaları. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, 2007: 7–10.
- 39-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.
- 40-Vaccaro AR, Pizzutillo PD. Management of pediatric spinal cord injury patients. In: Levine AM, Eismont FJ, Garfin SR, et al, eds. *Spine Trauma*. Philadelphia: WB Saunders; 1998: 544–559.
- 41-Kokaska ER, Keller MS, Rallo MC, et al. Characteristic of pediatric cervical spine injuries. *J Pediatr surg* 2001;36: 100–105

- 42-Ghatan S, Ellenbogen RG. Pediatric spine and spinal cord injury after inflicted trauma. *Neurosurg Clin N Am* 2002;13: 227–233.
- 43-Haffner DL, Hoffer MM, Weidbusch R. Etiology of children's spinal injuries at Ranchos Los Amigos. *Spine* 1993;18: 679–684.
- 44-Çırak B, Ziegfeld S, Knight VM, Chang D, Avellino AM, Paidas CN. Spinal injuries in children. *J Pediatr Surg* 2004;39: 607–612.
- 45-Durkin MS, Olsen S, Barlow B. The Epidemiology of Urban Pediatric Neurologic trauma: Evaluation of and implications for injury prevention programs. *Neurosurgery* 1998;42: 300–310.
- 46-Osenbach RK, Menezes AH. Pediatric spinal cord and vertebral column injury. *Neurosurgery* 1992;30: 385–390
- 47-McGrory BJ, Klassen RA, Chao EY, Staeheli JW, Weaver AL. Acute fractures and dislocations of the cervical spine in children and adolescents. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75: 988–995.
- 48-Shavelle RM, Devivo MJ, Paculdo DR, Vogel LC, Strauss DJ. Long term survival after childhood spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 2007;30: 48–54
- 49-Hamilton MG, Myles T. Pediatric spinal injury: review of 174 hospital admissions. *J Neurosurg* 1992;77: 700–704.
- 50-Kalfas I, Wilberger J, Goldberg A, Prostko ER. Magnetic resonance imaging in acute spinal cord trauma. *Neurosurgery* 1988;23: 295–299.
- 51-Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal Models Used in Spinal Cord Regeneration Research. *SPINE* 2002;27: 1504–1510.

52- Tator CH: Review of experimental spinal cord injury with emphasis on the local and systemic circulatory effects. *Neurochirurgie* 1991;37: 291–302.

53-Tator CH: Spine-spinal cord relationship in spinal cord trauma. *Clin Neurosurg* 1991;491: 479–494.

54-Taoka Y, Okajima K. Spinal cord injury in the rat. *Prog Neurobiol* 1998;56: 341–358.

55-Zileli M, Gülmen V: Deneysel omurilik yaralanması. Editör: Zileli M, Ozer AF. *Omurilik ve omurga cerrahisi*. İzmir: Saray Medikal Yayıncılık, 2002: 951–956.

56-Ünlü YA, Kaya E, Uzun H, Barut Ş, Belce A, Öz B, et al. The neuroprotective effects of Ebselen in the experimental spinal cord injury. *Turkish Neurosurgery* 2002;12: 9–16.

57-Xarchas KC, Bourandas J. Injuries and disease of the spine in ancient times. *Spine* 2003;28: 1481–1484.

58-Benzel EC. A new spinal cord injury model: A ventral compression technique. *J Spinal Disord* 1990;3: 334–338.

59-Talac R, Friedman JA, Moore MJ, Lu L, Jabbari E, Windebank AJ, et al. Animal models of spinal cord injury for evaluation of tissue engineering treatment strategies. *Biomaterials* 2004;25: 1505–1510.

60-Giulian D, Robertson C. Inhibition of mononuclear phagocytes reduces ischemic injury in the spinal cord. *Ann Neurol* 1990;27: 33–42.

61-McGirt MJ, Gok B, Shepherd S, Nogg J, Ambrossi GLG, Bydon A, Gokaslan ZL. Effect of hyperglycemia on progressive paraparesis in a rat metastatic spinal tumor model. *J Neurosurg Spine* 2009;10: 9–15.

62-Amar AP, Levy ML: Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury. *Neurosurgery* 1999;44: 1027 -1040.

63-Sedy J, Urdzikova L, Jendelova P, Sykova E. Methods for behavioral testing of spinal cord injured rats. *Neurosci Biobehav Rev* 2008;32: 550–580

64-Okano H, Okada S, Nakamura M, Toyama Y. Neural stem cells and regeneration of injured spinal cord. *Kidney Int* 2005;68: 1927–1931.

65-Guha A, Tator CH, Rochon J. Spinal cord blood flow and systemic blood pressure after experimental spinal cord injury in rats. *Stroke* 1989;20: 372–377.

66-Toft A, Scott DT, Barnett SC, John S.Riddell. Electrophysiological evidence that olfactory cell transplants improve function after spinal cord injury. *Brain* 2007;130: 970–984.

67-Oro J, Haghghi SS. Effect of altering core body temperature on somatosensory and motor evoked potentials in rats. *Spine* 1992;17: 498–503.

68-Eftekharpour E, Karımı-Abdolrezaee S, Fehlings MG. Current status of experimental cell replacement approaches to spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 2008;24: E18.

69-Bozkurt M, Atar A. Omurilik yaralanmasında patofizyoloji. Editör: Hancı M, Çağlı S. Omurga ve omurilik yaralanmaları. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, 2007: 19–23.

70-Temiz C, Umur Ş. Omurga ve omurilik travmalarında klinik yaklaşım. Editör: Hancı M, Çağlı S. Omurga ve omurilik yaralanmaları. Ankara: Buluş Tasarım ve Matbaacılık, 2007: 43-53.

71-Kaptanoğlu E, Tator CH. Omurilik yaralanması sonrası nöral koruma stratejileri. Editörler: Zileli M, Özer F. Omurilik ve omurga cerrahisi. İzmir: META Basım ve Matbaacılık Hizmetleri, 2002: 813–832.

72-Tator CH, Koyanagi I. Vascular mechanisms in the pathophysiology of human spinal cord injury. *J Neurosurg* 1997;86: 483–492.

73-Yezierski RP. Spinal cord injury pain: spinal and supraspinal mechanisms. *J Rehabil Res Dev* 2009;46: 95–107.

74-Bauchet L, Lonjon N, Perrin FE, Gilbert C, Privat A, Fattal C. Strategies for spinal cord repair after injury: A review of the literature and information. *Ann Phys Rehabil Med* 2009;52: 330–351.

75-Kakulas BA. Neuropathology: the foundation for new treatments in spinal cord injury. *Spinal Cord* 2004;42: 549–563.

76-Tator CH. Update on the pathophysiology and pathology of acute spinal cord injury. *Brain Pathol* 1995;5: 407–413

77-Güzel A, Tatlı M, Ökten Aİ, Çaylı S. Omurilik yaralanmasının patoloji ve fizyopatolojisi. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* 2006;28: 73 – 78.

78-Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi A, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001;53: 135–159.

79-Hall ED, Springer JE. Neuroprotection and Acute Spinal Cord Injury: a reappraisal. *NeuroRx* 2004;1: 80–100.

80-Hulsebosch CE. Recent in pathophysiology and treatment of spinal cord injury. *Adv Physiol Educ* 2002;26: 238–255.

81-Kwon BK, Tetzlaff W, Grauer JN, Beiner J, Vaccaro AR. Pathophysiology and pharmacologic treatment of acute spinal cord injury. *Spine J* 2004;4: 451–464.

82-Schwab JM, Brechtel K, Mueller CA, Failli V, Kaps HP, Tuli SK, et al. Experimental strategies to promote spinal cord regeneration-an integrative perspective. *Prog Neurobiol* 2006;78: 91–116.

83-Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute Spinal Cord Injury, Part I: Pathophysiologic Mechanisms. *Clin Neuropharmacol* 2001;24: 254–264.

84-Xiao M, Klueber KM, Lu C, Guo Z, Marshall CT, Wang H, Roisen FJ: Human adult olfactory neural progenitors rescue axotomized rodent rubrospinal neurons and promote functional recovery. *Exp Neurol* 2005;194: 12–30.

85-Tator CH. Pathophysiology and pathology of spinal cord injury. In: Wilkins RH, Rengachary SS, eds. *Neurosurgery*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1996: 2847–2859.

86-Demopoulos HB, Flamm ES, Pietronigro DD, et al. The free radical pathology and the microcirculation in the major central nervous system disorders. *Acta Physiol Scand Suppl* 1980;492: 91–119.

87-Gimenez y Ribotta M, Privat A. Biological interventions for spinal cord injury. *Curr Opin Neurol* 1998;11: 647–654.

88-Choi DW. Ion dependence of glutamate neurotoxicity. *J Neurosci* 1999;7: 369–379.

89-Shields DC, Schaefer KE, Hogan EL, Banik NL. Calpain activity and expression increased in activated glial and inflammatory cells in penumbra of spinal cord injury lesion. *J Neurosci Res* 2000;61: 146–150.

90-Schwab JM, Brechtel K, Nguyen TD, Schluesener HJ. Persistent accumulation of cyclooxygenase-1 (COX-1) expressing microglia/macrophages and upregulation by endothelium following spinal cord injury. *J Neuroimmunol* 2000;111: 122–130

91-Hoffmann C. COX-2 in brain and spinal cord implications for therapeutic use. *Currently Medicinal Chemistry* 2000;7: 1113–1120.

92-Lapchak PA, Araujo DM, Song D, et al. Neuroprotection by the selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 results in improvements in behavioral deficits induced by reversible spinal cord ischemia. *Stroke* 2001;32: 1220–1225.

93-Schwab ME, Bartholdi D. Degeneration and regeneration of axons in the lesioned spinal cord. *Physiol Rev* 1996;76: 319–370.

94-Merrill JE, Ignarro LJ, Sherman MP, et al. Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J Immunol* 1993;151: 2132–2140.

95-Jones TB, Basso DM, Sodhi A, Pan JZ, Hart RP, MacCallum RC, et al. Pathological CNS Autoimmune Disease Triggered by Traumatic Spinal Cord Injury: Implications for Autoimmune Vaccine Therapy. *J Neurosci* 2002;22: 2690–2700.

96-Hamada Y, Ikata T, Katoh S, Nakauchi K, Niwa M, Kawai Y, et al. Involvement of an intercellular adhesion molecule 1-dependent pathway in the pathogenesis of secondary changes after spinal cord injury in rats. *J Neurochem* 1996;66: 1525–1531.

97-Farooque M, Isaksson J, Olsson Y. Improved recovery after spinal cord trauma in ICAM-1 and P-selectin knockout mice. *Neuroreport* 1999;10: 131–134.

98-Leskovar A, Moriarty LJ, Turek JJ, Schoenlein IA, Borgens RB. The macrophage in acute neural injury: changes in cell numbers over time and levels of cytokine production in mammalian central and peripheral nervous systems. *J Exp Biol* 2000;203: 1783–1795.

- 99-Brewer KL, Bethea JR, Yeziarski RP. Neuroprotective effects of interleukin-10 following excitotoxic spinal cord injury. *Exp Neurol* 1999;159: 484–493.
- 100-Bethea JR, Castro M, Keane RW, et al. Traumatic spinal cord injury induces nuclear factor-kappaB activation. *J Neurosci* 1998;18: 3251–3260.
- 101-Yamasaki K, Setoguchi T, Takenouchi T, Yone K, Komiya S. Stem Cell Factor Prevents Neuronal Cell Apoptosis After Acute Spinal Cord Injury. *Spine* 2009;34: 323–327.
- 102-Kim DH, Vaccaro AR, Henderson FC, Benzel EC. Molecular biology of cervical myelopathy and spinal cord injury: role of oligodendrocyte apoptosis. *Spine J* 2003;3: 510–519.
- 103-Yu WR, Baptiste DC, Liu T, Odrobina E, Stanisiz GJ, Fehlings MG. Molecular mechanisms of spinal cord dysfunction and cell death in the spinal hyperostotic mouse: Implications for the pathophysiology of human cervical spondylotic myelopathy. *Neurobiol Dis* 2009;33: 149–163.
- 104-Baptiste DC, Fehlings MG. Pathophysiology of cervical myelopathy. *Spine J* 2006;6: 190–197.
- 105-Yakovlev AG, Faden AI. Caspase-Dependent Apoptotic Pathways in CNS Injury. *Mol Neurobiol* 2001;24: 131–144.
- 106-Knoblach SM, Huang X, VanGelderren J, Calva-Cerqueira D, Faden AI. Selective Caspase Activation May Contribute to Neurological Dysfunction After Experimental Spinal Cord Trauma. *J Neurosci Res* 2005;80: 369–380.
- 107-Yakovlev AG, Faden AI. Mechanisms of Neural Cell Death: Implications for Development of Neuroprotective Treatment Strategies. *NeuroRx* 2004;1: 5–16.

- 108-Kontogeorgakos VA, Voulgaris S, Korompilias AV, Vekris M, Polyzoidis KS, Bourantas K, Beris AE. The efficacy of erythropoietin on acute spinal cord injury an experimental study on a rat model. *Arch Orthop Trauma Surg* 2009;129: 189–194.
- 109-Kwon BK, Fisher CG, Dvorak MF, Tetzlaff W. Strategies to promote neural repair and regeneration after spinal cord injury. *Spine* 2005;30: 3–13.
- 110-Yiu G, He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration. *Nat Rev Neurosci* 2006;7: 617–627.
- 111-Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Cell therapy for spinal cord regeneration. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60: 263–276.
- 112-Dumont RJ, Verma S, Okonkwo DO, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, Dumont AS. Acute spinal cord injury, part 2: contemporary pharmacotherapy. *Clin Neuropharmacol* 2001;24: 265–279.
- 113-Matis GK, Birbilis TA. Erythropoietin in spinal cord injury. *Eur Spine J* 2009;18: 314–323.
- 114-Siren AL, Fasshauer T, Bartels C, Ehrenreich H. Therapeutic potential of erythropoietin and its structural or functional variants in the nervous system. *Neurotherapeutics* 2009;6: 108–127.
- 115-Lu C, Shen Q. Research progress on the treatment of spinal cord injury with cellular transplantation. *J Nanjing Medical University* 2009;23: 149–152.
- 116-Kohta M, Kohmura E, Yamashita T. Inhibition of TGF beta1 promotes functional recovery after spinal cord injury. *Neurosci Res* 2009;65: 393–401.
- 117-Blesch A, Tuszynski MH. Spinal cord injury: plasticity, regeneration and the challenge of translational drug development. *Trends Neurosci* 2009;32: 41–47.

118-Pamukçu Baran Ö, Nergiz Y, Bahçeci S. Göbek kordon kanı ve stromal kökenli hücrelerin sinir hücrelerine farklılaşması. *Dicle Tıp Dergisi* 2007;34: 233–238.

119-Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Cell therapy for spinal cord regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008;60: 263–276.

120-Zietlow R, Lane EL, Dunett SB, Rosser AE. Human stem cell for CNS repair. *Cell Tissue Res* 2008;331: 301–322.

121-Liu S, Qu Y, Stewart TJ, Howard MJ, Chakraborty S, Holekamp TF, et al. Embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes and myelinate in culture and after spinal cord transplantation. *PNAS* 2000;97: 6126–6131.

122-Keirstead HS, Nistor G, Bernal G, Totoiu M, Cloutier F, Sharp K, et al. Human embryonic stem cell –Derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci* 2005;25: 4694–4705.

123-Aflatoonian B, Moore H. Germ cell from mouse and human embryonic stem cells. *Reproduction* 2006;132: 699–707.

124-Donovan PJ. The germ cell-the mother of all stem cells. *Int J Dev Biol* 1998;42: 1043-1050.

125-Marques-Mari AI, Lacham-Kaplan O, Medrano JV, Pellicer A, Simon C. Differentiation of germ cells and gametes from stem cell. *Hum Reprod Update* 2009;15: 379–390.

126-Baytur Bülbül Y, Şen C. Kordon Kanı Bankacılığı: Neden, Kime, Nasıl? *Perinatoloji Dergisi* 2004;12: 1–10

127-İnan S, Özbilgin K. Kök hücre biyolojisi. Sağlıkta Birikim Dergisi 2009;1: 11–23.

128-Ramirez F, Steenblock DA, Payne AG, Darnall L. Umbilical cord stem cell therapy for cerebral palsy. Med Hypotheses Res 2006;3: 679–686.

129-Low CB, Liou YC, Tang BL. Neural differentiation and potential use of stem cells from the umbilical cord for central nervous system transplantation therapy. J Neurosci Res 2008;86: 1670–1679.

130-Harris DT. Non-haematological uses of cord blood stem cells. Br J Haematol 2009;147: 177–184.

131-Sankar V, Muthusamy R. Role of the amniotic epithelial cell transplantation in spinal cord injury research. Neuroscience 2003;118: 11–17.

132-Wu ZY, Hui GZ, Lu Y, Wu X, Guo LH. Transplantation of human amniotic epithelial cells improves hindlimb function in rats with spinal cord injury. Chin Med J (Eng) 2006;119: 2101–2107.

133-Cao FJ, Feng SQ. Human umbilical cord mesenchymal stem cells and the treatment spinal cord injury. Chin Med J(Engl) 2009;122: 225–231.

134-Mal L, Feng XY, Cui BL, Law F, Jiang XW, Yang LY, et al. Human umbilical cord wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells differentiation into nerve-like cells. Chin Med J(Engl) 2005;118: 1987–1993.

135-Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-Derived cells are a primitive stromal cell population. Stem Cell 2008;26: 591–599.

136-Yang CC, Shih YH, Ko MH, Hsu SY, Cheng H, Fu YS. Transplantation of human umbilical mesenchymal stem cell from wharton's jelly after complete transection of the rat spinal cord. PLoS One 2008;3: 3336–3346.

137-Gu S, Shen Y, Xu W, Xu L, Li X, Zhou G, et al. Application of fetal neural stem cells transplantation in delaying denervated muscle atrophy in rats with peripheral nerve injury. *Microsurgery* 2009 (epub ahead of print).

138-Winkler IG, Levesque JP. Mechanisms of hemopoietic stem cell mobilization: when innate immunity assails the cells that make blood and bone. *Exp Hematol* 2006;34: 996–1009.

139-Gülen H. Hematopoetik kök hücreler. *Sağlıkta Birikim Dergisi* 2009;1: 67–80.

140-Rowland JW, Hawryluk GW, Kwon B, Fehlings MG. Current status of acute spinal cord injury pathophysiology and emerging therapies: promise on the horizon. *Neurosurg Focus* 2008;25: E2.

141-Karadağ OT. Deneysel omurilik yaralanması oluşturulan sıçanlarda insan umbilikal kord kanı transplantasyonunun etkisinin incelenmesi. Denizli: Pamukkale Üniversitesi. 2006.

142-Ducker TB, Kindt GW, Kempe LG. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. *J Neurosurg* 1971;35: 700–708.

143-Nemecek ST. Morphological evidence of microcirculatory disturbance in experimental spinal cord trauma. *Advances Neurol* 1978;20: 395–405.

144-Demopoulos HB, Flam ES, Seligman ML, Pietronigro DD, Tamasula J, DeCrescito V. Further studies on free radical pathology in the major central nervous system disorders: Effect of very high doses of methylprednisolone on the function outcome, morphology and chemistry of the experimental spinal cord impact injury. *Can J Physiol Pharmacol* 1981;60: 1415–1424.

145-Christie SD, Comeau B, Myers T, Sadi T, Purdy M, Mendez I. Duration of lipid peroxidation after spinal cord injury in rats and the effect of methylprednisolone. *Neurosurg Focus* 2008;25: E5

146-Reddy SJ, La Marca F, Park P. The role of heat shock proteins in spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 2008;25: E4

147-Schroeder JL, Highsmith JM, Young HF, Mathern BE. Reduction of hypoxia by perflourocarbon emulsion in a traumatic spinal cord injury model. *J Neurosurg Spine* 2008;9: 213–220.

148-Gomez-Pinilla F, Tram H, Cotman CW, Nieto-Sampedro M. Neuroprotective effect of MK–801 and U-50488H after spinal cord injury. *Exp Neurol* 1989;104: 118–124.

149-Wrathall JR, Choiniere D, Teng YD. Dose dependent reduction of tissue loss and functional impairment after spinal cord trauma with AMPA/kainat receptor NBQX. *J Neurosci* 1994;14: 6598–6607.

150-Naidu KA, Fu ES, Sutton ET, Prockop LD, Cantor A. The therapeutic effect of epidural intercellular adhesion molecule–1 monoclonal antibody in a rabbit model: involvement of the intercellular adhesion molecule–1 pathway in spinal cord ischemia. *Anesth Analg* 2003;97: 857–862.

151-Genc S, Koroglu TF, Genc K. Erythropoietin and the nervous system. *Brain Res* 2004;12: 19–31.

152-Ghezzi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death Differ* 2004;11: 37–44.

153-Grasso G, Sfacteria A, Passalacqua M, Morabito A, Buemi M, Macri B, et al. Erythropoietin and erythropoietin receptor experssion after experimental spinal cord injury encourages therapy by exogenous erythropoietin. *Neurosurger* 2005;56: 821–827.

154-Okutan Ö, Solaroğlu İ, Beşkonaklı E, Taşkın Y. Recombinant human erythropoietin decreases myeloperoxidase and caspase-3 activity and improves early functional results after spinal cord injury in rats. *J Clin Neurosci* 2007;14: 364–368.

155-Kaptanoglu E, Solaroglu İ, Ozerk O, Surucu HS, Akbiyik F, Beskonakli 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.

156-King VR, Averill SA, Hewazy D, Priestly JV, Torup L, Michael-Titus AT. Erythropoietin and carbamylated erythropoietin are neuroprotective following spinal cord hemisection in the rats. *Eur J Neurosci* 2007;26: 90–100

157-Fu ZQ, Shao QL, Shen JL, Zhang YJ, Zhao XX, Yao L. Effect of carbamylated erythropoietin on major histocompatibility complex expression and neural differentiation of human neural stem cells. *J Neuroimmunol* 2010;15 (epub ahead of print)

158-Su Z, Yuan Y, Chen J, Cao L, Zhu Y, Gao L, et al. Reactive astrocytes in glial scar attract olfactory ensheathing cells migration by secreted TNF-alpha in spinal cord lesion of rat. *PLoS One* 2009;4: e8141.

159-Priestly JV, Ramer MS, King VR, MacMahon SB, Brown RA. Stimulating regeneration in the damaged spinal cord. *J Physiol Paris* 2002;96: 123–133.

160-Grill R, Murai K, Blesh A, Gage FH, Tuszynski MH. Cellular delivery of neurotrophin-3 promotes corticospinal axonal growth and partial functional recovery after spinal cord injury. *J Neurosci* 1997;17: 5560–5572.

161-Liu Y, Kim D, Himes BT, Chow SY, Schallert T, Murray M, et al. Transplants of fibroblasts genetically modified to express BDNF promote regeneration of adult rats rubrospinal axons and recovery of forelimb function. *J Neurosci* 1999;19: 4370–4387.

162-Chau CH, Shum DK, Li H, Pie J, Lui YY, Wirthlin L, et al. Chondroitinase ABC enhance axonal regrowth through schwann cell-seeded guidance channels after spinal cord injury. *FASEB J* 2004;18: 194–196.

163-Foret A, Qaertainmont R, Botman O, Bouhy D, Amabili P, Broke G, et al. Stem cell in the adult rat spinal cord: plasticity after injury and treadmill training exercise. *J Neurochem* 2010;112: 762–772.

164-Sing AJ, Roy LS. Stem cells in PMR practices. *IJPMR* 2008;19: 1–5.

165-Nishio Y, Koda M, Kamada T, Someya Y, Yoshinaga K, Okada S, et al. The use of hemopoietic stem cells derived from human umbilical cord blood to promote restruction of spinal cord tissue and recovery of hindlimb funtion in adult rats. *J Neurosurg Spine* 2006;5: 424–433.

166-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.

166-Franklin RJ. Remyelination of the demyelinated CNS: the case for and agaist transplantation of central, peripheral and olfactory glia. *Brain Res Bull* 2002;57: 827–832.

167-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.

168-Nakamura M, Toyama Y. Transplantation of neural stem cells into spinal cord after injury. *Nippon Risho* 2003;61: 463–468.

169-Kao CH, Chen SH, Chio CC, Lin MT. Human umbilical cord blood-derived CD34+ cells may attenuate spinal cord injury by stimulating vascular endothelial and neurotrophic factors. *Shock* 2008; 29: 49–55.

170-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 Hematother Stem Cell Res* 2003;12: 271–278.

171-Zhao ZM, Li HJ, Liu HY, Lu SH, Yang RC, Zhang QJ, et al. 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.

172-Dasari VD, Spomar DG, Li L, Gujrati M, Rao JS, Dinh DH. Umbilical cord blood stem cell mediated downregulation of fas improves functional recovery of rats after Spinal cord injury. *Neurochem Res* 2008;33: 134–149.

173-Kuh SU, Cho YE, Yoon DH, Kim KN, Ha Y. 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.

174-B Cırak, OT Karadag, K Tahta, T Suzer, E Coskun, F Acar, HA Erken. The Effect of Human Umbilical Cord Blood Transplant on Experimental Spinal Cord Hemisection in Rats: A clinical And Neurophysiological Evaluation. *ISCITT 2.nd International spinal cord injury treatment and trials symposium* November 2006, Guangzhou, China

