

# Nörolojik Hastalıklarda Kök Hücre Tedavileri

**Haluk DEDA**

*Deda Beyin ve Omurilik Merkezi*

✓ Nörolojik hastalıklarda tedavi ve kür oldukça zordur. Bunun nedeni santral sinir sisteminde nörogenesisin sınırlı olması, iyileşmeyi geciktiren aktif inhibitörlerin varlığı ve glial skar dokusunun iyileşmeyi engellemesidir. Son yıllara kadar santral sinir sistemi hücrelerinin rejenerasyon yeteneğinin olmadığı kabul edilen bir görüş olmasına rağmen, yapılan çalışmalar ile yetişkin travmatize edilmiş insan hipokampusunda da yeni nöronların geliştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin hasarlı beyinde nöronal ve vasküler fenotipler oluşturarak tamir sürecine yardım ettiği de gösterilmiştir. Endogen tamir sürecinin uyarılması en iyi tedavidir. Kök hücreler trofik iyileşmeyi sağlamakta, endojen nöronlar, astrositler ve damarları uyarmakta, ayrıca büyüme faktörlerinin salgılanmasına ve antiinflamatuvar etkileri ile de çok yönlü iyileşmeyi sağlamaktadırlar. Kök hücre çalışmalarının sonucunda elde edilen veriler ışığında nörolojik hastalıklarda kök hücre çalışmalarının etkili ve güvenli bir tedavi metodu olduğunu söyleyebiliriz.

**Anahtar kelimeler: Kemik iliği, kök hücre, tedavi, nörolojik hastalıklar**

*J Nervous Sys Surgery 2008; 1(3):142-152*

## Stem Cell Therapies For Neurological Diseases

✓ Cells of the central nervous system were once thought to be incapable of regeneration. This dogma has been challenged in the last decade with studies. There are reports of bone marrow derived cells developing neuronal and vascular phenotypes and aiding in repair of injured brain. These findings have fuelled excitement and interest in regenerative medicine for neurological disease. These include cell therapy approaches in which cells are delivered intracerebrally or intraspinally and these cells are infused by an intravenous or intraarterial route. Stem cell and regenerative approaches to neurological disease can be divided into a number of categories depending upon the target neurological disease. Neuronal tissue injury involves destruction of multiple cell types. Therefore, the regenerative strategy will need to restore not only neural elements but supportive structures such as blood vessels. The mechanism of the benefit of cell therapies upon neurological function involves trophic and stimulating effects on endogenous neurones, astrocytes and blood vessels. This trophic effect appears to be a characteristic of stem cells. Endogenous repair processes is the best target for therapy. The effectiveness of cell therapy will be more related to the capacity to secrete trophic and growth factors and an antiinflammatory effect rather than by ability to differentiate into neurones and integrate directly into a complex nervous system. My results of stem cell therapy is an effective and promising procedure for neurological disease.

**Key words: Bone marrow, stem cell, therapy, neurological disease**

*J Nervous Sys Surgery 2008; 1(3): 142-152*

**S**antral sinir sistemi hücrelerinin rejenerasyon yeteneğinin olmadığı 1928 yılında Ramon tarafından açıkça belirtilmiştir (22). Son yıllara kadar kabul gören bu görüşe rağmen son 10 yıl içinde yapılan çalışmalar ile

yetişkin travmatize edilmiş insan hipokampusunda da yeni nöronların geliştiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak; 1998 yılında Erikson ve ark. insan hipokampusunda dentate gyrusda yeni nöronların varlığını göstermiştir (15).

Ayrıca, kemik iliğinden elde edilen kök hücrelerin hasarlı beyinde nöronal ve vasküler fenotipler oluşturarak tamir sürecine yardım ettiği de gösterilmiştir (22). Bu olumlu gelişmelere rağmen yetişkin santral sistemi içindeki çok çeşitli hücrelerin bulunması, her bir hücrenin görevlerinin farklı olması daha işin başında hücre temelli tedavilerin stratejisi için ayrı bir dezavantaj oluşturmakta ve bu tür çalışmalar için ümit kırıcı olmakta idi. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda iyi hazırlanmış hücrelerle doğru endikasyonlar ve kök hücrelerin uygun yerleştirilmesi ile başlangıç için oldukça tatmin edici sonuçların alınmaya başladığı her geçen gün artan yayınlarla da anlaşılmaktadır. Son 10 yıllık çalışmalara baktığımızda özellikle kök hücreler ile progenitör hücrelerin yetişkin insan santral sinir sisteminde yapısal nöroplastisite potansiyeline sahip oldukları birçok kez ispatlanmıştır.

Stratejik olarak kök hücre tedavilerinde birinci önemli nokta; hangi tip nörolojik hastalarda hangi hücrelerin kullanılacağıdır. Goldman farklı hücrelerin şu şekilde kullanılmasını önermektedir (18).

- Nöronal progenitör hücreleri, tek nöronal fenotip hastalıklarında, örneğin Parkinson hastalığında,
- Karışık progenitör hücre havuzlarını, sınırlı sayıda farklı fonotiplerin kaybı ile karakterize, spinal kord yaralanmaları ve motor nöropatiler gibi hastalıklarda,
- Glial ve oligodendrositik progenitör hücreleri, myelin hastalıkları tedavisinde,
- Nöral kök hücrelerini ise lizozomal depo hastalıklarında ve diğer enzim yetersizliklerinde kullanılmasını önermektedir.

Kök hücre tedavilerindeki ikinci önemli nokta bu hücrelerin hastaya zarar vermeyecek tarzda ve uygun bir biçimde hazırlanmasıdır. Bunun için hücrelerin GMP (Good Manufacturing Practise) standardında hazırlanması esastır.

İnsan sağlığı için üretimi yapılan her ürünün üretimin tüm aşamalarında ve hasta uygulamalarında yüksek kalite seviyesine sahip olması gereklidir. Bu bağlamda son yıllarda önce tavsiye kararı olarak başlayan sonra ABD ve Avrupa Topluluğu üyeleri tarafından uygulanması mecburi kılınan kararlara göre her türlü kan ve kan ürünü, doku, kök hücre bankacılığı, hücre ve gen tedavi ürünlerinin GMP koşulları altında üretimlerinin yapılması gerektiği bildirilmiştir.

Günümüzde hücre ürünleri artık bazı tedavilerde kullanılmaktadır. Bu tedaviler için gerekli hücreler periferik kan veya diğer kaynaklardan toplanır ve takiben çoğu kez değişik manüplasyon ve depolama işlemlerine tabi tutulurlar. Bu aşamada final ürünün güvenilirliği ve kalitesi son derece önemli olup, bu amaçla değişik düzenlemeler ve kurallar dizisi oluşturulmuştur. Bu kurallardan en önemlisi iyi üretim koşullarını (GMP) ve kalite kontrol sistemlerinin kalite güvenlik programının içinde yer almasıdır. GMP uygulamaları hücrenin toplanması, işlenmesi, saklanması, dağıtımı, uygulanması aşamaları ile personel eğitimi, ekipman, laboratuvar özelliklerine uzanan bir alanda her şeyi kontrol eden bir kalite güvenlik sistemidir. GMP bu anlamda ürünlerin standardizasyonunu, kalite ve güvenliğini sağlayan, uygulamaları ve hastayı gözetim düzenlemeleridir.

Türkiye’de gerçekleştirdiğimiz tüm kök hücre uygulamalarında GMP standartlarında hücreler kullanılmıştır.

Kök hücre tedavilerinde üçüncü önemli noktada bu hücrelerin uygun biçimde yerleştirilmesidir. Bu yerleştirme hastalığa göre değişmektedir. Dolayısı ile her hastalığı ayrı biçimde ele almak gerekmektedir.

Son 3 yıldaki kişisel kök hücre uygulamalarımda 3 ayrı hastalıkta kök hücreleri kullandım. Bunlar:

- Stroke geçiren hastalarda

- Spinal kord yaralanması olan hastalarda
- ALS hastalarında kök hücre uygulamalarıdır.

Bu makalede her 3 grup için de dünyada yapılan uygulamaları ve kendi uygulamalarımı ve sonuçlarını vereceğim. Ayrıca, kök hücre uygulanan diğer nörolojik hastalıklar ve kök hücre uygulamaları ile ilgili bilgiler aktaracağım.

Kök hücrelerin hasarlı bölgelere doğru göç edebilmesi bilinmektedir (47). Bu nedenle hücrelerin hastaya verilmesi sırasında hangi yolun öncelikle tercih edilebileceği de önemlidir. Yani bu hücrelerin intravenöz veya intraarteriyel yollar ile mi verileceği yoksa intratekal yolun mu deneneceği ya da direkt olarak intraserebral veya intra spinal doku içine mi enjekte edileceği çok önemlidir. Seçilecek kök hücre uygulama yöntemleri hastanın patolojisine göre değişmektedir, gerektiğinde maksimum etki için tüm yolların aynı anda kullanılması gerekebilir.

Bu konudaki diğer bir önemli nokta da kök hücre uygulaması sürecinde kök hücre mobilizasyonuna yardım eden citokine (örn.: granulocyte colony stimulating factor), chemokine (örn. SDF-1) veya IDNF gibi trofik ve büyüme faktörleri ile GDNF gibi glial nörotrofik faktörlerin kullanılıp kullanılmayacağıdır. Bu konuda birçok yayın olmasına ve kök hücre ile birlikte kullanıldıklarında iyileşmeyi arttırdığı yolunda yayınlar olmasına karşılık henüz kesinleşmiş veriler yoktur (22,28,34).

Santral sinir sisteminde anjiogenesis ve nörogenesis birlikte oluşmaktadır. Bu nedenle sinir dokularının iyileşmesinde anjiogenesis önemli rol oynamaktadır. Kök hücre uygulamalarındaki diğer bir önemli nokta da kök hücrelerin anjiogenesisi arttırmasıdır. Bu nedenle özellikle inme vakalarında fonksiyonel iyileşmede etkin rol oynadığı bildirilmektedir (37).

Literatüre baktığımızda gerek araştırmalar ve gerekse insan uygulamalarını değerlendirdiği-

mizde kemik iliğinden elde edilen hücreler, multipotent progenitor hücreler, kordon kanı hücreleri ve nöral kök hücrelerin uygun olgularında uygun kriter ve yaklaşımlarda tedavi amaçlı kullanılabileceğini ortaya koymaktadır (25). Oluşabilecek komplikasyonlar ve etik kuralları göz önüne aldığımızda da otolog olarak elde edilmeleri uygun olacaktır (46).

Kök hücre tedavilerindeki temel amaç herkesin beklentisinin aksine bir hücre yenileme ve dolaşımı ile hasarlı bölgelerde yeni dokular yaratma değildir. Duraklamış doku iyileşmesine özellikle trofik katkılar sağlayarak, myelin tamiratlarının gerçekleşmesini temin ederek ve belkide en önemlisi endojen kök hücreleri uyatarak tamiratın devamlılığını sağlayarak katkı sağlamaktır (2,9,10,26).

## **NÖROLOJİK HASTALIKLARDA REJENERATİF TEDAVİ YAKLAŞIMLARI**

Nörolojik hastalıklarda kök hücre ve rejeneratif yaklaşımlar birkaç kategoride değerlendirilebilir. Literatürü değerlendirdiğimizde kök hücre uygulanan nörolojik hastalıkları 4 grupta toplayabiliriz.

Birinci grup; kök hücre uygulamalarının akut safhadaki hastalıklarda kullanılmasıdır. Bu grup içinde inmeler, travmatik beyin veya spinal kord yaralanmaları, neonatal hipoksik ve iskemik ensefalopatiler veya perinatal asfiksiler yer almaktadır. Akut safhada kök hücre kullanmak gerek etik ve gerekse hukuki açıdan birçok sorunu beraberinde getirmektedir. Çünkü yasalarımız daha çok her türlü tedavinin uygulanmasından sonra tedaviye yanıt alınamayan hastalarda yeni tedavi yöntemlerinin kullanılmasına uygundur. Bu nedenle kök hücrelerin başlangıçta kronik hastalarda kullanılması daha uygundur.

İkinci grup kronik nörodejeneratif hastalıklardır. Bu gruptaki hastalıklar içinde ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis), Parkinson, Huntington hasta-

lığı ve Alzheimer hastalığı kök hücre uygulamaları için uygun şartlara sahiptir. Bu hastalıklar içinde özellikle ALS, gerek ilerleyici ve fatal sonuçlanması ve gerekse tedavisinin olmayışı nedeni ile bu grup içinde öncelikle kök hücre uygulanması uygun olanıdır.

Üçüncü grupta kronik inflamasyon ve immüno-lojik nedenlere bağlı hastalıklar vardır. Bunlar içinde kök hücre uygulamaları için en uygun olan hastalık Multiple Sclerosis'dir.

Dördüncü grupta ise özellikle çocuklarda görülen genetik hastalıklar yer almaktadır. Bu hastalıklar içinde literatürü incelediğimizde nöronal ceroid lipofuscinosis, mukopolisakkaridozlar ve lökodistrofiler kök hücre uygulamaları için uygundur.

Görüldüğü üzere nörolojik bilimlerde kök hücre uygulamaları geniş bir yelpazede tedavi için yeni olanaklar sunmaktadır.

Bu makalede tedavi amaçlı insan uygulamalarının yapıldığı hastalıkları ve kök hücre sonuçlarını aktarmaya çalışacağım.

## İNME'DE KÖK HÜCRE UYGULAMALARI

Serebral iskemi; nöronların, astrositlerin, oligodendositlerin, endotelial hücrelerin de dahil olduğu çok sayıdaki hücrenin birlikte tahrip olduğu bir hastalıktır. Dolayısı ile serebral iskemideki tedavi stratejisi yalnızca nöral elementlerin tamir olması değil aynı zamanda damarlar gibi bu dokuları besleyen yapıların da tamir olmasını gerekli kılmaktadır.

Bu kadar kompleks bir tedavinin yalnızca ilaçlarla ve rehabilitasyon programları ile sağlanabilmesi olanaksızdır. Bu nedendir ki serebral iskemi büyük morbitelilerle ve hatta mortalite ile sonlanan bir hastalıktır. İstatistiklere göre A.B.D'de ölümlerle sonuçlanan hastalıklar içinde 3. sırada, dünyada ise 2. sırada bulunmaktadır

(22). İnme için erken kök hücre uygulaması henüz uygun olmadığından strateji geç dönem uygulamalarıdır. Amaç tamir işlevini uyararak tamir sürecini canlandırmaktır. Dolayısı ile nörogenesis, anjiogenesis ve sinaptogenesisin uyarılması gerekmektedir. Yapılan prelinik çalışmalarda kök hücrelerin endojen tamir mekanizmalarını harekete geçirdiği ve aynı zamanda hasarlı bölgedeki vaskülarizasyonu artırdığı gösterilmiştir. Bu olumlu sonuçlar nedeni ile ilgili ReNeuron bio teknoloji kuruluşu Amerika'da FDA onayını da alarak Pittsburg Üniversitesi'nde inme geçiren hastalarda kök hücre uygulamalarına başlamıştır. ReNeuron bu çalışmasında nöral kök hücreleri kronik inme geçirmiş hastalarda tedavi amaçlı olarak kullanacaktır. Kemik iliğinden elde edilen mezanşimal kök hücreler de inme tedavisinde başarı ile uygulanmaktadır. Mezanşimal hücreler ile yapılan klinik öncesi çalışmalarda bu hücrelerin intraserebral, intraarteriyel ve intravenöz uygulamalarının olabileceği ve hepsi ile de fonksiyonel düzelmelerin sağlanabileceği gösterilmiştir (1,8,11,27,54). Bang ve ark. otolog mezanşimal kök hücreler ile inme geçirmiş 30 hasta üzerinde kök hücreleri IV yolla vererek yaptıkları çalışma sonucunda, bu tedavinin fonksiyonel iyileşmeleri de sağlayabilen güvenli bir yöntem olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda enfarkta bağlı gelişen kavitelerde bu tedavi sonrasında belirgin bir azalma olmadığı da gösterilmiştir. Hatta direkt kavite içine kök hücre verilerek yapılan çalışmalar da kistik yapı içinde kök hücrelerin besleneceği damarsal yapıların gelişmesi nedeni ile bu hücrelerin yaşama ve işlevsel olabilme özelliklerinin fazlaca olmadığı ve sonuçları etkilediği de gösterilmiştir (1,8,9,23). Dolayısı ile elde edilen iyi yöndeki fonksiyonel kazanımlar yeni hücrelerin gelişmesinden çok kök hücrelerin trofik etkileri ve endojen tamir sürecini stimüle etmelerine bağlıdır (44).

Kök hücre çalışmalarımda, inme geçiren ve kronik süreçte bulunan 2 hastaya 3.5 yıl önce GMP standardında hazırlanmış otolog mezanşimal

kök hücreleri navigasyon eşliğinde yerleştirdim. Hastalardan birinde enfarkt sahası yaklaşık pariyetal yerleşimli 5x3x2 cm genişliğinde idi. Bu hastada kök hücreleri daha çok kavite içerisine olacak biçimde verdik. Diğer hasta da ise bazal ganglion yerleşimde 2x1x1 cm'lik bir enfarkt sahası mevcuttu ve GMP standardında hazırlanmış otolog mezanşimal kök hücreleri navigasyon eşliğinde enfarkt sahası etrafına birkaç farklı yönde yerleştirdik. Birinci hasta yalnızca hemihipoesteziye azalma olduğunu ifade etti ve daha ileri bir gelişme olmadı. İkinci hasta ise preoperatif dönemde tekerlekli iskemleye bağlı ancak yardımla ayakta durabilir ve yardımla birkaç adım atabilirken post op dönemde kendi günlük işlerini yapacak kadar düzeldi. Bu fonksiyonları geçen 3.5 yıla rağmen koruyabilmektedir. Dolayısı ile iyileşmesi kalıcı olmuştur. Biraz önce izah etmeye çalıştığım gibi bu iyileşmeler büyük olasılıkla kök hücreler sayesinde oluşan trofik etkilere bağlıdır ve kalıcı endojen iyileşmeyi stimüle ettiğini ve hastanın bundan çok yararlandığını açıkça göstermektedir. Çünkü hasta bir kök hücre yerleştirmeden 4.5 yıl önce inme geçirmişti ve her türlü tedaviyi almış olmasına karşılık hiçbir olumlu gelişmeye sahip olmamıştı. Bu bulguları literatürdeki sonuçlar ve yorumlarla da karşılaştırıldığında inme tedavisinde gelecekte kök hücrelerin daha yaygın ve güvenle uygulanacağını rahatlıkla söyleyebiliriz.

### **KRONİK DEJENERATİF HASTALIKLARDA KÖK HÜCRE KULLANIMI: ALS**

ALS (Amyotrophic Lateral Sclerosis) kök hücre uygulamalarında ön planda bulunan hastalıklardan biridir. Bilindiği gibi ALS spinal kord ve kortikal motonöronların progressif kaybı ile karakterize fatal bir hastalıktır. Etiyolojisi ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (6,19).

Hastalığı durduracak ve iyileşmeyi sağlayacak bir tedavi yoktur. Yalnızca semptomlar üzerinde sınırlı bir etkiye sahip Riluzone haricinde başka

bir ilaç da bulunmamaktadır (4). Yapılan hayvan çalışmalarında kök hücre transplantasyonunun etkili olduğu gösterilmiştir. ALS'de kök hücrenin ne şekilde etki ettiği konusundaki araştırmalar devam etmektedir (16,35,45).

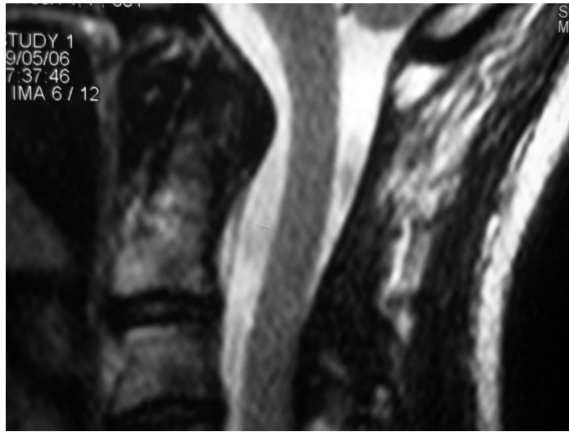
ALS tedavisinde kök hücreler intratekal yol ile de verilmişse de elde edilen yararlı etkiler çok kısıtlı kalmıştır. Janson ve ark. intratekal olarak enjekte ettikleri CD34+ hücreler ile 6-12 ay takipte bir yan etki görmemelerine karşın etkili bir klinik iyileşme de gözlemlenemediklerini belirtmiştir (24).

Mazzini ve ark. otolog kemik iliğinden elde edilen hematopoetik hücreleri 7 hastaya Th7-Th9 seviyesinde spinal kord içine yerleştirmiştir. Üç yıllık takip sonucunda hastalarda belirgin kazanımlar olduğunu göstermiş ve ALS hastalığında spinal kord içine "otolog mezanşimal" kök hücrelerin direkt enjeksiyonunun güvenli, önemli akut veya kronik toksisite göstermeyen ve iyi tolere edilen bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir (30-33,51).

Bu sonuçlar nedeni ile ALS hastalarına kök hücre uygulaması ile ilgili olarak Amerikan Aastrom Laboratuvarı ile birlikte bir program hazırlandı. Bu program çerçevesinde Türk yasalarına da uygun olacak şekilde onam formları, etik kurul kararları gibi gerekli hazırlıklar yapıldıktan sonra ALS hastalığında terminal dönemde veya terminal döneme yaklaşmış hastalar seçildi. Hastalarda beyin sapına ait bulgular da olduğundan hücrelerin C1-2 laminektomi yapılarak yüksek servikal bölge ve alt beyin sapı içine yerleştirilmesine karar verildi. Hazırlanan hücrelerin hepsini bu hassas bölgeye vermek tehlikeli olacağından kalan hücreler subaraknoid bölgeye yerleştirildi ve IV olarak işlem tamamlandı. Bu uygulama, 13 hastaya kemik iliğinden elde edilen otolog hematopoetik progenitor hücreler verilerek gerçekleştirildi. Direkt enjeksiyon yönteminin seçilmesindeki en önemli faktör ALS hastalarında kan-beyin bariyerininin

sağlam olmasından kaynaklanıyordu.

Ameliyat sonrası çekilen MRI'lar da herhangi bir hasar tespit edilmedi (Şekil 1). Hastaların 1 yıllık takip sonucunda 9 hastanın Bulbar Score'larının ve Norris Skalası değerlerinin pre-operatif döneme göre daha iyi durumda olduğu ve yapılan ENMG testlerinde de iyileşmenin var olduğu görüldü (Şekil 2, 3). Üç hasta ise 1 yıllık süreçte akciğer enfeksiyonu ve MI nedeni ile kaybedildi. Elde edilen sonuçlar ALS hastalığında kök hücre uygulamasının alternatif bir



Şekil 1. ALS için kök hücre uygulamasından sonra post op MRI'da herhangi bir hasar görülmemiştir.

tedavi olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Bu çalışmada diğer bir önemli nokta ise operasyonda araknoid membranda bir kalınlaşma tespit edildiğinden patoloji için gönderilen araknoid membranlarda 8 hastanın 5'inde lenfositik araknoidit varlığının tespit edilmesidir. Bu bulgu hastalığın etiolojisinin aydınlatılmasında oldukça önemli bir bulgu olarak durmaktadır. (14).

ALS hastalığında kök hücre uygulamalarının önu açılmış bulunmaktadır.

### SPİNAL KORD YARALANMALARINDA KÖK HÜCRE UYGULAMASI

Travmatik spinal kord yaralanmaları tüm dünyadaki önemli sorunlarından biridir. Santral sinir sisteminin bu tür yaralanması ile dokudaki hücre kayıpları fazla olmakta, ciddi myelin kayıpları oluşmakta ve nöral bağlantıların yeniden kurulması adeta olanaksız hale gelmektedir. Bu nedenle yalnızca dekompresyon ve FTR yöntemleri ile yeterli bir sonuç almak mümkün olmamaktadır. Buna karşılık transplante edilen kemik iliğinden elde edilen hematopoetik kök hücrelerin, hasarlı dokulardaki hücreleri yenilediği ve myelin kılıflarını tamir ettiği gösteril-

#### Needle EMG

EMG Summary Table	Spontaneous					MUAP			Recruitment
	IA	FİB	PSW	Fasc	H.F.	Amp	Dur.	PPP	Pattern
L. BICEPS	N	2+	1+	None	1+	1+	1+	1+	Discrete
L. TRICEPS	N	2+	2+	None	None	1+	N	1+	Discrete
L. FRONTALIS	N	1+	1+	None	None	2+	2+	2+	Reduced
L. TIB ANTERIOR	N	2+	2+	None	None	Giant	3+	2+	Reduced
L. GASTROCN (MED)	N	2+	1+	1+	None	Giant	3+	2+	Discrete

Şekil 2. Aynı hastanın preop ENMG tetkiki ALS lehinedir.

#### Needle EMG

EMG Summary Table	Spontaneous					MUAP			Recruitment
	IA	Fib	PSW	Fasc	H.F.	Amp	Dur.	PPP	Pattern
L. BICEPS	N	3+	1+	2+ (fast)	1+	2+	3+	2+	Reduced
L. TRICEPS	N	3+	None	2+ (slow)	None	2+	2+	2+	Reduced
L. TIB ANTERIOR	N	None	None	None	None	N	N	N	N
L. GASTROCN (MED)	N	1+	None	1+	None	Giant	3+	2+	Reduced

Şekil 3. Aynı hastanın post op ENMG tetkikinde rejenerasyonun başladığı lehine bulgular mevcuttur.

miştir (2,12,28,37,56,57). Son yıllarda yapılan yayınlarda gerek otolog kemik iliğinden elde edilen hematopoetik kök hücrelerin ve gerekse göbek kordon kanından elde edilen kök hücrelerin kronik spinal kord yaralanması olan hastalarda belirgin yararlar sağladığı gösterilmiştir (25,40,41,47).

Uluslararası literatürdeki bu olumlu yayınlar nedeni ile kronik spinal kord yaralanması olan hastalara kök hücre uygulaması ile ilgili olarak Amerikan Aastrom Laboratuvarı ile birlikte bir program hazırlandı. Bu program çerçevesinde Türk yasalarına uygun olacak şekilde onam formları, etik kurul kararları gibi gerekli hazırlıklar yapıldıktan sonra aşağıdaki kriterlere uyan 9 hasta seçildi. Hastalar en az 6 ay önce Spinal Kord yaralanması geçirmiş olmalı idi. Hastalara FTR dahil olmak üzere her türlü tedavi denenmiş ve yapılan tetkiklerinde tam spinal kord kesisi olmadığı gösterilmiş olmalı idi. Nörolojik olarak ASIA grade A sınıflamasında bulunmalı ve operasyon öncesinde ventilatör desteğine bağlı durumda olmamalı ve bu tedaviye engel oluşturacak tıbbi bir hastalığı bulunmamalı idi. Hastaların otolog hücreleri Amerikan Aastrom Laboratuvarında hazırlandı ve dondurulmuş hücreler - 80 derecede gönderildi. Hastaların hasarlı bölgesi operasyonda ekspozite edildikten sonra hücreler özel olarak ısıtıldı ve normal vücut ısısı sıcaklığına geldikten sonra hasarlı

dokular içine yerleştirildi. Artan hücreler subaraknoid uzaklığa yerleştirildi ve IV olarak da verilerek işlem tamamlandı. Bu işlemlerde kullanılan kök hücreler için progenitor bir hücre havuzu tercih edilmiştir, çünkü yukarıda belirtildiği gibi bu tip bir travmadan sonra değişik hücre tipleri hasar gördüğünden bu dokuların tamiri için de bir hücre havuzuna gereksinim vardır. Literatür bilgileride bu tezi desteklemektedir (17,43). Bu nedenle otolog hematopoetik progenitor kök hücreler kronik spinal kord yaralanmaları için en uygun hücreleri içermektedir. Sonuç olarak, ameliyattan 3 hafta sonra bütün hastalarda his seviyelerinde belirgin düzelme olurken, kas kuvvetlerinde de tespit edilebilir düzelmeler oluşmuştur (13). Bu düzelmeleri izah anlatabilmek kemik iliğinden elde edilen kök hücreler ile yapılan araştırmaları değerlendirdiğimizde öncelikle yerleştirilen kök hücreler myelin oluşturan hücrelere dönüşebilmektedirler. İkinci olarak bu hücreler nöronlara dönüşmekten çok aksonal rejenerasyona yön gösteren ekstrasellüler matriksde düzenlemeler oluşturabilmektedir, üçüncü ve en önemlisi de bu hücreler nöral ağ ve iletişim sistemini reorganize edebilmekte ve endogen kök hücreleri tamir yönünde uyarabilmektedirler (37). Ayrıca, hematopoetik kök hücreler birçok sitokini sekrete edebilmekte ve dolayısı ile de nöronal progenitor hücrelerin differensiyasyonuna ve yaşamasına olanak sağlamaktadırlar (34,46,52). Görüldüğü

**Patient ID:** 06000328  
**Sex:** Female

**Age:** 37 Years 5 Months  
**Date of Test:** 17.1.2006

#### Lower SEP

Nerve /sites	P40 ms	Amp $\mu$ V
<b>R. TIBIAL MALLEOUS</b>		
1. Pop fossa		
2. Cortex		
3. Pop fossa		
4. Cortex	38,55	0.30

#### Upper SEP

Nerve /sites	N9 ms	N20 ms	N20 $\mu$ V
<b>R. MEDIAN</b>			
1. Erb's	8,90		
2. Cortex		18,90	0,80
3. Erb's	8,90		
4. Cortex		18,70	0,92
<b>L. MEDIAN</b>			
1. Erb's	8,90		
2. Cortex			
3. Erb's			
4. Cortex		22,70	1,1

Şekil 4. Spinal kord yaralanması olan hastada preoperative SSEP'de bilateral negative yanıt gözlemlendi.

**Patient ID:** 06000328  
**Sex:** Female

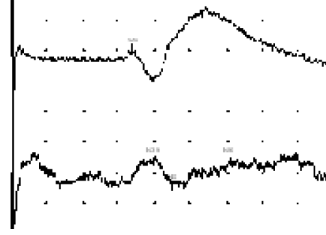
**Age:** 37 Years 5 Months  
**Date of Test:** 04.2.2006

### Lower SEP

Nerve /sites	N20 ms	P40 ms	Amp $\mu V$	N50 ms	P64 ms
<b>R. TIBIAL MALLEOUS</b>					
1. Pop fossa	17,05				
2. Cortex		39,45	0,42	45,45	60,55

### Upper SEP

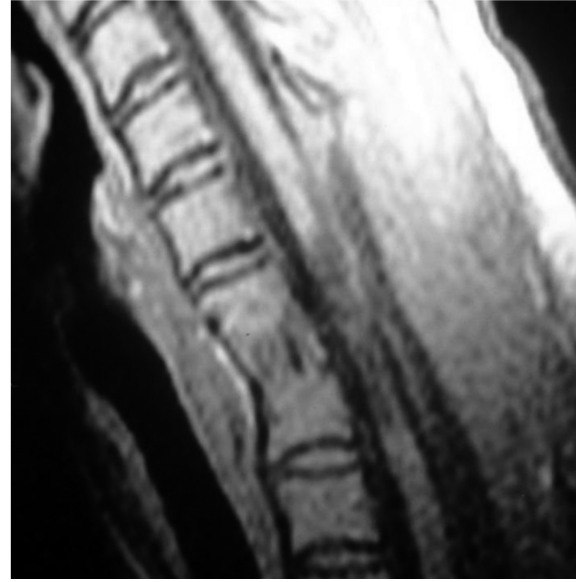
Nerve /sites	N20 ms	P40 ms	Amp $\mu V$
<b>R. TIBIAL MALLEOUS</b>			
1. Erb's			
2. Cortex	20,35	0,59	27,20



Şekil 5. Post op 10. günde SSEP'da pozitif fakat uzamış yanıt elde edilebildi.



Şekil 6. Aynı hastanın preoperative MRI'nda C5-6 seviyesinde spinal kordda ileri hasar mevcuttu.



Şekil 7. Post op 3. ayda MRI'da spinal kor da belirgin kalınlaşma gözlemlendi.

üzere kronik spinal kord yaralanması geçirmiş hastalara verilen kök hücreler sanılan ve iddia edildiği gibi spinal kord içinde kaybolmuş ya da tasarlanmış hücrelerin yerine geçmek gibi bir işlevi yapmamakta fakat çalışması durmuş bir tamir sürecini çok yönlü olarak yeniden başlatabilmektedir. Bu nedenledir ki yerleştirdiğimiz her kök hücre ameliyatından sonra her hastada

farklı olmak üzere iyileşmeler tespit ettik. Bu iyileşmeleri de gerek MRI ve gerekse elektrofizyolojik testler yaparak teyit ettik (Şekil 6, 7). Hastaların preop SSEP'leri ile postop SSEP'leri karşılaştırıldığında belirgin düzeltilmeler tespit edilmiştir (Şekil 4, 5). Elde edilen veriler yukarıda açıklanan ve araştırmalarla elde edilen tezleri desteklemektedir. Çalışmamız küçük bir



seriyi içermesine rağmen, geçen takip süresince hücrelerin otolog olması nedeni ile de herhangi bir komplikasyon görülmemiştir. Hastalar kazanımlarını halen devam ettirmekte ve hatta bazı hastalarımız yeni kazanımlarla iyileşmelerine devam etmektedir. Servikal travma geçiren hastalarımız içinde özellikle kol ve parmaklarındaki iyileşmeler nedeni ile resmi kuruluşlarda bilgisayar başında iş yapabilir hale gelenler vardır, ayrıca bazı hastalarımız kol, sırt ve bacak kaslarındaki gelişmeler nedeni ile havuzda kendi başlarına yüzebilir hale gelmişlerdir. Paralel barda kendi başına bacaklarını kullanarak yürümeye başlayan ve mesane kontrolleri çok daha iyi hale gelmiş hastalarımız mevcuttur. Tüm bu gelişmeler ise yalnızca 1 kez kök hücre verilmesi ile sağlanmıştır. Yurtdışında kürler halinde tedaviye devam edildiğini bildirir bilgiler mevcuttur. Özetle, kronik spinal kord yaralanması olan hastalarda kök hücre uygulamalarının etkili ve güvenli bir tedavi yöntemi olduğunu söyleyebiliriz (13,49).

### **MULTİPLE SCLEROSİSDE KÖK HÜCRE UYGULAMALARI**

MS dünyada giderek artan bir sıklıkla oluşan kür anlamında bir tedavisi olmayan önemli demiyelinizan hastalıklardan biridir. Literatürde yaygın bir biçimde MS'de, insanlarda kök hücre uygulamaları ile ilgili yayınlar mevcuttur ve giderek artmaktadır. Literatürde yüzlerce olgudan oluşan büyük seriler vardır (5,7,36). Elde edilen sonuçlar oldukça tatmin ve teşvik edicidir. Sorun burada da nasıl bir yöntem ile bu hücrelerin kullanılacağıdır. Nöroloji ile birlikte ortak protokoller ile yapılması daha doğru olacaktır. Kök hücrelerin gerek MS'de ve gerekse nöroinflamatuvar hastalıklarında myelin hasarını düzelterek remyelinizasyonu sağladıkları gösterilmiştir (26,29,42). Dolayısı ile literatürde kök hücreleri güçlü antiinflamatuvar etkileri yanı sıra remyelinizasyon üzerindeki direkt tamir edici etkileri nedeni ile MS gibi demiyelinizasyon gösteren hastalıklarda tavsiye edilmekte ve giderek daha yaygın bir

biçimde kullanılmaktadır (39,55).

### **PEDİATRİK METABOLİK HASTALIKLARDA KÖK HÜCRE UYGULAMASI**

Özellikle pediatrik yaş grubunda görülen metabolik hastalıklar progresif ve fataldır. Çoğunlukla genetik olarak kritik enzimlerin olmayışı nedeni ile de anormal protein ve glikolipidlerin lizosomal depolanmasına neden olmaktadır. Dolayısı ile de belirgin ve etkili bir tedavileri de bulunmamaktadır. Tedavideki strateji santral sinir sistemi içinde bulunması gereken bu enzimlerin yerine konulmasıdır. Krivit 2004 yılında allojenik hematopoetik kök hücrelerin lisosomal depo hastalıklı ve lokodistrofili hastalar üzerinde kullanıldığını bildirmiş ve 500 olguluk bir seri yayınlamıştır (22). Sonuçlar oldukça tatmin edicidir. Aynı şekilde Krabbe's hastalığında da insanlar üzerinde başarılı kök hücre uygulamaları bildirilmiştir (22). Kök hücrelerin bu tip hastalıklarda yararlı olmasının nedeni kök hücrelerin beyine penetre olarak mikroglial hücrelerin infiltrasyonuna eşlik etmesi ve dolayısı ile kaybolan enzimlerin yerine geçmesine yardımcı olmalarıdır. Bu gelişmeler nedeni ile de Amerika Birleşik Devletleri'nde FDA bu hastalıklarda tedavi olarak kök hücrelerin uygulanmasına izin vermiştir.

Yine literatür incelendiğinde pediatrik grup içinde serebral palsi gibi hastalıklarda da kök hücre kullanımını teşvik eden yayınlar mevcuttur (3).

### **DİĞER NÖROLOJİK HASTALIKLARDA KÖK HÜCRE**

Literatürü incelediğimizde giderek artan oranda birçok nörolojik hastalık için kök hücre uygulamaları alternatif bir tedavi metodu olarak yer almaktadır. Bunlar içerisinde intrakranial travmalarda, brakial pleksus yaralanmalarında, Alzheimer's hastalığında, Parkinson hastalığında ve hatta epilepsi tedavisinde ileriki dönemler-

de kök hücre uygulamalarının yapılabileceğini söyleyebiliriz (20,21,38,48,50,53).

## SONUÇ

Nörolojik hastalıklarda tedavi ve kür oldukça zordur. Bunun nedeni santral sinir sisteminde nörogenesinin sınırlı olması, iyileşmeyi geciktiren aktif inhibitörlerin varlığı ve glial skar dokusunun iyileşmeyi engellemesidir. Endogen tamir sürecinin uyarılması en iyi tedavidir. Kök hücreler trofik iyileşmeyi sağlamakta, endojen nöronlar, astrositler ve damarları uyarak büyüme faktörlerinin salgılanmasına ve antienflamatuvar etkileri ile de çok yönlü iyileşme sağlamaktadırlar. Kök hücrelerin kompleks sinir sistemi içinde yalnızca nöronlara dönüşerek iyileşme oluşturduğunu söylemek olası değildir. Bu nedenle gelecekte çok daha yaygın olarak nörolojik hastalıklarda kök hücreler kullanılacaktır. Önemli olan hangi kök hücrelerini hangi hastalıklarda ve ne şekilde kullanılacağı ile ilgili ortak protokoller oluşturarak bu tedavilerin artık daha fazla vakit geçirmeden başlamasıdır. Bu konuda biz bilim insanları kadar sivil toplum kuruluşları ve hükümet organlarına da büyük sorumluluklar düşmektedir.

## KAYNAKLAR

1. **Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al.** Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005; 57:874-82.
2. **Bareyre FM.** Neuronal repair and replacement in spinal cord injury. *J Neurological Science* 2008; 265:63-72.
3. **Bartley J, Carroll JE.** Stem cell therapy for cerebral palsy. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3:541-9.
4. **Bensimon G, Lacomblez L, Meininger V.** A controlled trial of riluzon in amyotrophic lateral sclerosis. *ALS/Riluzon Study Group. N Engl J Med* 1994; 330:585-91.
5. **Blanco Y, Saiz A, Carreras E, Graus F.** Autologous haematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. *Lanset Neurol* 2005; 4:54-63.
6. **Brujin LI, Miller TM, Cleveland DW.** Unraveling the mechanisms involved in motor neuron degeneration in ALS. *Annu Rev Neurosci* 2004; 27:723-49.
7. **Burt RK, Cohen B, Rose J, et al.** Hematopoietic stem cell transplantation for multiple sclerosis. *Arch Neurol* 62:860-4.
8. **Chang YC, Shyu WC, Lin SZ, et al.** Regenerative

- therapy for stroke. *Cell Transplant* 2007; 16:171-81.
9. **Chen J, Zhang ZG, Li Y, et al.** Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats. *Chir Res* 2003; 92:692-9.
  10. **Chen J, Li Y, Katakowski M, et al.** Intravenous administration of human bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J Neurosci Res* 2003; 73:778-86.
  11. **Chopp M, Li Y.** Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lanset Neurol* 2002; 1:92-100.
  12. **Cloutts M, Keirste HS.** Stem cell for the treatment of spinal cord injury. *Expneurol* 2008; 209:368-77.
  13. **Deda H, İnci MC, Kürekçi AE, Kayıhan K, Özgün E, Üstünsoy GE, Kocabay S.** Treatment of chronic spinal cord injured patients with autologous bone marrow-derived hematopoietic stem cell transplantation: 1-year follow-up. *Cytotherapy* 2008; 10:565-74.
  14. **Deda H, İnci MC, Kürekçi AE, Sav A, Kayıhan K, Özgün E, Üstünsoy GE, Kocabay S.** Treatment of ALS Patients by Autologous Bone Marrow Derived Hematopoietic Stem Cell Transplantation: One Year Follow-up. *Cytotherapy* (baskıda)
  15. **Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, et al.** Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat. Med.* 1998; 4:1313-7.
  16. **Ferrero I, Mazzini L, Rustichelli D, et al.** Bone marrow mesenchymal stem cell from healthy donors and sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. *Cell Transplant* 2008; 17(3):255-66.
  17. **Goldman S.** Stem and progenitor cell-based therapy of the human central nervous system. *Nature Biotechnology* 2005; 23(7):862-71.
  18. **Goldman SA, Windrem MS.** Cell replacement therapy in neurological disease. *Phil Trans R Soc B* 2006; 361:1463-1475.
  19. **Goodall EF, Morrison KE.** Amyotrophic lateral sclerosis (motor neuron disease): proposed mechanisms and pathways to treatment. *Expert Rev Mol Med* 2006; 8(11):1-22.
  20. **Grisolia JS.** Stem cell Grafting for epilepsy: clinical promise and ethical concerns. *Epilepsy&Behavior* 2001; 2:318-23.
  21. **Harting MT, Baumgartner JE, Worth LL, et al.** Cell therapies for traumatic brain injury. *Neurosurg Focus* 2008; 24(3-4):E18.
  22. **Hess DC, Borlongan CV.** Stem cell and neurological diseases. *Cell Prolif* 2008; 41(Suppl 1):94-114.
  23. **Hill WD, Hess DC, Martin-Studdard A, et al.** SDF-1 (CXCL12) is upregulated in the ischemic penumbra following stroke: association with bone marrow cell homing to injury. *J Neuro pathol. Exp Neurol* 2004; 63:84-96.
  24. **Janson CG, Ramesh TM, During MJ, et al.** Human intrathecal transplantation of peripheral blood stem cells in amyotrophic lateral sclerosis. *J Hematother Stem Cell Res* 2001; 10:913-15.
  25. **Kang KS, Kim SW, Oh YH, et al.** A 37-year old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytotherapy* 2005;

- 7(4):368-73.
26. **Keyoung HM, Goldman SA.** Glial progenitor-based repair of demyelinating neurological diseases. *Neurosurg Clin N Am* 2007; 18:93-104.
  27. **Kondziolka D, Steinberg GK, Wechsler L, et al.** Neurotransplantation for patients with subcortical motor stroke: a phase 2 randomized trial. *J Neurosurg* 2005; 103:38-45.
  28. **Lewis KE.** How do genes regulate simple behaviors? Understanding how different neurons in the vertebrate spinal cord are genetically specified. *Phil Trans R Soc B* 2006; 361:45-66.
  29. **Ludwin SK.** The pathogenesis of multiple sclerosis: relating human pathology to experimental studies. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:305-18.
  30. **Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, et al.** Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2003; 4:133-4.
  31. **Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R.** Stem-cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2004; 364:1936-7.
  32. **Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al.** Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res* 2006; 28(5):523-6.
  33. **Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al.** Stem cell treatment in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265(1-2):78-83.
  34. **Mehler MH, Rozentel R, Dougherty M, Spray DC, Kessler JA.** Cytokine regulation of neuronal differentiation of hippocampal progenitor cells. *Nature* 1993; 362:62.
  35. **Nirmalanathan N, Greensmith L.** Amyotrophic lateral sclerosis: recent advances and future therapies. *Current Opinion in Neurology* 2005; 18:712-19.
  36. **Novik AA, Ionova TI, Biisaga GN, et al.** Clinical and quality of life responses to high-dose chemotherapy plus autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis: two case reports. *Cytotherapy* 2005; 7:363-67.
  37. **Ohori Y, Yamamoto S, Nagao M, et al.** Growth factor treatment and genetic manipulation stimulate neurogenesis and oligodendrogenesis by endogenous neural progenitors in the injured adult spinal cord. *J Neuroscience* 2006; 26(46):11948-60.
  38. **Oliveira AA Jr, Hodges HM.** Alzheimer's disease and neural transplantation as prospective cell therapy. *Curr Alzheimer Res* 2005; 2:79-95.
  39. **Papadaki HA, Tzagournisakis M, Mastorodemos V, et al.** Normal bone marrow hematopoietic stem cell reserves and normal stromal cell function support the use of autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis. *Bone Marrow Transplant* 2005; 3:124-32.
  40. **Park HC, Shim YS, Ha Y, et al.** Treatment of complete spinal cord injury patients by autologous bone marrow cell transplantation and administration of granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Tissue Engineering* 2005; 11(5/6):913-22.
  41. **Phinney DG, Isakova I.** Plasticity and Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in the nervous system. *Current Pharmaceutical Design* 2005; 11:1255-65.
  42. **Pluchino S, Martino G.** The therapeutic use of stem cells for myelin repair in autoimmune demyelinating disorders. *J Neurol Sci* 2005; 233:117-9.
  43. **Reier PJ.** Cellular transplantation strategies for spinal cord injury and translational neurobiology. *Neurorx* 2004; 1(4):424-51.
  44. **Roh JK, Jung KH, Chu K.** Adult stem cell transplantation in stroke: its limitations and prospects. *Curr Stem Cell Res Ther* 2008; 3:185-96.
  45. **Rowland LP.** Summing up: an action plan for ALS research, ALS and other motor neuron disorders 2004; 5(suppl 1):141-3.
  46. **Ryan JM.** Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection. *J Inflamm (London)* 2005; 26:2-8.
  47. **Satake K, Lou J, Lenke LG.** Migration of mesenchymal stem cells through cerebrospinal fluid into injured spinal cord tissue. *Spine* 2004; 29(18):1971-79.
  48. **Schouten JW, Fulp CT, Royo NC, et al.** A review and rationale for the use of cellular transplantation as a therapeutic strategy for traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2004; 21:1501-38.
  49. **Schultz SS.** Adult stem cell application in spinal cord injury. *Curr Drug Targets* 2005; 6(1):63-73.
  50. **Shenag SM, Bullocks JM, Dhillon G, et al.** Management of infant brachial plexus injuries. *Clin Plast Surg* 2005; 32:79-98.
  51. **Silani V, Cova L, Corbo M, Ciammola A, Polli E.** Stem-cell therapy for amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2004; 364:200-2.
  52. **Storch A, Paul G, Csete M, et al.** Long-term proliferation and dopaminergic differentiation of human mesencephalic neural precursor cells. *Exp Neurol* 2001; 170:317.
  53. **Sugaya K.** Possible use of autologous stem cell therapies for Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2005; 3:367-76.
  54. **Tang Y, Yasuhara T, Hara K, et al.** Transplantation of bone marrow derived stem cells: a promising therapy for stroke. *Cell Transplant* 2007; 16:159-69.
  55. **Uccelli A, Zappia E, Benvenuto F, et al.** Stem cells in inflammatory demyelinating disorders: a dual role for immunosuppression and neuroprotection. *Expert Opin Biol Ther* 6:17-22.
  56. **Wu S, Suzuki Y, Ejiri Y, et al.** Bone marrow stromal cells enhance differentiation of cocultured neurosphere cells and promote regeneration of injured spinal cord. *J Neuroscience Research* 2003; 72:343-51.
  57. **Ziv Y, Avidan H, Pluchino S, Martino G, Schwartz M.** Synergy between immune cells and adult neural stem/progenitor cells promotes functional recovery from spinal injury. *PNAS* 2006; 23(351):13174-79.