



Travmatik Beyin Yaralanmalarında Kök Hücrelerin Terapötik Potansiyeli

The Therapeutic Potential of Stem Cells in Traumatic Brain Injuries

Osman BOYALI, Erdinç CİVELEK, Serdar KABATAŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gaziosmanpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi Kliniği, İstanbul, Türkiye

Yazışma adresi: Osman BOYALI ✉ drosmanboyali@gmail.com

ÖZ

Travmatik beyin yaralanması, dünyada mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir. Travmatik beyin yaralanması sonrası hastaların büyük bir kısmı hastaneye yatırılmasa da bu hastalarda değişik derecelerde bilişsel bozulma, davranış ve kişilik değişiklikleri ve baş ağrısı gibi semptomlar görülmektedir. Ne yazık ki, hâlen Travmatik beyin yaralanması için etkili bir tedavi yöntemi mevcut değildir. Öte yandan, farklı tipteki kök hücreler ile hasarlı beyin dokusunun hedeflenerek yapılan tedavilerin fonksiyonel iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca, son veriler beyin travmalarını takiben nörogenез ve anjiyogenез ile ilgili tedavi yöntemlerinin umut verici sonuçları olduğunu göstermektedir. Makale, travmatik beyin yaralanmasında kök hücre ve hücreyel tedavilerin kullanımının mevcut durumunu ve tedavideki olası potansiyellerini kısaca gözden geçirmeyi amaçlamaktadır.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Hücreyel, Kök hücre, Tedavi, Travmatik beyin yaralanması

ABSTRACT

Traumatic brain injury is a major cause of mortality and morbidity in the world. A large proportion of traumatic brain injury patients are never hospitalized but may suffer varying degrees of cognitive impairment, behavioral and personality changes, irritability, post-traumatic vertigo, sleep disturbances, attentional deficits, and headaches. Unfortunately, no effective treatments are currently available for traumatic brain injury. On the other hand, it has been shown that targeting various types of stem cells to the damaged brain tissue improves functional recovery. Moreover, recent data suggest that strategies regarding neurogenesis and angiogenesis following brain injuries may provide promising results. This article aims to briefly review the current status of the use of stem cell and cellular therapies in traumatic brain injury treatment and their potential.

KEYWORDS: Cellular, Stem cell, Treatment, Traumatic brain injury

■ GİRİŞ

Travmatik beyin yaralanması (TBY), endüstrileşmiş dünyada morbidite ve mortalitenin önemli bir nedenidir. Ulusal Yaralanmaları Önleme ve Kontrol Merkezi'ne göre, her yıl yaklaşık 1,5 milyon Amerikalı TBY tanısı almaktadır. Her yıl 50.000 kişi ölmekte ve yaklaşık 80.000-90.000 kişi travmayla ilişkili hayat boyu sakatlığa maruz kalmaktadır (66). TBY

sonrası hastaların büyük bir kısmı hastaneye yatırılmasa da bu hastalarda değişik derecelerde bilişsel bozulma, davranış ve kişilik değişiklikleri ve baş ağrısı gibi semptomlar görülmektedir. Ayrıca, TBY frontotemporal demansin (FTD) tek çevresel risk faktörü olmaya devam etmektedir. Yapılan bir retrospektif olgu kontrol analizinde FTD hastalarının normal yaş uyumlu kontrollere göre kafa travması geçirme olasılığı 3,3 kat daha fazladır (7).

TBY, travma mekanizmasına bağlı olarak, fokal-diffüz, kapalı kafa-penetrant yaralanmalar ve primer-sekonder yaralanmalar şeklinde farklı tiplerde gruplandırılır. Klinik çalışmalar, yaşın çocuklarda kafa travması sonrası hem morbidite hem de mortaliteyi etkilediğini ve en kötü sonuçların 4 yaşın altındaki çocuklarda görüldüğünü göstermektedir (39). Diffüz yaralanmalar çocuklarda fokal yaralanmalara göre daha yaygındır ve kapalı kafa travmalı çocuklarda olguların çoğunu diffüz yaralanmalar oluşturmaktadır (31). Ayrıca, kafa travması ile ilişkili olabilen sarsılmış bebek sendromu en çok 3 ila 6 ay arasında yaygındır ve yüksek mortalite oranı (% 10-40), akut nörolojik bulgular, epilepsi ve majör davranış sorunları gibi kötü klinik tablolar ile sonuçlanır (4,58).

Travma anında meydana gelen primer geri dönüşsüz doku hasarı, hızlı nekrotik hücre ölümü ve sekonder beyin hasarının başlamasına neden olur (51). Travmayı takiben gerçekleşen hücre ölümüne, patofizyolojik olarak bir dizi farklı mekanizmanın karmaşık etkileşimi aracılık eder. Ama sekonder hasarın en aza indirilmesi pozitif klinik sonuçları sağlamada oldukça önemlidir. Birçok deneysel TBY çalışmasında, tedavide nöroproteksiyon ve/veya nöronal onarıma aracılık eden umut verici ilaç bileşiği bulunmasına rağmen hastaların tedavisinde ne yazık ki başarılı sonuçlar elde edilememiştir. Maalesef mevcut hiçbir terapötik tedavi altında yatan patolojik nöronal hücre kaybını önleyememektedir. Diğer taraftan TBY kaynaklı nöral doku kaybı gelecekte kök hücre (KH) ve hücresele tedavi yöntemleriyle tedavi edilebileceği düşünülmektedir.

İnsanlar da dâhil olmak üzere çoğu memelide, yeni nöronların üretilmesi, ön beyinin sınırlı iki bölgesi olan hipokampusün dentat girusları (DG) ve lateral ventrikülün subventriküler bölgesi (SVZ) ile koku almada görevli olfaktör bulbda (OB) yapılmaktadır (18). Beyin hasarı/nörodejeneratif hastalıklar gibi patolojik durumlarda, mevcut tedavi stratejileri temelde zarar gören nöronları yenilemeyi amaçlayan semptomatik yaklaşımlarla sınırlıdır. Bu nedenle hücre replasmanına dayanan tedavilerin geliştirilmesine büyük önem verilmiştir. Zarar görmüş nöronların nöral kök hücre (NKH) transplantasyonu ile değiştirilmesi ve/veya yenilenmesi bir yaklaşım yolu olsa da; uygun donör, dokuya sınırlı erişim, sonuçtaki değişkenlikler ve etik sorunlar bu tedavi seçeneğinin zorlukları olarak araştırmacıların hevesini kırmaktadır (68).

Yetişkin Nörogenezi ve Sağlıklı Beyin

Kısaca, KH'ler, kendini yenileme (ilave KH üretme yeteneği) ve pluripotent (nöron, oligodendrosit ve astrosit üretme yeteneği) özellik gösterirken progenitör hücreler (PGeH), kendi kendini yenileme özelliği sınırlı olan KH'lerden üretilirler. Prekürsör (öncü) hücre ise, KH ve PGeH'i kapsayan genel bir adlandırmadır. Prekürsör hücreler belirsiz fakat varsayılan "potent" derecelere sahip hücreler olarak işlev görür. Metodolojik bir bakış açısı ile nörosfer tahlili, nöral prekürsör hücrelerin kendi kendini yenileme ve çoğalma yeteneklerini *in vitro* yol ile araştırma yapmak için kullanılacak mükemmel bir tekniktir. Bu yöntem ile prekürsör hücreler beyinden izole edilerek epidermal büyüme faktörü ve fibroblast büyüme faktörü ile birlikte geliştirilir. Bu şekilde prekürsör hücreler çoğaltılarak nörosfer adı verilen farklılaşmamış hücrelerin klonları üretilmiş olur (23).

Yaşlanma ve Yetişkin Nörogenezi

Günümüzde birçok Batı ülkesinde uzun yaşam beklentisinin artmasından dolayı yaşa bağlı gelişen nörolojik bozukluklar önemli bir sağlık sorunu hâline gelmiştir. Yetişkin santral sinir sisteminin (SSS) yaralanmalara karşı çok az rejeneratif yanıtı vardır ve yaşlanan beyin inme ve ilerleyici nörodejeneratif bozukluklardan kaynaklanan hasara karşı giderek daha savunmasız kalmaktadır. Yetişkin beyninin belirli bölgelerinde endojen yeni nöron üretiminin olması, NKH'lerin yapısal beyin onarımı için kullanılabilmesi açısından umutları artırmış olsa da beyindeki yaşlanma ile birlikte, KH'lerin prevalansı ve/veya çoğalma kapasiteleri azalmaktadır (48). Benzer şekilde artan yaşla birlikte, DG ve kemirgenlerin OB'ında yeni nöronların üretimi azalmaktadır (35). Kısmen sikline bağımlı kinazların endojen bir inhibitörü olan p16^{INK4a} ekspresyonunun artması SVZ'da yaşlanma sırasında nörogenezin azalmasına neden olur (50). Diğer hücre döngüsü proteinleri olan Cdk2, p21^{cip1} ve Fanconi DNA onarım yolu yetişkin NKH'ler ve PGeH'in yaşlanmasında etkin rol oynarlar (30,61). Nöro-primatlarda ve yaşlı insan beyninde düşük nörogenez seviyeleri bildirilmiştir (21,34). Bununla birlikte Macas ve ark. iskeminin ileri yaştaki hastaların SVZ'nda artan sayıda proliferasyon hücrelerine yol açtığını göstermiş ve yetişkin insan beyninin yaralanmalara cevap verme kapasitesinin yaşlılıkta da korunduğunu göstermişlerdir (43).

Diğer Beyin Bölgelerinde Nörogenez

Nörogenez memelilerde esas olarak SVZ ve DG'da meydana gelirken, başka beyin bölgelerinde de nörogenez olabilir. Neokortekste nadir olarak nörogenez görüldüğü bildirilmişse de metodolojik nedenlerden ötürü esas olarak nörogenezin görüldüğü lokalizasyonlar tartışmalıdır (6, 22). Diğer taraftan aynı grup araştırmacı, daha sonra bu nöronların varlığının sadece geçici olduğunu belirterek yorumlarını değiştirmiştir (33). Ek olarak erişkin nörogenezin, amigdalada, hipokampusün CA1 bölgesinde, yetişkin beyin sapının dorsal vagal kompleksinde ve substantia nigrada da görüldüğüne dair raporlar vardır fakat bunların bazıları tartışmalıdır (5,29,59). SVZ ve DG'un dışında, beyinde ak madde de dâhil olmak üzere yetişkin beyninin diğer bazı bölgelerindeki çok yönlü prekürsör hücrelerde daha düşük yoğunluklarda bulunabilir (38,55). Bu hücreler esas olarak *in vivo* glial PGeH olarak hareket etseler de özünde geniş potansiyele sahiptir ve astroglia, oligodendroglia ve nöronlara farklılaşabilirler ayrıca uygun *in vitro/vivo* ortama konulduğunda aksonları hedeflerine ulaşabilmektedir (37,56). Bununla birlikte Buffo ve ark. yaptıkları çalışmada, reaktif astrogliaların olgun astrositlerden türediğini ve travmaya maruz kalan astrositlerin gerçekten de erken gelişim aşamalarında mevcut olan glia özelliklerine devam edebileceğini gösterdiler. Bu nedenle, olgun oligodendrositlerin ve nöronların aksine, olgun astrositler kalıcı bir şekilde post-mitotik değildirler, aksine çoğalmaya devam etme ve "dediferansiyasyon" olarak adlandırılan bir süreç olan proliferasyona devam etme ile düzenleme kapasitelerini korurlar. Ayrıca, yetişkin nörogenez bölgelerinden uzak beyin bölgelerinde nöronal onarım sağlamak için uygun olabilecek, travma bölgesi içinde ümit vaat eden çok potansiyelli bir hücre kaynağı olarak reaktif astrositlerin bulunduğunu belirtmişlerdir (12). Ayrıca erişkin nörogenezi, interlökin-6'nın

mikroglia üzerinde inhibitör etkisi ile reaktif astroglioz ve endotoksin kaynaklı enflamatuvar durumlarda (beyin hasarı, nörodejeneratif hastalıklar ve radyasyon) bozulur, ancak anti-enflamatuvar tedavilerle geri kazandırılabilir. Diğer sitokinler mikroglialının nörogenезini engellemek yerine nörogenезinin kolaylaştırılmasını sağlarlar, bu da immün yanıtın, yetişkin nörogenезi patolojik koşullarla farklı şekilde modüle ederek düzenlediğini gösterir (19).

Kök Hücre Transplantasyonun Hedefleri

Günümüzde beyin kendi kendini onarma potansiyelinin varlığı bilinmektedir, ancak onarıcı mekanizmalara ne zaman ve nasıl ihtiyaç duyulduğu, bunun nasıl kolaylaştırılacağı ve artırılacağı net bir şekilde ortaya konulamamıştır. Geçtiğimiz on yılda yapılan bir dizi çalışmada, embriyonik kemirgen ve insan KH'leri, ölümsüz PGeH, kemik iliği kaynaklı (KİK) KH ve insan teratokarsinom hücrelerinden türetilen post-mitotik nöronlar dâhil olmak üzere çeşitli hücre tipleri deneysel olarak yaralanmış beyne nakledildikten sonra fonksiyonel ve davranışsal sonuçları geliştirme potansiyeli açısından değerlendirilmiş ve yaralı beyne transplante edilen hücrelerin hayatta kalabileceği ve davranışsal işlev bozukluğunu ve sitolojik hasarı tersine çevirebileceği gösterilmiştir (8,25,65). Halen bu hücrelerin etki yollarını nasıl oluşturduklarına dair ayrıntılı mekanizmalar (örn., hayatta kalan nöronal yolların entegrasyon, lokal trofik destek/endojen rejenerasyon ve korumayı artırmak için lokal mikro-ortamın modifikasyonu ile) tanımlanmaya devam edilmektedir.

Yazının başında insan KH tipleri tanımlanmıştı. 2000'li yılların başından beri, akut TBY tedavisinde KİK-KH'ler için umut verici sonuçlar ortaya çıkmaya başlamıştır (44,45). Carrol ve ark. önemli bir kemotaktik ajan olarak stromal hücrelerden elde edilen faktör 1'in (SDF-1/CXCL12), nakledilen hücrelerin yaralanma alanında birikmesine neden olan diğer kemokinlere aracılık ettiğini göstermiştir (13,27). Birlikte yapılan yetişkin ve nöronal KH çalışmaları, yenidoğan beyin hipoksik iskemik (Hİ) hasarında transplante edilen kök/PGeH'in etkinliğini göstermektedir. SDF-1 upregülasyonunun süresi, KH'lerin yaralanma alanına çekilmesinde önemli olduğunu göstermektedir (49). Aynı zamanda SDF-1, KİK-KH'leri eksprese eden CXCR4 için kemotaktik ajandır, nöroblast migrasyonu ve angiogenez yönlendirerek beyinin embriyonik gelişiminde işlevseldir (36,49,64). Deneysel erişkin inmede SDF-1, yaralanmadan sonraki 30. güne kadar yaralanan bölgede yani perivasküler alanda eksprese edilir. SDF-1'in eksprese edilmiş olması doku onarım stratejileri için terapötik bir hedef olabileceğini düşündürmektedir (28). Bu nedenle TBY'lı çocuk hastaların tedavilerinde KH'nin erken (ilk hafta) uygulanması önerilmektedir. Carroll ve ark. SDF-1 ekspresyonunun yaralanmadan sonraki ilk 7 günde upregüle edildiğini ve 7. günden sonra ekspresyonunun olmadığını göstermişlerdir (13). SDF-1 upregülasyonu başlıca, kan damarları ve endotel hücreleri boyunca uzanan astrositik pedikül bölgelerinde olur. SDF-1 yaralanma sonrası hipoksik kalan beyin bölgesindeki kan damarları boyunca üretilip bu alanların hücresel aktivasyonu için kemotaktik sinyallerin iletilmesinde görevli olduğu ve aynı zamanda reaktif astrositlerin bu sürecin ana araçları olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, SDF-1'in erişkin KH transplantasyonu için kritik bir faktör oldu-

ğu varsayılarak, yenidoğan beyin Hİ hasarını takiben ekzojen olarak uygulanan kök/PGeH'lerin transplantasyonu için uygun olan durum dönemi çok sınırlıdır ve zaman geçtikçe başarı şansı giderek azalmaktadır (11,54,70).

Bazı araştırmacılar, hem hücre replasmanı hem de nöroprotektif etki modelleri sergileyen NKH'le olumlu sonuçlar elde etmişlerdir (3). Araştırmacılar, TBY'ye maruz kalan sıçanların hipokampusüne verilen primer insan fetal NKH'lerin sadece nöronlara farklılaşmakla kalmayıp aynı zamanda glial türevi nörotrofik faktör (GT-NF) salgıladığını ve transplantasyondan sonraki 10 gün içinde öğrenme ve hafıza konusunda gelişim gösterdiklerini gözlemlemişlerdir (20,26). Bu gözlem ile ilk kez hücre transplantasyonunun TBY bağlamında nörotrofik salınım ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Önemli bir büyüme faktörü olan GT-NF'nin, konakçı hücrede sekonder hasara karşı nöroprotektif bir kalkan görevi gördüğüne ve TBY'de rejenerasyonu tetiklediğine inanılmaktadır. Ayrıca, TBY sonrası devam eden kortikal GT-NF reseptör ekspresyonu saptanmış ve GT-NF'nin aşırı ekspresyonu, *in vitro* apoptotik nöral PGeH (N-PGeH) ölümünü azalttığını ve dolayısı ile transplantasyon sonrası N-PGeH'lerin lezyon çevresi kortekste sağkalım, göç ve nöronal farklılaşmasını artırdığını göstermiştir (20). GT-NF'yi eksprese etmek için tasarlanan N-PGeH'ler, TBY sonrası transplante edilmiş ve kontrol grubuna kıyasla daha iyi bilişsel ve öğrenme kapasitesi artışının olduğu gözlemlenmiştir (3). Embriyonik insan NKH'leri ise hem hücre replasmanı hem de nöroprotektif mekanizmalar göstermektedir. TBY'yi takiben, nöronal dejenerasyonu akut ve subakut olarak azaltırlar ve transplantasyondan sonra astrositlere ve nöronlara ayrılırlar (17,24,41). En önemlisi, transplante edilen hücreler tarafından fonksiyonel entegrasyon, uygun kortikotalamik ve kontralateral hipokampal bağlantılar kurma, elektriksel motor aksiyon potansiyelleri oluşturma ve komşu hücrelerden fonksiyonel eksitator ve inhibitör sinaptik veri alma gibi yeteneklerin belirgin olduğu bilinmektedir (16). İnsan NKH'leri transplantasyondan sonra, muhtemelen büyük histo-uyumluluk ekspresyonunun downregülasyonu nedeniyle immünsupresyon kesildikten sonra bile hayatta kalabilirler (2). Kemirgen NKH'lerinin yaralanma bölgesine doğru göç ettiği ve muhtemelen trofik destek ile birlikte motor ve bilişsel iyileşmeyi artırdığı bilinmektedir (60). Kafa travmasını takiben sıçanların korteksine transplante edilen fetal kemirgen kortikal hücrelerin hayatta kaldığı, sinirsel büyüme gösterdiği, motor ve bilişsel işlevi önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir (63). Sinirin, büyüme faktörü infüzyonunu ile desteklenmesi sonrası daha iyi sonuçlar elde edilmiş. Yetişkin insan post-mitotik nöronlarının, travmatik olarak yaralanmış sıçan korteksine transplantasyonundan sonra haftalar boyunca yaşayabildiği görülürken, davranışsal fonksiyonlarda anlamlı bir iyileşme tespit edilmemiş (52). Carroll ve ark. yaptıkları çalışmada, multipotent adult PGeH'in intraserebral (i.s.) transplantasyonundan iki hafta sonra, sinojenik/allogenik hücreleri alan hayvanlarda önemli davranışsal iyileşme meydana geldiğini gözlemlemişler. Greftler transplantasyondan 2 hafta sonra bile transplante edilen hücrelerin açıkça nöronlara dönüşmesine yol açmış. Ancak transplantasyonun en dikkat çekici etkisi ise, transplant alanındaki intrinsik nöronların hayatta kalmasının önemli ölçüde artmış olması olarak gözlemlenmiş olmasıdır. Hem sinojenik hem de allojenik hücrelerin

eşit derecede iyi çalışması, hücrelerin bağışıklık sistemi tarafından iyi tolere edildiğini ve reddedilmelerinin görünüşte bir faktör olmadığını göstermektedir. İmmatür hayvana hem i.s. hem de intravenöz (i.v.) enjeksiyon yolu ile nakledilen KH'lerin, nöronal belirteçler sergileyen hücrelere şaşırtıcı derecede hızlı bir şekilde dönüştüğü gözlemlenmiştir. Bu işlem yazarların, CD133+ insan KİK-KH'leri kullanılarak erişkin inme çalışmasında gözlemlediklerinden daha büyük olduğunu saptamışlardır (9).

Kök Hücre Transplantasyonun Zamanlaması ve Uygulama Yolları

Transplantasyonun zamanlaması, özellikle vasküler sisteme uygulanan hücrelerin başarısı/başarısızlığı açısından kritik öneme sahip olabilir. Şöyle ki, benzer birçok çalışmada; başlangıçta, tüm KİK-KH yaralanma bölgesine komşu alana transplante edilmesiyle sonuç olarak ortaya çıkan hücre sağkalımı, yaralanma bölgesine göç, olgun nöronlar ve astrositlere farklılaşma ve gelişmiş motor fonksiyonel iyileşme saptandı. Ek olarak orta seviyede TBY'si olan sıçan modelinde i.v. ve intra-arteriyel (i.a.) yol ile mezenkimal kök hücre (MKH) uygulandığında da benzer sonuçlar ortaya konuldu (42-44). İ.v. uygulamanın i.s. uygulamaya eşdeğer olması, yetişkin KH'lerin klinikte kullanılabilme potansiyelini daha da artırmaktadır. Her iki uygulama yolu yenidoğanlarda kullanılabilir de, muhtemelen i.v. yolla uygulamanın kullanım kolaylığı açısından klinik uygulamada kabul edilmesi daha olasıdır. İ.s. ve i.v. uygulamanın eşdeğerliğinin nedenleri açık olmasa da, birkaç hücre tabanlı mekanizma ile etki gösterdiği düşünülmektedir. İlk olarak, hücrelerin ana etkisi muhtemelen trofik ve beyin dokusuna önemli oranda tutulmaları ile ilişkili değildir. Beyin dokusuna transplante edilen asıl KH sayısının düşük olması bu durumu desteklemektedir. İkincisi, beyin yaralanan kısmı, yaralanmaya yanıt olarak bir dizi kemokin/kemotaktik ajan salgılar ve belki de transplante edilen hücrelerin vasküler yolla/doğrudan enjeksiyon yoluyla dahil edilmesini sağlamaktadır. Yenidoğanlarda beyin Hİ hasarı sonrasında SDF-1 ile kemokin upregülasyonu bir örnek olarak görülmektedir (49). Diğer taraftan KİK-PGeH'in i.v. yolla uygulanması daha fazla biyodistribüsyon avantajına sahiptir, ancak bu yöntem iskemik hücre embolisine yol açabilir (67). TBY'den 24 saat/1 hafta sonra i.v. olarak uygulanan MKH'lerde, fonksiyonel iyileşmenin 3 ay sürdüğü gözlemlenmiştir (44). MKH'lerin atorvastatin ile kombine edilmesi/hücre iletimine yardımcı olmak için bir kollajen iskele (scaffold) kullanarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (40,47). Kemirgenlerde, TBY'den 24 saat sonra insan göbek kordonu kan hücreleri (HUC-BC) i.v. yolla infüzyon yapılarak nöral ve astrositik fenotipleri ortaya konulmuş ve nöroprotektif etki ile motor ve nörolojik defisitlerinin belirgin şekilde azaldığı görülmüştür (10,42). Bu hücrelerin iskemik ve hemorajik beyin hasarından sonra fonksiyonel iyileşmeyi destekleyip desteklemediğine dair çelişkili kanıtlar mevcuttur (53,69). Yaralı sıçan beyinlerine yaralanmadan 3 gün sonra transplante edilen fare embriyonik kök hücreleri (EKH) ile salin enjekte edilen kontrol grubu karşılaştırılmış ve EKH grubunun gelişmiş motor fonksiyon gösterdiği saptanmıştır. Bununla birlikte, uygulamadan 7 hafta sonra, çoğu hayvanda EKH saptanmamış. 10 xeno-transplante edilmiş hayvandan ikisinde tümör oluşumu gösterilmiştir. Bu bulgular, hayvan modellerinde TBY sonrası

EKH transplantasyonunun terapötik potansiyeli için kanıt sağlamaktadır, fakat aynı zamanda bu hücrelerin insanlarda kullanımı ve bu tür uygulamaların uzun süreli devamlılığı konusunda ciddi şüpheler uyandırmaktadır (57). Şu anda, inflamatuvar kemokinler bol miktarda ve transplante edilen hücreler anti-inflamatuvar davranış sergileyebiliyorsa veya akut TBY'nın proinflamatuvar etkisinin muhtemelen sitotoksik etkilerinden kaçınmak için subakut transplantasyonun avantajlı olup olmayacağı net değildir. Hem akut hem de subakut transplantasyon sonrası iyileşmede gelişmeler kaydedilmiş, bu da her iki zaman noktasında yapılan transplantasyonun faydalı olabileceğini göstermektedir (46). Son olarak, yakın zamanda yapılan çalışmalarda nakledilen hücrelerin ağır TBY ortamından ziyade hafif yaralanmış bir ortamda daha uygun bir şekilde hayatta kalabileceği ortaya konulmuştur (62). Yaralanma modeli bir dereceye kadar yaralanmanın şiddetini belirlediğinden, bu değişkenle ilgili standardizasyonun belirlenebilmesi için, çalışmaları karşılaştırırken, ortaya çıkan diğer değişkenleri ortadan kaldırmak, çalışmaların sağlıklı bir şekilde karşılaştırılabilmesi açısından yardımcı olacaktır.

Kök Hücre Klinik Uygulamaları

SSS'de KH tedavisi ve uygulamaları konusunda fikir birliği henüz gelişmemiştir. Her ne kadar farklı kaynaklardan (adipoz, kemik iliği, diş pulpası, vs.) elde edilen MKH'ler klinik uygulamalarda kullanılsa da son zamanlarda göbek kordonu matriksinden elde edilen allogreft KH transplantasyonu yaygınlaşmaktadır. Bu KH'lerin diğer dokularda bulunan KH'lere göre tercih edilmesine neden olan üstün özellikleri mevcuttur. Şöyle ki, elde edilmesinin diğer KH türlerine göre daha kolay olması ve alıcıya yaşayabilme yeteneklerinin yüksek olması, alıcıya kolay uyum sağlaması olarak sıralanabilir (32). Genel olarak KH'lerin klinikte uygulama yöntemleri olarak cerrahi olarak hasarlı bölgeye transplante edilmesi, lomber ponksiyon (LP), i.v., i.m. olarak veya kombine şekilde verilebileceği yönünde çalışmalar mevcuttur (1).

Güncel literatürde ağır TBY'li çocukların tedavisi için i.v. yolla infüze edilen otolog Kİ mononükleer hücrelerinin kullanımını değerlendiren faz I klinik çalışmasının detaylarına göre; 10 çocuk hasta, yaş aralığı: 5-14, Glaskow Koma Skoru (GKS)=5-8, ağır TBY'sından 48 saat sonra her hastaya i.v. 6×10^6 hücre/kg doz uygulanmış. 6.ayda Glasgow Sonuç Skoru iyi sonuçlar %70 ve orta ila şiddetli özürülük ise %30 saptanmıştır (15). Bir diğer çalışma Faz 2, prospektif, kontrollü ağır TBY'li, GKS=5-8, yaş aralığı=18-55, ciddi ek yaralanması olmayan 25 yetişkin hasta çalışmaya dahil edilmiş. KH grubuna (6,9, 12×10^6 hücre/kg) dozlarda KİK-KH uygulanmıştır. Fonksiyonel, nörokognitif ve nöroradyolojik değerlendirmelere ek olarak immüno-sitokimyasal olarak ölçümler yapılmıştır. KH grubunda belirgin şekilde fonksiyonel, nörokognitif ve nöroradyolojik değerlendirmelerde ilerleme kaydedilmiştir. Hastalarda infüzyonla ilgili ciddi bir yan etki olmamıştır. İmmüno-sitokimyasal analizlerde inflamatuvar sitokinlerde belirgin bir şekilde downregülasyon saptanmıştır (14). Bu klinik sonuçlar, TBY'nda KH tedavisinin gelecekte olumlu bilimsel sonuçların alınmasını sağlamada yol gösterici olabileceği konusunda fikir vermektedir.

KH tedavisinin uygulamasında cevap bekleyen bir takım sorular bulunmaktadır. Bunlar, ne zaman, kaç seans ve ne miktarda

hücre transplantasyonu yapılması gerektiği yönündedir. Ayrıca KH tedavisinin damar tıkanıklığı, transplante edilen hücrelerin aşırı çoğalması, bölgesel/yaygın tümör oluşumu gibi komplikasyonları olabilmektedir. KH ve hücre tedavilerin insanlar üzerinde yeterince denenmemiş olmasından dolayı sonuçlarının ne olacağı tam olarak kestirilememektedir. KH ve hücre tedavilerde diğer önemli sorun etik problemlerdir. Embriyonun oluşumundan itibaren erişkin bir insan gibi saygı görmesi gerektiği düşünülürse embriyo üzerinde KH çalışmaları dünyanın birçok yerinde ve ülkemizde olduğu gibi etik olarak doğru bulunmamaktadır (1).

■ SONUÇ

KH ve hücre tedavileri cerrahi/medikal olarak tedavi edilemeyen TBY gibi SSS hastalıklarında potansiyel bir tedavi yöntemidir. Diğer taraftan KH klinik araştırmalarını bu yönde derinleştirmeden önce çeşitli temel konular daha iyi analiz edilmelidir. İdeal hücre sayısı, hücre tipi, zamanlaması, uygulama yöntemi/yöntemleri, klinik öncesi güvenlik ve etkinlik, vs. gelecekteki diğer çalışmalara ışık tutacaktır.

■ KAYNAKLAR

1. Akyuva Y, Diren F, Bulduk EB, Saraç ME, Kabataş S: Nöroşirürji'de kök hücre uygulamaları ve kök hücre tedavisindeki yenilikler. *Türk Nöroşir Derg* 28(3):366-371, 2018
2. Al Nimer F, Wennersten A, Holmin S, Meijer X, Wahlberg L, Mathiesen T: MHC expression after human neural stem cell transplantation to brain contused rats. *Neuroreport* 15:1871-1875, 2004
3. Bakshi A, Shimizu S, Keck CA: Neural progenitor cells engineered to secrete GDNF show enhanced survival, neuronal differentiation and improve cognitive function following traumatic brain injury. *Eur J Neurosci* 23:2119-2134, 2006
4. Barlow KM, Minns RA: Annual incidence of shaken impact syndrome in young children. *Lancet* 356:1571-1572, 2000
5. Bernier PJ, Bedard A, Vinet J, Levesque M, Parent A: Newly generated neurons in the amygdala and adjoining cortex of adult primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 17:11464-11469, 2002
6. Bhardwaj RD, Curtis MA, Spalding KL: Neocortical neurogenesis in humans is restricted to development. *Proc Natl Acad Sci USA* 33:12564-12568, 2006
7. Bittigau P, Siffringer M, Felderhoff-Mueser U, Hansen HH, Ikonomidou C: Neuropathological and biochemical features of traumatic injury in the developing brain. *Neurotox Res* 5: 475-490, 2003
8. Boockvar JA, Schouten J, Royo N: Experimental traumatic brain injury modulates the survival, migration, and terminal phenotype of transplanted epidermal growth factor receptor-activated neural stem cells. *Neurosurgery* 56:163-171, 2005
9. Borlongan CV, Evans A, Yu G, Hess DC: Limitations of intravenous human bone marrow CD133+ cell grafts in stroke rats. *Brain Res* 1048:116-122, 2005
10. Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR: Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke* 35:2385-2389, 2004
11. Brazel CY, Rosti RT 3rd, Boyce S, Rothstein RP, Levison SW: Perinatal hypoxia/ischemia damages and depletes progenitors from the mouse subventricular zone. *Dev Neurosci* 26:266-274, 2004
12. Buffo A, Rite I, Tripathi P: Origin and progeny of reactive gliosis: A source of multipotent cells in the injured brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:3581-3586, 2008
13. Carroll JE, Borlongan CV: Adult stem cell therapy for acute brain injury in children. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 7:361-369, 2008
14. Cox CS Jr, Hetz RA, Liao GP, Aertker BM, Ewing-Cobbs L, Juranek J, Savitz SI, Jackson ML, Romanowska-Pawliczek AM, Triolo F, Dash PK, Pedroza C, Lee DA, Worth L, Aisiku IP, Choi HA, Holcomb JB, Kitagawa RS: Treatment of severe adult traumatic brain injury using bone marrow mononuclear cells. *Stem Cells* 35(4):1065-1079, 2017
15. Cox CS, Baumgartner JE, Harting MT, Worth L, Walker PA, Shah SK, Ewing-Cobbs L, Hasen K, Day MC, Lee D, Jimenez F, Gee A: Autologous bone marrow mononuclear cells for severe traumatic brain injury in children. *Neurosurgery* 68: 588-600, 2011
16. Englund U, Björklund A, Wictorin K, Lindvall O, Kokaia M: Grafted neural stem cells develop into functional pyramidal neurons and integrate into host cortical circuitry. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:17089-17094, 2002
17. Englund U, Fricker-Gates RA, Lundberg C, Björklund A, Wictorin K: Transplantation of human neural progenitor cells into the neonatal rat brain: Extensive migration and differentiation with long-distance axonal projections. *Exp Neurol* 173:1-21, 2002
18. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T: Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 11:1313-1317, 1998
19. Farin A, Liu CY, Langmoen IA, Apuzzo ML: The biological restoration of central nervous system architecture and function: Part 2- emergence of the realization of adult neurogenesis. *Neurosurgery* 64:581-600, 2009
20. Gernert M, Thompson KW, Löscher W, Tobin AJ: Genetically engineered GABA-producing cells demonstrate anticonvulsant effects and long-term transgene expression when transplanted into the central piriform cortex of rats. *Exp Neurol* 176:183-192, 2002
21. Gould E, Reeves AJ, Fallah M, Tanapat P, Gross CG, Fuchs E: Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 9:5263-5267, 1999
22. Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG: Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 249:548-552, 1999
23. Gritti A, Parati EA, Cova L: Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. *J Neurosci* 3:1091-1100, 1996
24. Hagan M, Wennersten A, Meijer X, Holmin S, Wahlberg L, Mathiesen T: Neuroprotection by human neural progenitor cells after experimental contusion in rats. *Neurosci Lett* 351: 149-152, 2003

25. Harting MT, Baumgartner JE, Worth LL: Cell therapies for traumatic brain. *Neurosurg Focus* 24: E18, 2008
26. Hattiangady B, Rao MS, Zaman V, Shetty AK: Incorporation of embryonic CA3 cell grafts into the adult hippocampus at 4-months after injury: Effects of combined neurotrophic supplementation and caspase inhibition. *Neuroscience* 139: 1369-1383, 2006
27. Hattori K, Heissig B, Rafii S: The regulation of hematopoietic stem cell and progenitor mobilization by chemokine SDF-1. *Leuk Lymphoma* 44:575-582, 2003
28. Hill WD, Hess DC, Martin-Studdard A: *Neuropathol. Expert Neurol* 63:84, 2004
29. Horner PJ, Gage FH: Regenerating the damaged central nervous system. *Nature* 6807:963-970, 2000
30. Jablonska B, Aguirre A, Vandenbosch R: Cdk2 is critical for proliferation and self-renewal of neural progenitor cells in the adult subventricular zone. *J Cell Biol* 6:1231-1245, 2007
31. James HE: Pediatric head injury: What is unique and different. *Acta Neurochir Suppl (Wien)* 73:85-88, 1999
32. Kabataş S, Civelek E, İnci Ç, Yalçınkaya EY, Günel G, Kır G, Albayrak E, Öztürk E, Adaş G, Karaöz E: Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cell transplantation in a patient with hypoxic-ischemic encephalopathy: A pilot study. *Cell Transplant* 27(10):1425-1433, 2018
33. Kornack DR, Rakic P: Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 10:5768-5773, 1999
34. Kornack DR, Rakic P: Cell proliferation without neurogenesis in adult primate neocortex. *Science* 5549:2127-2130, 2001
35. Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: Age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 6:2027-2033, 1996
36. Lazarini F, Tham TN, Casanova P, Arenzana-Seisdedos F, Dubois-Dalcq M: Role of the alpha-chemokine stromal cell-derived factor (SDF-1) in the developing and mature central nervous system. *Glia* 42:139-148, 2003
37. Lichtenwalner RJ, Parent JM: Adult neurogenesis and the ischemic forebrain. *J Cereb Blood Flow Metab* 1:1-20, 2006
38. Lie DC, Dziewczapolski G, Willhoite AR, Kaspar BK, Shults CW, Gage FH: The adult substantia nigra contains progenitor cells with neurogenic potential. *J Neurosci* 15:6639-6649, 2002
39. Losiniecki A, Shutter L: Management of traumatic brain injury. *Curr Treat Options Neurol* 12:142-154, 2010
40. Lu D, Mahmood A, Qu C, Hong X, Kaplan D, Chopp M: Collagen scaffolds populated with human marrow stromal cells reduce lesion volume and improve functional outcome after traumatic brain injury. *Neurosurgery* 61: 596-603, 2007
41. Lu D, Mahmood A, Zhang R, Copp M: Upregulation of neurogenesis and reduction in functional deficits following administration of DEta/ NONOate, a nitric oxide donor, after traumatic brain injury in rats. *J Neurosurg* 99: 351-361, 2003
42. Lu D, Sanberg PR, Mahmood A: Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant* 11:275-281, 2002
43. Macas J, Nern C, Plate KH, Momma S: Increased generation of neuronal progenitors after ischemic injury in the aged adult human forebrain. *J Neurosci* 50:13114-13119, 2006
44. Mahmood A, Lu D, Lu M, Chopp M: Treatment of traumatic brain injury in adult rats with intravenous administration of human bone marrow stromal cells. *Neurosurgery* 53:697-703, 2003
45. Mahmood A, Lu D, Qu C, Goussev A, Chopp M: Human marrow stromal cell treatment provides long-lasting benefit after traumatic brain injury in rats. *Neurosurgery* 57:1026-1031, 2005
46. Mahmood A, Lu D, Qu C, Goussev A, Chopp M: Long-term recovery after bone marrow stromal cell treatment of traumatic brain injury in rats. *J Neurosurg* 104: 272-277, 2006
47. Mahmood A, Lu D, Qu C, Goussev A, Chopp M: Treatment of traumatic brain injury with a combination therapy of marrow stromal cells and atorvastatin in rats. *Neurosurgery* 60:546-554, 2007
48. Maslov AY, Barone TA, Plunkett RJ, Pruitt SC: Neural stem cell detection, characterization, and age-related changes in the subventricular zone of mice. *J Neurosci* 7:1726-1733, 2004
49. Miller JT, Bartley JH, Wimborne HJ: The neuroblast and angioblast chemotactic factor SDF-1 (CXCL12) expression is briefly up regulated by reactive astrocytes in brain following neonatal hypoxic-ischemic injury. *BMC Neurosci* 6:63, 2005
50. Molofsky AV, Slutsky SG, Joseph NM: Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature* 7110: 448-452, 2006
51. Morganti-Kossmann MC, Satgunaseelan L, Bye N, Kossmann T: Modulation of immune response by head injury. *Injury* 38: 1392-1400, 2007
52. Muir JK, Raghupathi R, Saatman KE: Terminally differentiated human neurons survive and integrate following transplantation into the traumatically injured rat brain. *J Neurotrauma* 16:403-414, 1999
53. Nan Z, Grande A, Sanberg CD, Sanberg PR, Low WC: Infusion of human umbilical cord blood ameliorates neurologic deficits in rats with hemorrhagic brain injury. *Ann N Y Acad Sci* 1049: 84-96, 2005
54. Ong J, Plane JM, Parent JM, Silverstein FS: Hypoxic-ischemic injury stimulates subventricular zone proliferation and neurogenesis in the neonatal rat. *Pediatr Res* 58:600-606, 2005
55. Palmer TD, Markakis EA, Willhoite AR, Safar F, Gage FH: Fibroblast growth factor-2 activates a latent neurogenic program in neural stem cells from diverse regions of the adult CNS. *J Neurosci* 19:8487-8497, 1999
56. Reynolds R, Hardy R: Oligodendroglial progenitors labeled with the O4 antibody persist in the adult rat cerebral cortex in vivo. *J Neurosci Res* 5:455-470, 1997
57. Riess P, Molcanyi M, Bentz K: Embryonic stem cell transplantation after experimental traumatic brain injury dramatically improves neurological outcome, but may cause tumors. *J Neurotrauma* 24:216-225, 2007

58. Rosso SM, Landweer EJ, Houterman M, Donker Kaat L, van Duijn CM, van Swieten JC: Medical and environmental risk factors for sporadic frontotemporal dementia: A retrospective case-control study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74:1574-1576, 2003
59. Seri B, Garcia-Verdugo JM, McEwen BS, varez-Buylla A: Astrocytes give rise to new neurons in the adult mammalian hippocampus. *J Neurosci* 18:7153-7160, 2001
60. Shear DA, Tate MC, Archer DR: Neural progenitor cell transplants promote long-term functional recovery after traumatic brain injury. *Brain Res* 1026:11-22, 2004
61. Sii-Felice K, Etienne O, Hoffschir F: Fanconi DNA repair pathway is required for survival and long-term maintenance of neural progenitors. *EMBO J* 5:770-781, 2008
62. Singh Roy N, Nakano T, Xuing L, Kang J, Nedergaard M, Goldman SA: Enhancer-specified GFP-based FACS purification of human spinal motor neurons from embryonic stem cells. *Exp Neurol* 196:224-234, 2005
63. Sinson G, Voddi M, McIntosh TK: Combined fetal neural transplantation and nerve growth factor infusion: Effects on neurological outcome following fluid-percussion brain injury in the rat. *J Neurosurg* 84:655-662, 1996
64. Stumm RK, Zhou C, Ara T: CXCR4 regulates interneuron migration in the developing neocortex. *J Neurosci* 23:5123-5130, 2003
65. Tate MC, Shear DA, Hoffman SW, Stein DG, Archer DR, LaPlaca MC: Fibronectin promotes survival and migration of primary neural stem cells transplanted into the traumatically injured mouse brain. *Cell Transplant* 11:28395, 2002
66. Thurman DJ, Alverson C, Dunn KA, Guerrero J, Sniezek JE: Traumatic brain injury in the United States: A public health perspective. *J Head Trauma Rehabil* 14:602-615, 1999
67. Tolar J, O'shaughnessy MJ, Panoskaltis-Mortari A: Host factors that impact the biodistribution and persistence of multipotent adult progenitor cells. *Blood* 107:4182-4188, 2006
68. Vandenbosch R, Borgs L, Beukelaers P: Adult neurogenesis and the diseased brain. *Curr Med Chem* 16:652-666, 2009
69. Xiao J, Nan Z, Motooka Y, Low WC: Transplantation of a novel cell line population of umbilical cord blood stem cells ameliorates neurological deficits associated with ischemic brain injury. *Stem Cells Dev* 14:722-333, 2005
70. Zaidi AU, Bessert DA, Ong JE: New oligodendrocytes are generated after neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rodents. *Glia* 46:380-390, 2004