

# Hareket Sistemine Yönelik Kök Hücre Uygulamaları

Son on beş yıl içerisinde kök hücre ve hücresele tedavilerin giderek yaygınlaşması ve erken dönem sonuçlarının gözlemleri, bu teknolojinin gelecekte hareket sistemine de uygulanabileceği görüşünün benimsemesine yol açmıştır. Kök hücre teknolojisi uygulamalarının, günümüzde daha cazip tedavi seçenekleri olmayan ve çözüm bekleyen kas iskelet hasarının veya hastalık süreçlerinin doğal tabiatını değiştirme potansiyeli vardır. Canlılardaki hücrelerin farklı özellikleri ve kök hücre olarak tanımlanan hücrelerin sınırsız potansiyellerinin keşfi, tedavilerin çeşitliliğine büyük katkılar sağlayacak buluşların önünü açmıştır. Kök hücre uygulamalarıyla kas iskelet sisteminde belli dokuların tam olarak iyileşmesi için gereken vücut kabiliyeti aşılanıyor; bu sayede gereken tamir yeteneği sağlanıyor.

**H**areket sistemi hastalık ve tedavilerinin uzmanlık alanı olan ortopedik cerrahideki kök hücre uygulamaları içerisinde öncelikle kırıldak hücreleri üzerine odaklanılmıştır. Eklem kırıldak yaralanmaları sporcularda ve aktif bir yaşam tarzı olanlarda sıklıkla görülür. Kırıldak dokusunun mekanik olarak yük taşımak, sürtünmeyi azaltarak hareket için gerekli enerjiyi azaltmak, ağrısız bir hareket alanı sağlamak gibi çok önemli fonksiyonları vardır. Eklem kırıldak 2-4 mm kalınlığında, kanlanmanın olmadığı, sinirlerin ve lenflerin bulunmadığı bir yapıdır. Kırıldak zedelenmelerinin kendi kendilerine iyileşme potansiyelleri yoktur. Kırıldak ana yapı taşı olan hücreler, düşük bir yenilenme yeteneğine sahip ve çok sınırlı düzelme kapasitesi olan yapılardır. Tıbbın babası olan Hipokrat'tan günümüze kadar gelen öğretiler içerisinde, bozulmuş veya hastalanmış kırıldak yapının bir daha düzelmeyeceği düşüncesi binlerce yıldır süregelen bir inanıştır. Bu yüzden kırıldak problemleri hücresele tedavilerin öncelikli uygulama alanı olarak belirlenmiştir. Günümüzde bilim ve teknolojiye meydana gelen büyük gelişmelere karşın kırıldak yaralanmaları konusunda çok az bir iler-

leme yaşanmıştır. İyileşme yetersiz bir yara dokusu ile olur, ancak herhangi bir girişim yapılmadığı takdirde beklenen az düzeydeki iyileşme de görülmez. Kırıldak kaybının yeri, büyüklüğü ve yük taşıma alanına göre, biyomekanik bozukluklar görülür; bu da kireçlenmeye ve eklem yaşlanmasına zemin hazırlar. Yaşanan sorunlar kişilerin etkinliklerini ve yaşam kalitelerini düşürür ve tedaviyi kaçınılmaz kılar. Eklem kırıldak kaybının kaybı ile birlikte gelişen ilerleyici bozuklukların tedavisi günümüz hareket sistemi cerrahisinin çözüm bekleyen sorunlarının başında gelir.

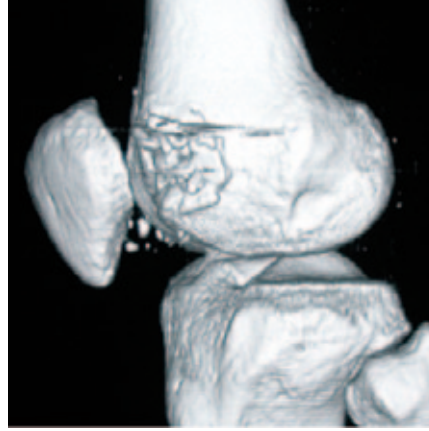
Bu konu ile ilgili 1994 yılında yayımlanan bilimsel bir makalede, kök hücre ile yapılan tedavinin, henüz daha erken safhalarında olmasına rağmen hastalıklı ve zarar görmüş kırıldak iyileştirme potansiyelleri şaşırtıcı olmuştur. Son yıllarda 4-10 cm<sup>2</sup> gibi geniş kırıldak kayıplarının tedavisi için yapılan temel bilim araştırmaları ve bunların klinik olarak uygulanmasıyla elde edilen sonuçlar umut vericidir. Tedavi uygulamaları kırıldak dokunun ana hücresi olan kondrositler üzerinde yoğunlaşırken, kemik ve kas dokusuna yönelik kök hücre uygulamaları için deneysel düzeyde pek çok araştırma sürüyor.

Genç ve aktif popülasyonun geniş eklem yüzü içeren kırıkda hastalık veya yaralanmalarının çözüm bekleyen tedavisindeki kök hücre kökenli tedavisi otolog kondrosit implantasyonudur. Yöntem temel olarak olgulardan biyopsi niteliğindeki çok az miktarda alınan kırıkda hücrelerinin, vücut dışında laboratuvar ortamında çoğaltılarak tekrar kayıp olan bölgeye yerleştirilmesini içerir. İlk girişimde diz ekleminin sağlam kırıkdağından 3-4 ml'lik küçük bir biyopsi alınır. 4x10 mm'lik biyopsi ile yeterli miktarda hücre elde edilmekte hem de alınan örnek çok az olduğu için verici saha ile ilgili herhangi bir problem yaşanmıyor. Hücre kültürü aşamasında laboratuvara biyopsi ile gelen 3 ila 4000 hücre, kültür işlemi ile 10-12 milyon hücreye ulaşır. Laboratuvarında geçen bu süre ortalama 3-6 haftayı kapsıyor. Otolog kondrosit implantasyonu olarak isimlendirilen kırıkdağlara yönelik kök hücre tedavisi iki aşamalı girişimle sağlanıyor. Bundan sonra ikinci bir cerrahi girişimle milyonlarca hücreyi içeren sıvının bozulmuş veya özelliğini kaybetmiş kırıkdağ bölgesine yerleştirilir. Bu işlem için ilk uygulamalarda kemiğin ince zarı bir örtü gibi kullanılmıştır. Birinci jenerasyon olarak adlandırılan bu yöntem ile 2-10 yıllık sonuçlar Bittberg, Minas, Peterson tarafından ortalama % 70-80'lik bir başarı oranı ile yayımlanmıştır.

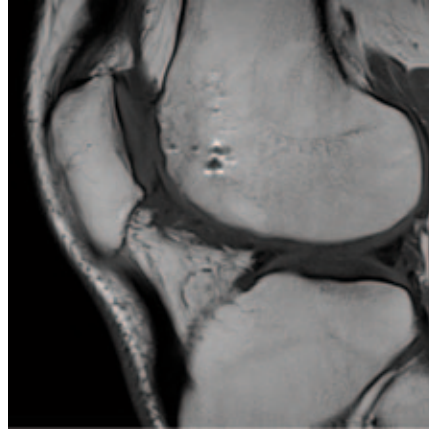
Uygulama 15-50 yaş aralığında aktif popülasyon için tercih ediliyor. Çünkü kırıkdağlara yönelik hücre tedavisi için biyolojik yenileme gücünün olması gereklidir. Yazık ki eklem yaşlanmalarında bu yenilenme gücü yoktur. Ve kırıkdağ hasarının 5-15 cm<sup>2</sup>'lik geniş bir alanda olması bu uygulama için temel nedendir. Bu konuda ilk yayın çıkana kadar bu genişlikteki yaralanma veya hastalıklı dokuların tedavisi gerçekleştirilemiyordu. İmplantasyon için fonksiyonel dokuların oluşturulması olarak tarif edilen "doku mühendisliği" yaklaşımı, her ne kadar pahalı bir teknik olsa dahi genç ve aktif popülasyonun büyük kondral zedelenmelerinin tedavisinde belki de tek alternatif olma yönünde ilerliyor. Hücre tedavinin birinci jenerasyonunun bu olumlu görüşlerini yanı sıra iki cerrahi girişim gerektirmesi, kemik zarının kulla-

nımında izlenen olumsuzluklardan dolayı bırakılmak zorunda kalmıştır.

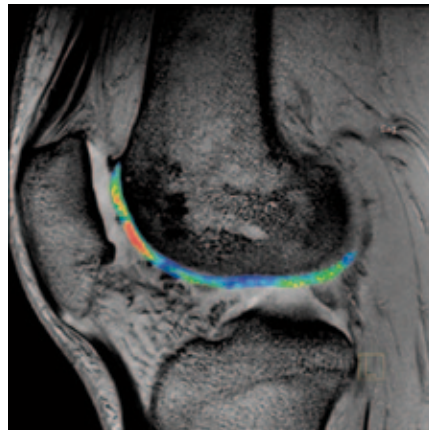
Hareket sistemine yönelik hücre tedavileri ilk başladığı yıllardan, günümüze yöntem bir dizi değişim ve gelişim göstermiştir. Kök hücre tedavilerinin ortak noktasını tek bir hücrenin veya hücrele-



Hücre tedavisi öncesi seansta problemlinin alanının hastanın kendisinden alınan kemik grefti ile düzeltiltikten sonra hücre tedavisi için hazır hale getirilmesi



Hücre tedaviden 12 ay sonraki MRG'de kemik ve kırıkdağ hasarının düzelmiş hali



Tedaviden dört yıl sonra kırıkdağ yapının düzelmesinin NMR görüntüsü ve ilaçlı ölçümle hastalıklı alanın canlılık belirtilerinin izlenmesi

rin doku ile bağıntısı olmadan laboratuvar ortamında çoğaltılmasıdır. Hücre kültürü aşaması olarak bildirilen bu uygulamadan sonra elde edilen milyonlarca hücrenin, hastalıklı ortama daha güvenilir olarak yerleştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda ikinci jenerasyon olarak tarif edilen kök hücre uygulamalarında doku mühendisliğinde kullanılan biyomateriyallerden yararlanılmıştır. Doku mühendisliği yaklaşımı ile vücut tarafından emilebilir, biyomateriyal taşıyıcıların kullanılması sayesinde, cerrahi uygulama kolaylığı sağlandığı gibi, başarı oranı da yükseltilmiştir. Hücre ve doku oluşumunu desteklemek için çatı vazifesi gören biyomateriyaller üç boyutlu olmalarından dolayı hücrelerin homojen dağılımını sağlıyor, biyokimyasal moleküllerinin özelliğinden dolayı da belirli bir süre sonunda çözünerek yerini ev sahibi dokuya bıraktıklarından tercih edilmiştir. Kemik ve kırıkdağ için uygulanan sentetik organik materyaller biyoçözünür ve biyoemilir polimerler, sentetik inorganik materyallerden hidroksiapatit, doğal kaynaklı organik materyaller kollajen, fibrin, hialüronik asit halen uygulamada olan veya araştırmalarda kullanılan çatı materyalleridir. Çatı materyallerinin kök hücre tedavilerinde ikinci jenerasyon uygulamalarına getirdiği kolaylıkla her cm<sup>2</sup>'ye 0,5-1 milyon hücre yerleşimi sağlanmıştır. Matris destekli otolog kondrosit uygulaması ile hastalıklı bölgenin üç boyutlu olarak zedelenme boyutunda sınırlama olmaksızın tedavisi sağlanmıştır. Ayrıca dikiş gereksinimi de ortadan kalkmıştır.

Uygulamadaki gelişmeler laboratuvar aşaması ile sınırlı kalmayıp cerrahi uygulamada da sürmüştür. Başlarda agresif olan cerrahi girişimlerin boyutları küçülmüş ve artroskopik olarak gerçekleştirilmeye başlanmıştır. Hücre tedavilerinin etkinliğinin ortaya konulmasında histolojik bulguların yanı sıra manyetik rezonans görüntülemeye de yararlanılıyor. Bu teknolojiye kontrast madde kullanımı ile bazı özel moleküllerin boyanması mümkün oluyor. Hücre tedaviden sonra düzenli kontrollerde klinik bulgular inceleniyor ve altı ay arayla manyetik rezonans görüntüleme ile izleniyor.



Sonuç olarak temel bilimler ve doku mühendisliği yeni gelişmelere gebe iki araştırma alanıdır. Hareket sisteminin diğer elemanları arasında olan kemik, bulunduğu yere bağlı olarak, yokluğunda veya varlığında klinik olarak önemli problemler yaratabilen yegâne yapıdır. Ve bir problem sonrası kemik iyileşmesi genelde iyi bir şekilde ilerler. Bu iyileşmedeki yavaşlama veya kesintiler kök hücre çalışmaları için ilgi odağı olmayı sürdürüyor. Ancak halen eklem kırıkdağının ilerleyici problemleri için yapılan kök hücre çalışmaları daha

büyük ilgiyi toplarken, hedef fizyolojik ve mekanik olarak gerçek kırıkdağ gibi olan dokuyu elde etmekte yoğunlaşıyor. Günümüze kadar uygulanan farklı yöntemlerle kalıcı ve düzgün bir kırıkdağ yüzey elde etmek mümkün olmamıştır. Çalışmalar özellikle çok geniş kırıkdağ problemleri düzeltme ve en iyimser yaklaşımla dejeneratif eklem hastalığının ilerleyişini önlemekten çok geciktirebilecek sonuçlar veriyor. Günümüz tıbbının en önemli hedeflerinden olan eklemlerin ve bu cümle içerisinde hareket sisteminin yaşlanmasının

Mevci Özdemir

Ayhan Attar

Dr., Ergani Devlet Hastanesi,  
Beyin ve Sinir Cerrahi Kliniği,  
Diyarbakır  
Doç. Dr., Ankara Üniversitesi  
Tıp Fakültesi, Beyin ve Sinir Cerrahisi  
Anabilim Dalı, Ankara

## Omurilik Yaralanmasında Kök Hücre Tedavisi

**Kök hücre kendini yenileme ve vücuttaki diğer hücelere dönüşebilme yeteneği olan, öncelikle hematolojik sistemde tanımlanmış fakat sonraları santral sinir sistemini de içine alan birçok sistemde bulunmuş ve birçok patolojide tedavi etkinlikleri tanımlanmış olan hücrelerdir. Erişkin kemik iliğinde iki tür kök hücre vardır. Bir tür tüm hematopoetik sistemin erken dönem rekonstrüksiyonunu sağlarken diğer kompartman, uzun süreli kalıcı hematopoezi sağlar.**

Sinir sisteminin kendisini yenilemesi insanlığın sürekli ilgisi- ni çeken bir konu olmuş ve üzerinde çok çalışmalar yapılmıştır. 1998 yılında Prof. Dr. P.S. Erikson (İsveç), insan hipokampusu dentate gyrusunda yeni nöronların varlığını göstere- ne kadar santral sinir sistemi hücrelerinin kendisini yenileme yeteneğinin olmadığı kabul edilmiştir. Ancak Prof. Dr. P.S. Erikson'un rejenerasyon bulgularını göstermesiyle birlikte bu konudaki çalışmalar daha bir umutla sürdürülmeye başlanmış ve Munoz-Elias,

Sanchez-Ramos ve Ha'nın farklı çalışmalarında kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin sinir hücrelerine dönüşebilme yeteneğinin olduğu deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur. Bundan sonra sinir sistemi rejenerasyonu üzerinde granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), granülosit koloni stimüle edici faktör (GCSF) veya eritropoetin gibi hematopoetik sitokinlerin etkisi üzerinde durulmaya başlanmıştır. Kore'den Prof. Dr. Ha Yo-on da omurilik rejenerasyonunda bu sitokinlerden özellikle GM-CSF'nin etkin olduğunu savunmuştur.

Omurilik rejenerasyon çalışmalarında hücre tiplerinden sıklıkla mezenkimal kök hücre (MKH) kullanılmaktadır. Omurilik rejenerasyonunda MKH kullanımı ilk defa 2005 yılında, Kanadadan Prof. Dr. A.M. Parr tarafından tanımlanmış ve burada da sitokinlerden GM-CSF kullanılmıştır. Bu protokolün etkinlik mekanizması tam olarak ortaya konamasa da oldukça iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. Prof. Dr. A. M. Parr ve Prof. Dr. Charles Tator, ortak makalelerinde MKH'nin etki mekanizmasında rol alabilecek faktörleri şöyle sıralamaktadırlar a) Hasar görmüş nöral dokulara transdiferansiyon; Nöronlar, astrositler ve oligodendrositler, b) Nöral koruma; Apoptozisin, inflamasyonun, demyelinizasyonun azaltılması ve astrositlerin yaşam sürelerinin artırılması, c) Rejenerasyon için uygun ortam oluşturma: Endojen nöral progenitörlerin ve oligodendrositlerin proliferasyonu, hücreler arası köprüler oluşturulması, astrositler arası intraselüler iletişimin artırılması, glial skar kalınlığının azaltılması ve glial skar karşıtı fibronektin üretiminin artırılması, d) Mezenkimal kök hücre veya alıcı tarafından büyüme faktörü veya sitokin ekspresyonu; BDNF, NGF, FGF 2, VEGF, TGF- $\beta$ , IGF-1, BNP, SCF1, e) Vasküler etkiler: Kan akımının düzenlenmesi, kan-beyin bariyerinin onarılması, ödemin azaltılması, artmış intrakranial veya intraspinal basıncın azaltılması ve angiogenezin artırılması, f) Mezenkimal kök

önüne geçme arzusu maalesef henüz gerçekleşme aşamasında değildir. Ancak yapılan bilimsel çalışmalar bu konuda yol alınabileceğini en azından göstermiştir. Hareket sistemine yönelik hücre tedavilerinde gelinecek bundan sonraki aşamaları, insan veya hayvan kaynaklı kıkırdak öncül hücreleri ve kök hücreler üzerinde yapılacak çalışmalar oluşturuyor. Ve önümüzde kök hücre teknolojilerinin ve tedavilerinin kat edeceği çok yol var. Örneğin en umutlu olunan kıkırdak problemlerinin tedavisinde son on beş yıl içerisinde üçüncü jenerasyon olarak isimlendirilen tedavi yöntemine geçmek üzereyiz. Bu veri bile konunun dinamik ve gelişime açık yapısını özetliyor. Ancak yirmi yıl

önce çözümsüz olarak gördüğümüz problemlerin tedavisinde kat edilen yol, kök hücre tedavilerindeki umutlarımızı canlı tutuyor.

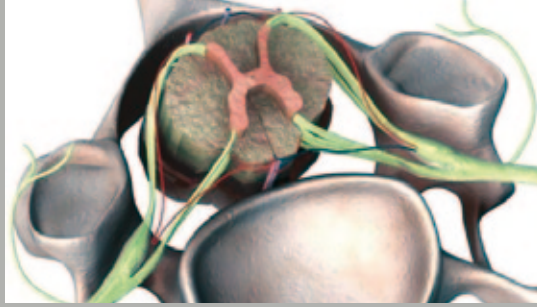
#### Kaynaklar

- Anderer, U., Libera, J., "Autologous in vitro engineering of human hyaline cartilage," *CRS Newsletter*, 11: 18-19, 2001.  
 Binnet, M. S., Gürken, İ., Karakaş, A., Yılmaz, C., Ereku, S., Çetin, C., "Histopathologic Assessment of Healed Osteochondral Fractures," *Arthroscopy*, 17: 278-285, 2001.  
 Binnet, M. S., Başarır, K., Emin, N., Yörübulut, M., Elçin, Y. M., "Recent Applications of Cellular Therapy in Orthopedic Surgery," *Journal of Cellular Therapy & Regenerative Medicine*, 1: 17-22, 2010.

- Elçin, Y. M., Elçin, A. E., Pappas, G. D., "Functional and morphological characteristics of bovine adrenal chromaffin cells on macroporous poly (DL-lactide-co-glycolide) scaffolds," *Tissue Engineering*, 9(5): 1047-1056, 2003.  
 Kayaoglu, E., Binnet, M. S., "Kıkırdak sorunlarında tedavi algoritması," *Türkiye Klinikleri Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi* 2 (39): 51-54, 2006.

hücre veya konak hücre tarafından remyelinizasyon; oligodendrositler, schwann cell, g) Hücre füzyonunu artırması olarak sıralamaktadır.

Bu sonuçlardan yola çıkarak kliniğimizde omurilik hasarında kök hücre transplantasyonu çalışmalarına başlanmıştır. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde Nöroşirürji, Hematoloji, Patoloji, Radyoloji, Fizik Tedavi Rehabilitasyon ve Anestezi bilim dallarından araştırmacıların katıldığı bir TÜBİTAK projesinde, omurilik felci oluşturulmuş farelere genetiği değiştirilmiş farelerden elde edilen kemik iliği veya mezenkimal kök hücre uygulamasıyla hem işlevsel iyileşme elde edilmiş hem de bu bulgulara verici kaynaklı hücrelerin katkısı saptanmıştır. Henüz yayın aşamasında olan bu sonuçlarımızın insan çalışmamızın temelini oluşturmuştur. İnsan çalışmasına dahil edilme kriterlerimiz ise şu şekilde sıralanabilir: Hasta nörolojik olarak ASIA grade A sınıflamasında olmalı; SEP ve MEP incelemesinde aktivite saptanmamalı; yaş aralığı 18-65 arasında olmalı; lezyon seviyesi C5-T11 arasında olmalı; operasyon öncesinde ventilatör desteğine bağlı durumda olmamalı ve bu tedaviye engel oluşturacak tıbbi bir hastalığı, ateşi ve gebelik hali bulunmamalı. Bu kriterleri sağlayan 4 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Omurilik zedelenmesi sonucu felçli bireylerde travmayı takiben erken dönemde 4 hastaya 3 yıl önce yoğunlaştırılmamış veya yoğunlaştırılmış kendi kemik iliği hücreleri zedelenme bölgesine infüzyon pompası ile uygulandı. EBMT ve Türk Nöroşirürji kongrelerinde sözlü sunulan bulgularımız da henüz yayın aşamasındadır.



Yapılan tüm bu çalışmalar ve çalışmaların deneysel somut kanıtları sinir sisteminin kendisini yenileyebileceğini net olarak ortaya koymuş ve artık rejenerasyonun oluşum mekanizmaları üzerinde tartışılmaya başlanı hale gelmiştir. Bizde bilimsel kanıtlar ışığında deneysel ve klinik tecrübelerimize dayanarak insan omurilik yaralanmasında etkin rejeneratif tedavilerin ihtimalinin artık bir spekülasyon olmadığını ve çok yakın bir gelecekte travmatik omurilik felcinde nöral rejenerasyonun gerçekleştirilebileceğini umutla söyleyebilmekteyiz.

#### Kaynaklar

- Attar A, Kaptanoğlu E., Aydın Z., Ayten M., Sargon M.F., "Electron microscopic study of the progeny of ependymal stem cells in the normal and injured spinal cord," *Surg Neurol*. 2005; 64 Suppl 2: 28-32.  
 Tator C.H., "Strategies for recovery and regeneration after brain and spinal cord injury," *Inj Prev*. 2002;8 Suppl 4: 33-6.  
 Eriksson P.S., Perfilieva E., Björk-Eriksson T., et al. "Neurogenesis in the adult human hippocampus." *Nat. Med.* 1998; 4:1313-7.  
 Munoz-Elias G., Woodbury D., Black I.B. "Marrow stromal cells, mitosis, and neuronal differentiation: Stem cell and precursor functions." *Stem Cells* 2003;21:437-448.  
 Sanchez-Ramos J., Song S., Cardozo-Pelaez F. et al. "Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro." *Exp Neurol* 2000; 164:247-256.