



Derleme / Review

Medulla Spinalis Yaralanmalarında Nörörejen İskele Uygulamaları Neuroregen Scaffolding Applications in Medulla Spinalis Injuries

Merve Aydın^a, Hıdır Pekmez^{b*}^a Araştırma Görevlisi, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6221-4424>^b Doçent Doktor, Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4916-7675>* İletişimden sorumlu yazar, E-mail: hidir.pekmez@ozal.edu.tr

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 16.11.2022

Received in revised form: 25.11.2022

Accepted: 04.12.2022

Keywords:

Collagen

Neuroregen scaffolds

Spinal cord injury

ABSTRACT

The medulla spinalis is a central nervous system formation that communicates sensory and motor information between the brain and the peripheral nervous system. In spinal cord injuries, this communication is disrupted, and the patient may experience loss of sensory and motor function. For the repair of the spinal cord after injury, remyelination of axons and regrowth of tracts are required in the trauma area. Scaffolds direct the regeneration of axons and accelerate the repair process of neurons. Collagens are frequently used in scaffolding studies due to their natural structure that supports cell adhesion and functions. Animal and human studies show that collagen-based neuroregen scaffolds provide significant sensory and motor gains. Such gains are promising in spinal cord injuries, one of the major causes of morbidity and mortality worldwide. In this review, we aimed to examine medulla spinalis injuries, their mechanism, and post-injury neuroregenerative scaffold applications.

MAKALE BİLGİLERİ

Makale Geçmişi:

Geliş Tarihi: 16.11.2022

Revizyon Tarihi: 25.11.2022

Kabul Tarihi: 04.12.2022

Anahtar Kelimeler:

Kolajen

Nörörejen iskeleler

Spinal kord yaralanması

ÖZET

Medulla spinalis duyu ve motor bilgilerin beyin ile çevresel sinir sistemi arasındaki iletişimini sağlayan merkezi sinir sistemine ait bir oluşumdur. Spinal kord yaralanmalarında bu iletişim bozulur ve hastada duyu ve/veya motor işlev kayıpları ortaya çıkabilmektedir. Yaralanma sonrası medulla spinalisin onarımı için travma bölgesinde aksonların remiyelinizasyonları ve traktusların yeniden büyümesi gerekmektedir. İskeleler aksonların rejenerasyonunu yönlendirip nöronların onarım sürecini hızlandırmaktadır. Kolajenler, hücre adezyonunu ve işlevlerini destekleyen doğal yapısı nedeniyle iskele çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Yapılan hayvan ve insan çalışmaları kolajen temelli nörörejen iskelelerin duyu ve motor düzeyde anlamlı kazanımlar sağladığını göstermektedir. Dünya çapında önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden olan spinal kord yaralanmalarında bu gibi kazanımlar umut vericidir. Bu derlemede medulla spinalis yaralanmaları, mekanizması ve yaralanma sonrası nörörejen iskele uygulamalarını incelemeyi amaçladık.

1. Giriş

Medulla spinalis (MS), canalis vertebralis içerisinde bulunan merkezi sinir sistemine ait bir oluşumdur. Atlasın üst kenarı hizasından başlayarak, erişkin erkeklerde birinci ve ikinci lumbal vertebra arasındaki discus intervertebralis kadar uzanmaktadır. Kadınlarda ise bu seviye ikinci lumbal vertebra alt sınırına kadar inebilmektedir. Sonlandığı yere “conus medullaris” adı verilmektedir. Conus medullarisin ucundan başlayarak ikinci sakral vertebra seviyesinde sonlanan pia mater uzantısına “filum terminale” denir. Bu bölgede spinal sinirler kendi seviyelerindeki foramen intervertebralelere uzanırken saçaklı bir görünüm oluştururlar. Bu oluşuma “cauda equina” adı verilmektedir (1).

Medulla spinalisin görevi duyu ve motor bilgilerin beyin ile çevresel sinir sistemi arasındaki iletişimini sağlamaktır. Horizontal kesitinde merkezinde etrafı beyaz cevher (substantia alba) ile sarı olan gri cevher (substantia grisea) yapısı bulunmaktadır. Substantia grisea nükleusları içermektedir. H harfi şeklinde olup ortasında içerisinden BOS geçen canalis centralis yapısı bulunmaktadır. Substantia alba ise miyelinli lif demetlerinden oluşmaktadır. Bu bölgede traktuslar bulunur. Spinal korda dorsal ve ventral kökler aracılığıyla otuz bir çift spinal sinir bağlanmaktadır. Beyinden periferik sisteme ventral kökler ile motor sinir sinyalleri taşınırken, periferik sistemden beyne dorsal kökler aracılığıyla duyu sinir sinyalleri iletilmektedir (2).

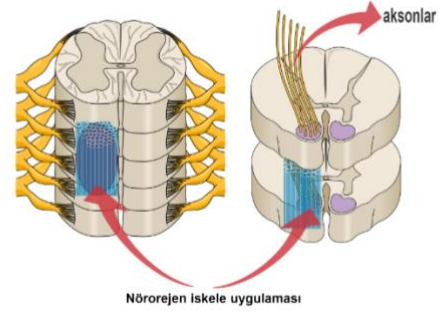
Spinal kord yaralanması (SKY) önemli morbidite ve mortalite nedenlerindedir (3). Dünya genelinde her yıl 250.000 – 500.000 kişi travmatik medulla spinalis yaralanması ile kliniklere başvurmaktadır (4). SKY esas olarak trafik kazaları, düşmeler ve spor yaralanmaları gibi travmalardan kaynaklanmaktadır. Tam veya kısmi MS yaralanmaları, kırık sonucu yer değiştirmiş kemik parçaları, vertebral disk veya diğer dokuların nöral elamanları sıkıştırması ile oluşmaktadır. Merkezi ve periferik sinir sisteminin zarar görmesi ile motor, duyu, otonomik ve refleks işlevleri etkilenebilir. Sonuç olarak ağrı, duyu ve koordinasyon kaybı, felç gibi semptomlar ortaya çıkabilmektedir (3).

2. Spinal Kord Yaralanması Mekanizması ve Onarımı

Akut SKY birincil ve ikincil yaralanma mekanizmalarını içerir. İlk travma traksiyon ve kompresyon kuvvetleri ile oluşur. Kan damarları, aksonların miyelinleri ve nöral hücreler zarar görür. Gri cevherde meydana gelen mikro kanamalar birkaç saat içerisinde çevre dokulara yayılır. MS, canalis vertebralis'in içini tamamen kaplayacak şekilde şişer. Şişme venöz kan basıncını aşarsa ikincil iskemi oluşur. Kan akışı düzenlenemediğinden spinal nörojenik şoktan kaynaklı sistemik hipotansiyon oluşur. Oluşan iskemi durumu, bozulan nöral membranlardan toksik kimyasalların salınımı ve elektrolit kaymaları komşu hücelere zarar verir. Böylece ikincil yaralanma tetiklenir (5). İkincil hasarda, gri cevherde iskemiye bağlı gelişen hipoperfüzyon, aksiyon potansiyellerinin aksonlar boyunca yayılmasını yavaşlatarak veya tamamen bloke ederek spinal şoka neden olur.

SKY sonrası yaralanan MS'nin onarımı için travma bölgesinde aksonların remiyelinizasyonları ve traktusların yeniden büyümesi gerekmektedir. Fakat lezyon bölgesinde akson rejenerasyonunun yönü ve şekli yönlendirilemediği için iyileşme oldukça zordur. Bu nedenle SKY'de nöronlara uygun bir ortam sağlamak onarım sürecini hızlandıracaktır (6).

Kolajen, insan vücudunda doğal olarak bulunan ve hücre dışı matriksini taklit eden bir proteindir. Şu ana kadar yirmi sekiz farklı kolajen türü tanımlanmıştır. Kolajen genellikle hücre adezyonunu ve işlevini destekleyen doğal bir yüzeye sahiptir. Bu nedenle doku onarımında yapı iskelesi olarak kullanılmaktadır. Doğal veya sentetik malzemelerle üretilen iskeleler SKY'de lezyon boşluğunu kapatmak ve bölge boyunca aksonal büyümeye rehberlik etmek için kullanılır (Şekil 1) (7). Derlememizin konusu olan kolajen temelli lineer sıralı nörorejen iskeleler ilk olarak Lin ve ark. tarafından 2006 yılında geliştirilmiştir.



Şekil 1. Lezyon bölgesine lineer sıralı nörorejen iskele uygulaması (Lin ve ark.'nın çalışmalarından esinlenerek çizilmiştir) (6).

3. Nörorejen İskele Üretimi

Nörorejen iskele ile ilgili çalışmaların çoğu iskele yapımında Lin ve ark.'nın yöntemlerini kullanmaktadır (8-10). Bu yöntemde göre kolajenler, sığır aponevrozundan veya tendo calcaneus'undan elde edilmektedir. Elde edilen 0.5 mm kesitler, yardımcı dokular ve hüresel bileşenlerinden ayrıştırılır. Ardından 50 mM Tris Cl tamponunda özütlenen ve distile suda durulanıp dondurularak kuruyan numuneler, lineer (doğrusal) şekilde sıralanarak kullanıma hazır hale gelmektedir (6). Ayrıca kolajen iskelelerin hazırlanmasında üç boyutlu yazıcılar kullanan araştırmalar da mevcuttur (11, 12).

4. Nörorejen İskele İmplantasyonunda Ameliyat Prosedürü

Ameliyata alınan hastalara orta hat cilt insizyonunun ardından paravertebral kasların diseksiyonu ve laminektomi uygulanmaktadır. Ardından duratomi uygulanarak skar dokusuna ulaşılır. Skar dokusunun sınırları elektrofizyoloji ile belirlenmektedir. Sınırları belirlemek için somatosensoryel uyarılmış potansiyeller (SUP) ve motor uyarılmış potansiyeller (MUP) kullanılmaktadır. Skar dokunun rostral sınırını belirlemek için elektromiyografi stimülasyon elektrotları SKY bölgesinin rostral tarafına, kayıt elektrotları ise kafa derisine yerleştirilmektedir. Normal SUP yanıtı elektrotların sağlıklı omurilik üzerine yerleştirildiğini, yanıtın olmaması ise elektrotların skar doku bölgesinde olduğunu göstermektedir. Yaralı dokunun kaudal sınırını belirlerken stimülasyon elektrotları lezyon bölgesinin kaudal ucuna yakın bir bölgeye, kayıt elektrotları da eksternal anal sfinktere yerleştirilir. Benzer şekilde MUP yanıtı saptanırsa bu durum elektrotun sağlıklı omurilik bölgesinde olduğunu, yanıt alınmazsa skar dokuda olduğunu göstermektedir. Daha sonra sınırları belirlenen nekrohemorajik dokular ameliyat mikroskopi altında çıkarılmaktadır. Ardından nörorejen iskeleler glial skar dokunun çıkarıldığı bölgeye implante edilmektedir. Ayrıca gerekli

görüldüğünde subluksasyonu stabilize etmek ve iyileşmeye uygun ortam sağlamak için internal fiksasyon kullanılabilir (8, 9, 13, 14).

5. Nörorejen İskele Çalışmaları

İnkomplet SKY'de fonksiyonel iyileşme görülen pek çok çalışma yapılmıştır (15-20). Bunlardan birinde hemiseksiyonlu sıçanlara kolajen iskele uygulanmıştır. Bu çalışmada iskelenin yapısında bulunan kolajene büyüme faktörlerinden biri olan beyin-türevli nörotrofik faktör (BDNF) bağlanmıştır. Araştırmalarında kullandıkları bu yöntemin SKY'de anlamlı düzeyde iyileşme sağladığı gösterilmiştir (20). Peng ve ark. 2018 yılında hemiseksiyonlu ratlara mezenkimal kök hücre ile yüklü kolajen iskele implantasyonu yapmıştır. Araştırma sonuçları bu yöntemin mezenkimal hücre göçünü engellediğini göstermiştir. Ayrıca hücrelerin lezyon bölgesinde yoğunlaştığı bildirilmiştir (18).

Oluşturulan hemiseksiyon modelleri dışında tam MS kesisi yaşayan köpeklerde nörorejen iskele kullanan çalışmalar mevcuttur. Han ve ark. çalışmalarında köpeklerde tam MS kesisinde BDNF bağlanan nörorejen iskeleler kullanmıştır. Uygulama sonrası kontrol grubunda fonksiyonel olarak iyileşme kısa süreli ve hafif şekilde gerçekleşirken iskele grubunda 4-20 hafta sonrasında bile iyileşmenin devam ettiği görülmüştür. BDNF ve iskele uygulanan grupta motor kazanımlar 38 haftaya kadar sürmüştür. Ayrıca bu grupta köpeklerin kalça eklemlerinde protraksiyon hareketi kazanılmıştır. Bir köpek ise desteksiz olarak arka ayakları üzerinde durabilmiş ve arka uzuvlarını hareket ettirebilmiştir (21). Başka bir çalışmada tam SKY'li köpeklerde iskeleye plasenta kotiledonundan elde edilen mezenkimal kök hücreler yüklenmiştir. Bu çalışmadaki bir köpek sekizinci haftada desteksiz olarak ayakta durabilmiştir. Ayrıca deneklerin yarısı on altıncı haftada desteksiz durabilmiş, bazıları da yürümeye başlamıştır (10).

Literatürde nörorejen iskelelerin insanlara uygulandığı çalışmalar da mevcuttur. Çin'de sekiz tam kronik SKY hastasında yaralanmadan 2-36 ay sonra mezenkimal kök hücre yüklü nörorejen iskele uygulanmıştır. Çalışmaya servikal ve torakal yaralanmalı hastalar katılmıştır. Çalışma sonunda beş hastada duyu düzeyinde genişleme ve iki hastada dışkılama hissi kazanılmıştır. Ayrıca hastaların %87,5'inde MUP'e yanıt veren alanlar genişlemiştir. Servikal lezyonlu üç hastanın parmak eklem hareket açıklığı, hastaların yarısının da gövde stabilitesi artmıştır (14).

Xiao ve ark. çalışmalarında on birinci torakal ve dördüncü servikal vertebra seviyelerinde akut MS yaralanması olan iki hastaya mezenkimal kök hücre yüklü nörorejen iskele implante etmiştir. Yirmi sekiz yaşındaki torakal SKY hastası kazadan sonra on birinci

torakal seviye altındaki tüm duyularını ve hareketlerini kaybetmiştir. Hastaya yaralanmadan yirmi dört saat sonra iskele ameliyatı yapılmıştır. Ameliyattan sonraki ikinci ayda hastanın duyusu ikinci lumbal vertebra seviyelerine inmiştir. Dokuzuncu ayda hastanın bağırsak ve mesanesinin, duyu ve fonksiyonlarının çoğu geri kazanılmıştır. Ayrıca üçüncü ayda adductor magnus kasında kontraksiyon görülmüştür. On ikinci ayda ise hasta korse kullanarak yürümeye başlamıştır. Aynı çalışmadaki otuz yaşındaki servikal yaralanmalı hasta, kazadan sonra lezyon seviyesi altındaki tüm duyu ve motor fonksiyonlarını kaybetmiştir. Yaralanmadan sekiz gün sonra implantasyon uygulanmıştır. Bu hastada duyu seviyesi ameliyattan altı ay sonra sol tarafta ikinci sakral vertebra, sağ tarafta onuncu torakal vertebra seviyesine kadar inmiştir. On ikinci ayda bağırsak ve mesane duyuları kazanılmıştır. Altıncı ayda hasta sandalyede otururken bacaklarını yer çekimine karşı kaldırmaya başlamıştır. Ayrıca ayak parmaklarını hareket ettirebilmiştir (13).

Chen ve ark. çalışmalarında yedi torakal tam SKY hastasında kemik iliği mononükleer hücreleri yüklü nörorejen iskele uygulamıştır. Hastaların 6 ve 36 ay sonra fonksiyonel bağımsızlık ölçeği ve günlük yaşam aktiviteleri ölçek skorları artmıştır. Bir hastada ise bu artış anlamlı bulunmuştur. Ayrıca beş hastanın duyu skorları artış göstermiştir (9).

Yakın zamanda gerçekleştirilen geniş çaplı bir çalışmada, nörorejen iskele uygulanan on beş akut tam SKY hastası ve elli bir kronik tam SKY hastası 2-5 yıl boyunca takip edilmiştir. İskele implantasyonu ile ilgili ciddi bir yan etki gözlenmemiştir. Akut yaralanmalı hastalardan beşinde duyu alanlar genişlemiş, altısında bağırsak ve mesane duyuları geri kazanılmıştır. Bazı hastalar desteksiz olarak yürümeye başlamıştır. Kronik yaralanmalı hastalarda otuz hastada refleksif dışkılama hissi artmış veya yaralanma bölgesinin altında normalden fazla terleme görülmüştür. Ayrıca hastaların yaklaşık yarısının parmak aktiviteleri artmıştır (8).

Spinal kord yaralanmasında tam kesilerde iyileşme oldukça yavaş ve zordur. Yapılan hayvan ve insan çalışmaları nörorejen iskelelere yüklenen hormon ve kök hücre gibi destekleyici maddelerin iyileşme oranını anlamlı düzeyde artırdığını göstermektedir. İskelelere BDNF veya mezenkimal kök hücre eklendiğinde fonksiyonel ve duyu skorların anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür. Yardımcı madde olarak kemik iliği mononükleer hücre kullanıldığında ise skorlardaki artış anlamlı düzeyde olmamıştır. Yaralanma bölgesinin büyüklüğü ve yaralanma seviyesindeki farklılıkların çalışma sonuçlarını etkilemiş olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca iskele uygulaması sonrası rehabilitasyon programları, ağrı kesici ajanlar, kalıcı hasarın önlenmesi için ortez uygulamaları, hasta

ve yakınlarının bilgilendirilmesi de iyileşme sürecini değiştirebilen faktörlerdendir.

6. Sonuç ve Öneriler

SKY'de iskele kullanımı gerekli aksonal bağlantıların sağlanması ve sinir sisteminin doğru bir şekilde rejenerasyonu için önemli bir yaklaşımdır. Doğal kolajenden üretilen nörojen iskeleler ile ilgili çok sayıda umut verici araştırma bulunmaktadır. Özellikle tam keside iyileşme neredeyse imkânsız olduğundan iskelelerin sağladığı fonksiyonel kazanımlar oldukça önemlidir. Hem akut hem de uzun vadeli takip sonuçları nörojen iskele implantasyonunun akut ve kronik SKY için uygun bir tedavi olabileceğini gösterse de insanlar üzerindeki implantasyon çalışmaları hala yetersiz sayıdadır.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Bu çalışma için maddi destek alınmamıştır.

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için etik kurul onayına ihtiyaç yoktur.

Yazarlık Katkısı:

MA: Derlemenin fikir ve tasarımı, makalenin yazımı, literatür taraması.

HP: Derlemenin denetleme ve danışmanlığı, eleştirel incelenmesi, son kontrolleri.

7. Kaynaklar

1. Adigun OO, Reddy V, Varacallo M. Anatomy, back, spinal cord. In: StatPearls (Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2019.
2. De Leener B, Taso M, Cohen-Adad J, Callot V. Segmentation of the human spinal cord. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2016;29(2):125-53.
3. Dumont RJ, Okonkwo DO, Verma S, Hurlbert RJ, Boulos PT, Ellegala DB, et al. Acute spinal cord injury, part I: Pathophysiologic mechanisms. *Clinical neuropharmacology*. 2001;24(5):254-64.
4. Bennett J, Emmady P. Spinal Cord Injuries. In: StatPearls (Internet). Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2020.
5. McDonald JW, Sadowsky C. Spinal-cord injury. *The Lancet*. 2002;359(9304):417-25.
6. Lin H, Chen B, Wang B, Zhao Y, Sun W, Dai J. Novel nerve guidance material prepared from bovine aponeurosis. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*. 2006;79(3):591-8.
7. Li Y, Liu Y, Li R, Bai H, Zhu Z, Zhu L, et al. Collagen-based biomaterials for bone tissue engineering. *Materials & Design*. 2021;210(110049):1-23.

8. Tang F, Tang J, Zhao Y, Zhang J, Xiao Z, Chen B, et al. Long-term clinical observation of patients with acute and chronic complete spinal cord injury after transplantation of NeuroRegen scaffold. *Science China Life Sciences*. 2022;65(5):909-26.
9. Chen W, Zhang Y, Yang S, Sun J, Qiu H, Hu X, et al. NeuroRegen scaffolds combined with autologous bone marrow mononuclear cells for the repair of acute complete spinal cord injury: a 3-year clinical study. *Cell Transplantation*. 2020;29(0963689720950637):1-11.
10. Han S, Xiao Z, Li X, Zhao H, Wang B, Qiu Z, et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells loaded on linear ordered collagen scaffold improves functional recovery after completely transected spinal cord injury in canine. *Science China Life Sciences*. 2018;61(1):2-13.
11. Yeong WY, Chua CK, Leong KF, Chandrasekaran M, Lee MW. Indirect fabrication of collagen scaffold based on inkjet printing technique. *Rapid Prototyping Journal*. 2006.
12. Nocera AD, Comín R, Salvatierra NA, Cid MP. Development of 3D printed fibrillar collagen scaffold for tissue engineering. *Biomedical Microdevices*. 2018;20(2):1-13.
13. Xiao Z, Tang F, Zhao Y, Han G, Yin N, Li X, et al. Significant improvement of acute complete spinal cord injury patients diagnosed by a combined criteria implanted with NeuroRegen scaffolds and mesenchymal stem cells. *Cell Transplantation*. 2018;27(6):907-15.
14. Zhao Y, Tang F, Xiao Z, Han G, Wang N, Yin N, et al. Clinical study of NeuroRegen scaffold combined with human mesenchymal stem cells for the repair of chronic complete spinal cord injury. *Cell transplantation*. 2017;26(5):891-900.
15. Li X, Xiao Z, Han J, Chen L, Xiao H, Ma F, et al. Promotion of neuronal differentiation of neural progenitor cells by using EGFR antibody functionalized collagen scaffolds for spinal cord injury repair. *Biomaterials*. 2013;34(21):5107-16.
16. Hatami M, Mehrjardi NZ, Kiani S, Hemmesi K, Azizi H, Shahverdi A, et al. Human embryonic stem cell-derived neural precursor transplants in collagen scaffolds promote recovery in injured rat spinal cord. *Cytherapy*. 2009;11(5):618-30.
17. Breen BA, Kraskiewicz H, Ronan R, Kshiragar A, Patar A, Sargeant T, et al. Therapeutic effect of neurotrophin-3 treatment in an injectable collagen scaffold following rat spinal cord hemisection injury. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2017;3(7):1287-95.
18. Peng Z, Gao W, Yue B, Jiang J, Gu Y, Dai J, et al. Promotion of neurological recovery in rat spinal cord injury by mesenchymal stem cells loaded on nerve-guided collagen scaffold through increasing alternatively activated macrophage polarization. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(3):e1725-e36.
19. Shi Q, Gao W, Han X, Zhu X, Sun J, Xie F, et al. Collagen scaffolds modified with collagen-binding bFGF promotes the neural regeneration in a rat hemisectioned spinal cord injury model. *Sci China Life Sci*. 2014;57(2):232-40.
20. Han Q, Sun W, Lin H, Zhao W, Gao Y, Zhao Y, et al. Linear ordered collagen scaffolds loaded with collagen-binding brain-derived neurotrophic factor improve the recovery of spinal cord injury in rats. *Tissue Engineering Part A*. 2009;15(10):2927-35.
21. Han S, Wang B, Jin W, Xiao Z, Li X, Ding W, et al. The linear-ordered collagen scaffold-BDNF complex significantly promotes functional recovery after completely transected spinal cord injury in canine. *Biomaterials*. 2015;41(2015-02-01):89-96.