

**T.C.  
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI  
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI  
ANKARA**

**DENEYSEL ARTRİTTE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN MEZENKİMAL  
KÖK HÜCRE UYGULAMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE DİĞER  
TEDAVİLERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**Mesut TOPDEMİR  
Dz. Tbp. Ütđm.**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI UZMANLIĞI PROGRAMI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA**

**2016**

**T.C.  
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI  
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI  
ANKARA**

**DENEYSEL ARTRİTTE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN MEZENKİMAL  
KÖK HÜCRE UYGULAMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE DİĞER  
TEDAVİLERLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**Mesut TOPDEMİR  
Dz. Tbp. Ütđm.**

**Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi'nin  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlığı Programı İçin Öngördüğü  
TIPTA UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Hv. Tbp. Alb. Faysal GÖK**

**ANKARA  
2016**

**Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığı'na:**

**Dz.Tbp.Ütğm. Mesut TOPDEMİR'in 28.06.2016 tarihinde savunduğu  
“Deneysel Artritte İntraartiküler Uygulanan Mezenkimal Kök Hücre  
Uygulamasının Değerlendirilmesi ve Diğer Tedavilerle Karşılaştırılması”  
isimli tez çalışması, Akademi Kurulu'nca belirlenen jüri üyeleri  
tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.**

**Tez Danışmanı : Prof.Hv.Tbp.Alb. Faysal GÖK**

**Üye : Prof.Hv.Tbp.Alb. Faysal GÖK**

**Üye : Prof. Dr. Seza ÖZEN**

**Üye : Prof.Tbp.Alb. Bülent ÜNAY**

**ONAY**

**Hayati BİLGİÇ**

**Prof. Dz. Tbp. Tümamiral**

**GATA Komutan Bilimsel Yardımcısı,**

**Askeri Tıp Fakültesi Dekanı ve Eğitim Hastanesi Baştabibi**

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması, Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Askeri Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nca 08.05.2014 gün ve 2014-27 numaralı GATA Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı ile yürütülmüştür.

Tıpta uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam süresince verdiği destek ve katkılarından dolayı tez danışmanım sayın Prof. Dr. Faysal GÖK'e,

Tezim ile ilgili çalıştığım süre içerisinde tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım Doç. Dr. Yıldırım KARSLIOĞLU'na,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlanma şansını veren, yetişmemde büyük emeği olan sayın hocalarıma,

Tez çalışmam süresince bana destek olan Dr. Gökalp BAŞBOZKURT'a,

Tüm hayatım boyunca gösterdikleri sevgi ve destekleri sayesinde bugünlere gelmemi sağlayan ve beni asla yalnız bırakmayan aileme,

Uzmanlık eğitimimin her anında bana bir aile ortamında çalışmanın keyfini, güvenini ve gururunu yaşattıkları için tüm GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Mesut Topdemir

Ankara 2016

## ÖZET

### DENEYSEL ARTRİTTE İNTRAARTİKÜLER UYGULANAN MEZENKİMAL KÖK HÜCRE UYGULAMASININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE DİĞER TEDAVİLERLE KARŞILAŞTIRILMASI

Kronik artrit, inflamatuvar eklem tutulumu ile karakterize yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen tedavi edilmediği takdirde kalıcı hasara neden olabilen klinik bir tablodur. Kronik inflamatuvar hastalıklarda mezenkimal kök hücreler (MKH), immünmodülatör, antiinflamatuvar ve rejeneratif kapasitelerinden dolayı dirençli vakalarda alternatif bir tedavi seçeneği olarak denenmektedir.

**Amaç:** Bu çalışmada adjuvan ile oluşturulmuş artritli ratlarda intraartiküler (İA) uygulanan MKH'lerin sinoviyal inflamasyon üzerindeki etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ve tedavi etkinliğinin IA uygulanan triamsinolon ve etanersept ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç-Yöntem:** Çalışmada toplam 48 adet Sprague-Dawley türü erkek rat kullanılmıştır. Artrit modeli Complete Freund Adjuvant'ın (CFA) ratların sağ diz eklem boşluğuna IA uygulanması ile oluşturulmuştur. Artritin kronikleştiği 3.haftada IA tedaviler uygulanmıştır. Artritin şiddetini belirlemede yarı-kantitatif bir derecelendirme sistemi kullanılmıştır.

**Bulgular:** Artrit oluşturulup IA salın verilen plasebo tedavi grubu ile IA MKH verildikten 3 hafta sonra sakrifiye edilen grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır. Plasebo tedavi grubu ile IA MKH verilip 6 hafta sonra, IA Triamsinolon verilip 1 hafta sonra sakrifiye edilen ve IA etanersept verilip 2 hafta sonra sakrifiye edilen gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık görülmüştür.

**Sonuç:** Bu çalışmada IA uygulanan steroid en etkili tedavi olarak bulunmuştur. Kronik inflamatuvar artritte MKH uygulamasının etkin olduğu gözlemlenmiştir. MKH kaynağı, uygulama sıklığı, uygulama şekli ve miktarı konusunda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Deneysel Artrit, İntraartiküler Tedavi, Mezenkimal Kök Hücre, Triamsinolon, Etanersept

## SUMMARY

### EFFECTIVENESS OF MESENCHYMAL STEM CELL THERAPY IN EXPERIMENTAL INFLAMMATORY ARTHRITIS AND COMPARISON WITH THE OTHER INTRA-ARTICULAR TREATMENTS

Chronic arthritis is a clinical entity which is characterized with inflammatory joint involvement, affects life quality and may cause sequels without treatment. Mesenchymal stem cell (MSC) treatment is recently considered as an alternative treatment for chronic inflammatory diseases which are refractory to treatment due to their immunomodulator, anti-inflammatory and regenerative capacities.

**Aim:** In this study, we aimed to evaluate the histopathologic effects of MSC's on synovial inflammation in rats that have experimental arthritis induced by adjuvants and compare the effectiveness of the treatment with intra-articular (IA) triamsolon and IA etanercept treatment.

**Methods:** In this study, 48 Sprague-Dawley male rats were used. Experimental arthritis model was formed by IA administration of Complete Freund Adjuvant (CFA) to the rats' right knee joint spacing. IA treatments were administered at 3rd week when the arthritis became chronic. A semi-quantitative staging system was used for detection of the arthritis severity.

**Results:** There were no statistically significant differences between the placebo group (IA saline group) and treatment group (sacrificed three weeks after IA MSC treatment). Placebo group was compared with the treatment group which sacrificed 6 weeks after IA MSC, a week after IA triamsolon and 2 weeks after IA etanercept treatment and statistically significant differences were detected.

**Conclusion:** In this study, IA steroid treatment found as the most efficient treatment. It was observed that MSC administration was efficient chronic inflammatory arthritis. Further investigations are needed for MSC sources, treatment intervals, administration methods and dosages

Keywords: Experimental Arthritis, Intra-articular Treatment, Mesenchymal Stem Cell, Triamsinolon, Etanercept

## İÇİNDEKİLER

<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>ii</b>
<b>TÜRKÇE ÖZET</b>	<b>iii</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>v</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	<b>vii</b>
<b>TABLolar</b>	<b>viii</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>2</b>
2.1. Kronik İnflamatuvar Artrit	2
2.2. Epidemiyoloji	3
2.3. Etiyoloji ve Patogenez	4
2.4. Tanı	6
2.5. Klinik Bulgular	7
2.6. Laboratuvar	8
2.7. Genel Tedavi Yaklaşımı	9
2.7.1 Farmakolojik Tedavi	9
2.7.2 Beslenme	11
2.7.3 Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	11
2.7.3 Ortopedik Cerrahi	12
2.8. Klinik Seyir ve Prognoz	12
2.9. İnflamatuvar Artritte Hayvan Modelleri	13
2.10. Mezenkimal Kök Hücreler	14
2.10.1. Genel Bilgiler	14
2.10.2. Klinik Kullanımı	15
2.10.3. İnflamatuvar Artritte Kullanımı	16
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>17</b>
<b>4. BULGULAR</b>	<b>20</b>
4.1. Adjuvanın Etkinliği	20
4.2. Tedavilerin Etkinliğinin Değerlendirilmesi	21
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>24</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>28</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>29</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

- AAA: Ailesel Akdeniz Ateşi  
ANA: Antinükleer Antikor  
ARA: Akut Romatizmal Ateş  
C-ANCA: C-Antinötrofilik Sitoplazmik Antikor  
CCP: Siklik Sitrüline Peptid  
CRP: C-Reaktif Protein  
DMARD: Hastalığı Modifiye Edici İlaçlar  
ESH: Eritrosit Sedimentasyon Hızı  
HBV: Hepatit B Virüs  
HIV: İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü  
HLA: İnsan Lökosit Antijeni  
IFN: İnterferon  
Ig: İmmünglobulin  
IL: İnterlökin  
İA: İntra-artiküler  
JİA: Juvenil İdiyopatik Artrit  
MAS: Makrofaj Aktive Edici Sendrom  
MKH: Mezenkimal Kök Hücre  
MMP: Matriks Metallo-Proteinaz  
NSAİ: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar  
RA: Romatoid Artrit  
RF: Romatoid Faktör  
SLE: Sistemik Lupus Eritematozis  
TGF: Transforme Edici Büyüme Faktörü  
TIMP: Doku Metallo-Proteinaz İnhibitörü  
TNF: Tümör Nekrozis Faktör

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
4.1: Histopatolojik Bulgular	23

## TABLULAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1: Çocuklarda Artritle Ortaya Çıkabilecek Olan Hastalıklar	2
2.2: Juvenil İdiyopatik Artrit Tedavisinde Kullanılan Biyolojik Ajanlar	11
3.1: Gruplar	18
4.1: Negatif ve Pozitif Kontrol Gruplarının Tanımlayıcı İstatistik Verileri	20
4.2: Negatif ve Pozitif Kontrol Gruplarının Histopatolojik İnflamasyon Bulguları Dağılımı	20
4.3: İntraartiküler Tedavi Grupları ile Kontrol Grubunun Karşılaştırılması	21
4.4: İntraartiküler Tedavi Gruplarının Tanımlayıcı İstatistik Verileri	22
4.5: İntraartiküler Tedavi Gruplarının Histopatolojik Skorum Verileri	22
4.6: İntraartiküler Tedavi Gruplarının Birbiriyle Karşılaştırılması	23

## **BÖLÜM 1**

### **GİRİŞ VE AMAÇ**

Artrit, eklem dokusunda inflamasyon ve buna bağılı gelişen değişiklikleri tanımlayan bir terimdir. Kliniğinde; eklemdede ağrı, hareket kısıtlılığı, kızarıklık, şişlik ve sıcaklık artışı bulguları vardır.

Romatizmal, hematolojik, enfeksiyöz veya ortopedik hastalıklara artrit eşlik etmektedir. Fizik muayenede artrit bulgularına ek olarak döküntü, lenfadenopati, organomegali, ateş, kalpte üfürüm gibi hastalığa spesifik bulgular saptanabilir. Hastanın yaşı, geçirilmiş enfeksiyonlar, travma, tutulan eklem sayısı, artrit süresi ve aile öyküsü ayırıcı tanı için önem kazanmaktadır.

Çocukluk çağı kronik artritleri çoğunlukla otoinflamatuvar zeminden başladığı için hastalarda artrite ek olarak sistemik bulgular da klinikte sık görülmektedir.

Hastaların tanısında özgül bir laboratuvar bulgusu yoktur. Bir çok hastada ortak laboratuvar bulguları olarak lökositoz, eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve C reaktif protein (CRP) yüksekliği saptanmaktadır.

Tedavide antiinflamatuvar ilaçlar kullanılmaktadır. Dirençli vakalarda morbidite ve mortaliteyi azaltmak için hücresel tedavi yöntemleri denenmektedir.

Bu çalışmada mortalite-morbiditenin azaltılması, tedavi maliyetinin en aza indirilmesi ve mevcut tedavilerin yol açtığı komplikasyonlardan korunmak amacıyla, deneysel artrit modeli oluşturulmuş ratlarda intraartiküler (İA) yolla verilen mezenkimal kök hücrelerin (MKH) sinoviyal inflamasyon üzerindeki etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi ve diğer İA uygulanan tedavilerle karşılaştırılması yapılmıştır.

## BÖLÜM 2

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1. Kronik İnflamatuvar Artrit

Otoimmün hastalıklar, sık görülen ve toplumun % 5-10'unu etkileyen klinik durumlardır. Juvenil idiyopatik artrit (JİA), sistemik lupus eritematozis ve juvenil dermatomyozit, çocukluk çağında görülen otoimmün hastalıklara örneklerdir. Bu hastalıklar, farklı fenotipte görülmelerine rağmen, benzer bulgular farklı genetik zeminlerden gelişebilmektedir. Bireylerde ve ailelerde görülen otoimmün bozukluklar farklı klinik tablolara neden olabilir. Örneğin, JİA'lı çocuklarda otoimmün tiroidit ve tip 1 diyabetes mellitus görülme sıklığı artmış olarak bulunmuştur (1).

Amerikan Romatizma Birliği, artriti şu şekilde tanımlamıştır: En az bir eklemden şişlik bulunması veya şişlik olmadığında ağrı, sıcaklık artışı, kızarıklık ve fonksiyon kaybı bulgularının en az ikisinin birlikte bulunmasıdır. Hayatın herhangi bir döneminde çocukların %7-8'inde eklem ağrısı şikayeti olurken bunların ancak %1'inde kronik artrit gelişir. Çocuklarda artrit ile ortaya çıkabilecek olan hastalıklar Tablo 2.1'de verilmiştir (2,3)

**Tablo 2.1. Çocuklarda Artritle Ortaya Çıkabilecek Olan Hastalıklar**

A. İnflamatuvar hastalıklar	B. Enfeksiyöz hastalıklar	C. Mekanik-ortopedik durumlar
Akut romatizmal ateş Juvenil idiyopatik artrit Spondilartropatiler Vaskülitler Sistemik lupus eritematosus Bağ dokusu hastalıkları Ailesel Akdeniz ateşi	Septik artrit Osteomyelit Selülit Diskit Subakut bakteriyel endokardit Enterik enfeksiyonlar Bruselloz Tüberküloz Viral enfeksiyonlar	Travma Aseptik nekrozlar İskelet displazileri
D. Hematolojik/Onkolojik	E. Diğerleri	
Lösemi Lenfoma Kemik tümörleri Yumuşak doku tümörleri Hemofililer Orak hücreli anemi	Reaktif postenfeksiyöz artrit Ürtikeryal artrit	

## 2.2. Epidemiyoloji

Yapılan çalışmalarda kronik artrit'in görülme sıklığı (insidans) 1,6-23/100.000 arasında olduğu ve yaygınlık oranının (prevalans) ise 3,8-400/100.000 arasında olduğu görülmüştür (4). Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda ise çocukluk çağında en sık kronik inflamatuvar artrit nedeni olan JİA'nın görülme sıklığı 64/100.000 olarak belirtilmiştir (5). Hastalık süresi, tutulan eklem sayısı ve uygulanan tedavi, hastalığın seyrini belirlemede önemli faktörlerdir. Hastalığın başlangıcının 7 yaşından önce olması, kız cinsiyet, hastalığın aktif bulgularının 5 yıldan fazla sürmesi, romatoid faktör (RF) pozitifliği, ilerlemiş radyolojik değişiklikler, immünglobülin (Ig) seviyesi yüksekliliği, aktif hastalık bulgusu olmaksızın akut faz reaktanlarının yüksekliliği, klinik seyrin kötü olacağını gösteren işaretler olarak kabul edilmektedir (2,6). Kronik inflamatuvar artritli hastalarda sinovit ve ilerleyici eklem hasarı nedeniyle fonksiyon kaybı ve ağrı hayat kalitesini etkilemektedir. Güncel tedavi yöntemleri ile kronik inflamatuvar artrit ne önlenebilir ne de tam olarak ortadan kaldırılabilmektedir. Hastaların çoğunda zrllk nedeniyle ruhsal durum bozuklukları bir arada görülmektedir (7,8). Kronik artrite bağlı ölüm oranı Avrupa'da %1'den az, Kuzey Amerika'da ise %0,3'ten az olarak saptanmıştır. Avrupa'da kronik artrit'e bağlı en sık ölüm nedeni amiloidoz iken; Amerika'da sistemik hastalık ve enfeksiyondur. Hastalığın morbidite, yaşam kalitesi ve ekonomik yükü değişmekle beraber, tedavi masrafı yıllık ortalama Amerika'da \$ 7905, Almanyada € 3500, İngiltere'de ise £ 1649 olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde ortalama maliyet çalışması yoktur (2).

### 2.3. Etiyoloji ve Patogenez

Kronik inflamatuvar artrit etiyopatogenezinde çevresel ve immünolojik etkenler üzerinde durulmaktadır. Çevresel etkenlerden etiyojide etkisi olduğu düşünülen nedenler; enfeksiyonlar, stres ve travmadır. Enfeksiyöz etkenlerden enterik enfeksiyonlar, parvovirus B19, rubella, kabakulak, Hepatit B Virüs'ü (HBV), Ebstein Barr Virüs (EBV), insan bağışıklık yetmezlik virüsü (HIV) ve mikoplazmanın patogenezde rol aldığı düşünülmektedir. İmmünolojik faktörlerden Sınıf 1 ve 2 İnsan Lökosit Antijen (HLA) alelleri ile birlikte HLA dışı gen bölgeleri artrit gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. En çok ilişkili bulunan doku grupları, HLA-B27 ve HLA-DR4'tür (2,9,10). Bununla beraber hem salgısal hem de hücreli bağışıklıktaki değişiklikler ile ilişkili otoimmünite hastalık gelişiminde etkilidir. T lenfositler tarafından üretilen interlökin (IL)-1, IL-6, ve tümör nekrozis faktör (TNF) alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin sinoviyumdaki inflamasyonu başlattığı ve devamlılığını sağladığı bilinmektedir. Sinoviyum hücrelerinin vücut dışı olarak algılanması sonucunda humoral immün sistemin de desteği ile sinoviyumdaki inflamasyonun devamlılığı ile birlikte kronikleşme süreci başlamış olur. Tüm bu immünolojik anormallikler sonucunda histopatolojik olarak villöz hipertrofi ve hiperplazi ile karakterize sinovit oluşumu görülür. Kontrol altına alınamayan hastalıkta eklem kıkırdağı ve komşu kemik dokunun hasarı ve pannus oluşumu gözlenir (2,9). Kronik inflamatuvar artritli hastaların sinoviyal membranında hiperplazi, artmış vaskülarite ve başta CD4 (+) T hücre olmak üzere inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmektedir. CD4 (+) T hücreler, hücreli immünitenin oluşmasında anahtar rol almaktadır. Genetik çalışmalar sonucunda kronik inflamatuvar artrit patogenezinde Klas 2 doku uyumluluk antijenleri ile güçlü bir ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Klas 2 doku uyumluluk antijenlerinin temel işlevi, CD4 (+) T hücrelere tanımlanmamış artrit oluşumuna neden olan antijenlerin sunumunu sağlamaktır. Bu antijenler viral proteinler gibi eksojen antijen olabileceği gibi endojen proteinler de olabilir. Antijen tarafından aktive edilmiş CD4 (+) T hücreler, IL-1, IL-6, TNF-alfa ve matriks metalloproteinazların (MMP) üretimi için monosit, makrofaj ve

sinoviyal fibroblastları uyarır. Bu sitokinler inflamasyondaki anahtar sitokinlerdir. CD4 (+) T hücreler, aynı zamanda B hücreleri uyararak Ig sentezini artırır. Aktive edilmiş T hücreler kronik inflamatuvar artrit modellerindeki eklem hasarına neden olan patogenezdaki en önemli faktörlerden biridir. Aktive olmuş makrofaj, lenfosit, fibroblastlar ve bunların ürettikleri sitokinler, anjiyogenezi uyarır ve bu durum sinovyumda artmış vaskülariteyi açıklar. Sinovyumdaki endotel hücreleri, adezyon moleküllerini aktive ederler; bu sayede inflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgesinde artışını destekler (11-13). Monosit, makrofaj, fibroblast ve T hücreler, çok fazla sayıda sitokin salımını sağlar. Bu sitokinlerden biri olan TNF-alfa, kronik inflamatuvar artrit patogenezinde karmaşık role sahip proinflamatuvar bir sitokindir. Yapılan çalışmalarda TNF-alfa düzeyi, çocuklarda ve erişkinlerdeki kronik inflamatuvar artritlerde hem serum hem de sinovyal sıvıda artmış olarak saptanmıştır (14,15). IL-1 ve TNF-alfa, sinovyal fibroblast, osteoklast ve kondrositler gibi mezenkimal hücrelerin uyarılması ile doku yıkımını sağlayan MMP salımını artırır. Bu sayede hücre dışı matriks parçalanması ve yeniden yapılanma sağlanır. MMP-3 ve kollajenazların, inflamatuvar artrit patogenezinde rol oynadığı ve bu hastalarda serum ile sinovyal sıvıda yüksek düzeyde bulunduğu bildirilmiştir (16,17). Eklemde saptanan kızarıklık, ağrı, ısı artışı ve şişlik inflamasyonun varlığının göstergesidir. Genetik, çevresel faktörler, bazı enfeksiyonlar ve hormonal nedenlerin etkisi ile eklem sinoviyumunda makrofajlardan TNF-alfa salımı artar. TNF-alfa; endotel hücrelerde adezyon moleküllerinin (E-selektin, VCAM, ICAM-1) salımı ile hücre göçünü; vasküler endotelial büyüme faktörü ile anjiyogenezi; inflamatuvar hücrelerde ise proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, IL-8, Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör) salımını ve nötrofil degranülasyonunu ile sinovyal fibroblastlarda, nötral MMP'ler, prostoglandin E2, nitrik oksit, süperoksitlerin yapımını artırarak ve doku metalloproteaz inhibitörü (TIMP) yapımını azaltarak eklemde inflamasyon oluşumu ile eklem dokusunda yıkımına neden olur (18). Makrofajların ürettiği proinflamatuvar sitokinler (IL-1 ve TNF-alfa) inflamasyonda önemli rol almaktadır. Bu sebeple makrofajların ürettiği sitokinlerin inhibitörleri günümüzde JİA tedavisinde

kullanılmaktadır (19). TNF-alfa ve IL-1 benzer biyolojik etkiye sahip olmasına rağmen, TNF-alfa sistemik ve lokal inflamasyona sebep olurken; IL-1 kırık ve kemik hasarında rol almaktadır. Ayrıca TNF-alfanın bloke edilmesi hastalık sırasında üretilen IL-1, IL-6, IL-8 ve Granülosit Makrofaj Koloni Stimüle Edici Faktör gibi diğer proinflamatuvar sitokinlerin de üretimini belirgin olarak düşürmektedir. Bu yüzden inflamasyona karşı anti-TNF tedavi diğer sitokinlere karşı olan tedavilerden daha kapsamlı etki göstermektedir (20)

#### **2.4. Tanı**

Bütün hastalıklarda olduğu gibi bu hastalarda da detaylı öykü ve fizik muayene bulguları, uygun laboratuvar testler ile desteklenerek tanı konur. Etkilenen eklem sayısı, ağrının yerleşimi, ağrının oluşum zamanı, süresi, niteliği, günlük hayatı etkileme durumu, travma varlığı mutlaka sorgulanmalıdır. Gezici eklem ağrılarında öncelikle akut romatizmal ateş (ARA) akla gelirken, sabahları ortaya çıkan ağrılar inflamatuvar, geceleri ortaya çıkan ağrılar ise mekanik veya ortopedik nedenler ön plandadır. Egzersizle azalan ağrılar inflamatuvar, egzersiz sonrası ortaya çıkan ağrılar ise mekanik veya ortopedik nedenleri düşündürür (21). Yaşanılan coğrafya, beslenme alışkanlıkları ve aşılama durumu öyküde detaylandırılmalıdır. Örneğin, ülkemizde sık görülen ailesel Akdeniz ateşi (AAA) gibi romatizmal bir hastalıkta artrit ana bulgular arasındadır (22). Ateş ile birlikte eklem ağrısının varlığı öncelikle enfeksiyöz, daha sonra inflamatuvar nedenleri düşündürür. Ülkemizde sık görülen enfeksiyöz nedenlerden biri olan Brusellozda da ateş ile birlikte en sık görülen klinik bulgu artrittir (23). Eklem ağrısına ek olarak kilo kaybı, kas güçsüzlüğü, yürüme bozukluğu, ateş gibi bulgular var olan sistemik bir hastalığın göstergesidir. Ateş ve kilo kaybının birlikte seyrettiği klinik tablo lösemi, lenfoma ve diğer maligniteleri akla getirmelidir (24). Tüm bunların yanında artritli çocuğun fonksiyonel yeterliliği de göz önüne alınmalıdır.

## 2.5. Klinik Bulgular

Artrit ile başvuran çocukta yapılacak sistemik muayene, tanı için önemli veriler sağlar. Eklemde hareketle artmış hassasiyet ya da ağrı, artmış sıcaklık veya eritem bulgularından iki veya daha fazlasının bulunması veya eklem içi efüzyon, artrit olarak tanımlanır (9). Artrit dışında hastalık belirtileri olarak; halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı ve büyüme gelişme geriliği gibi nonspesifik kronik hastalık bulguları da görülebilir (25). Hastalarda ateşin varlığı, şekli, seyri ve antipiretiklere cevabı çok önemlidir. Cilt bulgularından döküntü ve cilt altı nodüllerin varlığı mutlaka araştırılmalıdır. Eritema marginatum, ARA'nın önemli bir bulgusu iken; eritema nodozum, enfeksiyöz hastalıklar, Behçet hastalığı ve sarkoidozu düşündürür. Palpabl purpura gibi vaskülitik lezyonlar da artrit ile görülebilir (21). Kardiyolojik muayenede duyulan üfürüm, kapak tutulumu ile seyreden hastalık olan ARA'nın bulgusu olabilir. Bununla beraber sistemik lupus eritematozis'te (SLE) ve diğer romatizmal hastalıklarda da kapak tutulumu görülebilmektedir (26). Organomegali bir çok enfeksiyöz, inflamatuvar ve malign hastalıkta fizik muayene bulgusu olarak saptanabilir (27). Eklem bulguları ile başvuran çocuklarda ağız içi yaraların varlığı; Behçet hastalığı, Stevens-Johnson sendromu, Kawasaki sendromu ve kızıl benzeri streptokoksik enfeksiyonlarda görülebilir (28,29). Pes planus, skolyoz ve aseptik nekrozlar gibi bir çok ortopedik bozukluk, başlangıçta eklem ağrıları ile ortaya çıkabilir. Kronik artrit olan bir hastaya mutlaka göz muayenesi yapılmalıdır. Kronik inflamatuvar hastalıkların sekel bırakan, körlüğe neden olabilen üveit saptanması prognozun belirlenmesinde önem arz etmektedir (30).

## 2.6. Laboratuvar

Kronik artritlerde spesifik tanısal testler yoktur. Tanı genellikle tanımlanmış klinik kriterler ile konur. Bazı laboratuvar testleri, örneğin Makrofaj aktive edici sendromda (MAS) ferritin yüksekliği, SLE'de antinükleer antikor (ANA) pozitifliği, Wegener Granülomatozis'te C-Antinötrofil sitoplazmik antikor (C-ANCA) pozitifliği tanı kriterleri içinde yer almaktadır (2). Akut faz yanıtları inflamasyona bağlı olarak yüksektir ve tedavi etkinliğini belirlemede belirteç olarak kullanılır (31). Tam kan sayımında lökositoz, trombositoz veya trombositopeni ve anemi görülebilir. Trombositoz öncelikle inflamatuvar hastalıkları, trombositopeni ise maligniteleri akla getiren bir başlangıç bulgusu olabilir. Kronik hastalık anemisi ile uyumlu olarak hemoglobin değeri 7-10 g/dl arasında düşük olarak tespit edilebilir. Rutin biyokimyasal incelemelerde karaciğer enzimlerinde ve ferritinde yükselme gibi özgül olmayan laboratuvar bulguları tespit edilebilir. RF normal veya yüksek olabilir (9,21). RF pozitifliği, poliartiküler tip JİA'da %40-50 hastada görülmektedir. JİA'nın alt tiplerinden oligoartiküler ve poliartiküler tipte %40-85 oranında ANA pozitifliği saptanabilir. Bu, sistemik JİA'da nadirdir. ANA pozitifliği JİA'lı çocuklarda artmış üveit riski ile birlikte dir. Siklik sitriline peptid (CCP) antikorları JİA'da agresif hastalık göstergesidir. Ferritin genelde yüksektir. MAS gelişmiş hastalarda ferritin 10.000 ng/ml'nin üzerinde olabilir. Artritin erken görüntüleme bulguları, artritli eklem çevresinde periosteal kemik oluşumu, yumuşak dokuda şişlik ve eklem çevresinde osteoporozdur. Hastalığın ilerleyen aktif dönemlerinde kemik harabiyeti, kırıkta yıkım ve füzyon gelişebilir. RF pozitifliği erozyonla ve radyografik ilerleme ile bağlantılı bulunmuştur (32-34).

## 2.7. Genel Tedavi Yaklaşımı

Hastalık için yeni tedavi yöntemleri halen araştırılmaktadır. Tedavinin amacı; inflamasyonu kontrol altına almak, kronik inflamasyonun günlük yaşamı etkileyecek olumsuz etkilerini azaltmak, eklem harabiyetini önlemek, eklem fonksiyonunun düzenlenmesi için gerekli fiziksel aktivitelerin planlanması, uygulanması ve gerektiğinde cerrahi işlemlerin yapılmasını sağlamaktır. Birden çok uzmanlık alanı içeren tedavi yöntemleri bulunmaktadır. Romatoloji, fiziksel tıp ve rehabilitasyon, ortopedik cerrahi, ruh sağlığı bilim dalları ile birlikte hasta ve ebeveynler de tedaviye aktif olarak katılmalıdır.

### 2.7.1. Farmakolojik Tedavi

Farmakolojik tedavinin temelini antiinflamatuvar ilaçlar oluşturmaktadır. JİA tedavisinde özellikle oligoartrit alt tipinde başlangıçta asetil salisilik asit veya steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar: NSAİİ) kullanılmaktadır. Çocukluk çağında en sık kullanılan NSAİİ'ler naproksen sodyum, ibuprofen, meloksikam ve indometazindir. Bu ilaçlar düşük dozlarda analjezik; yüksek dozlarda ise antiinflamatuvar etki gösterirler. NSAİİ'lerin ağrıyı gidermesi tedavinin ilk birkaç günü olurken antiinflamatuvar etkinlikleri 3 aya kadar sürebilir. Yan etki profili geniş olmasa da NSAİİ'ların en sık görülen yan etkileri gastrointestinal sistemle ilgili yan etkileridir (2,35). NSAİİ'lerin tedavide tek başlarına etkili olmadıkları durumda diğer farmakolojik ajanlara ihtiyaç duyulur. Bu durumlarda tedaviye kortikosteroidler, metotreksat, sülfasalazin, siklosporin ve daha yeni tedavi modalitelerinden biyolojik ajanlar eklenebilir. Oligoartrit alt tiplerinde diğer alt tiplere göre eklem tutulumu daha az olması nedeniyle NSAİİ'ler ile kontrol altına alınamayan artritlerde İA kortikosteroid tedavisi ile de başarı sağlanabilmektedir. İntraartiküler uygulanan kortikosteroidler hızlı, etkili ve uzun süreli tedavi sağlar. İntraartiküler steroid verilerek yapılan bir çalışma sonuçlarına göre hastaların % 70'inin ilk 1 yıl içerisinde artritinin

tekrarlamadığı gözlemlenmiştir (36,37). İntraartiküler yolla triamsinolon uygulanan hastalarda eklem bir yıllık izleminde sinovitin belirgin düzelmesi ve eklemden hasar bulgusunun görülmemesi nedeniyle günümüzde en sık uygulanan kortikosteroiddir (38). İntraartiküler steroid tedavisinin küçük çocuklara uygulama zorluğu, sistemik uygulanan kortikosteroidlerin ve Metotreksat, sulfosalazin, siklosporin gibi hastalığı modifiye edici ilaçların (DMARD) yan etkileri nedeniyle, bu ilaçlara göre daha az yan etkiye sahip biyolojik ajanlar sıklıkla bir sonraki basamakta tercih edilmektedir. Bu biyolojik ajanlar TNF-alfa, IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerin etkinliğini azaltarak, T ve B hücrelerin etkinliğine yönelik mekanizmaları üzerinden tedavide kullanılmaktadır (39). TNF-alfa inhibitörü olan etanersept, rekombinant teknoloji ile oluşturulmuş insan solubl TNFp75 reseptör ile IgG1 Fc kısmının füzyon proteindir. Bu ilaç TNF-alfa ve lenfotoksin alfaya bağlanarak aktivitelerini azaltarak etki gösterir (40). Sistemik uygulanan kortikosteroidlere ve DMARD'lara göre tedavide daha etkin ve güvenilir olduğu kanıtlanmış bir biyolojik ajandır (39). JİA tanılı 4-17 yaş çocuklarda haftada bir 0.8 mg/kg dozda subkutan enjeksiyonu klinikte onaylanmıştır (41). En sık görülen yan etkileri enjeksiyon yeri reaksiyonlarıdır. Sistemik yan etkileri olarak ciddi enfeksiyonlarda artış, uzun süreli kullanımda genotoksisite yoluyla lenfoma ve solid kanserlerde artış, nörolojik inflamatuvar hastalıklarda artış, lupus benzeri sendrom olarak bildirilmiştir (42-45). Etanerseptin İA uygulanması ile ilgili az sayıda randomize kontrollü çalışma mevcuttur. Patogeneizde ana rol oynayan sitokin TNF-alfanın İA tedavisiyle azaldığını gösteren çalışmaların yetersiz olması sebebiyle bu konuyu daha derin araştırılıp 1950'lerden bu yana kullanılan ve yan etkisi daha fazla olan geleneksel İA kortikosteroid tedavisine alternatif tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi gerekmektedir (46). JİA tedavisinde kullanılan tüm biyolojik ajanlar mekanizma ve kullanılan dozları ile birlikte Tablo 2.2'de ayrıntılı olarak verilmiştir (47).

**Tablo 2.2. Juvenil İdiyopatik Artrit Tedavisinde Kullanılan Biyolojik Ajanlar**

İlaç	Mekanizma	Doz
Etanersept	TNF baskılanması, füzyon protein TNF Reseptör baskılanması	0,8 mg/kg/hafta ya da haftada iki kez 0,4 mg/kg (en üst doz 50 mg/hafta)
İnfliksimab	TNF baskılanması, anti-TNF monoklonal kimerik antikor	5-10 mg/kg/ay (en üst doz 200 mg/ay)
Adalimumab	TNF baskılanması, anti TNF monoklonal antikor	<30 kg: 20 mg/2 haftada bir, >30 kg: 40 mg/2 haftada bir, 24 mg/m <sup>2</sup> /14 gün
Anakinra	IL-1-reseptör karşıtı	2-10 mg/kg/gün (en üst doz 200 mg/gün)
Kanakinumab	IL-1 inhibitör, anti IL-1beta monoklonal antikor	<40 kg: 4-6 mg/kg/ 4-8 hafta, >40 kg: 150-300 mg/doz/4-8 hafta
Riloncept	IL-1 baskılanması; çözünebilir füzyon proteini	2,2-4,4 mg/kg/hafta
Tosilizumab	IL-6 reseptör antagonist	≤30 kg, 12 mg/kg/2-4 hafta ≥30 kg, 8 mg/kg/2-4 hafta (en üst doz 400 mg)
Abatasept	T hücre kostimulatörü; çözünebilir füzyon proteini	10 mg/kg/4 hafta (en üst doz 500 mg)
Ritüksimab	CD20 antijen baskılanması	375 mg/m <sup>2</sup> /hafta, 4 hafta süre ile, (en üst doz 500 mg)

### 2.7.2. Beslenme

JİA'lı hastalarda gelişme geriliğinden obeziteye kadar giden beslenme bozukluğuna bağlı klinik durumlar çalışmalarda gösterilmiştir. Her hastada beslenme durumu gerekiyorsa beslenme ve diyet uzmanı desteğinde özenle takip edilmelidir. Kullanılan ilaçlardan özellikle steroidlere bağlı gelişme geriliği ve kemik mineralizasyon bozuklukları gelişebileceğinden bu hastalara kalsiyum, D vitamini ve folik asit desteği verilmelidir (2).

### 2.7.3. Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon

Fiziksel tedavi ve rehabilitasyonun amacı, ağrı ve fonksiyon kaybının azaltılması, eklem hareketlerinin düzelmesi ile birlikte bunun devamlılığının sağlanması ve sakatlığın azaltılmasını sağlamaktır. Farmakolojik tedavi ile eş zamanlı fizik tedavi programının uygulanması özellikle çocukluk çağında kritik öneme sahiptir (2).

#### **2.7.4. Ortopedik Cerrahi**

Küçük çocuklarda hastalığın tedavisinde sınırlı bir role sahiptir. Fakat, hastalığın ilerleyen dönemlerinde farmakolojik ve fizik tedaviye yanıtız olgularda eklem kontraktürleri, dislokasyon veya eklem replasmanı tedavinin önemli bir bileşeni haline gelebilmektedir. Ortopedik cerrahide sinovyektomi, yumuşak doku cerrahisi ve rekonstrüktif cerrahi yöntemleri uygulanmaktadır (2).

#### **2.8. Klinik Seyir ve Prognoz**

Çocukluk çağında kronik inflamatuvar artritli hastaların eklem ve eklem dışı tutulumları nedeniyle hayat kalitesi, büyüme-gelişmesi, ruh sağlığı olumsuz etkilenmektedir. Kronik artritli çocuklarda salınan sitokinlerin etkisiyle kemik ve eklem gelişimi olumsuz etkilenmekte ve hastaların gelişimi yaş gruplarına göre geriden seyretmektedir. Epifiz plaklarının erken kapanması nedeniyle hastalar genellikle kısa boyludurlar. Tutulan eklem bölgelerine göre değişmekle beraber kas-iskelet sistemindeki morfolojik anormalliklerine bağlı olarak mikrognati, orantısız ekstremite kısalıkları ve osteoporoz gelişebilmektedir. Bu olumsuz tablolar yalnızca artrit patogenezi sonucunda değil, uygulanan tedavilere (kortikosteroidler gibi) bağlı olarak da gelişebilmektedir (31). Kronik artritli hastaların önemli eklem dışı komplikasyonlarından biri olan üveit, sinsi başlangıçlı ve ağrısız olup, tedavi edilmez ise körlüğe neden olabilen klinik bir tablodur (48). Bununla beraber altta yatan hastalığa bağlı olarak böbrek, kalp-damar sistemi, cilt, santral sinir sistemi ve seröz zarların tutulumu artrit kliniğine eşlik edebilir. Hastalarda kronik hastalık anemisi de sık olarak görülmektedir (9).

## 2.9. İnflamatuvar Artritte Hayvan Modelleri

Deney hayvanları ile oluşturulan kronik inflamatuvar artrit modelleri, hastalığın patogenezinin aydınlatılması, potansiyel artrit tedavi edici ilaçların denenmesi ve farmasötik endüstrinin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Tedavide kullanılacak birçok ilacın yan etkisinin ve organizmaya uzun dönemde toksisitesinin bilinmemesi, araştırmacıları deneysel tedavilerin insanlardan önce deney hayvanlarında kullanımına yöneltmiştir. Birçok romatoid artrit (RA) modelinde saptanan patogenetik süreç, insandaki RA gelişimine yakın sonuçlanmıştır. Bu sebeple hayvan modelleri artrit tedavi faz çalışmalarında halen yaygın olarak kullanılmaktadır.

Hayvan modellerinde primat, sıçan, fare, tavşan ve daha büyük hayvanlar (Köpek, domuz, koyun gibi) kullanılmaktadır. En sık kullanılan modeller fare ve sıçan modelleridir. Hayvan modellerinde çeşitli inflamasyon oluşturan ajanlar deneklere sistemik ya da lokal uygulanarak organizmada kronik inflamasyon tetiklenir. İnsandaki RA hastalığının denekteki bulgularının oluşması sağlanarak hastalığın tedavisi için prelinik deneysel çalışmalar ile deneklerdeki klinik, laboratuvar ve görüntüleme bulguları değerlendirilir. Günümüzde kronik inflamasyonun oluşumunu tetikleyen bir çok ajan bulunmaktadır. Bu ajanlarla sıçanlarda oluşturulan deneysel artrit yöntemlerinden en etkin ve kabul görmüş olanları adjuvanla oluşturulan artrit ve tip II kollajen ile oluşturulan artrit modelleridir. Farelerde ise daha sık tip II kollajen ve antijen (Metillenmiş Sığır Serum Albümin) ile oluşturulmuş artrit modeli kullanılmaktadır. İnflamasyonu tetikleyen ajan hayvanların kuyruğuna, pençesine ya da eklem içine uygulanarak inflamasyonun oluşması sağlanır (49,50). Adjuvan ile oluşturulmuş artritte parafin yağı ile güçlendirilmiş mikobakteri kapsülündeki bir antijene karşı gelişen immünolojik bir yanıt söz konusudur. Bu model, hücresel immün yanıtla oluşması ve histopatolojik görünümünün benzerliği nedeniyle RA modeli olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Sadece hastalığın patogenezinin araştırmak için değil, pek çok antiinflamatuvar, immünosüpresif, immünomodülatör ilaçların özelliklerini araştırmak için de kullanılmaktadır (51,52).

## 2.10. Mezenkimal Kök Hücreler

### 2.10.1. Genel Bilgiler

MKH'ler çoğalma ve farklılaşma kapasiteleri çok fazla olan erişkin tip kök hücrelerden biridir. Bu hücreler, kemik iliği kordon kanı, kordon stroması, plasenta, amniyon sıvısı, plasenta zarı, fetal doku ve yağ dokusu gibi dokulardan kolayca izole edilip üretilmektedir. Kolay çoğaltılabilmesi, farklılaşma yeteneğinin fazla olması ve immünsüpresif özelliklerinden dolayı, bu hücreler ile yapılan klinik araştırmalar günümüzde hız kazanmıştır. MKH, kültüre edildikleri zaman diğer kök hücrelerden farklı olarak kültür kaplarına yapışan hücreler olması ile diğer kök hücrelerden ayrılmaktadır. Stromal kökenli olmaları ve destek hücresi özellikleri ile birlikte yağ, kemik, kıkırdak, tendon, ligament, dental, karaciğer, sinir ve kas hücrelerine farklılaşma yetenekleri bulunmaktadır (53-55). En zengin MKH kaynağı, hücre sirkülasyonunun çok fazla olduğu kemik iliği olsa da; bu hücreler, karaciğer, yağ dokusu, kas dokusu, diş dokusu, kordon kanı ve kordon stroması, plasenta ve plasenta zarı, sinovyal sıvı, hatta periferik kandan bile izole edilebilmektedir (56-59). MKH'ler kendilerine ait antijenik bir özellik taşımazlar. Genel olarak, kas epitel ve endotel hücreleri ile benzer fenotipik özellikleri olduğu görülmektedir. Üretilmiş MKH'lerde CD11, CD14, CD34, CD45, CD alfa, CD1, Sınıf 2 HLA, hematopoietik kök hücre belirteçlerinin pozitifliği %2'nin altında olmalıdır. Yine MKH için tipik olduğu bilinen belirteçler CD29, CD44, CD73, CD90 ve CD105'tir (60,61). MKH'lerin uygun koşullar altında bağ dokusu başta olmak üzere çeşitli hücre tipine dönüşebildiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda *in-vitro* şartlarda kondrojenik, miyojenik, adipojenik ve osteojenik dönüşüm kapasiteleri ile hematopoietik stroma oluşturabildikleri gösterilmiştir (62). MKH'lerin en önemli özelliklerinden birisi immünmodülatör olması ve immünojenitesinin çok düşük olmasıdır. Bu hücreler, HLA-DR ve kostimülatör molekülleri barındırmazlar. Aynı zamanda regülatuar T hücrelerini indükler ve aktif B lenfositleri inhibe ederler (63).

## 2.10.2. Klinik Kullanımı

MKH'ler, çeşitli dokulara, hücelere farklılaşarak ya da hücreler arası etkileşim sağlayacak faktörler sentezleyerek hasarlı doku veya organ rejenerasyonuna katkı sağlamaları, *in-vitro* şartlarda kolaylıkla üretilebilmeleri, hasarlı dokuya göç etme yetenekleri ve immün sistemi baskılayıcı özellikleri nedeniyle klinisyenlere birçok alanda kullanılabilme şansı sunmaktadır.

MKH'ler mezodermal kökenli kondrositler, myoblastlar, osteoblastlar ve adipositlere, nöronlar gibi ektodermal kaynaklı ve hepatositler gibi endodermal kaynaklı hücelere dönüşebildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (64-67). MKH'ler ile doku rejenerasyonu ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğunun konusu kardiyovasküler hastalıklar oluşturmaktadır. Miyokard hasarı oluşturulmuş deney hayvanlarında allojenik veya otolog MKH uygulamasından sonra bu hücrelerin hasarlı bölgede toplandığı gösterilmiştir (68,69). İnsanlarda yapılmış çalışmalarda akut myokard infarktüsü geçirmiş hastalara MKH verilmesi ile hasarlı kalp dokusunun boyutunun küçüldüğü bildirilmiştir (70,71). Allojenik veya otolog hematopoetik kök hücre nakli ile beraber MKH verilmesinin hematopoiezi indüklediği, myeloid ve trombosit engrafmanını hızlandırdığı gösterilmiştir (72). MKH'ler T hücreleri, doğal öldürücü hücreleri (NK hücreleri), B lenfositler ve dentritik hücreler üzerinde immünmodülatör etkiye sahip olmaları ve antiinflamatuvar etkinlikleri nedeniyle klinik durumda denenmiştir (73).

MKH'lerin immünsüpresif özelliklerinden dolayı günümüzde özellikle allojenik kök hücre nakli sonrası gelişen akut greft versus host hastalığı tedavisinde steroid dirençli evre III-IV hastalarda kullanılmakta ve yüz güldürücü sonuçlar alınmaktadır (74).

### 2.10.3. İnflamatuvar Artritte Kullanımı

Normal sağlıklı insanların sinoviyal sıvısında 250 CFU-F / 1 milyon sinovisit olduğu gösterilmiştir. MKH sayısı ilerlemiş RA'lı hastaların sinoviyal sıvısında daha fazla saptanmıştır. MKH'ler, RA'lı hastaların sinoviyal sıvısının visköz, antiadeziv ortamında canlı kalabilmektedir (75,76). Eklemdeki MKH'ler interferon (IFN) gama, TNF-alfa, transforme edici büyüme faktörü (TGF) beta 1 üretimini inhibe ederken IL-4, IL-10 seviyelerini artırır ve IL-14 sekresyonlarında düzenleme yapmaktadır. MKH'ler, tip 2 kollajen gibi matriks proteinlerini üreterek rejenerasyonda katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte hepatosit büyüme faktörü, TGF beta, IL-1, IL-3, IL-6, IL-7, IL-11, stem cell faktör gibi moleküllerin salınımını artırarak mikroçevresini düzenleyerek hasarlanmış veya inflamasyon olan dokuda rejenerasyona katkıda bulunur. JİA'lı hastaların sinoviyal sıvısındaki MKH'lerin immünomodulator etkiye sahip olduğu bulunmuştur (77-80). Lokal uygulanan kemik iliği veya adipoz doku kaynaklı MKH'ler eklemde sinoviyal inflamasyonu azaltması, apoptozisi engellemesi ve fibrozisi azaltması vasıtasıyla kıkırdak dejenerasyonunun azaltılması, kondrosit proliferasyonunu uyarması ve ekstraselüler matriks üretimi gibi rollerinin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (81). Geleneksel tedaviye yanıtız RA'lı hastalarda bugüne kadar yapılan MKH tedavisi ile ilgili çalışmalarda MKH'lerin ciddi yan etkisi gözlemlenmemiş olup, klinik, laboratuvar ve hastalık aktivitesi ile ilgili olumlu sonuçlar elde edilmiştir (82).

### BÖLÜM 3

#### GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 8 Mayıs 2014 gün ve 2014-27 numaralı onay kararı ile Gülhane Askeri Tıp Akademisi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda veteriner ve deney hayvanı kullanım sertifikası olan çalışmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada 200-250 gram ağırlığında 6 gruba ayrılmış ve toplam 48 adet Sprague-Dawley türü erkek rat kullanılmıştır. Ratlar yiyecek ve suyu serbestçe almaları sağlanarak, standart oda sıcaklığında (Ortalama 22°C) ve 12 saatlik aydınlık karanlık döngüsü bulunan laboratuvar koşullarında barındırılmıştır. Çalışmada oturmuş bir kronik inflamatuvar artrit modeli olan adjuvan ile oluşturulmuş artrit modeli kullanılmıştır. Bu model ile İA yolla kronik inflamasyon oluşturacak bir adjuvan olan Complete Freund Adjuvant (CFA: 10 mg mycobacterium, F5881; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) uygulanarak artrit oluşması sağlanmıştır. CFA, daha önce uygulanan oturmuş yöntemlerdeki gibi hayvanların tek taraflı diz eklem boşluğuna 28 numaralı iğne ile dik olarak girilerek 0,2 ml enjekte edilmiştir. CFA enjekte edilen eklemdeki inflamatuvar reaksiyon günlük takibe alınıp şişlik, kızarıklık, fonksiyon azalması gibi klinik artrit bulguları takip edilmiştir. Artrit bulgularının görüldüğü gün İA tedaviler uygulanmıştır. Yapılan ön çalışmada ve bu çalışmaya benzer yapılmış adjuvan ile oluşturulmuş artrit çalışmalarında artrit bulguları 3 haftada klinik ve histopatolojik olarak ortaya çıkmıştır (83,84). Hayvanlar, artrit oluşana kadar özel kafeslerinde (25 cm genişlik x 50 cm çap x 20 cm yükseklik) ayrı tutulmuştur. Tüm İA uygulamalar, genel anestezi altında yapılmıştır. Genel anestezik ilaç olarak xylazine 10 mg/kg ve ketamin 50 mg/kg dozda intraperitoneal yolla verilmiştir. Çalışmadaki 6 grup, detaylandırılacak olursa; Grup 1, İA salin uygulanan ve uygulamadan 3 hafta sonra sakrifiye edilen negatif (sağlıklı) kontrol grubu; Grup 2, İA adjuvan uygulanıp artrit oluşturulan, tedavi verilmeyen ve artrit oluştuktan 3 hafta sonra sakrifiye edilen pozitif kontrol grubu; Grup 3, artrit oluşturulduktan sonra İA salin uygulanan ve tedaviden 5 hafta sonra sakrifiye edilen plasebo

tedavi grubu; Grup 4A, artrit oluşturulduktan sonra İA MKH tedavisi verilen ve tedavi sonrası 3. haftada sakrifiye edilen tedavi grubu; Grup 4B, artrit oluşturulduktan sonra İA MKH tedavisi verilen ve tedavi sonrası 6. haftada sakrifiye edilen tedavi grubu; Grup 5, artrit oluşturulduktan sonra İA triamsinolon verilen ve tedavi sonrası 1. haftada sakrifiye edilen tedavi grubu; Grup 6 ise, artrit oluşturulduktan sonra İA etanersept verilen ve tedavi sonrası 2. haftada sakrifiye edilen tedavi grubu olarak belirlenmiştir. Verilen tedaviler ve dozları sırasıyla; kontrol gruplarına %0,9 NaCl 0,1 ml İA, tedavi gruplarına ise sırasıyla  $10^6$  hücre MKH (85), 1 mg/kg triamsinolon İA (86), etanersept 0,1 mg/kg İA verilmiştir (87). Grupların ayrıntıları Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1. Gruplar**

Grup	Açıklama	Uygulanan Madde ve Uygulama Yolu	Doz	Sakrifikasyon süresi
Grup 1	Negatif kontrol grubu	İA Salin	0,2 ml	3 hafta
Grup 2	Pozitif kontrol grubu	İA CFA	0,2 ml CFA	3 hafta
Grup 3	Plasebo tedavi grubu	İA CFA, Artrit oluştuktan sonra İA Salin	0,2 ml CFA, 0,1 ml Salin	5 hafta
Grup 4A	Mezenkimal kök hücre tedavi grubu 1	İA CFA, Artrit oluştuktan sonra İA MKH	0,2 ml CFA, $10^6$ hücre	6 hafta
Grup 4B	Mezenkimal kök hücre tedavi grubu 2	İA CFA, Artrit oluştuktan sonra İA MKH	0,2 ml CFA, $10^6$ hücre	9 hafta
Grup 5	Kortikosteroid tedavi grubu	İA CFA, Artrit oluştuktan sonra İA triamsinolon	0,2 ml CFA, 1 mg/kg	4 hafta
Grup 6	Etanersept tedavi grubu	İA CFA, Artrit oluştuktan sonra İA etanersept	0,2 ml CFA, 0,1 mg/kg	5 hafta

Sprague Dawley türü fare femurundan kemik iliği örnekleri alındıktan sonra kemik iliği hücreleri Dulbecco's modified Eagle's vasatına ekilmiştir. MKH'nin yapışma özelliği olmasından dolayı yapışmayan kök hücreler besi ortamı yenilerek ortamdaki uzaklaştırılmış ve yaklaşık 2 hafta sonra MKH yoğunluğu %80-90 oranına ulaştığında MKH ortamdan tripsin ve EDTA yardımı ile ayrıştırılmıştır. Elde edilen hücrelerin akım sitometride CD105, CD73, CD90 eksprese ettikleri, hematopoietik belirteç olan CD45'i eksprese etmedikleri gösterilmiş ve bu hücrelerin MKH olduklarını kesinleştirilmiştir.

Hazırlanan MKH ürünleri viabilite, apirojenite, immün fenotiplendirme, hücre sayımı testleri yapılmıştır.

Ratlar 50 mg/kg dozda intraperitoneal anestezi olan ketamin uygulanarak sakrifiye edilmiştir. Diz eklemleri kaslardan ayrıştırılarak %10'luk tamponlanmış nötral formalin ile fikse edilmiştir. Eklem katılan kemikler, gerekiyorsa 30 mL %10 formik asit içinde mekanik ajitasyon ile birlikte dekalsifiye edilmiştir. Sinovyum ve yumuşak dokular tespit sonrası tümüyle işleme alınmıştır. Daha sonra, doku örnekleri doku takip cihazında rutin parafin takibe alınıp her bir doku örneği parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan standart 4 mikrometre kalınlığında kesitler alınmış olup ışık mikroskopik inceleme için H&E yöntemi ile boyanmıştır. Tüm vakalar, vaka grupları ve yapılan işlemler hakkında bilgilendirilmemiş (blinded), bu konuda deneyimli bir patoloji uzmanı tarafından değerlendirilmiştir. Daha önceden belirtilen şekilde artrit şiddetini belirlemede sinoviyal hipertrofi, mononükleer hücre infiltrasyonu, kırıldak destrüksiyonu ve kemik erozyonu dikkate alınarak 0-3 arasında değişen değerlerde, yarı-kantitatif bir derecelendirme sistemi kullanılmıştır (0= değişiklik yok, 1=hafif artrit, 2=orta şiddette artrit, 3=şiddetli artrit) (88).

Verilerin istatistiksel analizi SPSS Statistics 15.0 for Windows paket programı ile yapıldı. Deneklerin histopatolojik bulguları için tanımlayıcı istatistik yapıldı. Tanımlayıcı istatistiklerde her grup için denek sayısı, toplam popülasyona oranları; histopatolojik inflamasyon derecelerinin ortanca, en düşük, en yüksek, ortalama, standart sapma değerleri ortaya konmuştur. Normal dağılıma uymayan veriler için 2 grubun inflamasyon dereceleri ortalamalarının istatistiksel karşılaştırılması için Mann Whitney U Testi kullanılarak anlamlılık düzeyi olan p değeri 0,05 değeri kabul edilerek; 2'den fazla sayıda grupların karşılaştırılmasında ise düzeltilmiş p değeri olarak karşılaştırılan grup sayısının 0,05'e bölünerek düzeltme uygulanıp ortaya çıkan p değeri dikkate alınarak karşılaştırma yapılmıştır. Karşılaştırma sonunda anlamlı fark gösteren alt grubu belirleyebilmek için çoklu karşılaştırma testi olarak düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

## BÖLÜM 4 BULGULAR

### 4.1. Adjuvanın Etkinliği

İA salin verilen negatif kontrol grubunda (Grup 1) tüm ratlarda ön görülen 3 haftalık izlem sürecinde herhangi bir eklem şişliği, kızarıklığı, fonksiyon kaybı gibi artrit bulguları gözlemlenmemiştir. İA adjuvan (CFA) verilen pozitif kontrol grubunda (Grup 2) ratların izlemi sırasında 1-3 gün içerisinde akut artrit bulguları tüm ratlarda görülmüştür. Artritin kronikleşme süreci olarak belirlenen 3'üncü haftada klinik olarak artrit bulgularının devam ettiği görülmüştür. Her iki grubun 3'üncü haftasında ötenazi sonrasında eksize edilen eklemlerin histopatolojik incelemesindeki artrit şiddetlerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda anlamlı istatistiksel farklılık kaydedilmiştir (p 0,001766). Grupların tanımlayıcı istatistik bilgileri ve histopatolojik değerlendirme sonuçları sırasıyla Tablo 4.1 ve Tablo 4.2'te verilmiştir.

**Tablo 4.1. Negatif ve Pozitif Kontrol Gruplarının Tanımlayıcı İstatistik Verileri**

Gruplar	Sayı	Median	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma
Grup 1 (İA Salin)	6	0	0	0	0	0
Grup 2 (İA CFA)	6	2,5	2	3	2,5	0,548

**Tablo 4.2. Negatif ve Pozitif Kontrol Gruplarının Histopatolojik İnflamasyon Bulguları Dağılımı**

Gruplar	0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Ağır)	Toplam [n (Oran)]
Grup 1 (İA Salin)	6 (%100)	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)	6 (%100)
Grup 2 (İA CFA)	0 (%0)	0 (%0)	3 (%50)	3 (%50)	6 (%100)

## 4.2. Tedavilerin Etkinliğinin Değerlendirilmesi

İA adjuvan verildikten sonra kronik inflamatuvar artrit oluşumu sonrasında (3 hafta), İA salin verilen Grup 3 ile diğer tedavi grupları (Grup 4a, 4b, 5, 6) istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. İA salin verilen Grup 3 ile İA MKH verildikten 3 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 4a arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır. İA verilen MKH'nin 3 haftada kronik inflamatuvar artrit tedavisinde etkili olmadığı görülmüştür. İA salin verilen Grup 3 ile diğer tedavi grupları olan İA MKH verilip 6 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 4b, İA Triamsinolon verilip 1 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 5 ve İA etanersept verilip 2 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 6 arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösterilmiş ve kronik inflamatuvar artrit tedavisinde bu tedaviler etkin bulunmuştur. İstatistiksel analiz detayları Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.3. İntraartiküler Tedavi Grupları ile Kontrol Grubunun Karşılaştırılması**

Karşılaştırılan Gruplar		*p
Grup 3 (İA Salin)	Grup 4a (İA MKH 3 hafta)	0,484
Grup 3 (İA Salin)	Grup 4b (İA MKH 6 hafta)	<b>0,008</b>
Grup 3 (İA Salin)	Grup 5 (İA Triamsinolon 1 hafta)	<b>0,003</b>
Grup 3 (İA Salin)	Grup 6 (İA ETA 2 hafta)	<b>0,001</b>
İA: İntraartiküler MKH: Mezenkimal kök hücre ETA: Etanersept * p değeri <0,01 istatistiksel anlamlı farklılık kabul edilmiştir.		

Tanımlayıcı istatistik bulguları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.4. İntraartiküler Tedavi Gruplarının Tanımlayıcı İstatistik Verileri**

Gruplar	Sayı	Median	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart Sapma
Grup 3 (İA Salin)	6	2	2	2	2	0
Grup 4a (İA MKH 3 hafta)	5	2	1	3	1,8	0,837
Grup 4b (İA MKH 6 hafta)	5	1	1	2	1,2	0,447
Grup 5 (İA Triamsinolon 1 hafta)	7	0	0	2	0,29	0,756
Grup 6 (İA ETA 2 hafta)	10	1	0	2	0,8	0,632

Tüm tedavi gruplarının eklem eksizyonları sonrasında yapılan histopatolojik değerlendirme ayrıntıları da Tablo 4.5'te verilmiştir.

**Tablo 4.5. İntraartiküler Tedavi Gruplarının Histopatolojik Skorum Verileri**

Gruplar	0 (Yok)	1 (Hafif)	2 (Orta)	3 (Ağır)	Toplam [n (Oran)]
Grup 3 (İA Salin)	0 (%0)	0 (%0)	6 (%100)	0 (%0)	6 (%100)
Grup 4 (İA MKH 3 hafta)	0 (%0)	2 (%40)	2 (%40)	1 (%20)	5 (%100)
Grup 5 (İA MKH 6 hafta)	0 (%0)	4 (%80)	1 (%20)	0 (%0)	5 (%100)
Grup 6 (İA Triamsinolon 1 hafta)	6 (%85,7)	0 (%0)	1 (%14,3)	0 (%0)	7 (%100)
Grup 7 (İA ETA 2 hafta)	3 (%30)	6 (%60)	1 (%10)	0 (%0)	10 (%100)

Kronik inflamatuvar artrit tedavisinde etkili olan İA MKH verilir 6 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 4b, İA Triamsinolon verilir 1 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 5 ve İA etanersept verilir 2 hafta sonra sakrifiye edilen Grup 6 arasındaki tedavi etkinliklerinin karşılaştırılması amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gösterilememiştir (Tablo 4.6).

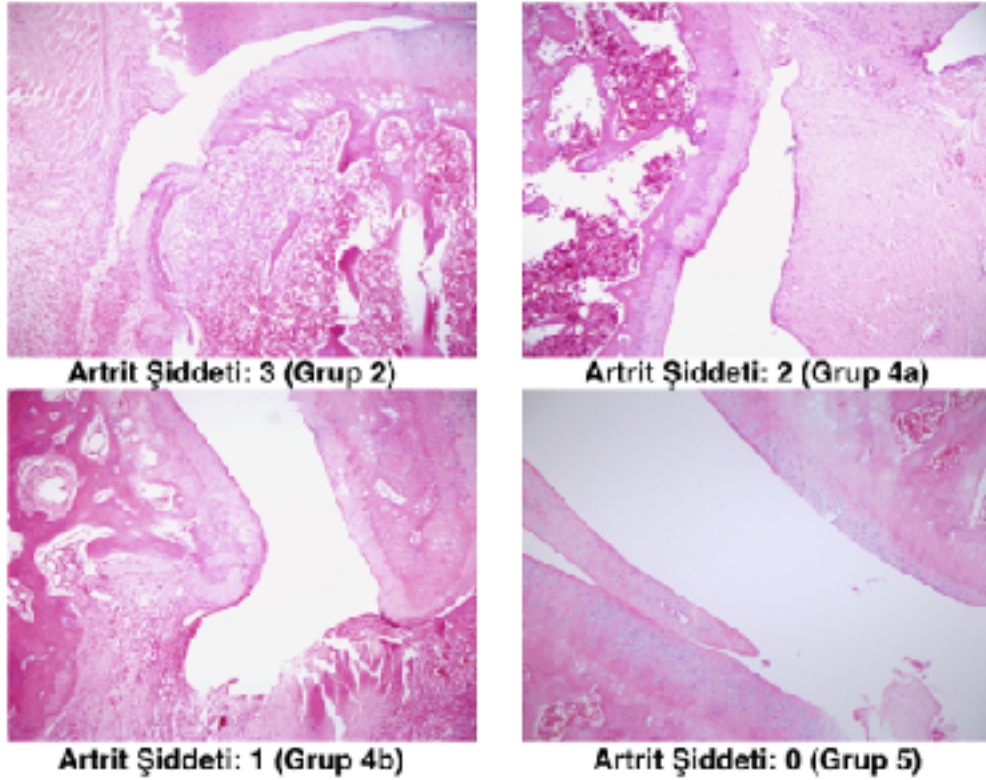
**Tablo 4.6. İntraartiküler Tedavi Gruplarının Birbiriyle Karşılaştırılması**

Karşılaştırılan Gruplar		*p
MT İA CFA MSC 6hf	MT İA CFA Steroid 1hf	0,021
MT İA CFA MSC 6hf	MT İA CFA ETA 2hf	0,212

\* p değeri <0,0167 istatistiksel anlamlı farklılık kabul edilmiştir.

Şekil 4.1'de histopatolojik bulgulardan örnekler verilmiştir.

**Şekil 4.1. Histopatolojik Bulgular**



## BÖLÜM 5

### TARTIŞMA

Bu çalışmada, klasik, etkinliği kanıtlanmış ve sık kullanılan İA kortikosteroid tedavisinin yanısıra, klinik uygulamaya tam olarak girmemiş yeni tedavi yöntemleri olan İA etanersept ve İA MKH uygulamalarının deneysel artrit modelindeki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Uygulanan alışlagelmiş sistemik tedavi ajanlarının uzun süreli ve tekrarlayan kullanımı ile uzun dönem yan etkileri görülmektedir. Sistemik tedavilere göre daha az yan etkili olduğu bilinen MKH tedavisinin antiinflamatuvar ve rejeneratif etkisinden faydalanarak kronik inflamatuvar artritteki etkinliği araştırılmıştır.

Bu çalışmada kronik inflamatuvar artrit deneysel modeli olarak adjuvan ile oluşturulmuş artrit modeli kullanılmıştır. Öncelikle belirtilmesi gereken en önemli bilgi, hiçbir deneysel hastalık modeli insandaki hastalığın tam olarak patolojisini, hücresel biyolojisini ve immünolojisini göstermediğidir (49). Kronik inflamatuvar artrit patogenezinde özellikle TNF-alfanın anahtar rol oynadığı ve bununla birlikte sinovyal sıvıda artan diğer proinflamatuvar sitokinlerin eklem hasarına yol açtığını bilinmektedir (19). Oluşturulan hastalık modelinde patogenezdaki bilinen inflamatuvar reaksiyon ürünlerinin oluşumu sağlanarak ve histopatolojik görüntülerle inflamasyonun kanıtlanması ve sonrasında tedavi ile histopatolojik değişimleri görmek bu çalışmada amaçlanmıştır. Kronik inflamatuvar artrit, tedavi edilmediği takdirde eklem kıkırdağında kalıcı hasar bırakan otoinflamatuvar bir hastalıktır. Anti romatizmal ilaçlar, kortikosteroidler ve biyolojik ajanların (TNF-alfa blokörleri, IL-1 ve IL-6 yolaklarını inhibe eden ajanlar) kombine kullanılmasına rağmen belli oranda hasta bu tedavilere dirençli olmakta; bu hastalarda hastalık, ciddi hatta ölümcül seyredebilmektedir (89).

Bu çalışmada, İA CFA verilerek kronik inflamatuvar artrit oluşturulmuş ratların eklem aralığına kortikosteroid verilen grupta tüm deneklerde antiinflamatuvar etkinlik iyi düzeyde bulunmuştur. Bu bulgular, literatürde daha önce yapılmış İA steroid tedavi uygulama sonuçları ile paralel bulunmuştur (90). Kortikosteroidler, inflamasyon semptomlarını güvenilir ve

hızlı bir şekilde azaltabildikleri için RA tedavisinde sıklıkla oral, intravenöz ve İA enjeksiyon şeklinde kullanılır (91). Kortikosteroidlerin İA uygulamasının başlangıcı 1950'li yıllara dayanmaktadır. İntraartiküler steroid enjeksiyonları, RA'nın aktif dönemlerinde semptomların giderilmesinde çok etkilidirler (91,92). Kortikosteroidler antiinflamatuvar ilaçlar içinde en etkili olanıdır. Ancak yan etkilerinin fazla olması ve destrüktif eklem hasarını belirgin olarak önleyememesi nedeniyle ilacın faydası bazen sınırlı olabilmektedir. Oligoartiküler tip artritte özellikle monoartrit olarak kendisini gösteren büyük eklem tutulumunda İA steroid kullanımı oldukça yararlıdır ve bir çok çalışmada etkinliği gösterilmiştir. Kemik erozyonunu korumada olumlu etkileri gösterilmiştir (89,93,94). Her ne kadar yapılan bir çok çalışmada ve bu çalışmada İA kortikosteroidin etkinliği görülse de; eklem içi/dışı kalsifikasyon, çevre dokularda hasar ve kanama, septik artrit, avasküler nekroz gibi yan etkiler bildirilmiştir (95). İntraartiküler kortikosteroidler bilinen en iyi lokal antiinflamatuvar ilaçlar olsa da yan etkileri nedeniyle yeni ve etkili olabilecek farklı tedavi yöntemleri halen araştırılmaktadır.

Sistemik kullanımı kabul görmüş antiromatizmal ilaçlardan biri olan etanerseptin tekrarlayan enjeksiyonlar sonrasında enfeksiyonlarda artış, uzun süreli kullanımda genotoksisite yoluyla lenfoma ve solid kanserlerde artış, nörolojik inflamatuvar hastalıklarda artış, lupus benzeri sendrom gibi sistemik yan etkileri görülmesi nedeniyle lokal uygulanabilirliği ve etkinliği çalışmalarda yer almıştır (42-45). Bu çalışmada artrit modelinde İA etanersept tedavisinden sonra 2 haftada antiinflamatuvar etkinliği histopatolojik olarak ortaya konmuştur. Bu sonuçlar literatürde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. İnsanlara İA etanersept uygulanan bir çalışmada plasebo grubu ile etanersept verilen grup arasında 1. ve 2. haftada hastalık aktivite skorlarında belirgin anlamlı farklılık bulunmuş ve tedavi etkinliği azalarak 6. haftaya kadar devam ettiği bulunmuştur (96). Daha önce İA kortikosteroid ve İA etanersept verilerek yapılan bir insan çalışmasında klinik ve laboratuvar bulgularına göre tedavi yanıtının değerlendirildiği hastalık aktivite skorlarında steroid ve etanerseptin tedavide

4. haftada etkin bulunduğu gösterilmiştir; ancak, 24. hafta değerlendirilmesinde etanerseptin etkinliğinin azaldığı bildirilmiştir (97).

Refrakter otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklarda otolog hematopoietik kök hücre nakli 1997'den beri uygulanmaktadır. Ancak hematopoietik kök hücre nakli önemli morbidite ve mortaliteye sahiptir. Kök hücre nakli hazırlık aşamasında ağır kemoterapötiklerin yan etkileri nedeniyle hastalarda enfeksiyon, graft versus host hastalığı ve hatta ölüm gibi komplikasyonlar sık olmaktadır (80,98-100). Buna karşın MKH'ler MHC-II eksprese etmemesi ve az miktarda MHC-I eksprese etmesi ile immün sistem tarafından çok zor tanınırlar. Ayrıca MKH'ler *in-vitro* şartlarda güçlü immünsüpresif etkiye sahiptir (101). Tüm bu özelliklerinde dolayı MKH'ler otoimmün ve otoinflamatuvar hastalıklarda yeni bir umut ışığı olmuştur. MKH'lerin immünsüpresif etkilerinin parakrin aktivite ile hücreler arası etkileşimin inhibisyonu (cell-cell contact); doğal öldürücü (natural killer) hücrelerin, B hücrelerinin, dendritik hücrelerin inhibisyonu ile birlikte T regülebilir hücre aktivasyonu yoluyla olduğu gösterilmiştir (103).

Bu çalışmada kronik inflamatuvar artrit modelinde klasik tedavilerin yanısıra yeni bir tedavi yöntemi olarak MKH tedavisi İA olarak denenmiş ve tedavi sonrası 6 haftada antiinflamatuvar ve rejeneratif etkinliği histopatolojik olarak kanıtlanmıştır. İA MKH tedavisinin 3'üncü haftada etkinliği görülmemiştir. Çalışmadaki bu sonuçları değerlendirdiğimizde, MKH'lerin antiinflamatuvar etkinliğinin yanısıra rejeneratif etkinliğinin görülebilmesi için gerekli sürenin en az 6 hafta kadar olması gerektiği görülmüştür. MKH'lerin tedavi başlangıcından 3 hafta sonra yalnızca antiinflamatuvar etkinlikleriyle artritteki kronik inflamasyonu tamamiyle baskılayamadığı; fakat tedavi sonrası 6 haftada antiinflamatuvar etkinlik yanında rejenerasyon kapasiteleri sayesinde yeterli sürede, bulunduğu ortama adapte olarak inflamasyonu baskıladığı ve eklem iyileşmesini sağladığı gösterilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada kronik inflamatuvar artrit modelinde farelerde sistemik etanersept, İA MKH ve bu iki tedavinin kombinasyonu olmak üzere 3 farklı grupta yapılan tedavi etkinliği değerlendirilmesinde; kontrol grubuna göre tüm tedavilerin etkin bulunduğu, tedavi grupları

arasında en etkin bulunan grubun kombine tedavi grubu olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada kronik inflamatuvar artritte MKH'lerin etanersept ile kombine kullanılmasında daha etkin bulunması, rejeneratif etkisinin tedavide ön planda olduğunu göstermektedir (103). Çalışmamızda İA MKH tedavisinin 3 haftada değil de 6 haftada tam etkinliğinin görülmesi, MKH'lerin rejenerasyon kapasitesinin belirli bir zaman dilimi sonrasında uygun ortam sağlandığı takdirde kazanması ile ilişkilendirilmiştir. Deneysel kronik inflamatuvar artrit modelinde MKH tedavisinin olumlu sonuçları çeşitli çalışmalarda görülmüştür. MKH'ler, hasarlı dokuda kendi kendine farklılaşma ve yenileşme özellikleriyle hasar bölgesinde onarıma katkıda bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada deneysel olarak oluşturulmuş tavşan kulak kıkırdak hasarında MKH tedavisi sonrası tavşan kulakların kondrosit ve kondroblast adacıkları oluşumu görülmüştür. MKH uygulamasının kıkırdak defektlerinin onarımında önemli yeri olabileceği görülmüştür. Çalışmada kemik iliği kaynaklı MKH'lerin tedavideki etkinliği kanıtlanmıştır (104). Öte yandan, yapılan başka çalışmalarda yağ dokusu kaynaklı MKH'lerin kondrojenik ve osteoblastik dönüşüm potansiyelinin kemik iliği kaynaklı hücrelere göre daha iyi olduğu gösterilmiştir (81,105,106). Bu da artrit tedavisinde seçilecek hücre kaynağının tedavi etkinliğindeki başarısını etkileyebileceğinden dolayı kronik inflamatuvar artritte MKH kaynağı seçimi ile ilgili daha fazla çalışmanın gerekli olduğunu göstermektedir.

## BÖLÜM 6

### SONUÇ VE ÖNERİLER

MKH uygulaması, gelecek için refrakter, geleneksel tedaviye dirençli hastalar için alternatif bir tedavi seçeneği ve umut ışığı olmaktadır. Kronik inflamatuvar artritte günümüzde kullanılan tedavilerin sistemik yan etkileri, uzun dönemde ilaca karşı yanıtın azalması ve hastalığın ilerleyen dönemlerinde tedavi değişikliğine ihtiyaç duyulması nedeniyle bu çalışmada farklı bir tedavi yöntemi etkinliği araştırılmış ve MKH tedavisi etkin bulunmuştur.

Kronik inflamatuvar artrit geleneksel İA kortikosteroid tedavisi bu çalışmadaki en etkin tedavi ajanı olarak bulunsa da; İA etanersept de artrit şiddetini azaltmada ve inflamasyonu baskılamada histopatolojik ve istatistiksel olarak etkin bulunmuştur. Etanerseptin sistemik uygulamalarında görülen yan etkileri en aza indirmek için lokal uygulamanın etkinliğini saptamaya yönelik sistemik uygulama ile karşılaştırmalı çalışmalar yapılmalıdır.

Bu çalışmada İA MKH uygulamasının diğer İA tedaviler kadar etkin olmasa da; altıncı haftada histopatolojik ve istatistiksel olarak iyileşme sağladığı görülmüştür.

Lokal ve/veya sistemik uygulanan MKH ile ilgili çalışmalarda ve bizim çalışmamızda herhangi bir yan etki görülmemesi, tedavinin etkin bulunması, ilerleyen dönemlerde kronik inflamatuvar artrit tedavisinde İA MKH uygulamasının bir tedavi seçeneği olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak, seçilecek kök hücre kaynağı (adipoz, kemik iliği, umbilikal kord vb.), uygulanacak hücre miktarı, otolog veya allojenik uygulama şekli, uygulama sıklığı açısından daha fazla prelinik-klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

## KAYNAKLAR

1. Prahalad S, McCracken CE, Ponder LA, Angeles-Han ST, Stevens KA, Vogler LB, Langefeld CD, Thompson SD. Familial autoimmunity in the childhood arthritis and rheumatology research alliance registry. *Pediatric Rheumatology*. 2016 Mar 10;14(1):1.
2. Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, Wedderburn LR. *Textbook of Pediatric Rheumatology*, 7th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. ISBN: 978-0-323-24145-8.
3. Kasapçopur Ö. Çocukluk Çağı Romatizmal Hastalıkları. Hamuryudan V (Editör): *Modern Tıp Seminerleri (13): Artritler*, Güneş Kitabevi Yayınları, 2000; 126-137.
4. Thierry S, Fautrel B, Lemelle I, Guillemin F. Prevalence and incidence of juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. *Joint Bone Spine*. 2014 Mar 31;81(2):112-7.
5. Özen S, Karaaslan Y, Ozdemir O, Saatci U, Bakkaloglu A, Koroglu E, Tezcan S. Prevalence of juvenile chronic arthritis and familial Mediterranean fever in Turkey: a field study. *J Rheumatol*. 1998 Dec; 25(12):2445-9.
6. Giles CL. Uveitis in childhood. *Ann Ophthalmol* 1986; 21:13-28.
7. Pollard L, Choy E H, Scott D L. The consequences of rheumatoid arthritis: Quality of life measures in the individual patient. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23 (Suppl. 39): S43-52.
8. Nunez M, Sanchez A, Nunez E, Casals T, Alegre C, Munoz-Gomez J. Patients' perceptions of health related quality of life in rheumatoid arthritis and chronic low back pain. *Qual Life Res* 2006; 15: 93-102.
9. Kliegman RM, Stanton BF, Geme III JWS, Schor NF, Behrman RE. *Nelson textbook of pediatrics*, 20th Ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2015. ISBN: 978-0-323-35307-6
10. Barton A, Worthington J. Genetic susceptibility to rheumatoid arthritis: an emerging picture. *Arthritis Rheum*. Oct 15 2009;61(10):1441-6.
11. Bläß S, Engel JM, Burmester GR. The immunologic homunculus in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2499-506.
12. Isler P, Vey E, Zhang JH, Dayer JM. Cell surface glycoproteins expressed on activated human T cells induce production of interleukin-1 beta by monocytic cells: a possible role of CD69. *Eur Cytokine Netw* 1993;4: 15-23.
13. Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402:304-9.
14. Mangge H, Kenzian H, Gallistl S, et al. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis: correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. *Arthritis Rheum* 1995;38:211-20.
15. Houssiau FA. Cytokines in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 1995;14:Suppl 2:10-3.
16. Franklin H. Epstein, M.D., Editor. *Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis*. *N Engl J Med*, Vol. 344, No. 12 · March 22, 2001.

17. A.I.Catrina, J.Lampa, S.Ernestam, E.af Klint, J.Bratt, L.Klareskog and A.K.Ulfgren: Anti tumour necrosis factor (TNF)- $\alpha$  therapy (etanercept) down regulates serum matrix metalloproteinase (MMP-3 and MMP-1 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2002 May;41(5):484-9.
18. Sullivan KE. Inflammation in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Pediatr Clin North Am*. 2005 Apr;52(2):335-57.
19. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 151-160.
20. Choy EH, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2001 Mar 22;344(12):907-16.
21. Kasapçopur Ö. Çocukluk Çağı Romatizmal Hastalıklarına Tanılandırıcı Yaklaşım. Yazıcı H, Özdoğan H, Fresco I (Editörler). *Romatolojik Hastalıklar, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Dizisi No:34* 2003;43-50
22. Yalçınkaya F, Özen S, Özçakar ZB, Aktay N, Çakar N, Düzova A, Kasapçopur Ö, Elhan AH, Doğanay B, Ekim M, Kara N. A new set of criteria for the diagnosis of familial Mediterranean fever in childhood. *Rheumatology*. 2009 Apr 1;48(4):395-8.
23. Çelebi S, Hacımustafaoğlu M, Demirtaş F, Salı E, Gül Ü, Özel M. Çocukluk Çağında Bruselloz. *J Pediatr Inf*. 2011 Jan 1;5:59-62.
24. Innala L, Sjöberg C, Möller B, Ljung L, Smedby T, Södergren A, Magnusson S, Rantapää-Dahlqvist S, Wållberg-Jonsson S. Co-morbidity in patients with early rheumatoid arthritis-inflammation matters. *Arthritis Res Ther*. 2016 Jan 28;18(1):33.
25. Marcovecchio ML, Mohn A, Chiarelli F. Inflammatory cytokines and growth in childhood. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Feb; 19(1):57-62.
26. Knockaert DC. Cardiac involvement in systemic inflammatory diseases. *European heart journal*. 2007 Aug 1;28(15):1797-804.
27. Özdoğan H, Kasapçopur Ö. Juvenil İdyopatik Artritler. Karaaslan Y, Oksel F (Ed): *Romatizmal Hastalıklar Tedavi El Kitabı*, MD Yayıncılık 2003: 157-168.
28. Femiano F, Lanza A, Buonaiuto C, Gombos F, Nunziata M, Piccolo S, Cirillo N. Guidelines for diagnosis and management of aphthous stomatitis. *The Pediatric infectious disease journal*. 2007 Aug 1;26(8): 728-32.
29. Broderick L, Tremoulet AH, Burns JC, Bastian JF, Hoffman HM. Recurrent fever syndromes in patients after recovery from Kawasaki syndrome. *Pediatrics*. 2011 Feb 1;127(2):e489-93.
30. Angeles-Han ST, Yeh S, Vogler LB. Updates on the risk markers and outcomes of severe juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis. *International journal of clinical rheumatology*. 2013 Feb;8(1):109-21.
31. Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet*. 2007 Mar 3;369(9563):767-78.
32. Lainka E, Haas JP, Horneff G. Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis - New Aspects of Clinical Features, Diagnostic Tools and Treatment Strategies. *Ann Paediatr Rheum*. 2013; 2(1): 3-13.

33. Cortis E, Insalaco A. Macrophage activation syndrome in juvenile idiopathic arthritis. *Acta Paediatr Suppl.* 2006 Jul;95(452):38-41.
34. Wang Y, Pei F, Wang X, Sun Z, Hu C, Dou H. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody for juvenile idiopathic arthritis. *J Immunol Res.* 2015;2015:915276.
35. Kahn P. Juvenile Idiopathic Arthritis, An Update for the Clinician *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2012;70(3):152-66.
36. Sherry DD, Stein LD, Reed AM, et al. Prevention of leg length discrepancy in young children with pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis by treatment with intraarticular steroids. *Arthritis Rheum.* 1999 Nov;42(11):2330-4.
37. Zulian F, Martini G, Gobber D, et al. Triamcinolone acetonide and hexacetonide intra-articular treatment of symmetrical joints in juvenile idiopathic arthritis: a double-blind trial. *Rheumatology (Oxford).* 2004 Oct; 43(10):1288-91.
38. Huppertz HI, Tschammler A, Horwitz AE, Schwab KO. Intraarticular corticosteroids for chronic arthritis in children: efficacy and effects on cartilage and growth. *J Pediatr.* 1995 Aug;127(2):317-21.
39. Ruth NM, Passo MH. Juvenile idiopathic arthritis: management and therapeutic options. *Ther Adv Musculoskel Dis* (2012) 4(2) 99-110.
40. Philip J. Hashkes, Ronald M. Laxer, MD, FRCPC Medical Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis *JAMA.* 2005;294(13):1671-1684.
41. Horneff G, Ebert A, Fitter S, Minden K, Foeldvari I, Kümmerle-Deschner J, Thon A, Girschick HJ, Weller F, Huppertz HI. Safety and efficacy of once weekly etanercept 0.8 mg/kg in a multicentre 12 week trial in active polyarticular course juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2009 Aug;48(8):916-9.
42. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA.* 2006 May 17;295(19):2275-85.
43. Demirkaya E, Cok I, Durmaz E, Ulutas OK, Ayaz NA, Besbas N, Ozen S. Genotoxicity of anti-tumor necrosis factor therapy in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2010 Jan 15;62(1):73- 7.
44. Solomon AJ, Spain RI, Kruer MC, Bourdette D. Inflammatory neurological disease in patients treated with tumor necrosis factor alpha inhibitors. *Mult Scler.* 2011 Dec;17(12):1472-87.
45. Borrás-Blasco J, Navarro-Ruiz A, Borrás C, Casterá E. Adverse cutaneous reactions induced by TNF-alpha antagonist therapy. *South Med J.* 2009 Nov;102(11):1133-40.
46. H Bliddal, L Terslev, E Qvistgaard, M Konig, CC Holm, H Rogind, M Boesen, B Danneskiold-Samsøe, S Torp-Pedersen. A randomized, controlled study of a single intra-articular injection of etanercept or glucocorticosteroids in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2006;35:341–345
47. Kasapçopur Ö, Barut K. Jüvenil idiyopatik artritte tedavi ve yeni tedavi seçenekleri. *Türk Ped Arş* 2015; 50: 1-10.

48. Heiligenhaus A, Heinz C, Edelsten C, Kotaniemi K, Minden K. Review for disease of the year: epidemiology of juvenile idiopathic arthritis and its associated uveitis: the probable risk factors. *Ocular immunology and inflammation*. 2013 Jun 1;21(3):180-91.
49. Wooley PH. What Animal Models are Best to Test Novel Rheumatoid Arthritis Therapies?. *Current Rheumatology Reviews*. 2008 Nov 1;4(4): 277-87.
50. Bendele A.M. Animal models of rheumatoid arthritis. *J Musculoskel Neuron Interact* 2001; 1(4):377-385
51. Currey HLF: A comparison of immunosuppressive and anti-inflammatory agents in the rat. *Clin. Exp. Immunol*. 1987; 9: 879-87.
52. Theisen PP, Muller PR: Antirheumatic drug profiles evaluated in the adjuvant arthritis of rats by multiparameter analysis. *Agents Actions*. 1994; 42(1-2): 50-5.
53. Nakahara H, Bruder SP, Haynesworth SE, Holecek JJ, Baber MA, Goldberg VM, Caplan AI. Bone and cartilage formation in diffusion chambers by subcultured cells derived from the periosteum. *Bone*. 1990;11(3):181-8.
54. Arthur A, Zannettino A, Gronthos S. The therapeutic applications of multipotential mesenchymal/stromal stem cells in skeletal tissue repair. *J Cell Physiol*. 2009 Feb;218(2):237-45.
55. Pountos I, Giannoudis PV. Biology of mesenchymal stem cells. *Injury*. 2005 Nov;36 Suppl 3:S8-S12.
56. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem cells*. 2007 Nov 1;25(11):2739-49.
57. Croft AP, Przyborski SA. Mesenchymal stem cells from the bone marrow stroma: basic biology and potential for cell therapy. *Curr Anaesth Crit Care*. 2004;15(6):410-7.
58. Nagamura-Inoue T, He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World Journal of Stem Cells*. 2014;6(2):195-202.
59. Bongso A, Fong CY. The therapeutic potential, challenges and future clinical directions of stem cells from the Wharton's jelly of the human umbilical cord. *Stem Cell Rev*. 2013 Apr;9(2):226-40.
60. Djouad F, Bony C, Häupl T, Uzé G, Lahlou N, Louis-Pence P, Apparailly F, Canovas F, Rème T, Sany J, Jorgensen C, Noël D. Transcriptional profiles discriminate bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal stem cells. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(6):R1304-15.
61. L Ramos T, Sánchez-Abarca LI, Munti6n S, Preciado S, Puig N, L6pez-Ruano G, Hern6ndez-Hern6ndez 6, Redondo A, Ortega R29, Rodr6guez C, S6nchez-Guijo F, Del Ca6nizo C. MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry. *Cell Commun Signal*. 2016 Jan 12;14(1):2.
62. Liu TM, Martina M, Hutmacher DW, Hui JH, Lee EH, Lim B. Identification of common pathways mediating differentiation of bone marrow- and

- adipose tissue-derived human mesenchymal stem cells into three mesenchymal lineages. *Stem Cells*. 2007 Mar;25(3):750-60.
63. Hsu PJ, Liu KJ, Chao YY, Sytwu HK, Yen BL. Assessment of the Immunomodulatory Properties of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs). *J Vis Exp*. 2015 Dec 24;(106).
  64. Sargın D. Mezenkimal kök hücre klinik uygulamaları. 8. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi.
  65. Watt SM., Gullo F., von der Garde H., et al.: The angiogenic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their therapeutic potential. *Brit. Med. Bulletin* 2013;108:24-53.
  66. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al.: Multilineage potential of adult human mesenchymal Stem Cells. *Science* 1999;284:143-147.
  67. Atonui R., Chiu RCJ.: Concise Review: Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells in cellular transplantation: update, controversies and unknowns. *Stem Cell Trans. Med* 2012, 1:200-205.
  68. Atoui R., Asenzo JF., Duong M., et al.: Marrow stromal cells as "universal donor cells" for myocardial regenerative therapy; Their unique immunotolerance. *Ann Thorac. Surg.* 2008;85:571-580.
  69. Watt SM., Gullo F., von der Garde H., et al.: The angiogenic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their therapeutic potential. *Brit. Med. Bulletin* 2013;108:24-53.
  70. Grinnemo K., Mansson A., Le Blanc K., et al.: Human MSCs do not differentiate into cardiomyocytes in a cardiac ischemic xenomodel. *Ann Ned* 2006;38:144-153.
  71. Zambrano J., Traverse J., Henry T., et al.: The impact of intravenous human MSCs (Provacel) on ejection fraction in patients with myocardial infarction. *Circulation* 2007;116:11-202.
  72. Lee ST., Jang JH., Cheong JW.: Treatment of high risk acute myelogenous leukemia by myeloablative chemoradiotherapy followed by coinfusion of T cell-depleted haematopoietic stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells from a related donor with or without fully mismatched HLA haplotype. *Br. J. Haematol.* 2002;118:1128-1131.
  73. Figueroa FE, Carrión F, Villanueva S, Khoury M. Mesenchymal stem cell treatment for autoimmune diseases: a critical review. *Biol Res*. 2012;45(3):269-77.
  74. Bruna Amorin, Ana Paula, Alegretti Vanessa, Valim, Annelise Pezzi, Alvaro Macedo Laureano, Maria Aparecida Lima da Silva, Andre'a Wieck, Lucia Silla. Mesenchymal stem cell therapy and acute graft-versus-host disease: a review *Human Cell* (2014) 27:137–150
  75. Jones EA, English A, Henshaw K, Kinsey SE, Markham AF, Emery P, McGonagle D. Enumeration and phenotypic characterization of synovial fluid multipotential mesenchymal progenitor cells in inflammatory and degenerative arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004 Mar;50(3):817-27.
  76. Jones EA, Crawford A, English A, Henshaw K, Mundy J, Corscadden D, Chapman T, Emery P, Hatton P, McGonagle D. Synovial fluid mesenchymal stem cells in health and early osteoarthritis: detection and functional evaluation at the single-cell level. *Arthritis Rheum*. 2008 Jun; 58(6):1731-40.

77. Baddoo M, Hill K, Wilkinson R, Gaupp D, Hughes C, Kopen GC, Phinney DG. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from murine bone marrow by negative selection. *J Cell Biochem*. 2003 Aug 15;89(6):1235-49.
78. Kim WU, Kim KJ. T cell proliferative response to type II collagen in the inflammatory process and joint damage in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2005 Feb;32(2):225-30.
79. Zheng ZH, Li XY, Ding J, Jia JF, Zhu P. Allogeneic mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-reactive T cells in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Jan;47(1):22-30.
80. Swart JF, Wulffraat NM. Mesenchymal stromal cells for treatment of arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2014 Aug;28(4):589-603.
81. Maumus M, Jorgensen C, Noël D. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine applied to rheumatic diseases: role of secretome and exosomes. *Biochimie*. 2013 Dec 31;95(12):2229-34.
82. Swart JF, Wulffraat NM. Mesenchymal stromal cells for treatment of arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2014 Aug;28(4):589-603.
83. Chou LW, Wang J, Chang PL, Hsieh YL. Hyaluronan modulates accumulation of hypoxia-inducible factor-1 alpha, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinase-3 in the synovium of rat adjuvant-induced arthritis model. *Arthritis Res Ther*. 2011 Jun 16;13(3):R90.
84. Tastekin N, Aydogdu N, Dokmeci D, Usta U, Birtane M, Erbas H, Ture. Protective effects of L-carnitine and alpha-lipoic acid in rats with adjuvant arthritis. *Pharmacological Research* 56 (2007) 303-310.
85. Wu CC, Wu TC, Liu FL, Sytwu HK, Chang DM. TNF- $\alpha$  inhibitor reverse the effects of human umbilical cord-derived stem cells on experimental arthritis by increasing immunosuppression. *Cellular immunology*. 2012 Dec 31;273(1):30-40.
86. Holwegner C, Reinhardt AL, Schmid MJ, Marx DB, Reinhardt RA. Impact of local steroid or statin treatment of experimental temporomandibular joint arthritis on bone growth in young rats. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 2015 Jan 31;147(1):80-8.
87. Kristensen KD, Stoustrup P, Küseler A, Pedersen TK, Nyengaard JR, Hauge E, Herlin T. Intra-articular vs. systemic administration of etanercept in antigen-induced arthritis in the temporomandibular joint. Part I: histological effects. *Pediatric Rheumatology*. 2009 Dec 1;7(1):1-1.
88. Fernandes ES, Russell FA, Spina D, McDougall JJ, Graepel R, Gentry C, Staniland AA, Mountford DM, Keeble JE, Malcangio M, Bevan S, Brain SD. A Distinct Role for Transient Receptor Potential Ankyrin 1, in Addition to Transient Receptor Potential Vanilloid 1, in Tumor Necrosis Factor – Induced Inflammatory Hyperalgesia and Freund’s Complete Adjuvant– Induced Monarthritis. *Arthritis Rheum*. 2011 Mar;63(3):819-29.
89. Kasapçopur Ö, Arısoy N. Jüvenil idyopatik artrit Derleme. *Türk Pediatri Arşivi*. 2003;38(1).
90. Rull M, Clayburne G, Sieck M, Schumacher HR. Intra-articular corticosteroid preparations: different characteristics and their effect during

- inflammation induced by monosodium urate crystals in the rat subcutaneous air pouch. *Rheumatology*. 2003 Sep 1;42(9):1093-100.
91. Demirel A, Kırnap M. Romatoid artrit tedavisinde geleneksel ve güncel yaklaşımlar. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2010;19(1): 74-84
  92. Evans CH, Kraus VB, Setton LA. Progress in intra-articular therapy. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Jan;10(1):11-22.
  93. Kasapçopur Ö, Taşdan Y, Sever L, Çalışkan S, Arısoy N. Jüvenil romatoid artrit tedavisinde intraartiküler steroid kullanımı. *Türk Pediatri Arşivi* 1997;32:31-5.
  94. Makrygiannakis D, af Klint E, Catrina SB, Botusan IR, Klareskog E, Klareskog L, Ulfgren AK, Catrina AI. Intraarticular corticosteroids decrease synovial RANKL expression in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum*. 2006 May;54(5):1463-72.
  95. Leow OM, Lim LK, Ooi PL, Shek LP, Ang EY, Son MB. Intra-articular glucocorticoid injections in patients with juvenile idiopathic arthritis in a Singapore hospital. *Singapore medical journal*. 2014 May;55(5):248.
  96. Aalbers C, Gerlag D, Vos K, Vervoordeldonk M, Landewé R, Tak PP. Intra-articular etanercept treatment in inflammatory arthritis: a randomized double-blind placebo-controlled proof of mechanism clinical trial validating TNF as a potential therapeutic target for local treatment. *Joint Bone Spine*. 2015 Oct 31;82(5):338-44.
  97. Roux CH, Breuil V, Valerio L, Amoretti N, Brocq O, Albert C, Grisot C, Allam Y, Chevalier P, Pradier C, Euller-Ziegler L. Etanercept compared to intraarticular corticosteroid injection in rheumatoid arthritis: double-blind, randomized pilot study. *The Journal of rheumatology*. 2011 Jun 1;38(6): 1009-11.
  98. Wulffraat N, van Royen A, Bierings M, Vossen J, Kuis W. Autologous haemopoietic stem-cell transplantation in four patients with refractory juvenile chronic arthritis. *The Lancet*. 1999 Feb 13;353(9152):550-3.
  99. Wulffraat NM, Brinkman D, Ferster A, et al. Long-term follow-up of autologous stem cell transplantation for refractory juvenile idiopathic arthritis. *Bone Marrow Transpl* 2003;32(Suppl. 1):S61e4.
  100. Wulffraat NM, Haas PJ, Frosch M, et al. Myeloid related protein 8 and 14 secretion reflects phagocyte activation and correlates with disease activity in juvenile idiopathic arthritis treated with autologous stem cell transplantation. *Ann Rheum Dis* 2003;62:236e41.
  101. Tyndall A, van Laar JM. Stem cells in the treatment of inflammatory arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010;24: 565e74.
  102. Krampera M, Pasini A, Pizzolo G, et al. Regenerative and immunomodulatory potential of mesenchymal stem cells. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:435e41.
  103. Wu CC, Wu TC, Liu FL, Sytwu HK, Chang DM. TNF- $\alpha$  inhibitor reverse the effects of human umbilical cord-derived stem cells on experimental arthritis by increasing immunosuppression. *Cellular immunology*. 2012 Dec 31;273(1):30-40.

104. Ural AU, Saray A, Can B, Avcu F, Çavuşoğlu T, Canpolat E. Repair of cartilage defects by using in vitro differentiated mesenchymal stem cell in vivo: Experimental study in rabbits. *Blood* 2005, 106 (11): 482a
105. J. I. Huang, N. Kazmi, M. M. Durbhakula, T. M. Hering, J. U. Yoo, B. Johnstone. Chondrogenic potential of progenitor cells derived from human bone marrow and adipose tissue: a patient-matched comparison, *J Orthop Res* 23 (2005) 1383-9.
106. R. Vishnubalaji, M. Al-Nbaheen, B. Kadalmani, A. Aldahmash, T. Ramesh. Comparative investigation of the differentiation capability of bone-marrow- and adipose-derived mesenchymal stem cells by qualitative and quantitative analysis, *Cell Tissue Res* 347 (2012) 419-427.