



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI**

**TLR4 KNOCK OUT C3H/HEJ FARELER İLE  
OLUŞTURULAN ALOPESİ AREATA FARE MODELİNDE  
ADİPOZİT KÖKENLİ KÖK HÜCRE TEDAVİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Hazırlayan  
Dr. Nur Büşra AKDAĞ**

**Danışman  
Prof. Dr. Murat BORLU**

**KAYSERİ – 2024**



**T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
DERİ VE ZÜHREVİ HASTALIKLAR ANABİLİM DALI**

**TLR4 KNOCK OUT C3H/HEJ FARELER İLE  
OLUŞTURULAN ALOPESİ AREATA FARE MODELİNDE  
ADİPOZİT KÖKENLİ KÖK HÜCRE TEDAVİSİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Hazırlayan  
Dr. Nur Büşra AKDAĞ**

**Danışman  
Prof. Dr. Murat BORLU**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi  
Tarafından TTU-2022-11707 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**KAYSERİ – 2024**

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sürecinde göstermiş olduğu sabır ve anlayıştan dolayı öncelikle tez danışmanım Prof. Dr. Murat BORLU olmak üzere, asistanlığım boyunca bilgi ve becerilerini benimle paylaşan değerli hocalarım Doç. Dr. Demet KARTAL'a, Doç. Dr. Salih Levent ÇINAR'a ve Dr. Öğr. Üyesi Eda ÖKSÜM SOLAK'a,

Yürütmüş olduğumuz tez çalışmasının her aşamasında değerli katkılarıyla bana destek olan ve bu vesileyle tanımaktan çok mutlu olduğum Prof. Dr. Serpil TAHERİ'ye, Zeynep YILMAZ ŞÜKRANLI'ya ve Baran TURAN'a,

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım başta değerli asistan arkadaşlarım ve Erciyes Üniversitesi Dermatoloji Anabilim Dalı ailesinin tüm üyelerine,

Hayatımın her anında sevgi ve destekleriyle yanımda olan, beni bugünlere getiren değerli annem, babam ve abime,

Sonsuz Teşekkürlerimle...

Dr. Nur Büşra AKDAĞ

Kayseri, 2024

# İÇİNDEKİLER

|                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR.....                                                                              | i   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                          | ii  |
| KISALTMALAR ve SİMGELER .....                                                              | v   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ .....                                                                     | ix  |
| TABLolar LİSTESİ.....                                                                      | xi  |
| ÖZET .....                                                                                 | xii |
| ABSTRACT.....                                                                              | xiv |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                                      | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                                     | 3   |
| 2.1. Kıl folikülünün Yapısı ve Özellikleri .....                                           | 3   |
| 2.1.1. Kıl Büyüme Döngüsü .....                                                            | 7   |
| 2.1.2. Kıl Folikülü İmmün Sistemi .....                                                    | 11  |
| 2.1.3. Fare Kıl Folikülü ve Farklılıkları.....                                             | 12  |
| 2.2. Alopesi Areata.....                                                                   | 14  |
| 2.2.1. Alopesi Areata Patogenezi .....                                                     | 15  |
| 2.2.2. AA'da Kalıtım ve Genetik Faktörler .....                                            | 21  |
| 2.2.3. Alopesi Areata'nın İmmünolojik Belirteçleri .....                                   | 22  |
| 2.2.4. Klinik özellikler .....                                                             | 24  |
| 2.2.5. Alopesi Areata'da Ayırıcı Tanı .....                                                | 25  |
| 2.2.6. Alopesi Areata'nın Prognuzu .....                                                   | 25  |
| 2.2.7. Alopesi Areata 'da Tedavi Stratejileri .....                                        | 26  |
| 2.2.7.1. Topikal tedaviler .....                                                           | 26  |
| 2.2.7.1.1. İntralezyonel ve Topikal Kortikosteroidler ile Yapılan Lokal<br>Tedaviler ..... | 26  |
| 2.2.7.1.2. Topikal Minoksidil.....                                                         | 27  |
| 2.2.7.1.3. Topikal İmmünoterapi.....                                                       | 27  |
| 2.2.7.1.4. Antralin .....                                                                  | 29  |
| 2.2.7.1.5. Trombositten zengin plazma (PRP) .....                                          | 29  |
| 2.2.7.1.6. Excimer Lazer.....                                                              | 29  |

|                                                                                                      |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2.7.1.7. Kriyoterapi .....                                                                         | 30        |
| 2.2.7.1.8. Beksaroten .....                                                                          | 30        |
| 2.2.7.1.9. Prostaglandin analogları .....                                                            | 30        |
| 2.2.7.2 Sistemik Tedaviler .....                                                                     | 31        |
| 2.2.7.2.1. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Kortikosteroid Kullanımı .....                        | 31        |
| 2.2.7.2.2. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Siklosporin Kullanımı .....                           | 31        |
| 2.2.7.2.3. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Metotreksat Kullanımı .....                           | 32        |
| 2.2.7.2.4. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Sülfasalazin Kullanımı .....                          | 32        |
| 2.2.7.2.5. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Fotokemoterapi Kullanımı .....                        | 33        |
| 2.2.7.2.6. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Azatiyopürin Kullanımı .....                          | 33        |
| 2.2.7.2.7. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Janus kinaz (JAK) İnhibitörlerinin<br>Kullanımı ..... | 34        |
| 2.3. AA Fare Modelleri .....                                                                         | 35        |
| 2.3.1. İnsanlaştırılmış Fare Modelleri .....                                                         | 37        |
| 2.3.2. Dundee Deneysel Kel Sıçan (DEBR) .....                                                        | 38        |
| 2.3.3. C3H /HeJ Fare Modeli .....                                                                    | 38        |
| 2.4. Hayvan modellerinde AA İndüksiyonu.....                                                         | 42        |
| 2.5. Kök Hücre.....                                                                                  | 43        |
| 2.6. Alopesi Tedavisinde Kullanılan Rejeneratif Tıp Stratejileri .....                               | 50        |
| 2.6.1. Mezenkimal Kök Hücre (MKH) Tabanlı Tedaviler .....                                            | 50        |
| 2.6.2. Ekstraselüler Veziküller (EV) ve Ekzosom Tabanlı Tedaviler.....                               | 50        |
| 2.6.3. Trombositten Zengin Plazma (PRP) Tedavisi.....                                                | 51        |
| 2.6.4. Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF) Tedavisi .....                                               | 51        |
| <b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>                                                                       | <b>52</b> |
| 3.1. Gereç .....                                                                                     | 52        |
| 3.1.1. Sarf Malzemeler.....                                                                          | 52        |
| 3.1.2. Demirbaş Malzemeler .....                                                                     | 53        |
| 3.2. Yöntem.....                                                                                     | 53        |
| 3.2.1. Kullanılan Deney Hayvanları .....                                                             | 53        |
| 3.2.2 Deney Grupları ve İlaç Uygulamaları.....                                                       | 54        |
| 3.2.3. Kök Hücre İzolasyonu ve Uygulanması .....                                                     | 55        |
| 3.2.4. Deri örneklerinin alınması ve Histopatolojik İncelenmesi .....                                | 56        |

|                                                                               |            |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.2.5. İstatistiksel Analiz.....                                              | 57         |
| <b>4. BULGULAR.....</b>                                                       | <b>58</b>  |
| 4.1. Dökülme Alanlarının Gösterilmesi .....                                   | 58         |
| 4.2. Doku örneklerinde IL-6 ve IL-15 İmmün Yoğunluklarının Gösterilmesi ..... | 61         |
| 4.3. Doku Örneklerinde Kıl Folikül Sayılarının Gösterilmesi .....             | 68         |
| <b>5. TARTIŞMA .....</b>                                                      | <b>70</b>  |
| <b>6. SONUÇLAR.....</b>                                                       | <b>87</b>  |
| <b>7. KAYNAKÇA .....</b>                                                      | <b>90</b>  |
| <b>ONAY .....</b>                                                             | <b>108</b> |



## KISALTMALAR ve SİMGELER

|        |                                             |
|--------|---------------------------------------------|
| AA     | : Alopesi areata                            |
| AD     | : Atopik dermatit                           |
| A-MKH  | : Adiposit kaynaklı mezenkimal kök hücreler |
| APM    | : Erektör pili kası                         |
| ARDS   | : Akut inflamatuvar akciğer hasarı          |
| AT     | : Alopesi totalis                           |
| AU     | : Alopesi universalis                       |
| BG     | : Çıkıntı bölgesi                           |
| BMP    | : Kemik morfogenetik proteini               |
| CASP3  | : Apoptozla ilişkili bir gen olan kaspaz 3  |
| COL 7  | : Tip VII kollajen                          |
| COX-2  | : Siklooksijenaz-2                          |
| CR     | : Korteks                                   |
| CTLA 4 | : Sitotoksik T lenfosit antijeni 4          |
| CTS    | : Bağ dokusu tabakası                       |
| CXCL   | : CXC motifli kemokin ligandı               |
| DAB    | : Diaminobenzidin                           |
| DDK-1  | : Dickkopf 1                                |
| DEBR   | : Dundee deneysel kel sıçan                 |
| DHT    | : Dihidrotestosteron                        |
| DMEM   | : Dulbecco's Modified Eagle Medium          |
| DP     | : Dermal papilla                            |
| DPCP   | : Difenilsiklopropenon                      |
| DRM    | : Dermis                                    |
| dsRNA  | : Çift sarmallı RNA                         |
| EBA    | : Epidermolizis bülloza akkisita            |
| EGF    | : Epidermal büyüme faktörü                  |
| EPİ    | : Epidermis                                 |
| EV     | : Ekstraselüler veziküller                  |
| FBS    | : Fetal sığır serumu                        |

|                 |                                                                     |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------|
| FDA             | : Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi                  |
| GVHD            | : Graft-versus-host hastalığı                                       |
| H&E             | : Hematoksilen Eozin                                                |
| HGF             | : Hepatosit büyüme faktörü                                          |
| HLA             | : İnsan lökosit antijeni                                            |
| HO              | : Hem oksijenaz                                                     |
| HS              | : Kıl shaftı                                                        |
| IDO             | : İndolamin 2-3 dioksijenaz                                         |
| IFN- $\gamma$   | : İnterferon gama                                                   |
| IGF             | : İnsülin benzeri büyüme faktörü                                    |
| IHK             | : İmmünohistokimya                                                  |
| IL              | : İntralezyonel                                                     |
| IL-1            | : İnterlökin-1                                                      |
| IL-10           | : İnterlökin-10                                                     |
| IL12R $\beta$ 1 | : İnterlökin 12 reseptör beta 1                                     |
| IL-13           | : İnterlökin-13                                                     |
| IL-15           | : İnterlökin-15                                                     |
| IL-15Ra         | : İnterlökin-15 reseptör antagonisti                                |
| IL-15 $\beta$   | : İnterlökin 15 beta                                                |
| IL-17           | : İnterlökin-17                                                     |
| IL-1ra          | : IL-1 reseptör antagonisti                                         |
| IL-1 $\beta$    | : İnterlökin-1 beta                                                 |
| IL-2            | : İnterlökin-2                                                      |
| IL-21           | : İnterlökin-21                                                     |
| IL-4            | : İnterlökin-4                                                      |
| IL-5            | : İnterlökin-5,                                                     |
| IL-6            | : İnterlökin-6                                                      |
| IL-7            | : İnterlökin-7,                                                     |
| IL-9            | : İnterlökin-9                                                      |
| IRS             | : İç kök kılıfı                                                     |
| IV              | : İntravenöz                                                        |
| JAK/STAT        | : Janus kinaz/sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktivatörleri |

|               |                                                                 |
|---------------|-----------------------------------------------------------------|
| KB            | : Koşullu besiyeri                                              |
| kDa           | : Kilodalton                                                    |
| KF            | : K1 folikülleri                                                |
| KGF           | : Keratinosit büyüme faktörü                                    |
| Kİ-MKH        | : Kemik iliği kaynaklı kök hücreleri                            |
| KS            | : Kortikosteroidler                                             |
| M             | : Saç matriksi                                                  |
| MCP-1         | : Monosit kemoatraktan protein 1                                |
| M-CSF         | : Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör                                |
| MHC           | : Majör histokompatibilite kompleksi                            |
| MICA          | : MHC-I polipeptit ilişkili sekans-A                            |
| MIG           | : Gamma interferon tarafından indüklenen monokin                |
| MIP-1 $\beta$ | : Makrofaj inflamatuvar protein 1 beta                          |
| MKH           | : Mezenkimal kök hücre                                          |
| MSH- $\alpha$ | : Melanosit uyarıcı hormon alfa                                 |
| NK            | : Doğal Katil                                                   |
| NKG2D         | : Doğal katil 2. Grup D üyesi                                   |
| NO            | : Nitrik oksit                                                  |
| ORS           | : Dış kök kılıfı                                                |
| PBMC          | : Periferik kan mononükleer hücrelerinin                        |
| PBS           | : Fosfat tamponlu salin                                         |
| PDGF          | : Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri                          |
| PGE2          | : Prostaglandin E2                                              |
| Poli[I:C]     | : Poliinosinik-Polisitidilik Asit                               |
| PRP           | : Trombositten zengin plazma                                    |
| PUVA          | : Psöralen ve ultraviyole A                                     |
| RA            | : Romatoid artrit                                               |
| RANTES        | : Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted |
| SADBE         | : Squaric asit dibütilester                                     |
| SC            | : Subkutan yağ                                                  |
| SCID          | : Ağır kombine immün yetmezlik                                  |
| SF            | : Serum fizyolojik                                              |

|                |                                          |
|----------------|------------------------------------------|
| SG             | : Sebase bezi                            |
| SLE            | : Sistemik lupus eritamatozus            |
| SPO            | : Spesifik patojen olmayan               |
| SVF            | : Stromal vasküler fraksiyon             |
| TCR            | : T hücre reseptörü                      |
| TE             | : Telogen effluvium                      |
| TGF- $\beta$ 1 | : Transforme edici büyüme faktörü beta 1 |
| Th             | : T helper                               |
| TMPT           | : Tiopurin S-metil transferaz            |
| TNF- $\alpha$  | : Tümör nekroz faktörü alfa              |
| Treg           | : T regülatör hücreler                   |
| ULBP           | : İnsan UL16 bağlayan proteini           |
| VEGF           | : Vasküler endotelyal büyüme faktörü     |
| $\alpha$       | : Alfa                                   |
| $\beta$        | : Beta                                   |
| $\gamma$       | : Gama                                   |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.  | Folikülün histolojik yapıları .....                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 6  |
| Şekil 2.  | Kıl foliküllerinin gelişimi ve döngüsü.....                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 8  |
| Şekil 3.  | Anagen, katagen ve telogen aşamalarında kıl foliküllerinin yapısal özellikleri .....                                                                                                                                                                                                                                           | 10 |
| Şekil 4.  | İnsan kafa derisi ve fare derisindeki kıl kökü yapısının karşılaştırılması..                                                                                                                                                                                                                                                   | 13 |
| Şekil 5.  | Alopesi areata varyantlarının klinik sınıflandırmaları(35). .....                                                                                                                                                                                                                                                              | 15 |
| Şekil 6.  | "Arı Sürüsü" görünümü olarak tanımlanan inflamatuvar infiltrat, AA'da kıl folikülünde MHC-I ve MHC-II'nin artan aktivitesi ile ilişkilidir .....                                                                                                                                                                               | 16 |
| Şekil 7.  | Bu şema, AA otoimmün sürecini ayrıntılı bir şekilde açıklamaktadır. Kıl folikülü, MHC-I ve MHC-II üzerindeki otoantijenleri CD8+ ve CD4+ T hücrelerine sunar.....                                                                                                                                                              | 17 |
| Şekil 8.  | MKH'lerin izolasyonu, genişletilmesi ve farklılaştırılması. MKH'ler insan ya da farelerin çeşitli dokularından izole edilebilir.....                                                                                                                                                                                           | 44 |
| Şekil 9.  | Çalışma prosedürü .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 55 |
| Şekil 10. | İntralezyonel kök hücre (KH) ve salin (SF) uygulanan farelerin fotoğrafları. ....                                                                                                                                                                                                                                              | 59 |
| Şekil 11. | İntravenöz kök hücre (KH) ve salin (SF) uygulanan farelerin fotoğrafları. ....                                                                                                                                                                                                                                                 | 59 |
| Şekil 12. | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğraflar ile hesaplanan dökülme alanlarının farklı ölçüm günlerindeki değişimin gösterilmesi.....                                                                                      | 60 |
| Şekil 13. | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi.....                                                                                                                             | 62 |
| Şekil 14. | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre, salin ve sağlıklı fare gruplarından alınan tam kat deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi. .... | 63 |

|                  |                                                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 15.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi. ....                                       | 64 |
| <b>Şekil 16.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi. ....                                       | 65 |
| <b>Şekil 17.</b> | Deney gruplarına ait deri örneklerinde IL-15 immünohistokimya boyama görüntüleri.. ....                                                                                                                                                    | 66 |
| <b>Şekil 18.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin intralezyonel veya intravenöz uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 ve IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi ..... | 67 |
| <b>Şekil 19.</b> | Deney gruplarına ait deri örneklerinde IL-6 immünohistokimya boyama görüntüleri.. ....                                                                                                                                                     | 67 |
| <b>Şekil 20.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde kıl folikül miktarının gösterilmesi.....                                          | 68 |
| <b>Şekil 21.</b> | Deri örneklerinin hematoxilen ve eozin boyama görüntüleri (Siyah ok: epidermis kalınlığını ve KF: kıl foliküllerini göstermektedir). ....                                                                                                  | 69 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |    |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> | Çeşitli hayvan modellerinde AA kriterleri.....                                                                                                                                                                                                                                                     | 36 |
| <b>Tablo 2.</b> | Alopesi areata hayvan modellerinin temel özellikleri. ....                                                                                                                                                                                                                                         | 37 |
| <b>Tablo 3.</b> | Üç ana doku kaynağından elde edilen MKH'lerinin karşılaştırılması .....                                                                                                                                                                                                                            | 48 |
| <b>Tablo 4.</b> | Deneyde kullanılan fare grupları ve sayıları.....                                                                                                                                                                                                                                                  | 54 |
| <b>Tablo 5.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğraflar ile hesaplanan dökülme alanlarının ortalama ve standart sapma değerleriyle birlikte gösterilmesi .....                                            | 61 |
| <b>Tablo 6.</b> | TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğraflarla hesaplanan dökülme alanlarının 1.ölçüm bazal (1) kabul edilerek diğer ölçümlerdeki dökülme alanlarının oransal değişimlerinin gösterilmesi..... | 61 |

# TLR4 KNOCK OUT C3H/HEJ FARELER İLE OLUŞTURULAN ALOPESİ AREATA FARE MODELİNDE ADİPOZİT KÖKENLİ KÖK HÜCRE TEDAVİSİ

## ÖZET

**Giriş:** Alopesi areata (AA), kıl foliküllerini etkileyen ve skar bırakmayan alopesiye yol açan otoimmün bir durumdur. Dünya çapındaki prevalansı %0,1 ile %0,2 arasında değişirken, yaşam boyu risk %1,7'dir. AA genellikle tiroid hastalığı ve vitiligo gibi diğer otoimmün bozukluklarla birlikte görülür. Mevcut tedavi seçeneklerinin etkinliği sınırlıdır ve yan etkileri kullanımlarını kısıtlamaktadır.

Çeşitli kaynaklardan elde edilen mezenkimal kök hücreler (MKH), immünmodülatör ve antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle GVHD ve romatoid artrit gibi çeşitli otoimmün hastalıkların tedavisi için umut verici bir yaklaşım sunmaktadır. Ayrıca, mevcut çalışmalar MKH'nin özellikle AA vakalarında kıl foliküllerindeki bağışıklık tepkisini modüle ederek saç dökülmesini önlemeye yardımcı olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, AA için MKH tedavisinin etkinliğini değerlendiren araştırmalar sınırlıdır ve bu tedavinin in vivo etkileri belirsizliğini korumaktadır. Bu durum, mevcut bilgi açığını kapatmak ve MKH'lerin terapötik potansiyeline ilişkin anlayışımızı geliştirmek için daha derinlemesine çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu vurgulamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada transgenik C3H/HeJ fareleri kullanılarak oluşturulan alopesi areata fare modelinde adiposit türevli MKH'nin hem intralezyonel hem de intravenöz uygulanmasının terapötik etkinliği ile IL-6 ve IL-15 seviyeleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

**Yöntem:** Bu çalışmaya Jackson Laboratuvarı'ndan temin edilen ve kendiliğinden AA geliştirdiği bilinen 5 erkek ve 15 dişi C3H/HeJ faresi dahil edilmiştir ve çoğaltılmıştır. Fareler tedavi yöntemlerine göre gruplara ayrılmıştır:

Grup 1: İntralezyonel MKH ile tedavi edilen alopesi geliştiren C3H/HeJ fareleri.

Grup 2: İntravenöz MKH ile tedavi edilen alopesi geliştiren C3H/HeJ fareleri.

Grup 3: Kontrol grubu olarak intralezyonel salınan alopesi geliştiren C3H/HeJ fareleri.

Grup 4: Kontrol grubu olarak intravenöz salin ile tedavi edilen alopesi geliştiren C3H/HeJ fareleri.

Grup 5: Alopesi gelişmeyen transgenik C3H/HeJ fareleri.

Grup 6: C3H/HeJ farelerinin orijinal kaynağı olan tamamen sağılıklı C57BL/6 fareleri.

Fareler 12 haftalık bir süre boyunca haftalık olarak izlenmiş ve bu süre zarfında MKH tedavisinin etkinliğini değerlendirmek için klinik gözlemler ve fotoğraflama yapılmıştır. 12. haftanın sonunda, tüm gruplardan tam kalınlıkta deri biyopsileri alınmış, doku örneklerindeki IL-15 ve IL-6 sitokinlerinin immün yoğunluklarını değerlendirmek için immünohistokimyasal analizler yapılmıştır.

**Bulgular:** Sonuçlar, intralezyonel MKH enjeksiyonlarının dökölme alanlarında anlamlı bir azalmaya yol açtığını göstermiştir. Ek olarak, intravenöz uygulama dökölme alanlarını azaltmıştır, ancak iyileşme intralezyonel MKH tedavisi ile elde edilenden daha az anlamlı olmuştur. Hem intralezyonel hem de intravenöz olarak verilen kontrol salin enjeksiyonları, MKH tedavisine kıyasla dökölme alanlarını azaltmada etkisiz kalmıştır. Çalışmada ayrıca tedaviden 12 hafta sonra alınan tam kalınlıktaki deri örneklerinde IL-6 ve IL-15 seviyeleri de incelenmiştir. Sonuçlar, özellikle intralezyonel uygulama ile MKH tedavisine bağlı olarak IL-15 ekspresyonunda önemli bir düşüş olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, salin grubu sitokin seviyelerinde kayda değer bir değişiklik göstermemiştir. Ek olarak, MKH tedavisi IL-6 ekspresyonunda önemli bir artışa neden olmuş ve intralezyonel uygulamalar daha güçlü bir etki yaratmıştır.

**Sonuç:** İntralezyonel MKH tedavisi AA'lı farelerde doku IL-15 seviyelerini azaltırken doku IL-6 sitokin seviyelerini artırmıştır. Ayrıca, bu tedavi dökölme alanlarının azalması ve sa foliküllerinde kıl yeniden büyümesi de dahil olmak üzere kayda değer klinik iyileşmelere yol açmıştır. Bu bulgular, intralezyonel MKH tedavisinin antiinflamatuvar özellik göstererek ve dokuyu normalleştirerek AA tedavisine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, intravenöz MKH uygulaması bu önerme için daha az kanıt sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** alopesi areata, interlökin-6, interlökin-15, mezenkimal kök hücreler, fare modeli

# **ADIPOCYTE-DERIVED STEM CELL THERAPY IN ALOPECIA AREATA MOUSE MODEL INDUCED BY TLR4 KNOCK OUT C3H/HEJ MICE**

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Alopecia areata (AA) is an autoimmune condition that affects hair follicles, leading to hair loss without scarring. Its worldwide prevalence ranges from 0.1% to 0.2%, while the lifetime risk stands at 1.7%. AA often co-occurs with other autoimmune disorders, including thyroid disease and vitiligo. Existing treatment options have limited effectiveness, and their side effects restrict their use.

Mesenchymal stem cells (MSC) derived from various sources offer a promising approach for treating several autoimmune diseases, such as GVHD and rheumatoid arthritis, due to their immunomodulatory and anti-inflammatory characteristics. Moreover, current studies indicate that MSC could aid in preventing hair loss by modulating the immune response within hair follicles, especially in cases of AA. Nonetheless, research evaluating the effectiveness of MSC therapy for AA is limited, and the *in vivo* effects of this intervention remain unclear. This highlights the need for more in-depth studies to bridge the existing knowledge gap and enhance our understanding of their therapeutic potential. Therefore, this study examined the therapeutic efficacy of both intralesional and intravenous delivery of adipocyte-derived MSC, along with their influence on IL-6 and IL-15 levels in a mouse model of alopecia areata using transgenic C3H/HeJ mice.

**Method:** This study involved 5 male and 15 female C3H/HeJ mice, known to spontaneously develop AA, sourced from the Jackson Laboratory and bred. Mice were assigned to groups based on the treatment methods:

Group 1: C3H/HeJ mice with alopecia treated with intralesional MSC therapy.

Group 2: C3H/HeJ mice with alopecia treated with intravenous MSC therapy.

Group 3: C3H/HeJ mice with alopecia receiving intralesional saline as a control group.

Group 4: C3H/HeJ mice with alopecia treated with intravenous saline as a control group.

Group 5: Transgenic C3H/HeJ mice that did not develop alopecia.

Group 6: Completely healthy C57BL/6 mice, the original source of the C3H/HeJ mice.

The mice were monitored weekly over a period of 12 weeks, during which clinical observations and photography were conducted to evaluate the effectiveness of MSC treatment. At the end of week 12, full-thickness skin biopsies were taken from all groups, followed by immunohistochemical analyses to assess the immune densities of IL-15 and IL-6 cytokines in the tissue samples.

**Results:** The results showed that intralesional MSC injections resulted in a notable decrease in shedding areas. Additionally, intravenous administration reduced shedding areas, but the improvement was less significant than that achieved with intralesional MSC treatment. Control saline injections, given both intralesionally and intravenously, remained ineffective in reducing shedding areas compared to MSC treatment. The study also examined the levels of IL-6 and IL-15 in full-thickness skin samples taken 12 weeks after treatment. Results showed a significant decrease in IL-15 expression linked to MSC treatment, especially with intralesional delivery. In contrast, the saline group did not show a notable change in cytokine levels. Additionally, MSC therapy resulted in a substantial increase in IL-6 expression, with intralesional applications yielding a stronger effect.

**Conclusion:** Intralesional MSC therapy reduced tissue IL-15 levels while increasing tissue IL-6 cytokine levels in mice with AA. Additionally, this treatment led to notable clinical improvements, including the reduction of shedding areas and the regrowth of hair follicles. These findings indicate that intralesional MSC therapy may contribute to treating AA by promoting anti-inflammatory effects and normalizing tissue. However, intravenous MSC administration provided less evidence for this proposition.

**Keywords:** alopecia areata, interleukin-6, interleukin-15, mesenchymal stem cells, mouse model

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Alopesi areata (AA), kıl foliküllerini, tırnakları ve nadiren de olsa retina pigment epitelini etkileyen kronik, otoimmün bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu durum, anagen fazdaki kıl foliküllerini hedef alarak skar bırakmayan kıl kaybına yol açar. Hastalığın patofizyolojisinde, normal kıl büyüme döngüsünde bir otoimmün bozulma meydana gelir ve bu da kıl foliküllerinde immün ayrıcalığın kaybıyla sonuçlanır. İmmün ayrıcalığın kaybı, foliküllerin otoimmün saldırıya açık hale gelmesine yol açarak AA ile ilişkili kıl kaybını başlatır. Özellikle kıl köklerinde yükselen NKG2D ligandları, sitotoksik CD8+NKG2D+ T hücrelerinin birikmesine neden olarak AA'ya yol açar(1).

Bölgesel farklılıklar göstermekle birlikte, AA'nın küresel prevalansı %0,1 ila %0,2 arasında değişmekte ve yaşam boyu riskin %1,7 olduğu tahmin edilmektedir. Hastalık yaşamı tehdit etmese de hastalarda ciddi psikososyal sorunlara neden olabilmektedir. Diğer otoimmün hastalıklarla da bağlantılı olan AA, özellikle tiroid hastalıkları ve vitiligo ile ilişkilidir(2).

AA tedavisinde sıkça kullanılan immünoterapilerin ve immünsupresan ilaçların etkinliği sınırlıdır ve uzun vadeli kullanımları ciddi yan etkilerle ilişkilendirilmektedir. FDA onaylı tek tedavi olan Janus kinaz inhibitörleri, bazı vakalarda etkili olmakla birlikte tedavi bırakıldığında semptomların tekrar etmesi sıkça gözlenmektedir. Ayrıca, Janus kinaz inhibitörlerinin uzun vadeli güvenliğine ilişkin veriler de yetersizdir. Bu durum,

AA tedavisinde daha güvenli ve etkili alternatif tedavi seçeneklerine duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır(3,4)

Literatürde mezenkimal kök hücrelerin (MKH) immün yanıtı düzenlenme yetenekleri sayesinde otoimmün hastalıkların tedavisinde potansiyel birer terapötik ajan olarak kullanılabileceklerini ortaya koyan birçok çalışma bulunmaktadır. MKH'lerin kan, kemik iliği ve yağ dokusu gibi kaynaklardan elde edilebilmesi de klinik kullanımlarını kolaylaştırmaktadır. Graft-Versus-Host hastalığı (GVHD) ve romatoid artrit gibi dirençli otoimmün hastalıklarda başarılı sonuçlar veren MKH'ler, AA tedavisinde de umut vaat etmektedir. Yapılan bazı in vitro ve ex vivo çalışmalar, MKH'lerin kıl foliküllerindeki immün yanıtı baskılayarak saç dökülmesini engelleyebileceğini göstermiştir(5).

Önceki çalışmalar, MKH'lerin kıl folikülünün immün ayrıcalığını koruyarak kıl dökülmesini yavaşlattığını göstermiştir. MKH'lerin immün toleransı indüklediği bilinmekle birlikte, AA tedavisinde in vivo olarak nasıl etki gösterdiği tam olarak aydınlatılamamıştır. Biz çalışmamızda, kendiliğinden alopesi geliştirebilen transgenik C3H/HeJ farelerini kullanarak yaptığımız çalışmamızda hem intralezyonel hem intravenöz olarak uygulanan adiposit kökenli MKH'lerin AA'daki etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Kıl folikülünün Yapısı ve Özellikleri**

İnsan vücudunda yaklaşık 5 milyon kıl folikülü bulunmakta olup, bu foliküllerin yaklaşık 100.000'i saçlı deride yer almaktadır. Kıl folikülleri, hamileliğin 8 ila 12. haftaları arasında gelişmeye başlar. Kıl gövdesi, kök kılıfları ve dermal papillanın farklılaşması, dermal hücreler ile yüzey epitel hücreleri arasında gerçekleşen bir dizi sinyale dayanmaktadır. Bu sinyaller, her iki hücre popülasyonunda da önemli değişiklikler meydana getirir. Kıl folikülü oluşumu genellikle yüzde başlamakta ve ardından ventral ve kaudal bölgelere doğru yayılmaktadır. Kıl folikülleri hem ektoderm hem de mezoderm kökenlidir. Ektodermden türeyen kök hücreler, sebace ve apokrin bez dahil olmak üzere kıl folikülünün tüm epitelyal bileşenlerini oluştururken, mezodermden köken alan hücreler foliküler dermal papilla ve bağ dokusu kılıfına dönüşmektedir. Ektoderm ve mezodermden kaynaklanan bu yapılar, kıl folikülünün gelişiminde birlikte rol alarak sağlıklı saç büyümesi için gerekli yapısal temeli sağlamaktadır(6).

Doğumdan sonra insan vücudunda yeni kıl folikülü üretimi gerçekleşmez; ancak mevcut foliküllerin ve kılların boyutu, androjenlerin etkisi başta olmak üzere çeşitli hormonal ve çevresel faktörlerin etkisiyle zamanla değişebilir. Son yapılan çalışmalar, deri yaralanması sonrasında yetişkin fare ve tavşan derisinde yeni (de novo) kıl folikülü oluşumunun mümkün olabileceğini ortaya koymuş ve hatta yetişkin insan derisinde de yeni foliküllerin oluşabileceği öne sürülmüştür. Bu bulgular, yetişkin derisinde folikül yenilenmesi potansiyeline işaret etmekte olup, doku rejenerasyonu ve saç restorasyonu

üzerine yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi için önemli bir temel oluşturmaktadır(7).

Kıl foliküllerinin fiziksel koruma, ısı yalıtımı, kamuflaj, ter ve sebum dağılımı, duyuusal ve dokunsal işlevler ve sosyal etkileşim gibi birçok önemli işlevi vardır. Psikososyal önemi göz önüne alındığında, saç büyümesini ve görünümünü değiştiren ilaçlara olan talebin milyarlarca dolarlık bir endüstriyi ortaya çıkarmış olması şaşırtıcı değildir. Ancak, bu amaçla kullanılan etkili ilaç sayısı oldukça sınırlıdır. Bununla birlikte, kıl foliküllerinin biyolojisi ve patolojisine ilişkin son araştırmalar, saç büyüme bozuklukları için daha etkili tedavilerin geliştirilmesi yolunda önemli bir rehber olacaktır. Bu gelişmeler, kıl folikülü işlevlerinin daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, yeni ve etkin tedavi yaklaşımlarının önünü açmaktadır (8–10).

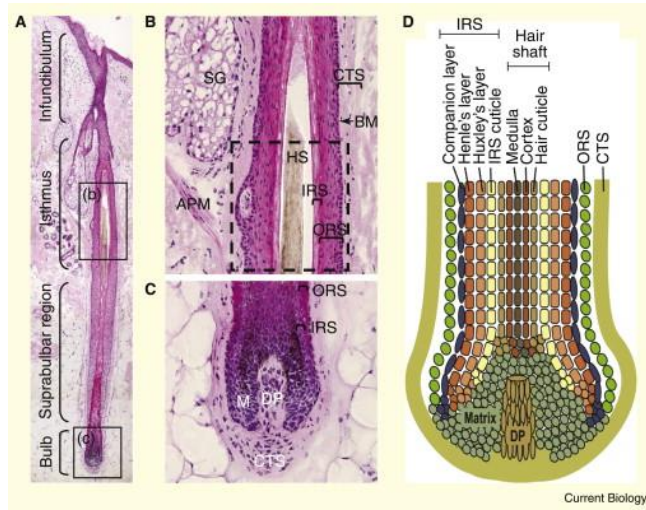
Kıl folikülleri, bulundukları konuma göre boyut ve şekil açısından önemli farklılıklar gösterse de benzer yapılara sahiptir. Kıl kökündeki hızla çoğalan matriks hücreleri, büyük ölçüde kıla özgü ara filamentler ve ilişkili proteinlerden oluşan kıl shaftını üretir. Kıl shaftındaki pigment ise matriks hücreleri arasına dağılmış olan melanositler tarafından sentezlenir. Matriks hücreleri farklılaşarak yukarı doğru hareket ettikçe, sert iç kök kılıfı tarafından sıkıştırılır ve bu süreç, hücrelerin boyutlarını ve eğriliklerini belirleyerek kılın nihai şeklini oluşturur. Folikülün tabanında bulunan ve özel fibroblastlardan oluşan dermal papilla, matriks hücrelerinin sayısını kontrol eder ve dolayısıyla kılın boyutunu belirlemede kritik bir rol oynar. Bu yapıların koordineli işleyişi, kılın sağlıklı gelişimini ve karakteristik özelliklerini oluşturur(11).

Kıl foliküllerinin normal gelişimi ve döngüsü, foliküler epitel ile bitişindeki mezenkimal dermal papilla arasındaki etkileşime dayanmaktadır. Dermal papilla, fetal gelişim sürecinde epitelden kıl folikülü oluşumunu tetikler ve yetişkinlerde her yeni foliküler döngünün başlangıcında alt folikülün yeniden üretimi için kıl folikül çıkıntısındaki (bulge) ikincil germ hücreleriyle etkileşime girer. Bu folikül çıkıntısı, erektör pili kasının yapışma noktasına yakın konumlanmış, dış kök kılıfında biyokimyasal olarak farklı hücrelerden oluşan bir hücre kümesidir. Bu hücreler, epitelyal kök hücrelerin karakteristik özelliklerine sahiptir ve kıl folikülü içinde en yavaş döngüye sahip, en uzun ömürlü epitel hücreleri olarak öne çıkar. Dış kök kılıfının çıkıntı bölgesindeki epitelyal kök hücreler, aynı zamanda epidermal ve sebace bez hücreleri için

bir rezervuar görevi görebilir. Bu hücreler, normalde epidermal hücrelerin eksprese ettiği proteinlerden farklı bir dizi keratin, adezyon molekülü, sitokin ve büyüme faktörü reseptörü eksprese ederler. Folikülden dışarıya göç ederek yaralanma veya hücre kaybı sonrasında epidermisi yeniden oluşturma görevini üstlenirler. Bu etkileşimler, kıl folikülünün sağlıklı işleyişi ve yenilenmesi için kritik bir öneme sahiptir ve folikül biyolojisi üzerine yapılan araştırmaların temel konularından biridir. Kıl folikülünün dış kök kılıfı, melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri gibi farklı hücreleri içerir. Bu hücrelerin tümü, kıl folikülünün çeşitli işlevlerinde rol oynar. Örneğin, kıl folikülü cilt için bir duyu organı ve immünolojik koruma mekanizması işlevi görür. Cilt yüzeyindeki mekanik uyarıları algılar ve hafif bir bükülmesiyle bile foliküldeki nöro-reseptörleri harekete geçirerek sinir sistemine önemli duyu bilgilerin iletilmesini sağlar. Folikül girişindeki Langerhans hücreleri, yüzeydeki patojenleri tespit ederek bağışıklık sistemini aktive eder. Kıl folikülü, tabanında immünolojik olarak ayrıcalıklı olan ve MHC-I ekspresyonu bulunmayan matriks hücrelerini içerirken, perifoliküler makrofajlar, mast hücreleri ve diğer immün hücrelerle birlikte karmaşık bir immünolojik profile sahiptir(9).

Kıl folikülleri, her biri benzersiz işlevler üstlenen ve 20'den fazla farklı hücre popülasyonunu içeren çok sayıda epitel ve mezenkimal kaynaklı hücre katmanından oluşur. Kıl folikülü, sebase bezi ve erektör pili kasıyla birlikte "pilosebace ünite" olarak adlandırılan yapısal birimi oluşturur(12). Olgun kıl folikülü, döngü yapmayan "kalıcı" bir üst kısım ve her döngüde sürekli olarak yeniden şekillenen alt kısım olmak üzere iki ana bölgeye ayrılabilir. Üst kısım, saç kanalının cilt yüzeyine açılan infundibulum bölgesi ve istmus bölgesini içerir. Alt kısım ise gerçek kıl shaftının üretildiği ampul bölgesini temsil eder. Proksimal uçta, infundibulum dış kök kılıfının erektör pili kasının yerleştirildiği istmus bölgesi ile birleşir. Bu birleşim noktasının altındaki çıkıntı bölgesi, epitelyal ve melanositik kıl folikülü kök hücrelerini barındıran bir bölgedir ve kalıcı üst bölgenin sonunu oluşturur. Çıkıntı bölgesi, kıl folikülü büyümesinde kritik bir öneme sahiptir ve dış kök kılıfında, epitelyal ve nörektodermal kök hücrelerin bulunduğu özel bir bölme olarak kabul edilir. Anagen büyüme fazı sırasında, saç lifi ve iç kök kılıfı, dermal papillaya bitişik ampulla bölgesinde keratinosit geçişini hızlandıran hücrelerin yoğun proliferasyonu ile büyür. Dermal papillada bulunan özel mezenkimal hücrelerin yoğunlaşması, saç büyümesini teşvik eder. Nitekim, dermal papilla ve alt dermal kılıfın

cerrahi olarak çıkarılmasının saç büyümesini engellediğinin gösterilmesi, bu özel mezenkimal hücrelerin kıl foliküllerinin büyümesindeki önemini ortaya koymaktadır. Bir kıl folikülünün kesitinde, her biri farklı bir keratin deseni ifade eden en az sekiz farklı eş merkezli katmandan oluşan bir silindirik yapı görülür. Bu katmanlar, dış kök kılıf, iç kök kılıf ve son olarak kıl shaftı olmak üzere dıştan içe sıralanır. Dış kök kılıfın çıkıntı bölgesinde epitelyal kıl folikülü kök hücreleri bulunur. Kıl folikülü epitelinin orta kısmı, kıl shaftını destekleyen yapıdır. Tüm kıl folikülü epiteli, bir bazal membran üzerinde yer alan ve gevşek bir kolajen ve stroma hücre birikimi içeren, mezodermden türeyen bir bağ dokusu kılıfıyla çevrilidir. Kıl shaftı, dıştan içe kütikül, korteks ve medulla olmak üzere üç ana bileşenden oluşur (13–16) .



**Şekil 1.** Folikülün histolojik yapıları

1.Dış Kök Kılıfı (ORS): Keratinosit ve melanosit kök hücrelerinin rezervuarı olarak görev yapan multipotent kök hücreler ve keratinositleri içerir. ORS, erektör pili kasının yapışma noktası ile sebace bezinin kanalı arasında yer alır(17).

2.İç Kök Kılıfı (IRS): Üç katmandan oluşur; Henle katmanı, Huxley katmanı ve kütikül katmanı. IRS'nin kütikül tabakası, saç shaftının kütikül tabakasına bitişik olarak kıl shaftını foliküle sabitler. IRS hücreleri, trikohyalin ve keratin üreterek kıl shaftını destekler ve şekillendirir; böylece büyüyen kıl gövdesinin yukarı doğru hareketini yönlendirir. IRS aynı zamanda kıl gövdesini ORS'den ayırır(17).

3.Kıl Kökü: Folikülün aktif olarak kıl üreten kısmıdır. Bu yapı, foliküler dermal papillayı, dermal papilla hücrelerini, mukopolisakkarit açısından zengin stromayı, sinir liflerini ve tek bir kılcık halkayı içerir. Foliküler papilla, kıl folikülünün büyümesini ve belirli bir büyüklükte, pigmentli bir kıl gövdesinin oluşumunu sağlayan ana faktörlerden biridir. Ayrıca kıl büyümesi ve melanogenez için kritik olan keratinosit büyüme faktörü (KGF), kemik morfogenetik proteini (BMP), hepatosit büyüme faktörü (HGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) ve kök hücre faktörü gibi büyüme faktörlerinin kaynağıdır(17).

4.Üst Kıl Folikülü: İki anatomik bölümden oluşur; infundibulum ve istmus. Infundibulum, sebase bezinin bir ürünü olan sebum ile dolu huni şeklinde bir yapı olup cilt yüzeyinden sebase bez kanalına kadar uzanır. Aynı zamanda kıl folikülü ile ilişkili hücre popülasyonlarıyla etkileşimler için bir arayüz sağlar. İstmus ise kıl folikülünün üst kısmını tamamlayarak sebase bezinin kanalından erektör pili kasına kadar uzanır(17).

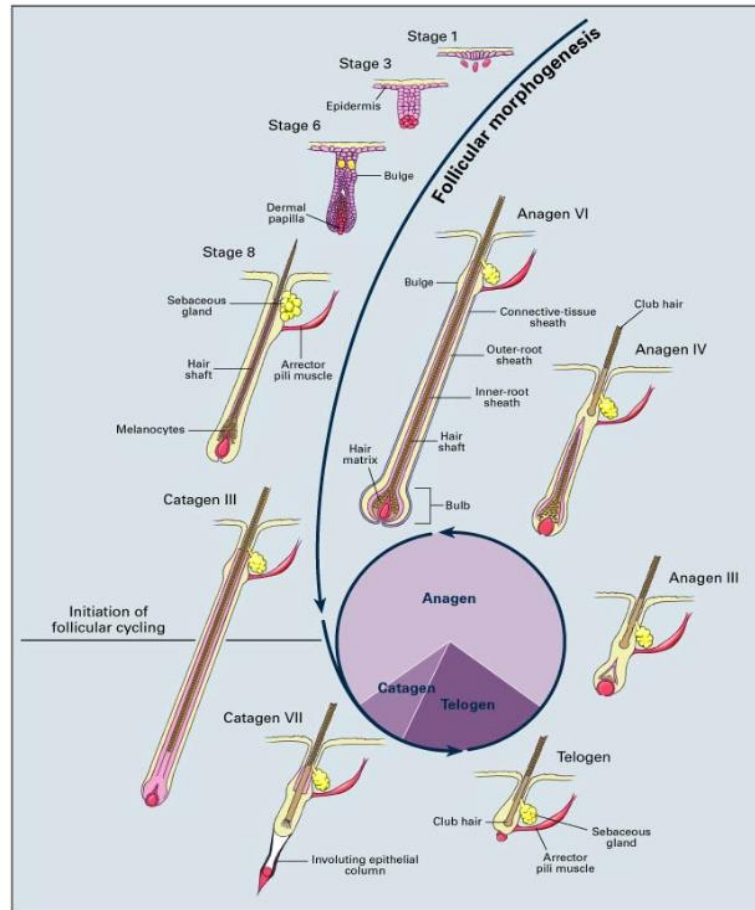
### **2.1.1. Kıl Büyüme Döngüsü**

Kıl folikülü döngüsü, büyüme (anagen), apoptoz aracılığıyla gerçekleşen gerileme (katagen) ve göreceli hareketsizlik (telogen) olarak adlandırılan döngüler arasındaki dinamik geçişlerden oluşur. Her döngü sırasında yeni bir kıl gövdesi oluşur; eski kıl ise, eksojen olarak adlandırılan aktif olarak düzenlenen bir süreç sonunda dökülür. Bireysel kıl kökleri bağımsız olarak döngü yapar ve her bir kıl kökü yaşam boyunca yaklaşık on ila otuz döngüden geçer(18). Çoğu bireyde herhangi bir zamanda yaklaşık 100.000 saç teli bulunur ve günlük 100 ila 150 telogen fazdaki saç kaybı fizyolojik olarak kabul edilir. Foliküllerin bir kısmı anagen fazdayken, diğerleri telogen veya katagen fazda olduğundan, sağlıklı koşullarda kıl yoğunluğu ve toplam kıl folikül sayısı nispeten sabit kalır(19). Yeni kıl gövdesinin üretilmesi, kıl folikülünün epitelinde, özellikle çıkıntı bölgesinde bulunan saç özgül epitelyal kök hücrelerin aktivasyonuna bağlıdır(20). Kıl folikülü, kendi ürettiği çeşitli büyüme faktörleri, sitokinler, nöropeptitler ve hormonlara karşı yüksek duyarlılık gösterse de kıl folikülü döngüsü otonom bir süreçtir ve izole kıl foliküllerinde bile devam edebilir(21).

Kıl döngüsünün sürdürülmesi ve düzenlenmesi, foliküler kök hücrelerin yanı sıra epitelyal, mezenkimal ve melanositik hücreler arasındaki sıkı etkileşimi gerektirir. Kıl folikülünün çıkıntı bölgesindeki kök hücreler, kıl folikülü pigmentasyonu da dahil olmak

üzere, kıl folikülünün gelişimi ve işlevi için kritik öneme sahip olan farklılaşmamış multipotent kök hücreler için erişilebilir bir kaynak olarak işlev görebilir(22).

Çıkıntı bölgesi aktivasyon teorisine göre, dermal papilladaki faktörler, çıkıntı bölgesindeki kök hücreler üzerine etki ederek kıl döngüsünü modüle eder. Bu teoriye göre, çıkıntı bölgesindeki kök hücreler dermal papilladan gelen sinyallere yanıt vererek çoğalmaya başlar. Hücre proliferasyonu, matriks hücreleri de dahil olmak üzere kıl folikülünün tüm yapısının hücresel kaynağını oluşturur. Bu hücreler, sınırlı sayıda mitoz geçirebilen geçici çoğalan hücreler olup anagenin uzunluğunu ve katagenin başlangıcını belirler. Katagen evresi sırasında, foliküler papillanın yukarı doğru hareketi, hücre temaslarının yeniden kurulması ve yeni bir saç döngüsünün başlatılması için kritik bir rol oynar(23).



**Şekil 2.** Kıl foliküllerinin gelişimi ve döngüsü. Şekilde, kıl foliküllerinin morfogenez aşamaları ile foliküler döngünün üç ana evresi olan anagen, katagen ve telogen evreleri gösterilmektedir.

Anagen fazı, kıl folikülünün büyüyerek karakteristik yapısına kavuştuğu aktif bir büyüme dönemidir. Yeni kıl folikülünün oluşumu, çıkıntı bölgesindeki ikincil germ hücrelerinin çoğalmasıyla başlar. Bu süreçte dermal papilla ile üstteki foliküler epitel arasındaki etkileşimler kritik bir rol oynar. Anagen fazı kıl köklerinde birkaç yıl sürebilir ve saçın uzunluğunu belirleyen en uzun süreli büyüme evresi olarak kabul edilir(18).

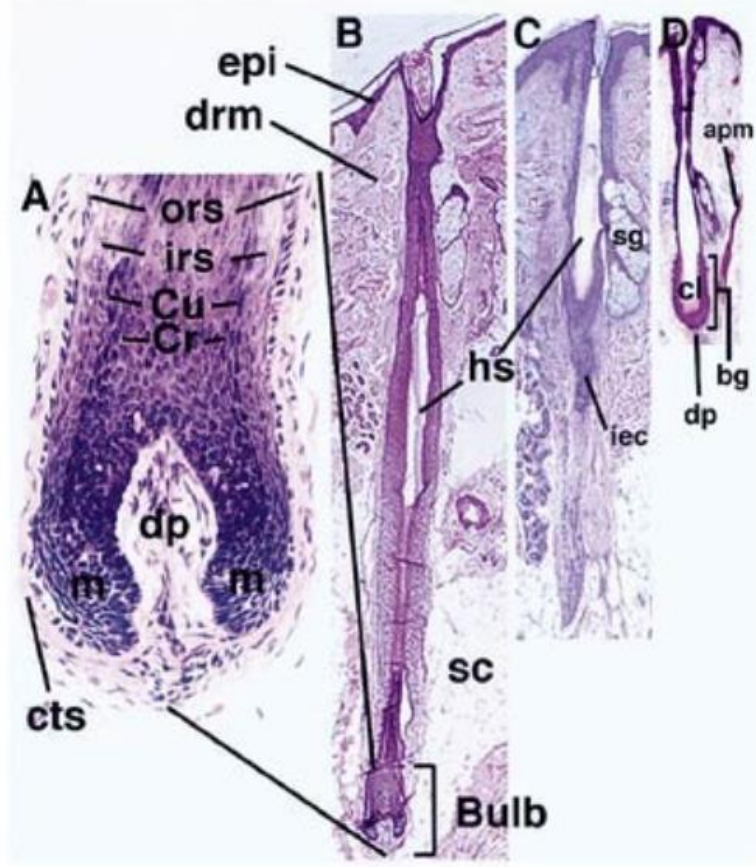
Anagen fazı, altı alt aşamaya (I-VI) ayrılır:

- Anagen I-V (Proanagen): Bu aşamalar sırasında kıl progenitör hücreleri çoğalır ve dermal papillayı sararak kıl shaftı ve iç kök kılıfına farklılaşmaya başlar. Yeni kıl shaftı bu aşamalarda gelişmeye başlar ve saç matriksinde yer alan melanositler pigment üretir.

- Anagen VI (Metanagen): Bu son aşama, deri altı dokusunun derinliklerinde bulunan dermal papillayı çevreleyen epitelyal saç ampulünün oluşması ve kıl shaftının deriden çıkması ile karakterize edilir. Bu aşamada saç lifi üreten birim tam anlamıyla yeniden yapılır ve işlevselliğine kavuşur Vücudun farklı bölgelerindeki kıl folikülleri, anagen döngüsünün süresine bağlı olarak değişen uzunluklarda kıllar üretir. Örneğin, saçlı derideki kıl folikülleri anagen aşamada iki ila sekiz yıl boyunca kalarak uzun kılların oluşmasını sağlarken, kaşlardaki kıl folikülleri yalnızca iki ila üç ay boyunca anagen aşamada kalır ve bu nedenle daha kısa kıllar üretir. Bu süre farklılıkları, vücudun çeşitli bölgelerindeki kılların farklı uzunluklarda olmasının temel nedenidir(24).

Katagen fazı, anagen fazın sona ermesinin ardından başlayan ve kıl foliküllerinde önemli değişikliklerin meydana geldiği bir süreçtir. Bu aşamada, foliküler keratinositlerin çoğunda apoptoz gerçekleşir; böylece folikül, kontrollü bir gerileme sürecinden geçer. Foliküler melanogenez de katagen fazında durur ve bazı foliküler melanositler de apoptoza uğrar. Katagen aşamasının sonuna doğru dermal papilla yoğunlaşır ve yukarı doğru hareket ederek kıl folikül çıkıntısının altında konumlanır. Dermal papilla, katagen sırasında folikül çıkıntı bölgesine ulaşır buradaki kök hücrelerle etkileşime giremezse, insanlarda ve tüysüz gen mutasyonuna sahip farelerde gözlemlendiği gibi folikül döngüsü durur ve yeni saç oluşumu gerçekleşmez. Farelerde katagen aşaması sırasında, görünüşte fizyolojik bir "programlanmış organ silinmesi" sürecinin bir parçası olarak bazı kıl folikülleri inflamatuvar hücre sızıntısı nedeniyle tahrip olur. Bu tür anormal

programlanmış organ silinmesi, bazı kalıcı alopesi türlerinin altında yatan neden olabilir (25,26).



**Şekil 3.** Anagen, katagen ve telogen aşamalarında kıl foliküllerinin yapısal özellikleri(9)

Şekil A: Anagen aşamasındaki bir kıl kökünü gösterir. Bu panelde folikül, büyüme evresinde aktif durumdadır ve yapılar iyi gelişmiştir. Anagen faz, saçın aktif olarak üretildiği ve dermal papilla (dp) ile saç matriksi (m) arasındaki etkileşimin yoğun olduğu bir evredir.

Şekil B: Anagen aşamasındaki kafa derisinde bulunan bir kıl folikülünü gösterir. Kıl folikülü derin bir şekilde dermis (drm) ve subkutan yağ (sc) içine uzanmıştır. Kıl shaftı (hs) belirgin olup, dermal papilla (dp) ile saç matriksi (m) etkileşim halindedir. Sebase bezi (sg) ve erektör pili kası (apm) da bu panelde gözlemlenebilir.

Şekil C: Katagen aşamasındaki kafa derisinde bulunan bir kıl folikülünü gösterir. Bu evrede folikül küçülmeye başlar, dermal papilla (dp) yukarı doğru hareket eder ve

folikülün geri çekildiği gözlemlenir. İç kök kılıfı (irs) ve korteks (Cr) belirgin bir şekilde daralmıştır.

Şekil D: Telogen aşamasındaki kafa derisinde bulunan bir kıl folikülünü gösterir. Telogen faz, folikülün dinlenme aşamasıdır ve kıl shaftı (hs) epidermise (epi) yakın bir pozisyonda kalır. Çıkıntı bölgesi (bg) ile bağ dokusu tabakası (cts) arasında belirgin bir mesafe vardır ve folikül nispeten hareketsizdir.

Telogen fazı, katagen fazın ardından başlar ve kıl folikülünün dinlenme evresini ifade eder. Bu süreç, bölgeye bağlı olarak birkaç haftadan (kirpikler) sekiz aya kadar (saç derisi) sürebilir. Telogen fazındaki kıl folikülleri, pigment üreten melanositlerin ve iç kök kılıfının (IRS) bulunmaması ile karakterizedir. Bu evrede dermal papilla, kıl folikülünün kök hücrelerini içeren küçük bir ikincil saç germ keratinosit başlığına sıkıca bağlıdır. Normal koşullarda, saçların yaklaşık %10-15'i telogen aşamasında bulunur. Bu aşamanın sonunda saçlar dökülme fazına girer ve günde 50 ila 150 saç telinin kaybı fizyolojik kabul edilir. Telogen fazı sona erdiğinde, kıl folikülü çıkıntı bölgesindeki kök hücrelerin uyarılmasıyla anagen faza geçer(26).

### **2.1.2. Kıl Folikülü İmmün Sistemi**

Kıl folikülü, immünolojik olarak bazı önemli özelliklere sahiptir. Foliküler kanal, enfeksiyöz ajanların vücuda giriş yaptığı başlıca açıklıklardan biridir; buna rağmen, bağışıklık sistemi sağlam olan bireylerde enfeksiyon nadiren görülür. Bu durum, folikül düzeyindeki keratinositlerin enfeksiyonlara karşı koruyucu mekanizmalara sahip olmasıyla ilişkilidir. Bu sistemin başlıca elemanları; Langerhans hücreleri, makrofajlar, T hücreleri ve mast hücreleri olarak sıralanabilir. Ayrıca folikül epiteli, salgıladığı  $\beta$ -defensinler ile vücudun doğal bağışıklık tepkisine katkı sağlar. Patojenik olmayan mikroflora ise, sebumun parçalanmasını ve cilt pH'sının dengelenmesini sağlayarak enfeksiyöz ajanlara karşı koruma görevini üstlenir(27).

Kıl folikülü bağışıklık sistemi, kıl döngüsünün anagen fazında immün ayrıcalıklı koşulların sürdürülmesi için çeşitli özelliklere sahiptir. Proksimal kıl folikülü epiteli (iç kök kılıfı ve matriks), TGF- $\beta$  gibi bölgesel immün baskılayıcı sitokinlerin salınımını, azaltılmış MHC-I ekspresyonunu ve NK hücrelerinin inhibisyonunu sağlar. Bu sistemin

çöküşünün AA gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Kıl folikülünde yer alan immün ayrıcalıklı bölgenin kaybı, otoantikor oluşumu ve hücrel bağışıklık ile ilişkilendirilmiştir. AA'nın, dış ya da iç antijenler ya da normal veya anormal epitoplardan mı tetiklendiği henüz bilinmemektedir(28).

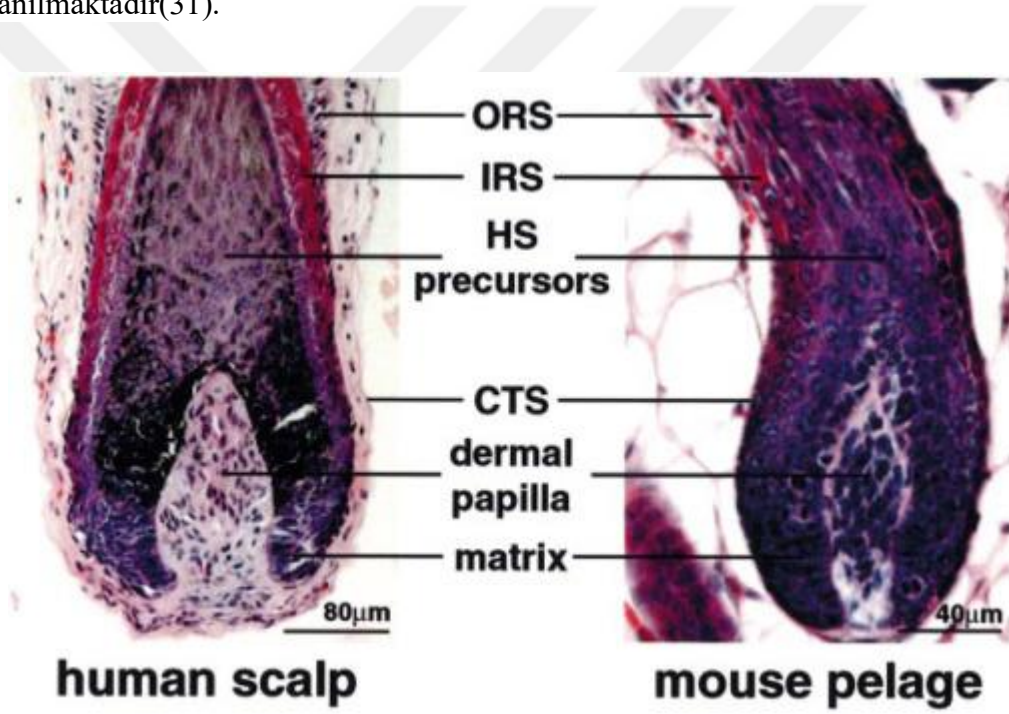
Patogenez çalışmalarında süreç şöyle özetlenmektedir: anagen kıl folikülü immün ayrıcalıklı bölgeyi koruyamazsa, hücre yüzeyinde epitop olarak bilinen ve antijenik uyarı potansiyeline sahip bölgeler açığa çıkar. Antijen sunumunun ardından immün sistemin aktive olması ve T lenfositlerinin harekete geçmesiyle inflamatuvar hücreler kıl foliküllerine göç eder ve bu bölgeyi infiltre ederek klinik belirtiler oluşturur. Kıl folikül epiteli, özellikle matriks bölgesi, diğer cilt bölgelerinden farklı olarak görece immün ayrıcalıklı bir alandır ve proinflamatuvar hadiselerden genellikle uzaktır. Bu immün ayrıcalık, proinflamatuvar sitokinlerin (IFN- $\gamma$  vb.) artışıyla kaybolurken, zayıf antijen sunumu, MHC-I eksikliği ve TGF- $\beta$  gibi güçlü immunsupresif sitokinlerin varlığıyla sürdürülür(9,28).

Bu bağlamda, immün sistem baskılayıcı ilaçlar olan siklosporin, azatiyopürin ve kortikosteroidler (KS), saç büyümesi üzerinde belirgin etki göstererek alopesi areata tedavisinde kullanılmaktadır. Kıl folikülü döngüsünün devamında büyüme faktörlerinin, hormonların, nöropeptidlerin, sitokinlerin ve nörotransmitterlerin önemli rol oynadığı düşünülmekle birlikte, altta yatan immünolojik mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Kıl folikülünün immünolojik özellikleri hakkındaki anlayışın gelişmesi, doğal bağışıklık sistemleri ve immün ayrıcalıklı bölgelerin işleyişi hakkında farklı bakış açıları sunmanın yanı sıra, salınan sitokinlerin ve diğer mediatörlerin hastalık süreçlerindeki rollerinin kavranmasına yardımcı olacaktır(27,29).

### **2.1.3. Fare Kıl Folikülü ve Farklılıkları**

İnsan ve fare kıl folikülleri (KF), organizasyon ve işlev açısından benzer temel özellikleri paylaşır ve fareler üzerinde yapılan araştırmalar, kıl biyolojisinin anlaşılmasında önemli bir temel oluşturmuştur. Her iki türde de KF'leri, aynı temel hücre tiplerini içerir ve anagen, katagen ve telogen aşamaları arasında tekrarlayan bir döngü izler. Yetişkin insanlarda, başlıca iki tür kıl bulunur: yoğun pigmentli terminal kıllar ve daha ince yapılı vellus kılları. Buna karşın, farelerde birden fazla kıl türü tanımlanmıştır: kürk kılları,

vibrissae (bıyık), kirpikler, kuyruk kılları, kulak kılları, ayak çevresindeki kıllar ile genital, perianal bölge ve meme uçlarındaki kıllar bunlara örnektir. Fare kıllarını analiz ederken, bu çeşitli kıl tiplerini ayırt etmek büyük önem taşır; çünkü farklı kıl folikülü popülasyonları arasında moleküler kontrollerde belirgin farklılıklar vardır. Her kıl tipi, özgün gelişim süreçlerine ve döngü düzenleyici mekanizmalara sahiptir(30). Bu farklılıklara rağmen spontan fare mutantları ve genetiği değiştirilmiş fare modelleri, kıl folikülü biyolojisi ve patolojisinin moleküler düzeyde anlaşılmasında son derece yararlı olmuştur. Bu modeller, kıl folikülü döngüsü, kök hücre dinamikleri ve kıl dökülmesi gibi süreçlerin moleküler mekanizmalarının karakterize edilmesine olanak tanıyarak, ilgili hastalıkların altında yatan patolojik süreçleri anlamada önemli bir araştırma aracı olarak kullanılmaktadır(31).



**Şekil 4.** İnsan kafa derisi ve fare derisindeki kıl kökü yapısının karşılaştırılması. (Parafin kesitleri H&E ile boyanmış ve x10 (insan) ve x20 (fare) büyütmelemlerde fotoğraflanmıştır. IRS, iç kök kılıfı ; ORS, dış kök kılıfı ; CTS, bağ dokusu kılıfı; HS, saç mili)(32).

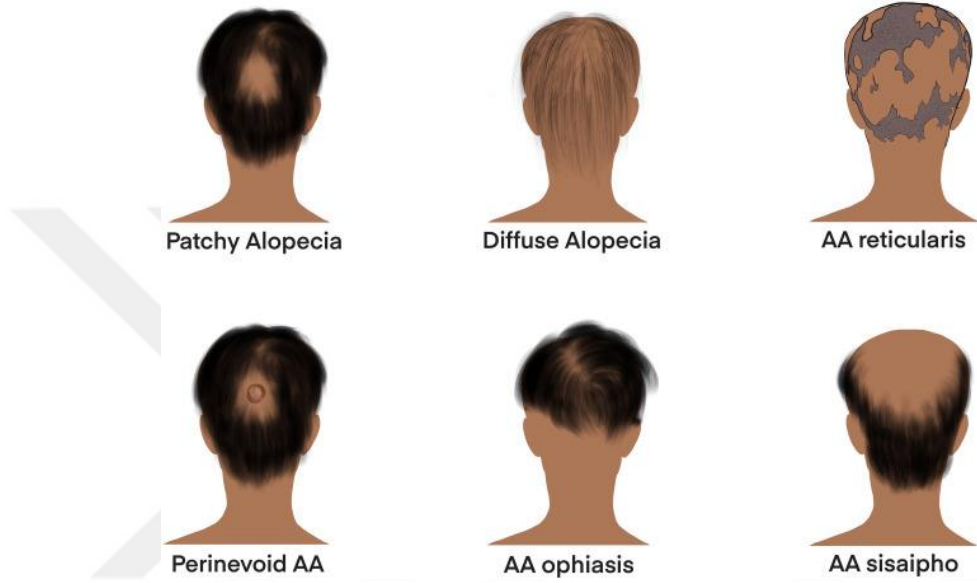
Bununla birlikte, fare kıl folikülü (KF) modelinin translasyonel potansiyelini sınırlayan türler arası önemli farklılıklar bulunmaktadır. En önemli fark, insan kafa derisindeki anagen fazının birkaç yıl sürmesine karşın, farelerin sırt derisindeki anagen fazının yalnızca 2-3 hafta sürmesidir. Ayrıca, fare ve insan epitelyal KF kök hücreleri belirteçleri ve özellikleri bakımından farklılık gösterir. Farklı fare türleri arasında bile kıl büyüme

döngüsünde farklılıklar gözlemlenir. Dahası, fare derisindeki KF'leri, döngülerini senkronize ederek koordineli şekilde büyürken, insan kafa derisindeki KF'leri ise eşzamanlı olmayan bir döngüye sahiptir. Hem insan hem de fare KF'leri hormonal uyarıcılara oldukça duyarlı olsalar da bu uyarıcılara verdikleri tepkiler farklılık gösterir. Örneğin, östrojen ve prolaktin hormonları farelerde KF büyümesini ve döngüsünü engellerken, her iki hormon da insan kadın temporofrontal kafa derisindeki KF'lerinde anagen süresini uzatmaktadır. Dolayısıyla, fare KF'lerinin saç büyümesini modüle edici aday ajanlara verdiği tepki, insan KF'lerinin tepkisini tam olarak yansıtmayabilir ve hatta yanıltıcı olabilir. Son olarak, androjenetik alopeside görülen androjen bağımlı KF minyatürleşmesi fenomeni, mevcut fare modellerinde tekrarlanamamaktadır(33). Örneğin, C57BL/6 fareleri, kıl foliküllerinin anagen, katagen ve telogen fazlarına belirli bir zaman ölçeğinde girer. Yeni doğan fareler, doğumdan sonraki ikinci haftada katagen fazına, üçüncü haftada telogen fazına ve dördüncü haftada anagen fazına geçer. Buna karşın, yetişkin bir insanın kafa derisinde anagen fazı yaklaşık 3 yıl sürer, ardından yaklaşık 3 haftalık katagen fazı ve yaklaşık 3 aylık telogen fazı izler. Kıl folikülü büyüme döngüsünün üç aşamasının süresi ve sıralaması, genetik arka plan, çevresel faktörler, cinsiyet, beslenme gibi çeşitli etkenlerden etkilenebilir. Ayrıca, sıcaklık ve ışık gibi çevresel faktörler de kıl köklerinin büyümesini etkileyebilir. Yapılan çalışmalar, 650 nm dalga boyundaki kırmızı ışığın insan kıl folikülü hücrelerinin çoğalmasını destekleyebildiğini ve foliküllerin anagen fazdan telogen fazına geçişini önemli ölçüde geciktirebildiğini göstermektedir. Aynı zamanda, kılın düzenli büyüme döngüsü, kıl foliküllerinin periferik sinirler tarafından beslenmesi ve düzenlenmesi ile de yakından ilişkilidir(26).

## **2.2. Alopesi Areata**

Alopesi Areata (AA), kıl foliküllerini, tırnakları ve nadir durumlarda retina pigment epitelini etkileyen, skar bırakmayan, kronik ve T hücre aracılı bir alopesi türüdür. Mevcut bulgular, AA'nın otoimmün temelli olduğunu, genetik katkının önemli bir rol oynadığını ve bazı bilinmeyen çevresel faktörlerin de etkili olduğunu göstermektedir. Bildirilen tetikleyiciler arasında duygusal veya fiziksel stres, aşılar, viral enfeksiyonlar ve bazı ilaçlar bulunmaktadır(34). AA, en sık saçlı deriyi etkiler; ancak kaş, kirpik, sakal gibi kıl folikülü içeren diğer bölgelerde de görülebilir. Genellikle belirgin sınırlara sahip,

yuvarlak veya oval biçimli alopesik yamalar şeklinde ortaya çıkar. AA'nın çeşitli klinik alt tipleri bulunmaktadır. Bunların arasında, saçın tamamının kaybını ifade eden alopesi totalis (AT) ve vücuttaki tüm kılların kaybını ifade eden alopesi universalis (AU), tedaviye dirençli ve yaygın tutulum gösteren tipler olarak öne çıkar. Diğer alt tipler ise yamalı AA, yaygın AA, AA retikularis, AA ofiasis, AA sisaipho ve perinevoid AA olarak sınıflandırılmaktadır(35).



**Şekil 5.** Alopesi areata varyantlarının klinik sınıflandırmaları(35).

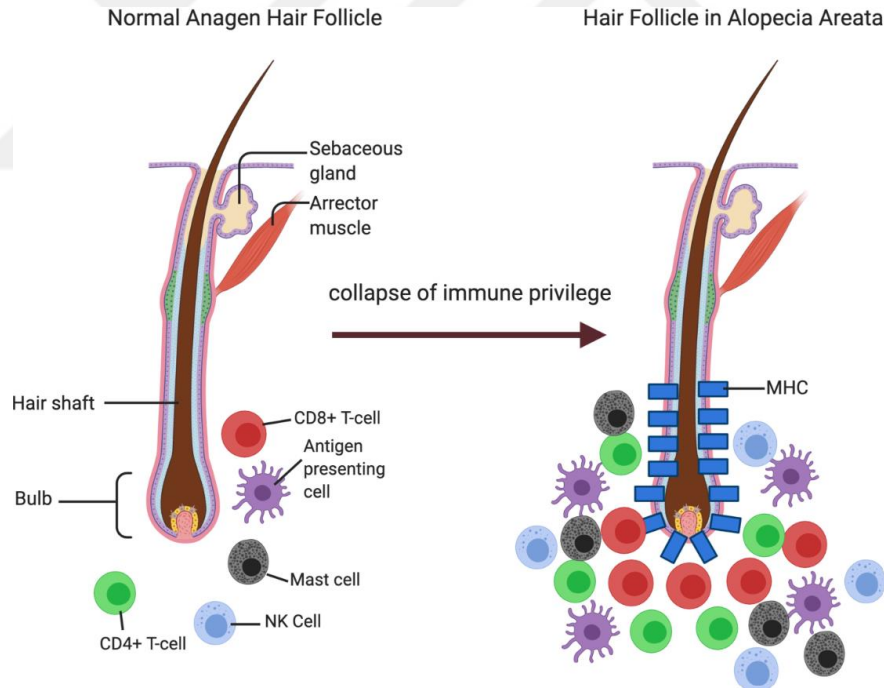
AA, toplumda sık rastlanan bir hastalıktır ve yaşam boyu görülme oranı yaklaşık %1,7'dir. Hastaların %70-80'i 40 yaşın altındayken, %48'i 10-20 yaş aralığındadır(36). Epidemiyolojik çalışmalar, AA'nın cinsiyet ayrımı gözetmeksizin ortaya çıktığını, ancak erkeklerde genellikle daha erken yaşta başladığını göstermektedir. Hastalığın tedaviye yanıt oranı oldukça değişken olup bazı durumlarda kendiliğinden iyileşme de gözlemlenmektedir. Bununla birlikte, AT ve AU gibi daha ağır formlarda tedaviye direnç sıkça görülmekte olup, bu tür şiddetli vakalar için etkinliği kanıtlanmış tedavi seçenekleri henüz sınırlıdır(2).

### **2.2.1. Alopesi Areata Patogenezi**

AA'nın etiopatogenezinde hala tam olarak anlaşılmamış noktalar bulunmaktadır; ancak hastalığın genetik ve çevresel faktörlerin tetiklediği bir T hücre aracılı otoimmün yanıtla ve anagen fazdaki kıl foliküllerindeki immüniteden korunma durumunun kaybolmasıyla

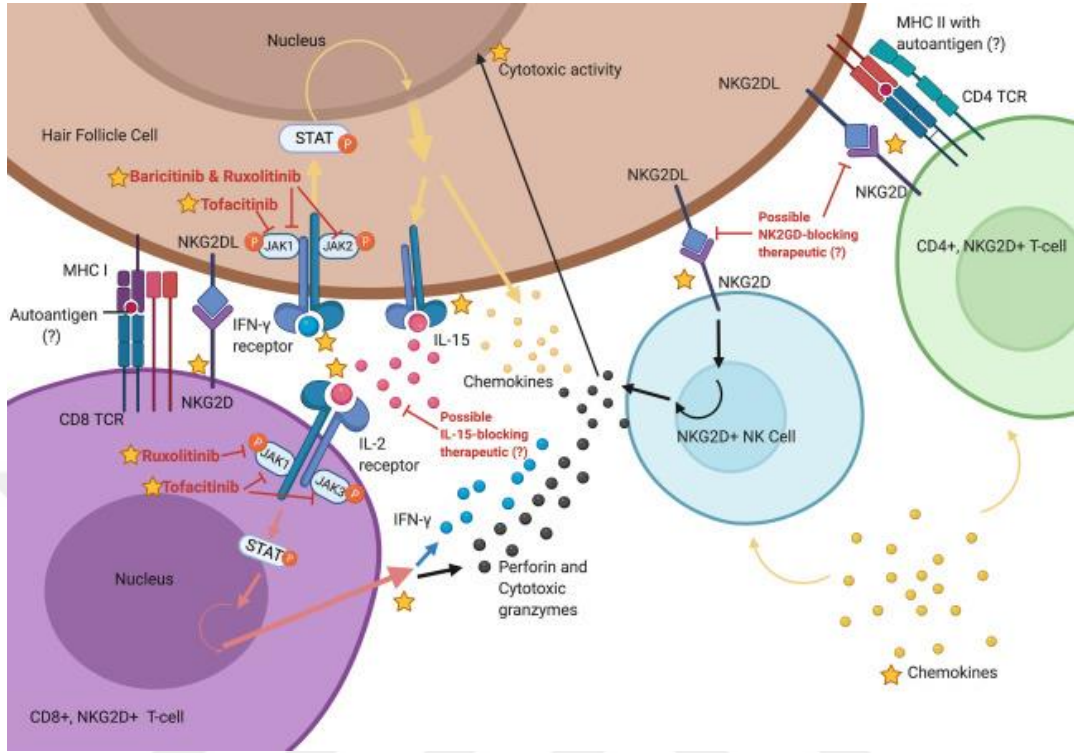
ortaya çıktığı düşünülmektedir. Kıl kökleri çeşitli mekanizmalar aracılığıyla immün sistem saldırılarından korunur. Bu durum literatürde 'immün ayrıcalık' olarak nitelendirilmektedir. Kıl folikülleri, majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf I ve II moleküllerini düşük seviyelerde sergileyerek antijen sunumunu ve bağışıklık aktivasyonunu azaltır. Ayrıca melanosit uyarıcı hormon alfa (MSH- $\alpha$ ) ve TGF-beta1(TGF- $\beta$ 1) gibi bağışıklık sistemini baskılayan maddeler üretirler. Yapılan birçok çalışma, AA'nın gelişiminde T helper 1 (Th1) ve Th17 lenfositlerinin önemli bir rol oynadığını göstermiştir (37,38)

T regülatör hücrelerinin (Treg), antiinflamatuvar sitokinler salgılayarak otoimmün yanıtları baskıladığı ve Th1, Th17 gibi inflamasyonu teşvik edici hücreleri kontrol altında tuttuğu bilinmektedir. Treg hücrelerinde meydana gelen fonksiyonel bir bozukluğun otoimmün hastalıkları tetikleyebileceği düşünülmektedir; ancak AA'nın patogenezindeki rolleri tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir(39).



**Şekil 6.** "Arı Sürüsü" görünümü olarak tanımlanan inflamatuvar infiltrat, AA'da kıl folikülünde MHC-I ve MHC-II'nin artan aktivitesi ile ilişkilidir. Bu durum, kıl folikülünün bulbus bölgesine lökosit göçünü tetiklemektedir. Bu görünüm, kıl folikülünün immün ayrıcalığının bozulduğunu ve folikülü çevreleyen sitotoksik T hücreleri (CD8+), Th hücreleri (CD4+), antijen sunan hücreler ve mast hücrelerinden oluşan bir inflamatuvar hücre birikimine yol açtığını

göstermektedir. Bu inflamatuvar hücrelerin varlığı, kıl büyüme döngüsünün bozulmasına ve folikül hasarına neden olmaktadır(35).



**Şekil 7.** Bu şema, AA otoimmün sürecini ayrıntılı bir şekilde açıklamaktadır. Kıl folikülü, MHC-I ve MHC-II üzerindeki otoantijenleri CD8+ ve CD4+ T hücrelerine sunar. Bu etkileşim, muhtemelen immün gözetim sırasında veya çevresel uyaranlara yanıt olarak salınan inflamatuvar sinyaller aracılığıyla gerçekleşir. Bu T hücresi popülasyonlarının ürettiği inflamatuvar sitokinler ve kemokinler, kıl folikülü hücreleri üzerin etki ederek onların daha fazla sitokin ve kemokin salgılamasına neden olur; böylece T hücrelerinin ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin bölgeye göçü tetiklenir. AA patogenezinde önemli rol oynayan interferon gama (IFN- $\gamma$ ), Janus kinaz/sinyal dönüştürücüler ve transkripsiyon aktivatörleri (JAK/STAT) yolunu kullanarak kıl folikülünde inflamatuvar kemokinlerin (örneğin, interlökin 15 [IL-15] ve CXCL9/10/11) üretimini artırır. CD8+ T hücreleri de JAK-STAT yoluyla perforin ve sitotoksik granzimlerin üretimini teşvik eder. Aynı zamanda, doğal öldürücü grup 2D-pozitif hücreler (NKG2D+ NK) ve CD4+ T hücreleri, kıl folikülü üzerindeki NKG2D ligandlarına bağlanarak perforin ve sitotoksik granzimlerin daha fazla salınmasını artırır ve bu süreç kıl folikülü hücrelerinin apoptozunu tetikler. Şemada, JAK inhibitörleri gibi potansiyel immünmodülatör tedaviler kırmızı ile gösterilmiştir; sinyal yolları sarı, pembe ve siyah oklarla belirtilmiştir. Yayınlanmış bilgiler yıldız işaretiyle, spekülasyon bilgileri ise soru işareti (?) ile gösterilmiştir(35).

AA patogenezinde genellikle IFN- $\gamma$  gibi tip 1 sitokinlerin merkezi rolü vurgulanırken Atopik Dermatit (AD) ile birlikte görülen vakalarda artan IL-4, IL-5, IL-6 gibi Th2 sitokin

seviyelerinin de AA seyrini etkileyebileceği düşünülmektedir. Hem AD hem AA'sı olan hastalarda dupilumab gibi tedavi seçeneklerinin her iki hastalık semptomlarını da iyileştirebildiği gösterilmiştir. Bu bulgular, AA'nın alt tiplerinin bağışıklık profillerine göre sınıflandırılabilirliğini ve tedavi stratejilerinin bu doğrultuda şekillendirilebileceğini öne sürmektedir(40).

AA patogenezinde kilit rol oynadığı düşünülen IL-15, üç alt birimden oluşan heterotrimerik bir reseptöre sahiptir. Bu alt birimlerden ilki, IL-15'e özgü olan IL-15Ra alt birimidir. İkincisi, IL-2 ile paylaşılan IL-2/IL-15 $\beta$  reseptörüdür. Üçüncü alt birim ise IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 ve IL-21 tarafından paylaşılan ortak sitokin reseptörü olan “ $\gamma$ ” zinciridir. IL-15'in etkilerinin ve aynı reseptörlerin diğer sitokinlerle paylaşım kapasitesinin anlaşılması, bağışıklık sürecindeki modülasyon görevlerinin önemini kanıtlar niteliktedir(41). IL-15'in lenfosit gelişimini desteklediği iyi bilinmektedir. Otoimmün hastalıklardaki IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi inflamatuvar moleküllerdeki artışın IL-15 ekspresyonunu artırdığı tespit edilmiştir. Multipl skleroz, romatoid artrit, ülseratif kolit ve çölyak hastalığı gibi bazı otoimmün hastalıklarda IL-15'in anahtar bir rol oynadığı öne sürülmekle birlikte, bu mekanizma henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Dermatolojik hastalıklar açısından, IL-15'in psöriasis, sarkoidoz, SLE ve GVHD ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, AA üzerindeki rolü hâlâ araştırılmaktadır. IL-15, otoreaktif hafıza T hücreleri de dahil olmak üzere CD8+ hafıza T hücrelerinin hayatta kalmasını indükler. Ayrıca TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nin ekspresyonunu uyarabilir. Bu durum, IL-15'in otoimmün süreçteki rolünü ortaya koymaktadır. Genetik olarak IL-15 veya IL-15Ra eksikliği bulunan farelerde yapılan çalışmalar, otoimmün bozuklukların oluşmadığını göstermiştir(41). IL-15, NK hücrelerinin gelişiminde, aktivasyonunda, hayatta kalmasında ve periferik T hücresi homeostazisinde rolü olan proinflamatuvar bir sitokindir(42). AA 'da kıl foliküllerinde IL-15 ve onun reseptör alt birimi IL-15Ra'nın upregülasyonu gözlemlenmiştir. Ayrıca infiltrate CD8+ T hücrelerinde IL-15R $\beta$ 'nin ekspresyonunun arttığını gösterilmiştir. IL-15Ra antikorlarının intraperitoneal yolla sistemik uygulanması AA gelişimini bloke etmiştir(43)(44). IFN- $\gamma$  gibi IL-15 de JAK-1 ve JAK-3'ü içeren bir sinyal yolunu kullanır; ayrıca IL-15, transkripsiyon aktivatörü olarak STAT-5'i kullanmaktadır. Yapılan bir çalışmada, anti-IL-15R $\beta$  antikorlarının C3H/HeJ farelerinde AA indüklenmesini önlediği gösterilmiştir. JAK inhibitörleri ile tedavi sonrasında, C3H/HeJ farelerinde AA üzerinde etkileyici

terapötik etkiler gözlemlenmiştir(45). IL-15'in keratinositler veya aktive edilmiş bağışıklık hücreleri tarafından eksprese edilebildiği bulunmuştur(46). AA'da IL-15 rolüne ek bir kanıtı olarak, Treg hücrelerin inhibitör kapasitesini sınırladığı ve AA patogenezinin desteklenmesinde anahtar olarak kabul edilen NKG2D ekspresyonunu teşvik ederek, NK hücrelerinin aktifleştirdiği gösterilmiştir (47,48). Başka bir çalışmada, AA'da otoimmüniteyi tetikleyen CD8+ NKG2D+ hücrelerinin, IFN- $\gamma$  salgılayarak IL-15 ve IL-15Ra'yı indüklediği bulunmuştur. JAK1, JAK2 ve özellikle JAK3'ün, AA lezyonlu deride aşırı eksprese edildiği ortaya konulmuştur. JAK inhibitörlerinin, IL-15'i hedefleyerek AA tedavisinde etkin bir rol oynayacağı anlaşılmıştır. Son zamanlarda, AA tanılı hastalarda kullanılan hem topikal hem de sistemik JAK inhibitörlerinin tedavi yanıtları umut verici bulunmuştur(45).

AA'daki rolleri hala araştırma konusu olan IL-6, bağışıklık, inflamasyon ve hematopoezde önemli rolleri olan bir sitokindir. Güçlü bir immünmodülatör olduğu bilinen IL-6'nın, AA ile ilişkili Th1 ve Th2 yolları da dahil olmak üzere immün aracılı akut ve kronik inflamasyonu çift yönlü olarak etkilediği düşünülmektedir(49). IL-6'nın oksidatif stres tetikleyicilerinden biri olduğu da bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 serum seviyeleri, AA hastaları ve segmental olmayan vitiligo hastaları ile sağlıklı kontroller arasında karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Artan IL-6 serum seviyelerinin AA süresi ile korele olduğu gösterilmiş, ancak AA hastalarında serum sitokin seviyeleri ile hastalığın yaygınlığı ve aktivitesi arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Ayrıca, IL-6'nın insan kıl foliküllerinde kıl şaftının uzamasını ve matriks hücrelerinin çoğalmasını engellediğini gösteren çalışmalar yapılmıştır(50). Maternal IL-6'nın farelerde skar bırakmayan juvenil alopesiye neden olabilmesi, AA gibi otoimmün bozukluklar için farklı patolojik mekanizmaların varlığını düşündürmektedir(51). IL-6 ve IL-6 sitokin ailesinin bir üyesi olan onkostatin M, sırasıyla kıl folikülü dermal papillasında (DP) ve kök kılıfında eksprese edilir. Kıl folikülünde artan onkostatin M, saç büyümesinin inhibisyonu ile ilişkili bu olumsuz etkinin, kısmi proinflamatuvar rolüyle karıştırıldığı düşünülmektedir (52). Androjenlerin ayrıca IL-6 yollarıyla doğrudan etkileşime girdiği bulunmuştur. Dihidrotestosteron'a (DHT) yanıt olarak, saçsız DP hücrelerindeki artan IL-6'yı upregüle ederek saç büyümesinin inhibisyonunu hızlandırdığı bulunmuştur. Bu sonuçlar, IL-6'nın DP'den gelen parakrin faktörlerden biri olduğunu ve dolayısıyla anagen saç büyümesini

kısalttığını ortaya koymaktadır(50). Rekombinant insan IL-6'nın (rhIL-6) in vivo olarak anagen aşamasından katagen aşamasına geçiş üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, 5 haftalık dişi C57BL/6 farelerinin dorsal yüzeyleri tıraş edilmiş ve 3 gün boyunca IL-6 enjeksiyonu yapılmıştır. Çalışma sonucunda, sırt derisi kesitlerinin histolojik incelemesi ile rhIL-6 enjekte edilen derilerden alınan kıl foliküllerinin katagen faza girdiği gösterilmiştir(53). IL-6'yı aşırı eksprese eden transgenik farelerdeki saç büyümesinin geciktiğinin anlaşılması IL-6'nın saç büyümesini önleyici etkisini desteklemiştir(54). Tanabe ve ark. tarafından 2006 yapılan bir araştırmada ise IL-6'nın saç büyümesini teşvik edici etkisi bulunmuştur (55). Kıl folikülü rejenerasyonunu teşvik eden mekanizmaları araştıran bir çalışanın bulgularına göre, yaralanmadan sonra salınan çift sarmallı RNA (dsRNA), toll like redoptörü 3(TLR3)'ü aktive ederek kıl folikülü yenilenmesini tetikler. TLR3'ün sinyalleşme yollarındaki IL-6 ve Stat3 aracılığıyla kıl folikülü kök hücrelerinin aktivasyonunu destekler ve böylece kıl neogenezini başlatır. TLR3 veya bu sinyal yollarındaki herhangi bir eksiklik, kıl folikülü rejenerasyonunu önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir(56). IL-6, kas rejenerasyonunun inflamasyon mikroçevresinde yer almaktadır. IL-6 eksikliği olan farelerde yapılan bir çalışmada, daha az makrofaj katılımı ve azalmış miyoblast proliferasyonunun kas rejenerasyonunu bozduğu bulunmuştur. Monositler/makrofajlarda, IL-6/STAT3 yolunun aktivasyonun, kas rejenerasyonu sırasında makrofaj göçü ve miyoblast proliferasyonu için kritik öneme sahip olduğunun gösterilmesi de IL-6'nın rejenerasyonundaki rolünü vurgulamaktadır(57). Farelerde IL-6'nın aşırı ekspresyonun, kalp yaralanmasından sonra kalp rejenerasyonunu teşvik ederek kardiyomiyosit proliferasyonunu ve ilgili protein ekspresyonunu artırdığı bulunmuştur(58).

Benzersiz sitokin olan IL-6 geniş bir biyolojik aktivite yelpazesine sahiptir. Özellikle, deri yaralanmasından sonra ortaya çıkan inflamatuvar yanıtın iyileşme sürecinde kritik bir rol oynadığı kabul edilmektedir. IL-6'nın bu inflamatuvar süreçteki etkisi, yaralanma sonrası iyileşmeyi hızlandırma yeteneği ile ilişkilidir. Bir araştırmada, IL-6 ekspresyon plazmidinin veya rekombinant IL-6'nın farelere uygulanması, IL-6 eksikliği olan farelerde gecikmiş yara iyileşmesini azalttığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, IL-6'nın yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisini desteklemektedir. A-MKH eksozomlarından gelen IL-6'nın, yara iyileşmesinde ve anjiyogenezde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir başka araştırma ise, A-MKH'deki IL-6'nın deri flep modelindeki hücre proliferasyonunu

ve kıl foliküllerinin sayısını artırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, IL-6'nın deri onarımı ve kıl foliküllerinin sağlığı üzerindeki potansiyel etkisini vurgulamaktadır(59). IL-6'nın MKH proliferasyonunu, göçünü ve immünsupresif yeteneklerini artırırken aynı zamanda anti-apoptotik süreçlerde de önemli bir rol oynar. IL-6, MKH aracılı makrofaj polarizasyonunda rol oynar ve inflamatuvar yanıtları baskılayabilen ve doku onarımını artırabilen bir antiinflamatuvar makrofaj fenotipinin (M2b) oluşumunu destekler(60). 2020 yılında yapılan bir çalışmada IL-6'nın insan MKH'nin immünregülasyon etkileri ve proliferasyonu üzerindeki rollerini incelemektedir. Çalışma, IL-6'nın MKH'lerin T hücreleri üzerindeki immünosupresif işlevlerini ve proliferasyonunu desteklediğini göstermektedir. Sonuçlar, MKH'lerin terapötik uygulamalarında IL-6'nın rolünün önemli olduğunu ortaya koymaktadır(61). Çok yönlü bir sitokin olan IL-6'nın sinyal yollarını hedeflemek, çeşitli hastalıklar için umut verici terapötik fırsatlar sunarak hem inflamasyonu teşvik etmede hem de azaltmadaki önemini vurgulamaktadır. Bu karmaşık görevlerin aydınlatılması için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

### **2.2.2. AA'da Kalıtım ve Genetik Faktörler**

AA, multifaktöriyel bir hastalık olarak kabul görmekte olup, kalıtımın hastalığın oluşumunda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Hastaların %25'inde pozitif aile öyküsünün bulunması, kalıtsal etkenlerin varlığına işaret etmektedir. Bu oran, farklı kaynaklarda %10 ile %42 arasında değişkenlik göstermektedir(62). Monozigotik ikizlerde ise bu oran %55 olarak görülmektedir(63). Pozitif aile öyküsüne sahip bireylerde hastalığın daha erken başladığı ileri sürülmektedir. AA geliştiren bir tür olan C3H/HeJ fareleri üzerinde yapılan bir çalışmada, kromozom 8 (Alaa 3), 9 (Alaa 2), 15 (Alaa 4) ve 17 (Alaa 1) üzerinde dört hassas bölge tanımlanmıştır. Alaa1 bölgesi, insanlarda insan lökosit antijeni (HLA) lokusuyla örtüşen kromozomal bölge olarak bilinmektedir(64). Atopik ve otoimmün hastalıkları olan insanlarda AA geliştirme riskindeki ciddi artış, otoimmün fenomenlerin gelişmesinde genetik yatkınlığın etkili olduğunu düşündürmektedir(65). Sporadik vakalarla karşılaştırıldığında ailesel AA vakalarında hastalığın hızlı ilerlediği, daha sık relapsların görüldüğü ve tedaviye daha dirençli olduğu gösterilmiştir(66).

Hastalığın şiddetli seyrettiği bireylerde IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) ve bu reseptörün homoloğu olan IL-1F5 ile TNF- $\alpha$ 'da polimorfizmleri olduğu bulunmuştur. Down sendromu ve otoimmün poliglandüler sendrom tip 1'in eşlik ettiği vakalar, hastalıktan sorumlu genlerin 21. kromozomda bulunabileceğini düşündürmüştür. AA genetiği, mendelyan kalıtım ilkelerine uymayan bir yapıya sahiptir. Genetik çalışmalarda, hastalığa yatkınlığı belirleyen majör genlerin, fenotipi belirleyen minör genlerle birlikte AA ile ilişkilendirildiği öne sürülmektedir. Çoğu otoimmün hastalıkta olduğu gibi, AA da HLA gruplarıyla ilişkilendirilmiştir. HLA moleküllerinin önemli görevlerinden biri, vücudun kendisine ait olan ve vücuda dışarıdan giren yabancı proteinlere bağlanması ve onların bağışıklık sistemi tarafından tanınmasına yardımcı olmasıdır. Yapılan çalışmalar, AA'nın HLA sınıfları içerisinde (I ve II) daha çok HLA II ile ilişkili olduğu göstermiştir. DQB103 (DQ3)2'nin, AA hastalarının oldukça büyük bir kısmında (>%80) pozitif olması nedeniyle AA'ya yatkınlığın bir göstergesi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. HLA-DQB1\*0301 (DQ7) ve HLA-DRB1\*0401 (DR4), uzun süreli ve şiddetli AA'nın göstergesi olarak kabul edilirken, HLA-DR5'in erken başlangıçlı hastalıkla ilişkili olduğu belirtilmiştir(67).

### **2.2.3. Alopesi Areata'nın İmmünolojik Belirteçleri**

T lenfositleri, inflamasyonda çeşitli işlevleri sürdürmek üzere farklı alt gruplara ayrılır. Bu gruplar arasında Th1, Th2 ve Th17 hücreleri, CD8+ sitotoksik T lenfositler (sTL) ve regülatuar T hücreleri bulunur. Bu hücrelerin salgıladıkları; inflamatuvar, otoimmün ve enfeksiyon hastalıklarının klinik ve mikroskopik belirtilerinin ortaya çıkmasını sağlayan aracı moleküller olarak işlev görür. Th hücreleri, B lenfositlerinin antikor üretimini, makrofajların mikroorganizmaları yok etmesini, sTL hücrelerinin enfekte hücreleri öldürmesini ve Treg hücrelerinin immün yanıtını sınırlayarak kendi antijenlerine karşı vücudun koruma sağlamasını indükler(39).

Bağışıklık yanıtının başlatılması ve regüle edilmesi, pek çok hücrenin etkileşiminin sonucunda gerçekleşir ki bu hücrelerin başlıcaları; makrofajlar, lenfositler ve nötrofillerdir. Bu etkileşimlerin bir kısmı hücrelerin doğrudan temasına, diğer kısmı ise sitokin adı verilen aracı moleküllere dayanır. Sitokinler, immün sistemin çeşitli yönlerine katkıda bulunan, geniş bir etki alanına sahip ve farklı hücre tiplerinden salınabilen maddelerdir.

Doğal bağışıklık sürecinde sitokinler, antijen/yabancı ajanla ilk karşılaşmanın ardından hızlı bir şekilde salınarak inflamasyonu başlatırlar. IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 ve IL-12, bu sitokinlerin başlıcaları olup temelde makrofajlar, endotel hücreleri, dentritik hücreler ve doğal öldürücü (NK) hücreleri tarafından salgılanırlar. Bağışıklık sisteminin diğer ayağı olan edinilmiş bağışıklık mekanizmasında ise sitokinler, çoğunlukla antijen veya diğer sinyallerle aktive edilen Th hücreleri tarafından üretilir ve lenfositlerin çoğalması, farklılaşması ve aktif hücrelere dönüşmesi bu sitokinler sayesinde teşvik edilir. Bu grupta başlıca IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-15, IL-17 ve IFN- $\gamma$  gibi sitokinler yer almaktadır(68).

IL-13, Th2 hücreleri tarafından salgılanmaktadır. IL-13'ün öncelikli görevleri, eozinofil aktivasyonu ve eozinofillerin dokuya göçü olup aynı zamanda makrofaj aktivasyonu yoluyla inflamatuvar süreçte de rol oynar. Bir diğer hücre olan CD4<sup>+</sup> Treg hücreleri, timus ve periferik lenfoid organlarda gelişimini tamamlayarak vücudun otoimmün reaksiyonlara karşı korunmasında görev alırlar. Bu görevi nasıl gerçekleştirdikleri tam olarak kanıtlanmamış olsa da başta TGF- $\beta$  ve IL-10 olmak üzere lenfosit baskılayıcı özellikleri olan sitokinleri salgılayarak bu görevi yerine getirdikleri düşünülmektedir. Aynı zamanda, diğer hücrelerinin antijen sunma yeteneğini bozarak T hücrelerinin işlevini baskılayan moleküller de salgılamaktadırlar(39).

TNF- $\alpha$ , inflamatuvar süreçlerde yer alan bir diğer önemli sitokin olup temel görevleri; lökositlerin endotele yapışması ve inflamasyonun olduğu bölgelere göç etmelerine yardımcı olmasıdır. Üretiminden sorumlu olan başlıca hücreler, makrofajlar ve dentritik hücreler olup onları mast hücreleri ve T lenfositleri takip etmektedir. TNF- $\alpha$  artmış üretimi; genellikle immün kompleksler, mikrobiyal ürünler ve fiziksel travma gibi faktörlerle ilişkili olup, inflamasyonda rol oynayan çeşitli hücreleri aktive ederek ve inflamasyonda rol alan sitokinlerin salınımının artırılması yoluyla hem lokal hem de sistemik immün yanıtı katkı sağlamaktadır(69).

Th17 hücreleri, salgıladıkları IL-17 ile çok sayıda kemokinin salınmasına gibi inflamasyonda oldukça önemli görevleri olan nötrofil ve monositlerin inflamasyon bölgesine göçünü kolaylaştırır. Th1 hücreleri ise, AA patogenezindeki inflamatuvar süreci başlattığı kabul edilen, makrofaj aktivasyonu ve inflamasyon ilişkili doku hasarında önemli rol oynayan IFN- $\gamma$ 'yı salgılar(70).

#### 2.2.4. Klinik özellikler

Alopesi areata (AA), skar bırakmayan ve kıl foliküllerinin korunduğu geçici saç kaybıyla karakterize, otoimmün ve inflamatuvar bir hastalıktır. Klinik görünümü, sınırları net birkaç adet alopesik yamadan tüm vücut ve kafa derisi kıllarının tamamen kaybolmasına kadar değişkenlik gösterebilir. AA en sık olarak kafa derisinde odaklanmış, ani başlangıçlı sınırları belirgin alopesik yamalar şeklinde kendini gösterir. Erkeklerde ise yalnızca sakal bölgesinde sınırlı dökülme görülebilir. Çoğu zaman semptomsuz olsa da nadiren yanma, kaşıntı veya batma gibi belirtiler oluşabilir. Hastalığın seyri tahmin edilemez olup, ilerleyici bir yol izleyebilir veya kendiliğinden iyileşme gösterebilir(71). Aktif hastalık döneminde, özellikle lezyon çevresinde çekme testi pozitif sonuç verebilir. Folikül, saç shaftı ve çevresindeki derinin daha ayrıntılı incelenmesi ve net tanı konulamayan vakalarda biyopsi örneği almak için en uygun alanın belirlenmesinde trikoskopiden faydalanılmalıdır(72). Klinisyenler, AA'nın patognomonik bir göstergesi olarak kabul edilen ünlem işaretli kılları aramalı ve distal uç kısmı tabana göre daha kalın olan kırık kıl yapısını tanımlamalıdır. Özgün olmamakla birlikte, anagen foliküllerde mitotik aktivitenin kesintiye uğraması sonucu oluşan distrofik, kırık kıllar da AA'da sıklıkla gözlemlenebilir. Trikoskopide sarı noktalar görülebilse de bunlar hastalığın tipi veya şiddetiyle iyi bir korelasyon göstermez ve androjenetik alopesi gibi diğer saç dökülmesi tiplerinde de ortaya çıkabilir(73). Tırnak değişiklikleri hastaların yaklaşık %10 ila %20'sinde bulunur ve şiddetli hastalığı olanlarda daha sık ortaya çıkar. Düzenli çukurlaşma(pitting), trakionişi, kırmızı lunula, benekli lunula, onikoliz ve noktasal lökonişi AA 'da görülebilecek tırnak değişiklikleri arasındadır(74). Pitting ve trakionişi, sırasıyla %20 ve %8 ortalama prevalansı ile AA'da en sık görülen tırnak değişiklikleridir. AA'da pitting, klasik olarak sıg ve ızgara benzeri bir dağılıma sahiptir ve bu yönüyle, çukurların derin ve rastgele dağıldığı sedef hastalığından ayrılır. Onikomikoz veya liken planus gibi diğer etiyolojiler, tanıya eşlik edebilir veya tanıyı karmaşık hale getirebilir. AA ile ilişkili tırnak değişiklikleri asemptomatik olabileceği gibi, ağrı ve işlevsel problemlere de yol açabilir. Tırnaklar aynı zamanda distrofik ve kozmetik açıdan şekil bozukluğu yaratabilir ve bu durum, yaşam kalitesinde önemli bir düşüşe sebep olabilir(75).

### 2.2.5. Alopesi Areata'da Ayırıcı Tanı

Trikotillomani, temporal üçgen alopesi ve telogen effluvium (TE), klinik görünüm açısından AA ile benzerlik gösterebilir, bu nedenle tanısal açıdan ayırt edilmesi önem taşır. Özellikle trikotillomanin AA'dan ayırt edilmesi zor olabilir ve bazı durumlarda her ikisi bir arada bulunabilir. Ancak trikotillomani hastalığının trikoskopisinde daha çok düzensiz kırık ve kısa kıl shaftları gözlenir. Temporal üçgen alopesi, frontotemporal bölgede sınırlı üçgen şeklinde saç dökülmesine neden olur. Bu yamalar genellikle geri dönüşümsüz olup saçlı derinin her iki tarafında görülmesi nadirdir. AA'da olduğu gibi alopesik odaklarda genişleme olmayıp stabil kalma eğilimindedir ve genellikle tedaviye yanıtıdır. Bu durumu AA'dan ayırt etmek için bir biyopsi örneği alınabilir. AA'nın aksine temporal üçgen alopeside inflamasyon baskın değildir, ancak kronik AA lezyonları da inflamasyondan yoksun olabilir. Diffüz AA'yı TE'den ayırt etmek zor olabilir ve bu ayırım sıklıkla tam kat deri örnekleri alınarak incelenmesini veya hastanın anamnezinde bir neden olabilecek faktörün tanımlanmasını gerektirir. Dikkate alınması gereken diğer durumlar arasında, histolojik olarak AA ile benzerlik gösterebilen sekonder sifiliz ve SLE bulunmaktadır(76). AA, ofiyazis, sisaipho, ani grileşme tipi ve diffüz formlar gibi çeşitli prezentasyonlarla kendini gösterebilir. AA'nın ofiyazis alt tipine sahip hastalarda, genellikle şakaklara doğru uzanan oksipital saç çizgisinde veya nadiren frontal saç çizgisinde, frontal fibrozan alopesi ile karışabilen bant benzeri bir alopesi mevcuttur(71).Sisaipho alt tipi, ofiyazis tipinin tersi bir dağılım göstererek merkezi saç dökülmesine yol açarken kafa derisinin kenarındaki saçları korur ve bu görünüm androjenetik alopesiye benzeyebilir. Ayrıca, AA'nın 'ani grileşme' varyantı, pigmentli kılların dökülmesine sonucu oluşmaktadır(77,78).

### 2.2.6. Alopesi Areata'nın Prognozu

AA'nın AA'nın prognoza katkıda bulunabilecek faktörler arasında alt tipi, saç dökülmesinin derecesi ve süresi, başlangıç yaşı ve aile öyküsü yer alır. Yamalı AA vakalarının yaklaşık %5'i alopesi totalis (AT) veya alopesi universalis (AU)'e ilerler. Yaygın tutulum, daha ciddi bir prognoza işaret eder. Ofiyazis alt tipi, daha kötü bir prognoza sahip olabilir ve tedaviye daha az yanıt verirken, akut diffüz ve total alopesi alt tipi genellikle iyi bir prognoza sahiptir(79).

Tırnak değişiklikleri, ciddi şekil bozukluğuna ve fonksiyon kaybına yol açabilir. Tırnak bozukluğu olan hastalarda tedaviye direncin daha fazla olduğu bilinmektedir. Tırnak değişiklikleri çocuklarda goreceli daha sık görülen AU ve AT gibi daha şiddetli formlara sahip AA hastalarında daha yaygındır. Bu durum, ocuk popülasyonunda tırnak değişikliklerinin artan sıklığını da açıklamaktadır(75).

### **2.2.7. Alopesi Areata ‘da Tedavi Stratejileri**

Alopesi areata tedavisinde lokal ve sistemik yaklaşımlar tercih edilmekle birlikte, mevcut yöntemlerin hiçbiri hastalığın krne yönelik kesin bir sonuç sunmamaktadır. Tedaviye yanıt değişkenlik gösterebilir ve mevcut tedavileri değerlendiren yüksek kanıt düzeyine sahip çalışma sayısı sınırlıdır. Alopecia areata’nın belirsiz seyri ve sa dökülmesinin yarattığı ciddi psikososyal etkiler, birçok hastayı tedavi arayışına yönlendirmektedir. Tedavi kararında; hastalığın yayılım derecesi, süresi, hastanın yaşı, etkilenmiş alanların özellikleri, cinsiyeti, gebelik ve emzirme gibi bireysel faktörler kritik öneme sahiptir. Özellikle sınırlı hastalık olgularında, spontan remisyon ihtimali dikkate alınarak, hasta ile ayrıntılı bir değerlendirme sonrasında tedavisiz izlem stratejisi de uygun bir yaklaşım olarak değerlendirilebilir(80,81) .

#### **2.2.7.1. Topikal tedaviler**

##### **2.2.7.1.1. İntralezyonel ve Topikal Kortikosteroidler ile Yapılan Lokal Tedaviler**

Sa Alopesia areata lezyonlarında, özellikle sa derisinin yarısından daha azını etkileyen yaygın tutulum olmayan durumlarda, lezyon içerisine direkt enjeksiyon genellikle ilk tercih edilen tedavi yöntemidir. Randomize olmayan araştırmalar bu yöntemin etkinliğini desteklemektedir. Tedavide genellikle triamsinolon asetonid içeren ajanlar kullanılmakta ve bu ajanlar 2,5-10 mg/ml konsantrasyon aralığında uygulanmaktadır. Klinik uygulamalarda, sa derisi için tek bir seansta 30-35 mg’lık dozdan fazlasının uygulanmaması tercih edilmektedir(80). Yüz bölgesinde genellikle 2,5-3 mg/mL konsantrasyonunda ilaç uygulanır. 1 cm aralıklarla, enjeksiyon başına 0,1 ml uygulama şekilde gerçekleştirilir(4). Genellikle 2 ay içinde saçların yeniden çıkması beklenir. Tedavi ortalama 1 ay aralıklarla uygulanır. Altı ay içinde klinik yanıt alınamazsa tedavi sonlandırılmalı ve alternatifler değerlendirilmelidir(82). Telenjiektazi, atrofi ve renk değişiklikleri gibi yan etkiler görülebilir(80).

Potent topikal kortikosteroid içerikli losyonlarda tedavide sıkça tercih edilmektedir. İntralezyonel enjeksiyonu uygulanamayan erişkinlerde ve özellikle çocuklarda ilk tercih olarak öne çıkmaktadır(83). Klobetazol propiyonat ve betametazon dipropiyonat gibi güçlü kortikosteroidler günde tek doz şeklinde topikal olarak uygulanır. Üç ayın sonunda saç çıkışı gözlenmezse tedavi kesilir(84).

#### **2.2.7.1.2. Topikal Minoksidil**

Minoksidil, başlangıçta tansiyonu düşüren bir ilaç olarak tasarlanmıştır; ancak hipertrikoz yapıcı etkisi fark edildikten sonra, çeşitli alopesi tedavilerinde de kullanılmaya başlanmıştır. Mekanizmasının, vazodilatasyon etkisinin yanı sıra, kıl foliküllerini doğrudan etkileyerek bulbus ve dermal papilla üzerinde farklılaşmayı ve çoğalmayı tetiklediği düşünülmektedir(85). Çeşitli konsantrasyonlardaki topikal formları bulunan minoksidil tedavisinin araştırıldığı çalışmalar %5'lik topikal formunun yama tipi AA hastalarında plaseboya üstün geldiğini ve minimum yan etkilerle güvenli bir seçenek olduğunu göstermektedir. (86). Daha düşük konsantrasyondaki (%1 ve %3) seçenekler ise özellikle çocuklar için tercih edilebilir. Tüm bu tedavi seçeneklerinin yaygın tutulumdaki alopesi de etkisinin sınırlı bilinmektedir. Fakat topikal olarak kullanan yaygın tutulumu olan AA hastalarında başarılı sonuçlar elde edilememiştir(87). Kadınlarda özellikle yüz kıllarında hipertrikoza neden olabilir. Yanma batma ve egzema görülen yan etkileri arasındadır(88).

#### **2.2.7.1.3. Topikal İmmünoterapi**

Topikal immünoterapi, 1970'lerden bu yana çeşitli immün aracılı cilt hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Yüksek etkinliği ve nispeten düşük yan etki profilleri nedeniyle, şiddetli ve dirençli AA hastalarında birinci basamak tedavi olarak önerilmektedir(89). AA'da tedavi başarısının yaklaşık %50-60 olduğu bildirilmiştir. Tedaviye verilen yanıt açısından, sınırlı alopesik odağı olan AA hastaları yaygın tutulumu olan hastalara göre daha olumlu sonuçlar göstermektedir(90).

AA tedavisinde immünoterapinin netleşmiş bir etki mekanizması yoktur fakat bu mekanizmaya dair çeşitli teoriler bulunmaktadır. Ana mekanizmanın, gecikmiş tip aşırı duyarlılık yoluyla uygulama bölgesinde alerjik kontakt dermatiti tetiklemek için immünmodülatörlerin kullanıldığı antijenik rekabet olduğu düşünülmektedir(91). Ayrıca,

Treg lenfositlerinde artışa neden olup ve foliküler immün reaksiyonun azalmasına neden olan sitokin değişikliği yaptığı düşünülmektedir(92).

Dinitroklorobenzen, squarik asit dibütilester (SADBE) ve difenilsiklopropenon (DPCP), yaygın veya dirençli AA'nın tedavisinde etkinliği kanıtlanmış üç maddedir. Dinitroklorobenzenin mutajenik ve kanserojen olduğu saptandığından kullanımı durdurulmuştur. Günümüzde yaygın olarak kullanılan ajanlar ise SADBE ve DPCP'dur. Daha ucuz olması ve solüsyonda stabil kalması nedeniyle, her iki ajan mevcut olduğunda DPCP genellikle tercih edilir. SADBE buzdolabında saklanmalıdır, ancak DPCP ışığa duyarlı olduğundan ışık geçirmeyen bir kapta saklanmalıdır(93). Tüm topikal duyarlılaştırıcı ajanlar için AA tedavisinde standart bir uygulama protokolü mevcuttur. Bu maddeler, toz veya aseton çözeltisi formunda temin edilir. Tedavi özelliklerini kaybetmemeleri için 4°C sıcaklıkta ve güneş ışığını almayan amber cam şişelerde saklanmaları gereklidir(94). Tedaviye başlanmadan on beş gün önce 4x4 cm'lik bir alan %2'lik solüsyonla duyarlılaştırılır. Tedavi saçlı derinin bir tarafına en düşük konsantrasyondaki (genellikle %0,01) solüsyonun haftada bir kez uygulanmasıyla başlar. Uygulama sırasında uçucu bir madde olan aseton çözeltisindeki etken maddenin konsantrasyonunun değişmesini önlemek amacıyla tedavi sırasında amber şişelerin kapaklarının hemen kapatılmasına dikkat edilmelidir. Yan etki ve tedavi etkinliği gözlemlenir ve saç çıkışı olmaya başladığında tedavi yanıtı alındığı kesinleşen hastalara saçlı derinin diğer tarafına da tedavi uygulanmaya başlanır. Tedavi etkinliği kararı hemen verilmemelidir. En az dört ile altı aya kadar tedavi yanıtını gözlemek için tedaviye devam edilmelidir. Tedavi sonrası iki gün boyunca hastaların şapka, şemsiye gibi koruyucu aksesuarlarla güneş ışığından korunması ve banyo, yağmur nedenli suyla temasından kaçınması konusunda uyarılmalıdır. Yanma, batma, kaşıntı ve kızarıklık gibi optimum ekzematöz reaksiyonu sürdürmek için konsantrasyonunun haftalık olarak artırılması gerekebilir(95). Bu tedavinin idamesi konusunda bir uzlaşma henüz yoktur. İstenmeyen yan etkiler arasında kaşıntı, skuam, kızarıklık ve postauriküler lenfadenopati bulunmaktadır. Ürtiker, renk değişiklikleri, eritema multiforme, anjioödem, grip benzeri semptomlar ve anafilaksi gibi istenmeyen etkilerde nadiren gözlenebilmektedir(96).

#### **2.2.7.1.4. Antralin**

Antralin tedavisinin etki mekanizması henüz aydınlatılamamıştır. Serbest radikaller yoluyla immünmodölatör etkiler gösterdiği düşünülmektedir(80). Farelere uygulandığında TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  gibi sitokinlerin azaldığı görülmüştür(97). Başlangıçta sürülüp 20 dakika bekletilir, sonrasında su veya şampuan ile yıkanır. Tolere edilebilir bir kontakt dermatit tablosu oluşana uygulama süresi kademeli olarak artırılır(4). Üç ay içerisinde kıl çıkışı gözlenmezse tedavi sonlandırılmalıdır. İstenmeyen etkileri arasında şiddetli inflamasyon, folikülit, lenfadenopati bulunmaktadır(81).

#### **2.2.7.1.5. Trombositten zengin plazma (PRP)**

PRP, bireyin kendi kanından elde edilen ve trombositlerin yoğun olarak bulunduğu bir preparattır. PRP, kanın santrifüj edilmesi yoluyla plazma ve trombositlerin ayrıştırılması ve konsantre edilmesiyle elde edilir. PRP'deki trombosit konsantrasyonu, başlangıç değerinin beş katına ulaşır. PRP, trombositlerdeki  $\alpha$ -granüllerin degranülasyonu yoluyla büyüme faktörlerinin salınımını sağlayarak doku onarımının desteklenmesinde önemli bir rol oynar(98). AA tedavisinde PRP'nin kesin etki mekanizması hala belirsizdir, ancak PRP'nin sitokin salınımını baskılayarak ve lokal doku inflamasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. PRP, trombositlerin alfa ve dens granüllerinde birçok büyüme faktörünü barındırır. Bu faktörler arasında PDGF $\alpha\alpha$ , PDGF $\beta\beta$ , PDGF $\beta\alpha$ ; TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, EGF, IGF1, IGF2 ve VEGF yer alır. Bu moleküller, hücre büyümesi ve çoğalması, farklılaşma, damar oluşumu ve hücre göçünü destekleyen süreçlerde görev alır(99). Ayrıca trombositlerden salınan büyüme faktörleri saç köklerindeki kök hücrelerini uyararak yeni saç köklerinin oluşumunu teşvik eder. Saç ekimi öncesinde saç mikrogreftlemesinde PRP uygulamasının saç yoğunluğunu artırdığı, anjiyogenezi uyardığı ve nakledilen foliküler ünitenin apoptozunu azalttığı gösterilmiştir(98). Kortikosteroid ile PRP enjeksiyonlarının değerlendirildiği bir çalışmada, üç ay sonunda tedavi başarı oranları benzer bulunmuştur. Baş ağrısı, ekimoz gibi yan etkiler görülebilir(100).

#### **2.2.7.1.6. Excimer Lazer**

Tek dalga boylu (308 nm) ultraviyole B (UVB) ışığı yaymaktadır. T hücrelerinin inhibisyonu üzerinden etkili olduğu düşünülmektedir(101). Az sayıda hasta üzerinde

yapılan çalışmalarda kısmi başarılar elde edilmiştir. Özellikle sınırlı tutulumu olan hastalar için seçenek olarak düşünülebilir (102). Postinflamatuvar hiperpigmentasyon riski göz önünde bulundurulmalıdır(103).

#### **2.2.7.1.7. Kriyoterapi**

Sıvı azot ile yapılan bu tedavi dermatolojide oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Soğuğa bağlı vazokonstriksiyonun ardından şiddetli bir vazodilatasyon gelişir. Ana mekanizmanın kan akışını artırmak olduğu düşünülmektedir. İnflamasyon ve ödemin de vazodilatasyonu tetikleyebileceği öngörülmektedir. İmmün sistemde rol oynayan hücrelere karşı sitotoksik etki göstererek de inflamasyonu baskılayabileceği anlaşılmıştır(104). Kortikosteroid içerikli losyonlar ile benzer başarı oranları elde edilen çalışmalar mevcuttur. Mevcut tedavilerle iyileşme gözlemlenmeyen 11 AA hastasına uygulanan kriyoterapi sonrası, yaklaşık yarısında çok iyi yanıt, üç hastada ise kısmi yanıt elde edilmiştir. Bu tedavi yaygın olmayan AA'da tedavi seçeneği olarak kabul görmektedir(105).

#### **2.2.7.1.8. Beksaroten**

Beksarotenin, bağışıklık sistemini düzenleme ve T hücre ölümünü tetikleme yoluyla etki ettiği düşünülmektedir. %1 beksaroten jel ile tedavi edilen hastaların yaklaşık dörtte birinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yan etki olarak irritasyon sıkça görülmektedir(106).

#### **2.2.7.1.9. Prostaglandin analogları**

Glokom tedavisinde yer alan prostaglandin F2- $\alpha$  analogları olan latanoprost ve bimatoprost, kirpik hipertrikozu gibi yan etkilere yol açabilmektedir(107). Latanoprostun 2 yıl süreyle kullanıldığı AU tanılı 40 hastayı kapsayan bir araştırmada, hastaların yaklaşık yarısında tam veya orta derecede kirpik büyümesi tespit edilirken, kontrol grubundaki hastalarda böyle bir etki gözlemlenmemiştir(108). Kaş alopesisi olan 8 hastayı içeren dört ay süren bir çalışmada, latanoprostun etkisiz olduğu görülmüştür. Hafif eritem ve kaşıntı gibi yan etkiler sınırlı sayıda hastada görülmüş olup, bu yan etkiler tedavinin bırakılmasını gerektirecek kadar şiddetli olmamıştır(109).

## **2.2.7.2 Sistemik Tedaviler**

### **2.2.7.2.1. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Kortikosteroid Kullanımı**

Sistemik kortikosteroidler AA tedavisinde yaygın olarak tercih edilmektedir. Yamalı AA'da, ofiyazik AA ve yaygın tutulumlu hastalara göre daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Genellikle yeni ve yaygın alopesisi olan vakalarda, dökülmenin ilerleyişini durdurmak için tercih edilirler. Bu tedavinin başarılı sonuçları olmasına rağmen sıkça görülen yaygın yan etki profilleri kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Tedavi sonrasındaki nüksler de tercih edilmeme sebeplerindendir(4). Yetişkin bireylerde günde 1 mg/kg, çocuklarda ise günde 0,1–1 mg/kg dozunda kullanılmaktadır(81). Yapılan bir çalışmada AA hastalarının yaklaşık yarısında günlük 40 mg ile başlanarak bir buçuk ay sistemik prednizolon kullanımının ardından, dökülme alanlarının %25'inden fazlasında klinik iyileşme gözlenmiştir(1). Yapılan vaka serisinde çeşitli uygulama yöntemleri kullanılarak verilen yüksek doz pulse kortikosteroide karşı başarılı sonuçlar gözlenmiştir(110). AA'da sistemik kortikosteroidlerin etkinliğini inceleyen az sayıda araştırma mevcuttur. 200 mg/hafta sistemik prednizolon kullanan hastalar üç ay gözlenlenmiş olup hastaların yaklaşık yarısında dökülme alanlarının >%30-35'inde klinik iyileşme gözlemlenirken, kontrol grubundaki hiç bir hastada klinik iyileşme gözlemlenmemiştir. Tedavi bitiminden sonra üç aylık dönemde vakaların %25'inde nüks bildirilmiştir. Sistemik kortikosteroidlerin önemli yan etkileri arasında hiperglisemi, tansiyon yüksekliği, kemik mineral metabolizma bozuklukları, katarakt, immünsüpresyon ve buna bağlı enfeksiyonlara yatkınlık, kilo alımı, ağrılı ve düzensiz menstürasyon dönemleri, stria, hipertrikoz, folikülit ve Cushing sendromu bulunmaktadır(111). Yüksek doz kortikosteroidlerin belirli aralıklarla kısa süreli uygulanmasını içeren pulse tedavisi yan etki profili açısından günlük olarak alınan oral kortikosteroid rejimlerine göre daha avantajlı bir seçenek olarak değerlendirilir(112).

### **2.2.7.2.2. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Siklosporin Kullanımı**

Organ naklinden sonra doku reddini önlemek için kullanılan siklosporin, bağışıklık sistemini baskılar, T hücre aktivasyonunu engeller ve IFN- $\gamma$  üretimini düşürür(4). İstenmeyen bir etki olarak anagen fazındaki kıl foliküllerinin katagen faza geçişini geciktirerek hipertrikoza neden olmaktadır(113). AA'nın patogenezinde T hücrelerinin

kritik rol oynadığı bilinmekte olup siklosporinin bu amaçla tedavi etkinliği araştırılmıştır fakat elde edilen veriler henüz yeterli değildir. AA'da siklosporinin etkinliğinin incelendiği bir araştırmada başarı oranı %25 olarak bulunmuş, metilprednizolon ile birlikte tedavi edilen hastalarda bu oran %76,7'ye yükselmiştir(114). Oral siklosporin, AA hastalarında ciddi yan etkileri, uzun süreli kullanım zorunluluğu ve yüksek tekrarlama riski nedeniyle genellikle tercih edilmemektedir. Böbrek ve karaciğer toksisitesi, diş eti büyümesi, baş ağrısı, ateş, titreme ve yüksek lipid seviyeleri sıkça görülen yan etkiler arasındadır(81). Siklosporin kullanan organ nakli olmuş hastalarda da AA gelişimi gözlenmiştir(4).

#### **2.2.7.2.3. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Metotreksat Kullanımı**

Metotreksat, folik asit antagonisti olup bağışıklık baskılayıcı etkiler gösteren bir ilaçtır ve sedef, vitiligo gibi dermatolojik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak tercih edilmektedir(115). Metotreksatın AA tedavisinde hem yetişkinlerde hem de çocuklarda başarılı olduğu rapor edilmiştir. 2019 yılında yapılan ve çoğunluğu retrospektif olan çalışmaların meta-analizinde, hastaların %63'ünde iyi yanıt, %36'sında ise tam yanıt gözlenmiştir. Hastalardaki nüks oranının ise %47,7 olduğu gözlemlenmiştir. Metotreksat tedavisinde, oral veya subkutan yolla haftalık 7,5-25 mg doz uygulanır. Erişkinlerde ve sistemik steroidlerle kombinasyon halinde daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. İlk kıl çıkışı genellikle tedavinin ilk üç ayında görülür ve tam uzama 6-12 aylık bir süreç olabilir. Tedaviye kısmi olumlu yanıt veren hastalar olmasına karşın doz azaltılması ve kesilmesinden sonraki dönemde genellikle hastalığın tekrarladığı görülür. Bu nedenle tolere edilebilen hastalarda uzun süreli kullanım bir seçenek olabilir. Sıkça gözlenen istenmeyen etkiler arasında bulantı kusma, pansitopeni ve karaciğer enzim yüksekliği bulunmaktadır(116).

#### **2.2.7.2.4. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Sülfasalazin Kullanımı**

Sülfasalazin, Th ve NK hücrelerinin üretimini ve aktivasyonunu baskılar. Ayrıca antikor üretimini inhibe ederek bağışıklık sistemini hem modüle eden hem de baskılayan özelliklere sahiptir. T hücresi sitokinlerinden IL-2 ve IFN- $\gamma$ 'yı ve makrofaj sitokinlerinden IL-1, TNF- $\alpha$  ve IL-6 'yı da inhibe etmektedir(117). Geriye dönük toplanan hasta verilerinin incelendiği bir çalışmada, AA hastalarının yaklaşık %25'inde başarılı

sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir. Yan etkileri arasında bulantı, kusma, baş ağrısı, ateş, makülopapüler erüpsiyon ve nadiren pansitopeni ile hepatotoksisite bulunmaktadır(118).

#### **2.2.7.2.5. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Fotokemoterapi Kullanımı**

Psöralen ve ultraviyole A (PUVA) fotokemoterapi, bir psöralenin (yani ışığa duyarlı hale getirici bir maddenin) topikal veya oral uygulanmasının ardından hastanın UVA ışığına maruz bırakılmasını ifade eder. UV ışığı, langerhans hücrelerinin ve bağışıklık sisteminin aktivasyonunu azaltır. Tip 1 reaksiyonu olarak bilinen proinflamatuvar yanıtı, IL-12, IFN- $\gamma$  ve IL-8 gibi temel sitokinlerin baskılanması yoluyla azaltılabilir(119). Langerhans hücreleri, CD4/CD8 T lenfositleri, NK hücreleri ve bunların reseptörleri üzerindeki etkisi, fototerapiyi AA için potansiyel bir seçenek haline getirmektedir. PUVA tedavisinin başarı oranlarının %15 ile %70 arasında değiştiği bildirilmiştir(81).

#### **2.2.7.2.6. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Azatiyopürin Kullanımı**

Azatiyopürin, tiyopürin türevi bir immün baskılayıcı ilaç olup, birçok hastalıkta kullanım endikasyonu bulunmaktadır. İlacın etkisi, 6-tiyoguanin adlı aktif metabolitinin pürinlerin doğal işlevlerini engellemesiyle ortaya çıkar. Sitotoksik ve immün baskılayıcı etkileri, DNA ve RNA sentezine zarar vermesiyle ilişkilidir(120). DNA sentezini engelleyerek T ve B hücrelerinin çoğalmasını önler. Bunun yanı sıra, T hücrelerinin fonksiyonlarını baskılar ve aktivasyonlarında kritik olan IL-2'nin üretimini sekteye uğratar. B hücrelerine kıyasla T hücrelerine karşı daha selektif bir etki gösterir(121). Sınırlı sayıda hastalar üzerinde ve kontrol grubu olmayan çalışmalarda bu azatiyopürin tedavisinin yeniden kıl çıkışı konusunda başarılı sonuçlar elde ettiğini göstermiştir. Alopesi universalis olan 14 yetişkin hastaya enzim seviyeleri bakılarak günlük 2-3 mg/kg azatiyopürin tedavisi başlanan bir çalışmada hastaların yaklaşık yarısında dökülme alanlarının %75'inden fazlasında klinik iyileşme gözlenmiştir. Yaklaşık bir yıllık tedavi süresinde yanıt alınmış olup, ilk yanıt ortalama 1 ay içerisinde ortaya çıkmıştır. Tedavi bitiminden sonra ortalama 2 yıllık gözlem süresi boyunca iki hastada nüks gözlenmiştir(122). Pansitopeni, transaminazlarda yükselme, lökopeni, bulantı, kusma ve gastrointestinal şikayetler en sık görülen yan etkileridir(121).

#### **2.2.7.2.7. Sistemik Alopesi Areata Tedavisinde Janus kinaz (JAK) İnhibitörlerinin Kullanımı**

JAK inhibitörlerinin etkinliği JAK inhibitörlerinin, inflamasyonun baskın olduğu vitiligo, RA, sedef gibi çeşitli hastalıklarda ve özellikle Th2 hücrelerinin ana rol oynadığı atopik dermatit gibi hastalıkların tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir(112). Güncel araştırmalar, AA'nın gelişiminde CD8 T hücrelerinin kilit bir rol oynadığını ve JAK inhibitörlerinin bu hücreler üzerinden etkili olabileceğini göstermiştir(123).

AA geliştiren fareleri kullanılarak yapılan çalışmalarda CD8 (+) ve NKG2D (+) T hücrelerinin AA gelişiminin önemli bir parçası olduğu anlaşılmıştır. T hücrelerinin bu alt kümesinin, JAK-1/2 sinyali yoluyla kıl foliküllerinde IL-15 üretimini destekleyen IFN-  $\gamma$  salgıladığı gösterilmiştir. IL-15 ayrıca, kıl folikülleri etrafındaki inflamatuvar yanıtı arttırmak için JAK1/3 sinyali yoluyla T hücreleri tarafından IFN-  $\gamma$  üretimini uyardığı anlaşılmıştır. Bu yollara JAK reseptörlerinin aracılık ettiğinin anlaşılması, JAK reseptör inhibitörlerinin AA tedavisinde kullanılmaya başlanmasını sağlamıştır(124).

Farklı formları bulunan tofasitinib, ruksolitinin ve barisitinib gibi ajanlar, AA tedavisiyle ilgili vaka raporlarında etkili bulunmuştur. Sistemik tofasitinib, AA tedavisinde sıklıkla tercih edilir. Son altı ayda yapılan bir retrospektif analizde, şiddetli AA (saçlı derinin %40'ından fazlasının etkilenmesiyle birlikte atipik veya total alopesi) bulunan 90 yetişkin hastada, sabah ve akşam olmak üzere 5-10 mg tofasitinib tedavisinin en az dört ay süreyle uygulanmasının olumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir(125).

JAK inhibitörlerinin istenmeyen etkileri arasında immünsupresyona bağlı enfeksiyona yatkınlık, kemik iliği supresyonu, karaciğer enzimlerinin yüksekliği ve henüz tam anlamıyla aydınlatılamamış malignite riski artışı bulunmaktadır. Barisitinib kullanımıyla ilişkili olarak, bağırsak perforasyonları, melanositik olmayan cilt kanseri ve solid organ tümörlerinin insidansında artış gözlemlenmiştir(126). Ek olarak, artmış bir venöz tromboz riski bildirilmiştir fakat yakın zamanda yayınlanan bir meta-analizde bu bilgi doğrulanamamıştır(127). Tedavi izleme sürecinde, anemi, lenfopeni ve nötropeni ile artmış transaminaz, bilirubin, lipid ve kreatin fosfokinaz seviyelerine özel dikkat gösterilmelidir; gerekirse doz ayarlamaları yapılmalıdır. Ayrıca, JAK inhibitörleri ile tedavi edilen hastaların, tedavinin sona ermesinden en az bir hafta sonrasına kadar sıkı

kontrasepsiyon önlemlerine uymaları gerekmektedir. Topikal JAK inhibitörleri kullanıldığında ise akne ve kaşıntı, sık gözlenen yan etkiler arasında yer almaktadır(128).

### **2.3. AA Fare Modelleri**

İnsan AA patogenezinin immün ayrıcalık çöküşü dahil çeşitli mekanizmalarının nasıl tetiklendiğini anlamamızda hayvan modelleri önemli bir rol oynamıştır. Bu modeller, özellikle CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin diğer NKG2D<sup>+</sup> hücreler, Treg'ler ve diğer potansiyel hücrel oyunculara göre göreceli önemini anlamamızda kritik rol oynamıştır. AA araştırmalarında kullanılabilecek çeşitli hayvan modelleri mevcuttur. Bu model çeşitliliği, insan AA patogenezinin temel mekanizmalarını çözmek ve potansiyel terapötik hedefleri daha iyi anlamak için eşsiz bir kaynak sunmaktadır.

**Tablo 1.** Çeşitli hayvan modellerinde AA kriterleri(129).

| Kriterler                                                                                          | DEBR Sıçanı        | Klasik C3H/Hej Fareleri | C3H/Hej Cilt Grefti (AA İndüklenmiş) | Lenf Nodu Transferi (AA C3H/Hej) | İnsan Cilt Grefti (AA İndüklenmiş) | Normal İnsan Cilt Grefti |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|--------------------------|
| AA'nın klinik fenotipi ani kıl dökülmesi ve geçici kıl yeniden büyümesi ile karakterize            | Yeniden büyüme <3% | Yeniden büyüme <3%      | Yeniden büyüme <3%                   | +                                | +                                  | +                        |
| AA'ya yol açan spontan patogeneze zinciri                                                          | +                  | +                       | -                                    | -                                | +                                  | +                        |
| Kıl bulbusu çevresinde ve içinde tek çekirdekli hücre infiltrasyonlarının histolojik özelliği      | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |
| Kıl foliküllerinin alt kısmında ana MHC sınıf I ve II'nin anormal ekspresyonu.                     | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |
| AA kıl folikülleri peri- ve intrafoliküler CD8+ T hücreleriyle karakterize                         | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |
| NK hücre aktivitelerinde artış ve AA bölgelerinde MICA ve ULBP3 gibi ligantların aşırı ekspresyonu | ?                  | ?                       | ?                                    | ?                                | +                                  | +                        |
| Kıl dökülme modeli fokal ve diffüz olarak kategorize edilebilir                                    | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |
| İnflamasyon anagen kıl kökleri için spesifiktir ve kıl kökleri anagen faz durur                    | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |
| Telogen yapılarının arttığı ve terminal foliküllerin azaldığı foliküler yapıların korunması        | +                  | +                       | +                                    | +                                | +                                  | +                        |

?: analiz edilmedi

**Tablo 2.** Alopesi areata hayvan modellerinin temel özellikleri(129).

| Model                                | Deri Kaynağı ve Özellikler                                                      | İnfiltratların Yeri ve İmmünofenotipi    | Modelin Kullanılabilirliği                                                          | Dezavantajlar ve Preklinik İlaç Çalışmalarındaki Potansiyeli                                  |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| DEBR Sıçanı                          | Sıçan derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, indüklenen dökülme negatif.         | Kıl bulbusu çevresi ve içinde. CD8> CD4. | Negatif- AA'ya duyarlı genler dış üreme sırasında kaybolur veya resesif hale gelir. | Düşük frekans ve geç başlangıç. Preklinik ilaç taraması için gerçekçi değil.                  |
| Klasik C3H/Hej Fareleri              | Fare derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, indüklenen dökülme pozitif.          | Kıl bulbusunun üzerinde. CD8 <CD4.       | Nadir- AA'ya duyarlı genler dış üreme sırasında kaybolur veya resesif hale gelir.   | Düşük frekans ve geç başlangıç. Preklinik ilaç taraması için gerçekçi değil.                  |
| C3H/Hej Cilt Grefti (AA İndüklenmiş) | Fare derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, indüklenen dökülme pozitif.          | Kıl bulbusunun üzerinde. CD8 <CD4.       | Modelin çapraz transplantasyon uyumsuzluğu nedeniyle test edilmemiş.                | İnsan AA'sının tipik histolojik özelliklerini yansıtmaz. Fare ortamı sınırlayıcıdır.          |
| Lenf Nod Transferi (AA C3H/Hej)      | Fare derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, indüklenen dökülme pozitif.          | Kıl bulbusunun üzerinde. CD8 <CD4.       | Modelin çapraz transplantasyon uyumsuzluğu nedeniyle test edilmemiş.                | İnsan AA'sının tipik histolojik özelliklerini yansıtmaz. Fare ortamı sınırlayıcıdır.          |
| C57BL/6 Fareleri                     | Fare derisi. Spontan kıl büyümesi için veri yok.                                | Kıl bulbusunun üzerinde. CD8 <CD4.       | Modelin çapraz transplantasyon uyumsuzluğu nedeniyle test edilmemiş.                | Komplike model. İnsan AA'sının tipik histolojik özelliklerini yansıtmaz.                      |
| İnsan Cilt Grefti (AA İndüklenmiş)   | İnsan derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, indüklenen dökülme negatif.         | Kıl bulbusu çevresi ve içinde. CD8> CD4. | Bağıışıklığı baskılanmış fare türlerinde kullanılabilir.                            | Birden fazla biyopsi gereklidir. Karmaşık model. Preklinik ilaç taraması için gerçekçi değil. |
| Normal İnsan Cilt Grefti             | İnsan derisi. Spontan kıl büyümesi pozitif, tımarla indüklenen dökülme negatif. | Kıl bulbusu çevresi ve içinde. CD8> CD4. | Bağıışıklığı baskılanmış fare türlerinde kullanılabilir.                            | İnsan bağışıcılarından doku teminine bağlıdır. İnsan AA'sı patolojisini yansıtır.             |

### 2.3.1. İnsanlaştırılmış Fare Modelleri

İnsanlaştırılmış fare modelleri, bağışıklık yetersizliği (SCID) olan farelere insan kafa derisinin ksenotransplantasyonunu ve ardından insan bağışıklık hücrelerinin

enjeksiyonunu içerir. Bu modeller, insan AA'sını daha doğru bir şekilde taklit etmesi nedeniyle insana özgü terapötik hedeflerin tanımlanmasında kullanılmıştır(129).

### **2.3.2. Dundee Deneysel Kel Sıçan (DEBR)**

Dundee Deneysel Kel Sıçan (DEBR), insan AA'sında görülen saç dökülmesi ve bağışıklık hücresi infiltrasyonunu taklit eden bir diğer önemli modeldir. Bu model, AA'daki saç dökülmesinin benzersiz mekanizmalarının aydınlatılması amacıyla birçok çalışmada kullanılmıştır. AA araştırmalarında değerli bir yere sahip olan bu model, şu anda kullanılamamaktadır(129).

Bu fare modelleri, AA patogenezinde rol oynayan temel bağışıklık mekanizmalarını ve genetik faktörleri açıklığa kavuşturulmasında ve bu hastalığa yönelik yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde önemli ölçüde katkı sağlamıştır(129).

### **2.3.3. C3H /HeJ Fare Modeli**

C3H/HeJ fare modeli, uzun yıllardır AA üzerine yapılan in vivo araştırmalarda tercih edilen bir model olarak öne çıkmaktadır. Bu farelerin yaşlanmasıyla birlikte, insanlardaki AA'ya klinik ve histolojik bakımdan benzeyen, spontan kıl dökülmesi vakalarının %20 oranında ortaya çıktığı gözlemlenmiştir. Bu kıl dökülmesi, tiroid fonksiyon bozukluğu ya da bulaşıcı bir etiyolojiye işaret eden herhangi bir kanıt olmaksızın meydana gelmektedir. Ancak, bu kendiliğinden gelişen AA benzeri kıl dökülmesinin sıklığı ve oluş zamanı büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir(130). Ayrıca, yapılan çalışmalar, kıl dökülmesi fenotipinin, etkilenen yaşlı farelerden elde edilen tam kalınlıkta lezyonlu deri greftlerinin 10 haftalık genç dişi alıcılara aktarılması yoluyla AA gelişiminin hızlandırılabileceğini göstermektedir. Bu bulgu, saç dökülmesi sürecinin belirli bağışıklık mekanizmaları tarafından tetiklenebileceğini düşündürmektedir ve AA patogenezi hakkında değerli bilgiler sunmaktadır(131). Güncel çalışmalar, klinik AA fenotipinin, AA gelişimi gösteren donör C3H/HeJ farelerinden elde edilen lenf nodu hücrelerinin alıcı farelere adaptif transferi yoluyla indüklenebileceğini ortaya koyarak bu modeli daha da ileriye taşımıştır. Bu yöntem, lezyonlu deri nakline gerek kalmadan, birkaç hafta içinde çok sayıda AA'dan etkilenen farenin üretilmesine olanak sağlamaktadır. Bu gelişme,

araştırmacılara AA'nın bağışıklık sistemine dayalı patogenezi incelemeye daha etkin ve pratik bir araç sunmaktadır(132).

Etkilenen C3H/HeJ farelerinin soy takibi, skar bırakmayan alopesinin genç dişilerin baskın olduğu, karmaşık bir poligenik kalıtsal hastalık olabileceğini düşündürmektedir. Dişi fareler, bu hastalığı erkek farelere kıyasla daha erken yaşta (3–5 aya karşılık >6 ay) geliştirmekte, ancak 18 aylık yaştan itibaren cinsiyetler arasında görülme sıklığı eşitlenmektedir. Bu bulgu, hastalığın genetik yatkınlık ve cinsiyete bağlı farklılıklar doğrultusunda şekillenebileceğine işaret etmektedir(133). Östradiol veya testosteron takviyesi içeren bir çalışma, testosteronun AA gelişimi üzerinde engelleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgu, hormonal faktörlerin AA patogenezi oynadığı potansiyel rolü vurgulamakta ve testosteronun AA gelişimini baskılayıcı etkisinin daha ayrıntılı olarak araştırılması gerektiğine işaret etmektedir(134).C3H/HeJ farelerinde AA gelişen deri dokusunun histolojik değerlendirmesinin yapıldığı çalışmalarda, anagen foliküllerle sınırlı kalan ve çoğunlukla sitotoksik CD8+ T hücreleri ile CD4+ Th hücrelerinden oluşan bir infiltrasyonun varlığı ortaya konulmuştur. Bu hücre birikimi, anagen foliküllerde ve kıl shaftında distrofik değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, hem C3H/HeJ farelerinde hem de AA tanısı konmuş insanlarda, kıl folikülüne özgü keratinler olarak tanımlanan 44 ve 46 kDa antijenlerine karşı gelişmiş bazı antikorların bulunduğu saptanmıştır. Bu çalışmalar, kıl dökülmesi gösteren C3H/HeJ farelerinin, AA'lı insanlarda görülenlerle benzer şekilde, kıl foliküllerine karşı gelişen antikorlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bulgular, C3H/HeJ farelerinin AA'yı araştırmak için uygun bir model olduğunu doğrulamakta ve AA'nın kıl foliküllerine yönelik anormal bir otoimmün yanıt sonucunda geliştiği hipotezini desteklemektedir(135).

C3H/HeJ fare modelinde AA'ya duyarlılık ve hastalığın ilerlemesinde dört veya muhtemelen daha fazla genin rol oynadığı bilinmektedir. Bu genetik aralıklar, belirli genleri kesin olarak tanımlamak için henüz çok geniş olmakla birlikte, bilinen işlevleri temel alınarak bazı genlerin özellikle dikkate alınması gerekmektedir. Janus kinaz 3 (JAK3), interlekin 12 reseptör beta 1 (IL12RB1), interlekin 15 (IL-15) ve apoptozla ilişkili bir gen olan kaspaz 3 (CASP3), AA'nın mekanizmasında doğrudan veya dolaylı olarak etkili olabilecek potansiyel genler arasında yer almaktadır. Bu bulgular, AA'nın

genetik temelinin anlaşılmasında ilerleme sağlamaktadır ve hastalığın mekanizmalarını hedefleyen yeni tedavi stratejileri için yön göstermektedir(64). Bu fare modeli, AA patogenezinde IFN- $\gamma$  rolünün doğrulanmasında önemli bir araç olmuştur. IFN- $\gamma$  eksikliği olan farelerin AA gelişimine karşı dirençli oldukları bulunduğundan sonra, nötralize edici IFN- $\gamma$  antikorlarının enjeksiyonunun, alopesik farelerde saç büyümesini indüklediği gösterilmiştir. Bu bulgu, IFN- $\gamma$ 'nın AA patogenezinde kilit bir rol oynadığını ve IFN- $\gamma$ 'ya yönelik terapötik müdahalelerin potansiyel faydalarını ortaya koymuştur(136). C3H/HeJ fare modeliyle yapılan bir diğer çalışmada, CD8<sup>+</sup> T hücre transferinin tek başına lokalize AA benzeri saç dökülmesini indüklemek için yeterli olduğu gösterilmiş ve bu bulgu, AA'nın immün ayrıcalığın çöküşü teorisini doğrulamıştır. Bu çalışma, CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin AA patogenezindeki merkezi rolünü desteklemekte ve immün sistemin kıl foliküllerine yönelik otoimmün yanıtının önemini vurgulamaktadır. Ayrıca, CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>-</sup> hücrelerinin ek transferi ile yaygın AA'nın tetiklendiği tespit edilmiştir. Buna karşılık, CD4<sup>+</sup>/CD25<sup>+</sup> düzenleyici T (Treg) hücrelerinin transferi, C3H/HeJ fare modelinde hastalık başlangıcını bloke etmiş, bu da CD4<sup>+</sup> T hücrelerinin AA'nın patobiyolojisinde önemli bir düzenleyici rol oynadığını desteklemiştir. Bu bulgular, AA'nın patogenezinde farklı T hücre popülasyonlarının belirgin etkisini ortaya koyarak potansiyel terapötik hedefler sunmaktadır(137).

C3H/HeJ fare modeli, AA patogenezinde stres faktörlerinin de etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, AA gelişiminde yalnızca immünolojik faktörlerin değil, aynı zamanda çevresel ve duygusal etkenlerin de rol oynayabileceğini düşündürmekte ve hastalığın çok yönlü yapısını vurgulamaktadır. Ayrıca, stresle ilişkili önemli bir nöropeptid olan P maddesinin enjeksiyonu ile perifoliküler nörojenik inflamasyonun tetiklenmesi ve insan kıl foliküllerinde ex vivo olarak immün ayrıcalığın çöküşünün indüklenmesi yoluyla da AA'nın ortaya çıkabildiği gösterilmiştir(138).

C3H/HeJ farelerinde AA lezyonlarında yapılan global transkripsiyonel profil analizleri, interferon (IFN) tarafından düzenlenen çok sayıda genin yanı sıra IL-2 ve IL-15 gibi immün sistemi uyarıcı sitokinlerin upregülasyonunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, AA patogenezinde IFN ile ilişkili yolların ve immün sistemi aktive eden sitokinlerin önemli bir rol oynayabileceğini göstermekte ve AA'nın moleküler mekanizmalarını daha iyi anlamak için değerli bilgiler sunmaktadır(45).

C3H/HeJ modeli, AA alanında yapılan çalışmalarda sıkça kullanılan önemli bir model olsa da bu modelin bazı sınırlamaları mevcuttur. Özellikle, kendi içinde melezlenmiş fare popülasyonuna özgü genetik özellikler ile insan AA'sına özgü genetik faktörler arasındaki potansiyel farklılıklara odaklanmak gerekmektedir. İlk olarak, klinik öncesi AA modellemelerinde yaygın olarak kullanılan C3H/HeJ suşu, Toll-benzeri reseptör 4 (TLR4) geninde homozigot null mutant bir alel taşımaktadır. Ancak, bu fonksiyonel TLR4 mutasyonları insan AA'sı ile ilişkili değildir; insanlarda AA ile daha çok TLR1 polimorfizmleri ilişkilendirilmiştir(139) Bununla birlikte, TLR4 lokusunda mutasyon olmayan C3H/HeN farelerinin bile AA benzeri bir hastalığa duyarlı olmaları, TLR4 defektinin AA benzeri lezyonların gelişimi ile majör bir patobiyolojik ilişkisi olmadığını düşündürmektedir. İkinci olarak, AA gelişiminde rolü kanıtlanmış olan MHC-I polipeptit ilişkili sekans-A (MICA) geni, MHC ile bağlantılı ve oldukça polimorfik bir gendir. Bu gen, çoğu memelide bulunmasına rağmen farelerde mevcut değildir(140) (141). AA patobiyolojisinde MICA gibi NKG2D ligandlarının giderek daha fazla tanınması, C3H/HeJ AA modeliyle elde edilen verilerin yorumlanmasında dikkate alınması gereken önemli bir fark oluşturmaktadır(142). Bu fare modelinde CD8+ ve CD4+ T hücreleri folikül eksenini boyunca, hatta bazen sadece folikül çıkıntı bölgesinde gözlenir. İnsan AA derisinde karakteristik "arı sürüsü" şeklindeki perifoliküler sızıntı tipik olarak sadece kıl bulbusu çevresinde ve içerisinde meydana gelir. Bütün bu farklılıklar, C3H/HeJ fare modelinin insan AA patogenezinin belirli yönlerini temsil etmedeki sınırlamalarını ortaya koymakta ve modelin translasyonel geçerliliğine dikkat edilmesi gerektiğini vurgulamaktadır(143).

Gelecekteki AA tedavisi için potansiyel farmakolojik hedeflerden biri olan insan efektör-bellek T hücrelerine özgü voltaj kapılı potasyum kanalları (Kv1.3), yalnızca insana özgüdür. Gerçekte, fare T hücrelerindeki K<sup>+</sup> kanalı ekspresyonu, insan T hücrelerinininkinden belirgin biçimde farklılık göstermektedir. Bu nedenle, kendi içinde melezlenmiş fare modelleri, AA'da ilgi duyulan Kv1.3 blokörleri gibi seçilmiş immün baskılayıcı ajanların terapötik etkilerini değerlendirmek amacıyla geçerli bir model olarak hizmet edemez(144,145).

Sitotoksik T Lenfosit Antijeni 4 (CTLA4), dengeli bir bağışıklık tepkisinin sürdürülmesinde kritik bir rol oynar ve AA ile diğer otoimmün hastalıkların

patogenezindeki potansiyel rolü nedeniyle büyük ilgi toplamaktadır. Ancak, CTLA4 polimorfizmleri, C3H/HeJ AA fare modelinde yeterince temsil edilmemektedir. Bu eksiklik, AA patogenezinde CTLA4'ün katkısını araştırmak için bu modelin sınırlı bir geçerliliğe sahip olabileceğini göstermektedir(146).

MHC-I molekülleriyle sunulan otoantijenik peptitlerin türler arasında özdeş olma olasılığı düşük olduğundan ve farelerde tanımlanması beklenmediğinden, C3H/HeJ modelinin bu antijenleri tanımlamak amacıyla kullanılabilirliği belirsizliğini korumaktadır. C3H/HeJ modeli, AA yönetimine yönelik potansiyel tedavi edici ajanlara ilişkin öncül kanıtlar sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Ancak bu modelin histolojik özellikleri, insan AA'sına özgü nitelikleri tam olarak yansıtmamaktadır; bu nedenle, AA tedavi adaylarının terapötik etkinliklerini değerlendirmede klinik olarak yeterince öngörücü olup olmadığı tartışmaya açıktır. Bu sınırlamalar, C3H/HeJ modelinin insan AA patogenezinin yansıtmadaki yeterliliğini sorgulamakta ve insan hastalığının spesifik özelliklerini daha iyi temsil edebilecek alternatif modellerin geliştirilmesine duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır(147).

#### **2.4. Hayvan modellerinde AA İndüksiyonu**

AA'yı hayvan modellerinde indüklemek için kullanılan çeşitli yöntemler mevcuttur ve her biri AA patogenezi hakkında bilgi sağlamak ve yeni tedaviler geliştirmek için önemli katkılar sunmaktadır. Çalışmalarda sıkça kullanılan AA indüksiyon yöntemleri şunlardır:

- Kriyoprezervasyonlu Lenfosit Transferi: AA'dan etkilenen farelerden alınan kriyoprezervasyonlu lenf nodu hücreleri çözöldükten sonra alıcı farelere enjekte edilebilir; bu yöntem, geleneksel indüksiyon yöntemlerine benzer patolojik özellikler gösterir(148)
- Tam Kalınlıkta Deri Greftleri: AA fenotipini seri olarak aktarma yeteneğine sahip olan tam kalınlıkta deri greftleri, AA'dan etkilenen farelerden normal C3H/HeJ farelerine alınarak AA indüksiyonu sağlanabilir(131).
- Kültür Lenfoid Hücre Enjeksiyonu: AA'dan etkilenen farelerden alınan kültürlenmiş lenfoid hücreler, intradermal enjeksiyon yoluyla cerrahi müdahaleye gerek kalmadan alıcı farelerde AA gelişimini tetikleyebilir.

- Poliinosinik-Polisitidilik Asit (Poli[I:C]) ve IFN- $\gamma$  Enjeksiyonu: Poli(I:C) ve IFN- $\gamma$ 'nin C3H/HeJ farelerine deri altı enjeksiyonu, doğal bağışıklığı ve inflamasyon yollarını aktive ederek AA'nın indüksiyonunu sağlar(149).

- Taze İzole Edilmiş Deri Hücreleri Enjeksiyonu: AA'dan etkilenen farelerden alınan taze izole edilmiş deri hücrelerinin dermal enjeksiyonu, sağlıklı farelerde AA oluşumunu tetikleyebilir ve bu da AA patogeneğinde miyeloid hücrelerin rolüne dikkat çeker(129).

- İnsanlaştırılmış Fare Modelleri: İnsan kafa derisinin SCID farelerine ksenotransplantasyonu ve ardından IL-2 ile uyarılmış periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC) enjeksiyonu, insana özgü bağışıklık tepkilerini ve terapötik hedefleri incelemek için AA'nın indüksiyonuna olanak sağlar(129).

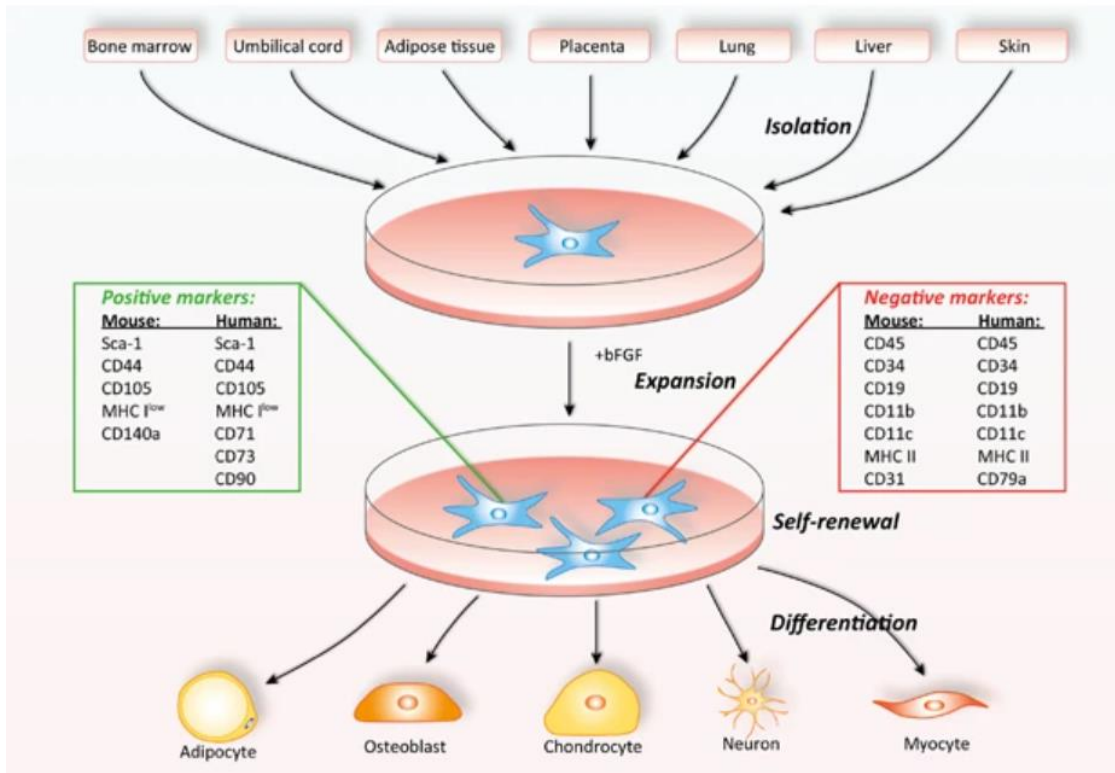
- Hücre Transferi Çalışmaları: AA'dan etkilenen farelerden normal farelere spesifik bağışıklık hücrelerinin (örneğin CD8+ hücreleri) transferi, transfer edilen hücre tipine bağlı olarak lokalize veya sistemik AA gelişimine yol açabilir(150).

## **2.5. Kök Hücre**

Kök hücreler, kendini yenileyebilme yeteneğine sahip olan ve henüz farklılaşmamış hücrelerdir. Bu benzersiz özellikleri sayesinde, kök hücreler, kan, kas ve sinir hücreleri gibi çeşitli özel hücre tiplerine dönüşme kapasitesine sahiptir. Kök hücrelerin bu farklılaşma yeteneği, organizmanın ihtiyaçlarına göre çeşitli hücreler üretebilmesi ve hasar gören dokuların onarımında kritik bir rol oynaması açısından son derece önemlidir(151).

Kök hücreleri, farklılaşma kapasitelerine göre totipotent, pluripotent ve multipotent olarak üç ana gruba ayrılmaktadır. Totipotent kök hücreler, morulanın ilk aşamalarında bulunan hücrelerdir ve tüm organları ile ekstra embriyonik dokuları oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu özellikleri, bir organizmanın tam bir birey olarak gelişmesine olanak tanır. Pluripotent kök hücreler ise tüm germinal tabakaları oluşturabilme kapasitesine sahip hücrelerdir. Bu hücreler, birçok farklı hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahiptir, ancak ekstra embriyonik dokuları oluşturma yeteneğinden yoksundurlar. Pluripotent kök hücreler, özellikle embriyonik kök hücreler örneğinde olduğu gibi, gelişimin erken aşamalarında önemli bir rol oynar. Multipotent kök hücreler ise genellikle mezenkimal

kök hücreleri (MKH) olarak bilinir ve bulunduğu dokudaki herhangi bir hücre tipine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Ancak, bu hücreler yalnızca belirli bir doku grubuna ait hücre tiplerine farklılaşma kapasitesine sahiptir. Örneğin, MKH'lar, kas, yağ veya kemik hücrelerine dönüşebilirler. Bu üç kök hücre tipi, gelişimsel biyoloji ve rejeneratif tıp alanında önemli bir yere sahiptir. Kök hücrelerin farklılaşma yetenekleri, doku mühendisliği, hastalık modelleri ve tedavi yöntemleri geliştirilmesinde büyük potansiyel sunmaktadır (152).



**Şekil 8.** MKH'lerin izolasyonu, genişletilmesi ve farklılaştırılması. MKH'ler insan ya da farelerin çeşitli dokularından izole edilebilir. Bu küçük hücre popülasyonu izole edilebilir, genişletilebilir ve seri pasajlardan sonra zenginleştirilebilir. MKH'lerin saflığını belirlemek için pozitif ve negatif belirteçlerin bir kombinasyonu kullanılabilir. Kendini yenilemeye ek olarak, bu multipotent MKH'ler kültürde farklılaşmaya da uğrayabilir. MKH'leri tanımlamak için altın standartlardan biri, adiposit ve osteoblast gibi hücre soylarına farklılaşma yetenekleridir(153).

Kök hücreler, simetrik bölünme ile kendilerini yenileyebilme ve asimetrik bölünme ile farklı hücre tiplerine dönüşebilme yeteneğine sahiptir. Asimetrik bölünme sürecinde, her kök hücreden biri kendisini yenileyerek kopyasını oluştururken, diğeri belirli bir hücre

tipine farklılaşmaktadır. Bu mekanizma, organizmanın ihtiyaçlarına göre çeşitli hücre türlerinin üretilmesine olanak tanır. İnsan vücudunda, dokuya özgü erişkin kök hücrelerin sayısı oldukça fazladır ve bu hücreler, yoğun bir kök hücre popülasyonu oluşturur. Örneğin, kemik iliği, en az iki tür kök hücre içeriğine sahiptir. Bunlardan ilki, hematopoietik kök hücre popülasyonudur; bu hücreler, vücudun her türden kan hücresini üretmekte önemli bir rol oynamaktadır. Kemik iliğinde bulunan diğer bir kök hücre popülasyonu, kemik iliği stromal hücreleri (mezenkimal kök hücreler) olarak adlandırılır. Bu hücreler, osteositler, kondrositler, adipositler ve tendonlar gibi bağ dokusunu oluşturan hücre türlerinin üretiminde kritik bir rol oynar. Yetişkin kök hücreler, farklılaşma veya plastisite olarak bilinen özellikleri ile bulunduğu canlı organizmadaki dokuları koruma, onarma ve dokuya özgü hücre tiplerini oluşturma görevini üstlenmektedir. Bu süreçler, organizmanın doku bütünlüğünü sağlamada ve hasar gördüğünde onarım mekanizmalarını devreye sokmada hayati öneme sahiptir. Erişkin kök hücrelerin bu özellikleri, rejeneratif tıp ve doku mühendisliği gibi alanlarda büyük bir potansiyel sunmaktadır(154).

MKH'ler, kendini yenileyebilme ve farklılaşma yeteneğine sahiptir. MKH'ler, kemik iliği, göbek kordonu dokusu, göbek kordonu kanı, sinoviyal membran, periferik kan ve adipoz doku gibi çeşitli kaynaklardan elde edilebilir. Bu çeşitli kaynaklar, MKH'lerin geniş uygulama yelpazesine katkı sağlar. Son on beş yıl içerisinde, MKH'ler, diyabet, nörolojik hastalıklar, kalp hastalıkları, iskelet doku hasarları, GVHD ve inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde en fazla tercih edilen kök hücre tipi haline gelmiştir. Özellikle adiposit kaynaklı mezenkimal kök hücreler (A-MKH), apoptozu ve inflamasyonu önleyici ve bağışıklık sistemini modüle edici çeşitli özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu özellikler, MKH'lerin dokuların onarımı ve iyileşmesi üzerindeki etkisini artırmakta, aynı zamanda çeşitli hastalıkların tedavisinde yeni yaklaşımlar sunmaktadır. MKH'lerin potansiyeli, sağlık alanında yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için önemli bir zemin oluşturmaktadır(155).

MKH'ler, standart olarak CD29, CD73, CD90 ve CD105 gibi yüzey belirteçlerini eksprese eden, fibroblast benzeri hücrelerdir. Bu hücreler, adipoz doku, kıkırdak ve kemik gibi çeşitli mezenkimal dokulara farklılaşabilme kapasitesine sahiptir(156). Transplante edilen kök hücrelerin dokuya spesifik hücre tiplerine dönüşerek veya çeşitli

büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler salgılayarak terapötik etki gösterdiği düşünülmektedir(157). MKH tarafından salgılanan sitokinlerin hücreler üzerinde trofik ve sitoprotektif etkilerinin olduğu, hücre sağ kalımını arttırdığı ve immünmodülasyona yardım ettiği gösterilmiştir(158). TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  gibi sitokinlerin artış gösterdiği inflamasyon durumunda MKH nitrik oksit (NO), prostaglandin E2 (PGE2), interlökin-10 (IL-10), hepatosit büyüme faktörü (HGF), indolamin 2-3 dioksijenaz (IDO) ve hem oksijenaz (HO) gibi antiinflamatuvar moleküller sekrete etmektedir(159). PGE2 endotel, fibroblast ve doğal bağışıklık hücrelerinden salgılanır ve T hücrelerinde interlökin-2 (IL-2) salınımını önleyerek T hücrelerinin proliferasyonunu engeller (160). PGE2 ayrıca interlökin-4 (IL-4) ekspresyonunu upregüle edip IFN- $\gamma$  üretimini baskılar ve T helper-1 (Th1) ve T helper-2 (Th2) hücreleri arasındaki dengeyi Th2 lehine kaydırır. Düşük IFN- $\gamma$  ve yüksek IL-4 seviyeleri antiinflamatuvar özelliği olan M2 makrofajlarında artışa neden olmaktadır (161). Kök hücrelerin rejeneratif özelliklerinin %80'e kadarının parakrin faktör sinyallemeinden geldiği düşünülmektedir(162). *Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)*, *dönüştürücü büyüme faktörü-  $\beta$  (TGF- $\beta$ )* ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) gibi birçok faktör MKH tarafından salgılanır. Bu faktörlerin hasarlı dokuların onarımını etkilediği bilinmektedir(163).

Bu kök hücreler hem laboratuvar ortamında hem de canlı organizmalarda güçlü antiinflamatuvar ve bağışıklık düzenleyici etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. T ve B lenfositlerin çoğalmasını ve NK hücrelerinin aktivitesini baskılayan MKH'lerin, aynı zamanda monositlerin dendritik hücrelere dönüşümünü önleyerek antijen sunma işlevini engellediği belirlenmiştir. Son çalışmalar, MKH'lerin VEGF, anjiyopietin I, keratinosit büyüme faktörü ve HGF gibi büyüme faktörlerinin üretimini doku yenilenmesini teşvik edebileceğini göstermektedir. Çeşitli çalışmalarda sıkça tercih edilen adipoz doku ve kemik iliği kaynaklı MKH'lerin karşılaştırmalı analizleri, bu hücrelerin bağışıklık fenotipi, izolasyon edilebilme yetenekleri, koloni sıklığı ve farklılaşma yeteneklerinin benzer olduğunu ve ortak bir morfolojiye sahip olduklarını göstermiştir. A-MKH izole etme kolaylığı ve elde edilen miktarın fazla olması deneysel ve olası klinik uygulamalarda kullanımlarının artmasına neden olmuştur(164).

MKH'lerin intravenöz veya doğrudan dokuya enjeksiyon yoluyla uygulandığında konakçı dokuda sınırlı bir hayatta kalma süresine sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu hücrelerin görece kısa yaşam sürelerine rağmen klinik iyileşme belirtilerinin gözlemlenebilmesi, trofik etkileri konusunda alternatif düşüncelerin ortaya çıkmasına yol açmıştır(158). İmmünojenitesi düşük olan bu kök hücreler, büyüme faktörleri, sitokinler ve rejeneratif faktörler dahil olmak üzere birçok önemli bileşen salgılayabilir. Bu etkilerin temel olarak parakrin etki mekanizmasıyla gerçekleştiği öne sürülmektedir. Kök hücrelerin kültüre edildiği ortamda salgıladıkları sekretom, mikroveziküller, eksozomlar ve büyüme faktörleri gibi zengin içerikli bu besiyeri, “koşullu besiyeri” (KB) olarak adlandırılmaktadır. KB; MKH’ler tarafından üretilen birçok sitokini ve rejeneratif özelliği yüksek molekülleri içerir. Bu ortamda VEGF, PDGF, EGF gibi büyüme faktörleri; TGF- $\beta$ 1, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10 gibi proinflatuar ve antiinflatuar sitokinler ile FGF2 ve HGF gibi vasküleriteyi artırıcı ajanlar bulunmaktadır. Bu üretilen parakrin faktörlerin hepsi farklı araştırmalarla doğrulanmıştır(165).

HGF, VEGF, FGF ve IGF-1 gibi büyüme faktörlerinin hücre proliferasyonu ve doku yenilenmesi üzerinde önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, MKH’nin antiinflatuar etkileri, IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi antiinflatuar sitokinlerin üretiminin artması ve IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-17 ve IFN- $\gamma$  gibi proinflatuar faktörlerin seviyelerinin azalmasıyla kanıtlanmıştır. Ek olarak, MKH’lerin anjiyogeneizde görevli VEGF-A’yı ve yeni damarların olgunlaşmasında rol oynayan Ang1/Ang2’yi salgılayarak yara iyileşmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (165). Bu etkinin mekanizmasına MKH’ler üzerinde etkili olan TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve IL-1 $\alpha$ /1 $\beta$ ’nin büyük miktarlarda CXCL9 ve CXCL10 üretimini teşvik ederek aracılık ettiği anlaşılmıştır. Benzer bir çalışmada da MKH'lerin TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  ile aktivasyonunun ayrıca IL-6, HGF, VEGF ve TGF- $\beta$  üretimini arttırdığı ve kemik oluşumunu desteklediği gösterilmiştir(166).

**Tablo 3.** Üç ana doku kaynağından elde edilen MKH'lerinin karşılaştırılması(167)

| Kaynak       | Avantajları                                                                                                                                                                  | Dezavantajlar                                                                                                                                      | Çoğaltma kapasitesi                                                                                                                                           | İşaretleyiciler                                                                                                                                                             | Klinik uygulamalar                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Kemik İliği  | Hepatositlere farklılaşma potansiyeli sitokrom P450'nin ekspresyonu birçok klinik çalışma güvenliğini ve etkinliğini kanıtlamıştır.                                          | Edinme süreci genellikle acı vericidir ve enfeksiyon riski taşır. Hücre verimi ve farklılaşma potansiyeli donör özelliklerine bağlıdır.            | Yavaş bir çoğalma hızı gösterirler, ikiye katlanma süresi(DT) genellikle 40-60 saat sürer ve senesans belirtileri pasajların 6. /7. jenerasyonunda mevcuttur. | Yüzey belirteçlerine (CD90, CD105, CD73) ek olarak MKH'ler ayrıca CD29, CD44 ve CD105 gibi hücre adezyon moleküllerini de ifade eder, CD14, CD34 ve CD45 ise ifade edilmez. | Yaygın kemik hasarı ile karakterize ortopedik hastalıkların tedavisinde kullanılır. Kemik iliği kaynaklı MKH'ler ayrıca artritik olmayan femoral baş nekrozunu tedavi etmek için de kullanılabilir. Miyokard enfarktüsü, GVHD ve SLE üzerinde potansiyel terapötik etkisi bilinmektedir. |
| Adipoz doku  | Adipoz doku bol miktarda bulunur ve kolayca ulaşılabilir. Bir dizi anjiyojenik ve apoptotik sitokin salgılar kemik iliği kaynaklı MKH'lere göre daha fazla immünsupresiftir. | Kemik iliği kaynaklı MKH'lere kıyasla daha zayıf osteogenik ve kondrojenik potansiyele sahiptir                                                    | Kemik iliği kaynaklı MKH'lere göre daha iyi performans, DT'nin 20-45 saate kısaltılması ve 8. nesile geçiş sırasında yaşlanma belirtisi yoktur.               | MKH'lerde yüzey belirteçlerinin (CD90, CD105, CD73) yüksek ifadesi ve hematopoietik belirteçlerin (CD45, CD34) ifadesi düşüktür.                                            | Bağıışıklık sistemini baskılayan GVHD tedavisi, kozmetik veya dermatolojik durumlara uygulama kası yaralanmaları, menisküs yaralanmaları ve tendon ve periferik sinir rejenerasyon tedavisinde başarıyla kullanılır.                                                                     |
| Göbek kordon | Yüksek yaygınlık, invaziv muayenelerden ve etik sorunlardan kaçınma kemik iliği kaynaklı MKH'lere göre daha yüksek genişleme ve geç kapasitesi sergiler.                     | Lipojenik farklılaşma potansiyeli olmayabilir. Osteojenik farklılaşma potansiyeli açısından kemik iliği kaynaklı MKH'lere göre daha düşük olabilir | Diğerlerinde 3-4 kat daha yüksek olan en yüksek katma değer oranını göstermektedir                                                                            | İmmün markerlerin çoğu kemik iliği kaynaklı MKH'lere benzer şekilde ifade edilmektedir.                                                                                     | Pankreas adacık hücrelerinin in vitro rejenerasyonu GVHD ve SLE'nin tedavisinde kullanılır.                                                                                                                                                                                              |

Normal kemik iliği ve adipoz doku kaynaklı MKH'lerin T lenfosit proliferasyonu üzerindeki etkilerini test etmek amacıyla, farklı oranlarda uyarılmış T hücreleriyle kültüre edilmiştir. Bu çalışmada, MKH'lerin T hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe edebildiği ve özellikle G0/G1 fazından S fazına geçişi engellediği

gözlemlenmiştir. Ayrıca, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin bu inhibisyon rolünde daha belirgin bir etki gösterdiği ortaya konulmuştur(168).

Kemik iliği ve adipoz doku kaynaklı MKH'lerin Th0 hücrelerinin Th1 ve Th2 hücrelerine farklılaşması üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, periferik kandan elde edilen mononükleer hücrelerle birlikte kültüre edildikleri bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Çalışma, her iki kök hücre grubunun da IL-2 ve IFN- $\gamma$  üretimini önemli ölçüde inhibe edebildiğini, ancak IL-10 ve IL-4 üzerinde belirgin bir etkilerinin olmadığını ortaya koymuştur. Th0 hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşması temel olarak IFN- $\gamma$  ve IL-2 salgılanmasıyla tetiklenirken, Th0'nın Th2'ye dönüşümünde ise IL-10 ve IL-4 etkili olmaktadır. Normal bağışıklık koşulları altında, MKH'lerin esas olarak Th0 hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşmasını azalttığı gözlemlenmiş ve bu durum, hücrel bağışıklık yanıtını düzenleme yoluyla bağışıklık sistemi üzerinde etki gösterdiklerini desteklemektedir. Ayrıca, adipoz doku kaynaklı kök hücrelerin bağışıklık düzenlemesinde kemik iliği kaynaklı hücrelere benzer bir etkinlik gösterdiği saptanmıştır(168,169).

Adipoz doku kaynaklı MKH'ler, çeşitli hücre tiplerine farklılaşma yeteneğine sahiptir. Bu hücreler, kendi kendini onarma ve yenileme özellikleri ve erişim kolaylığı, tekrar edilebilir uygulama imkânı sayesinde önemli avantajlar sunmaktadır. Subkutan yağ dokunun bol bulunabilirliği ve kolay erişilebilir olması, çalışmalarda adipoz doku kaynaklı MKH'lerin tercih edilme nedenlerinden biridir. Diğer MKH türleriyle karşılaştırıldığında, minimal girişimsel işlemlerle çok sayıda hücreye daha ucuz maliyetle ulaşılabilmesi de bu hücreleri öne çıkaran faktörler arasındadır(170).

Kök hücre temelli tedavilerde yapılan yeni keşifler, daha etkili ve başarılı saç dökülmesi tedavilerinin geliştirilmesi için cesaret verici bir temel oluşturmaktadır. Bu tür ilerlemeler umut verici olsa da kök hücre temelli tedavileri tam anlamıyla destekleyecek klinik veriler henüz yeterli düzeyde değildir(162).

## **2.6. Alopesi Tedavisinde Kullanılan Rejeneratif Tıp Stratejileri**

Alopesi gibi saç dökülmesi bozukluklarının tedavisinde kullanılan rejeneratif tıp yaklaşımları, çeşitli kök hücre temelli ve hücresiz tedavi seçeneklerini içermektedir. Alopesinin patofizyolojisine uygun olarak geliştirilen bu stratejiler arasında kök hücre terapileri, MKH türevli sekretom veya ekstraselüler veziküller (EV) ve trombosit zengin plazma (PRP) gibi yöntemler bulunmaktadır. Bu tedavi yöntemleri, özellikle kıl folikülü mikro ortamının yeniden yapılandırılmasını, büyüme döngüsünün düzenlenmesini ve foliküler canlılığın artırılmasını hedeflemektedir(171).

### **2.6.1. Mezenkimal Kök Hücre (MKH) Tabanlı Tedaviler**

Alopesinin tedavisinde en çok incelenen kök hücre türlerinden biri olan MKH'ler, adipoz doku, kemik iliği ve göbek kordonu kanı gibi kaynaklardan elde edilmektedir. MKH'lerin kendini yenileme, hasarlı dokuya göç etme ve immünmodülatör özellikleri sayesinde, kıl folikülleri ve dermal papilla hücreleri ile etkileşim kurarak saç büyüme döngüsünü yeniden başlatma ve foliküler yenilenmeyi teşvik etme kapasiteleri bulunmaktadır. MKH'ler ayrıca patolojik süreçlerin neden olduğu foliküler inflamasyonu baskılayarak saç dökülmesini azaltmada da etkili olabilmektedir. MKH'ler doğrudan kültüre edilerek veya eksozom gibi hücresiz bileşenler aracılığıyla immün sistem üzerinde düzenleyici etkiler sağlayarak saç büyümesini teşvik etmektedir. İndüklenmiş pluripotent kök hücrelerden türetilmiş MKH'ler ise, tümör oluşumu riskini azaltan bir seçenek olarak dikkat çekmektedir. MKH'lerin terapötik etkileri, özellikle büyüme faktörleri ve sitokinlerin salgılanması yoluyla gerçekleşen parakrin etkilere dayanır. Proinflamatuvar yanıtları düzenleyen bu etkiler, özellikle sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi bağışıklık sistemi bozukluklarına bağlı alopesi vakalarında önem taşımaktadır(171).

### **2.6.2. Ekstraselüler Veziküller (EV) ve Ekzosom Tabanlı Tedaviler**

MKH türevli EV'ler ve ekzosomlar, hücresiz tedavi seçenekleri olarak alopesi tedavisinde giderek daha fazla önem kazanmaktadır. EV'ler, MKH'lerden salınan ve büyüme faktörleri, RNA, proteinler gibi biyoaktif molekülleri içeren yapılar olup, immünojenik riskleri azaltırken foliküler yenilenmeyi destekleyici biyokimyasal sinyalleri taşımaktadır. Ekzosom tabanlı tedaviler, kıl folikülündeki rejeneratif süreçleri

destekleyerek anagen fazını uzatmakta ve saç büyümesini teşvik etmektedir. Bu tedavi yöntemi, MKH kaynaklı tedavilerde ortaya çıkabilen bağışıklık yanıtları gibi riskleri de azaltmaktadır(171).

### **2.6.3. Trombositten Zengin Plazma (PRP) Tedavisi**

PRP tedavisi, kıl folikülü mikro çevresini düzenleyen ve büyüme faktörü kaynağı olarak işlev gören bir yöntemdir. Hastanın kanından elde edilen yüksek trombosit konsantrasyonuna sahip olan PRP; PDGF, TGF- $\beta$ , VEGF, IGF ve EGF gibi büyüme faktörleri içererek saç köklerinin proliferasyonunu destekler. Özellikle androjenetik alopesi gibi skatrisyel bırakmayan alopesi türlerinde saç dökülmesini geri döndürebilmekte, folikülün metabolik aktivitesini artırarak saç kalitesini iyileştirmektedir(99)

### **2.6.4. Stromal Vasküler Fraksiyon (SVF) Tedavisi**

Adipoz dokudan elde edilen SVF, içerisinde MKH'ler, perisitler, fibroblastlar, endotel hücreleri ve bağışıklık hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerini barındıran bir komplekstir. SVF, kıl folikülündeki vaskülarizasyonu artırarak foliküllere oksijen ve besin maddesi sağlamaktadır, bu da saç dökülmesini önleyerek saç büyümesini desteklemektedir. SVF'nin özellikle androjenetik alopesi ve alopesi areata vakalarında etkili olduğu gözlemlenmiştir. Alopesinin tedavisinde rejeneratif tıp yöntemleri, kök hücre tabanlı ve hücresiz uygulamaların birlikte kullanılmasıyla kıl folikülü yenilenmesinde yeni bir boyut kazandırmaktadır. MKH, PRP ve SVF gibi tedavi seçenekleri, alopesinin inflamatuvar ve immünolojik süreçlerini düzenleyerek folikül mikro çevresini iyileştirme potansiyeline sahiptir. Ancak bu tedavi yöntemlerinin optimal protokolleri ve uzun vadeli etkileri hakkında daha fazla klinik çalışma gereklidir(172,173).

### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

Çalışmamız, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanarak tıbbi etik açısından uygun bulunmuş (Tarih: 07.07.2021, Karar No:21/169), Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2022-11707 nolu proje kapsamında desteklenmiştir. Çalışma, Mart 2022 – Mart 2024 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri ve Zührevi Hastalıkları ile Gevher Nesibe Genom ve Kök Hücre Merkezi koordinasyonunda hayvan deneyi araştırma projesi olarak tasarlandı, çalışmaya Mart 2022’de başlandı ve Temmuz 2024’te çalışma sonlandırıldı.

#### **3.1.Gereç**

##### **3.1.1. Sarf Malzemeler**

- ✓ Masson Trikrom (BioOptika Milano S.p.A.; 04-010802), Collagen Type 1 Polyclonal
- ✓ Antibody (14695-1-AP, Proteintech), IL6 Polyclonal antibody (sc-57315, Santa Cruz), IL15
- ✓ Polyclonal antibody (sc-8437, Santa Cruz), HistoPlus™ Haris Hematoksilen (109253,
- ✓ Merck), HistoPlus™ Eosin Y (Alkol Bazlı) çözeltisi ( 102439, Merck), sitrat tamponu (pH:

- ✓ 6.0; Thermo Fischer Scientific, UK, AP-9003-500), Ultra V blok solüsyonu (Thermo Fischer
- ✓ Scientific, UK, TA-125-UB), polyvalent sekonder antikor (Thermo Fischer Scientific, UK,
- ✓ TP-125-BN), streptavidin peroksidaz (Thermo Fischer Scientific, UK, TS-125-HR),
- ✓ diaminobenzidin (DAB) kromojeni (Thermo Fischer Scientific, UK, TA125-HD), Gill III
- ✓ Hematoksilin (Merck, Germany, 1.05174.1000) sarf malzeme olarak kullanılmıştır.

### **3.1.2. Demirbaş Malzemeler**

Gilson Mikropipet, Sigma Santrifüj cihazı, Heidolph Vortex cihazı, Peqlab Perfect Spin, Gilson GmcLab Spin, Shimadzu- Biotech Bio-Spec Nano Spectrophotometer, Siemens -20°C buzdolabı, Binder -80°C dolap, mikrotom, boyama seti, ışık mikroskobu ve invert mikroskobu demirbaş malzemesi olarak kullanılmıştır.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Kullanılan Deney Hayvanları**

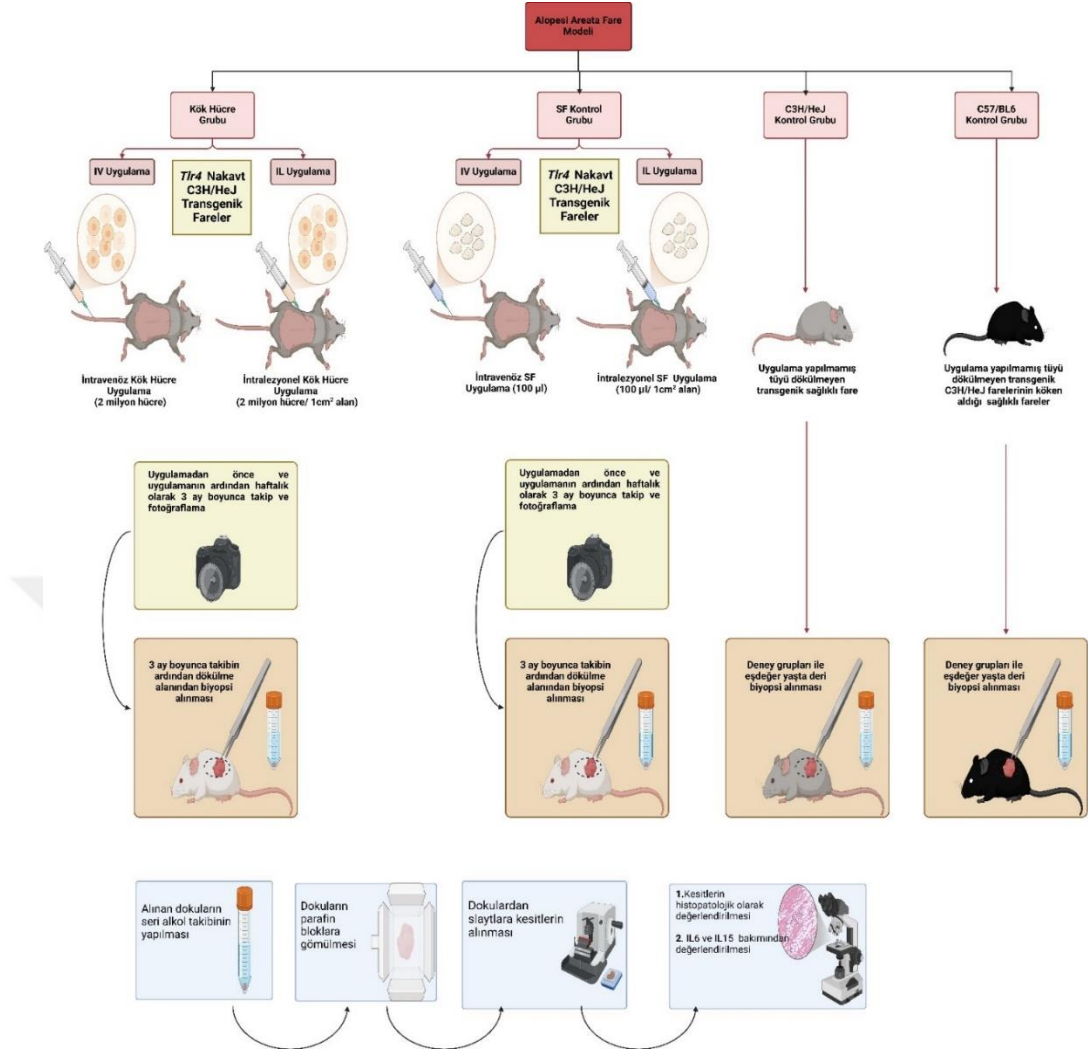
Bu çalışmada Jackson Laboratuvarı'ndan temin edilen TLR-4 knock out C3H/HEJ fareleri arasından 6-8 aylık olduklarında kendiliğinden AA geliştiren fareler kullanılmıştır. AA fenotipi gösteren farelerde aşağıda belirtilen gruplar oluşturularak intravenöz (IV) ve intralezyonel (IL) olacak şekilde iki ayrı kök hücre uygulaması yapılmıştır. Kök hücre uygulaması sonrasında AA fare modelinde hem gözlemsel hem de immünohistokimyasal parametreler kullanılarak kök hücre uygulamasının etkinliği değerlendirilmiştir. Jackson Laboratuvarı'ndan uygun taşıma koşullarında C3H/HEJ 10 dişi, 5 erkek fare laboratuvarımıza getirilmiştir. Farelerimiz nem, sıcaklık ve ışık (12:12 h) kontrollü Spesifik Patojen Olmayan (SPO) koşullarda barındırılarak koloni oluşturulmuştur. Farelerin gıdaya (NIH 31, %6 yağ; Lab Diet 5K52, purina Mills, St Louis, MO) ve otoklavlanmış suya kolayca erişimi sağlanmıştır.

### 3.2.2 Deney Grupları ve İlaç Uygulamaları

10-15 aylık olduklarında %20'sinde kendiliğinden AA gelişen fareler gruplara rastgele 4 gruba ayrılmıştır. Gruplardaki farelerin benzer yaşlarda olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmada grupları oluşturan fareler, uygulanan tedavi yöntemlerine göre farklı şekillerde düzenlenmiştir. İlk gruptaki farelere intravenöz olarak normal C57BL/6 farelerden elde edilen adiposit kökenli mezenkimal kök hücre (A-MKH) tedavisi uygulanmıştır. İkinci grup farelere intralezyonel olarak A-MKH tedavisi verilmiştir. Üçüncü gruptaki farelere intralezyonel yolla salın enjeksiyonu yapılırken, dördüncü gruptaki farelere ise intravenöz olarak salın enjeksiyonu uygulanmıştır. AA geliştirmemiş transgenik olan C3H/HeJ fareleri beşinci grup olarak, transgenik C3H/HeJ farelerimizin köken aldığı tamamen sağlıklı olan C57BL/6 fareleri ise altıncı grup olarak belirlenmiştir. Tüm fare grupları klinik gözlem altında tutuldu ve 12 hafta sonunda her bir fareden tam kat deri biyopsisi alındı. Biyopsi işleminden sonra deney sonlandırıldı ve fareler anestezi altında servikal dislokasyon yöntemi ile ötenazi edildi.

**Tablo 4.** Deneyde kullanılan fare grupları ve sayıları

| Deney Grubu                                                | Grup başına hayvan sayısı | Tekrar kullanılan hayvan sayısı | Kullanılan toplam hayvan sayısı |
|------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1-Intravenöz kök hücre uygulanan grup                      | 4                         | 0                               | 4                               |
| 2-Intralezyonel kök hücre uygulanan grup                   | 3                         | 0                               | 3                               |
| 3-Intralezyonel SF uygulanan grup                          | 8                         | 0                               | 8                               |
| 4-Intravenöz SF uygulanan grup                             | 7                         | 0                               | 7                               |
| 5-C57BL6 fareleri                                          | 5                         |                                 | 5                               |
| 6-Alopesi areata geliştirmemiş transjenik C3H/Hej fareleri | 5                         |                                 | 5                               |
| <b>Toplam</b>                                              | 32                        | 0                               | 32                              |



Şekil 9. Çalışma prosedürü

### 3.2.3. Kök Hücre İzolasyonu ve Uygulanması

C3HeJ fareler C57BL/6 kökenlidir. Kök hücrelerin elde edilmesinde normal olan C57BL/6 fareleri kullanıldı. Öncelikle fare femurları ve iliakları diseke edilerek çıkartıldı. Kemik ilikleri izole edildikten sonra doku, 1% penisilin-streptomisin solüsyonu içeren fizyolojik solüsyonlar ile yıkandı. Enzimatik parçalama sonrası elde edilen tek hücre süspansiyonu, hücre filtresinden geçirildi. 25 cm<sup>2</sup>'lik kültür flasklarına ekilen hücre süspansiyonu için standart hücre besiyeri kullanıldı. Kültür için kullanılan besiyerinin içeriği: %10 fetal sıgır serumu (FBS) içeren düşük glikozlu DMEM (L-DMEM medium (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ve 1% penisilin streptomycin solüsyonu ve 1% glutamin (Biological Industries, Kibbutz Beit Haemek, Israel)'dir.

Hücreler 37°C’de ve 5% CO<sub>2</sub> içeren ortamda inkübe edildi ve idamesi sağlandı. A-MKH’ler kültür kabına yapışma özelliğine göre izole edildi ve 80% hücre yoğunluğuna ulaşıldığında primer hücre kültürünün 0.025% trypsin-EDTA ile deataçmanı sağlandı ve alt kültürle geçildi. Farklılaştırılmamış A-MKH’lerin inmmunfenotiplendirilmesi için Flow sitometride CD11b/c, CD29, CD44, CD45, CD73, CD90 (BD Biosciences) ölçümleri yapıldı. Veriler KALUZA software (BeckmanCoulter, USA) kullanılarak değerlendirildi ve histogramda 50%’den fazla boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Hayvanlara uygulama intravenöz olarak 2 x10<sup>6</sup> / 200 µl olacak şekilde kuyruk veninden enjekte edildi. Lokal uygulamalar 1 cm<sup>2</sup>lik alana 2 x10<sup>6</sup> / 200 µl hücre olacak şekilde intralezyonel olarak insülin enjektörü yardımı ile uygulandı.

#### **3.2.4. Deri örneklerinin alınması ve Histopatolojik İncelenmesi**

12 haftalık gözlemden sonra farelerden 1 cm<sup>2</sup>’lik tam kat deri örnekleri alındı. Alınan tam kat deri biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal olarak IL-6 ve IL-15 sitokinlerin immün yoğunluğu değerlendirildi. Deney sonunda alınan deri örnekleri önce %10’luk formaldehit solüsyonunda bekletilerek tespit edildi. Tespit işleminden sonra dokular gece boyu akar suda bırakıldı. Ardından artan dereceli alkol serilerinden geçirilerek (%70, %80, %96, %100) dehidrate edildi. Ksilen ile şeffaflandırılan dokular temiz parafine gömüldü. Parafine gömülmüş deri dokularından alınan 5µm kalınlığındaki kesitler Harris hematoksilin ve eozin ile boyandı. Histopatolojik değerlendirme için ışık mikroskobu (Zeiss Axioscope 5) altında incelendi ve dijital kamera (Zeiss Axiscope Colibri 3) ile görüntülendi. İmmünohistokimyasal analizde ise Avidin- Biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak deney gruplarına ait deri dokularından alınan kesitlerde IL6 (sc-57315, Santa Cruz Biotechnology) ve IL15 (sc-8437, Santa Cruz Biotechnology) immunoreaktiviteleri immünohistokimyasal analiz ile tespit edilmiştir. Özetle, 5µm kalınlığında alınan kesitlerin deparafinizasyon işleminden sonra, epitoplara açılması için sitrat tamponu kullanıldı (pH: 6.0; Thermo Fischer Scientific, UK, AP-9003-500). Sonra slaytlar, endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için metanol içinde %3 hidrojen peroksid solüsyona alındı. Spesifik olmayan boyanmaları önlemek için Ultra V blok solüsyonu (Thermo Fischer Scientific, UK, TA-125-UB) uygulandı. Ardından primer antikor (IL6 1:100 ve IL15 1:100 dilüsyon oranlarında) ile 4 °C’ de bir gece inkübe edildi. Ardından biotinile edilmiş keçi anti polyvalent sekonder antikor (Thermo Fischer Scientific, UK,

TP-125-BN) ile oda sıcaklığında 40 dk inkübe edildi. PBS ile birkaç sefer yıkamadan sonra, streptavidin peroksidaz (Thermo Fischer Scientific, UK, TS-125-HR) ile oda sıcaklığında 30 dk inkübe edildi. Antikor kompleksi, diaminobenzidin (DAB) kromojeni (Thermo Fischer Scientific, UK, TA-125-HD) ile inkübasyon yoluyla görselleştirildi. Ardından kesitler Gill III Hematoksilen (Merck, Germany, 1.05174.1000) ile zıt boyama yapıldı. Artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi ve entellan adı verilen kapatıcı ile kapatıldı. Kesitler ZEISS Axiscope 5 Colibri 3 ışık mikroskobu ile incelendi ve görüntülendi. İmmünoreaktivite seviyeleri Fiji/ImageJ yazılım programında ölçüldü.

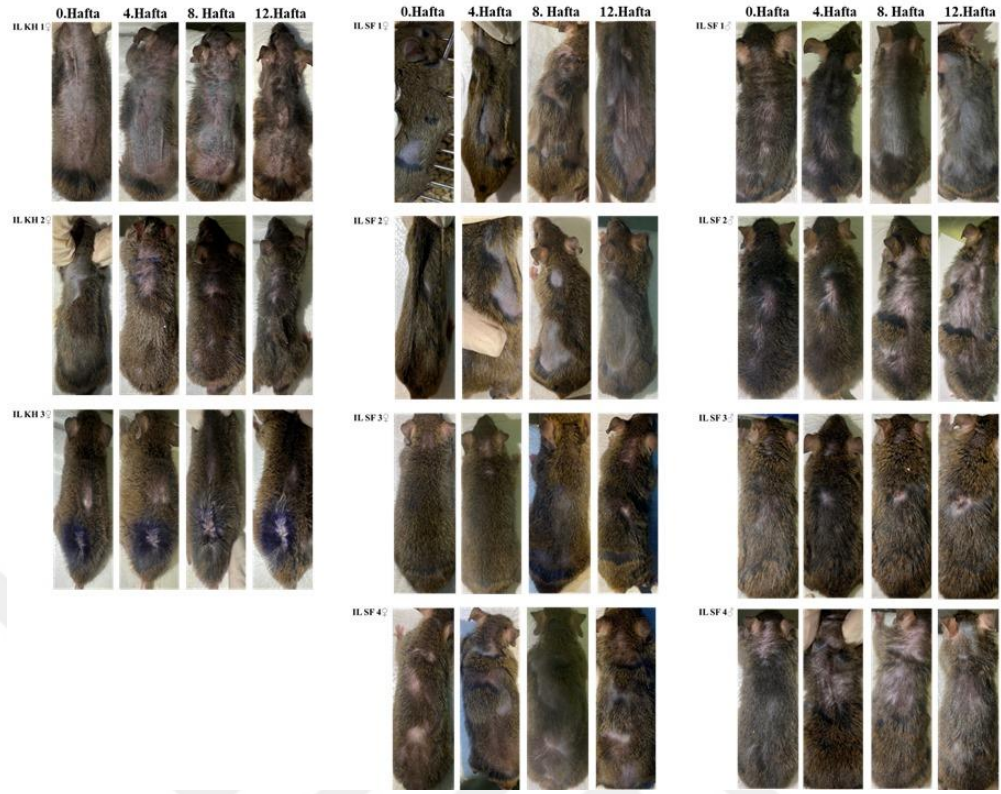
### **3.2.5. İstatistiksel Analiz**

Kıl folikül sayısı ve immün boyama yoğunluğu bakımından deney grupları arasındaki istatistiksel karşılaştırmada iki yönlü varyans analizi, Tukey'in çoklu karşılaştırma testleri uygulandı.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Dökülme Alanlarının Gösterilmesi

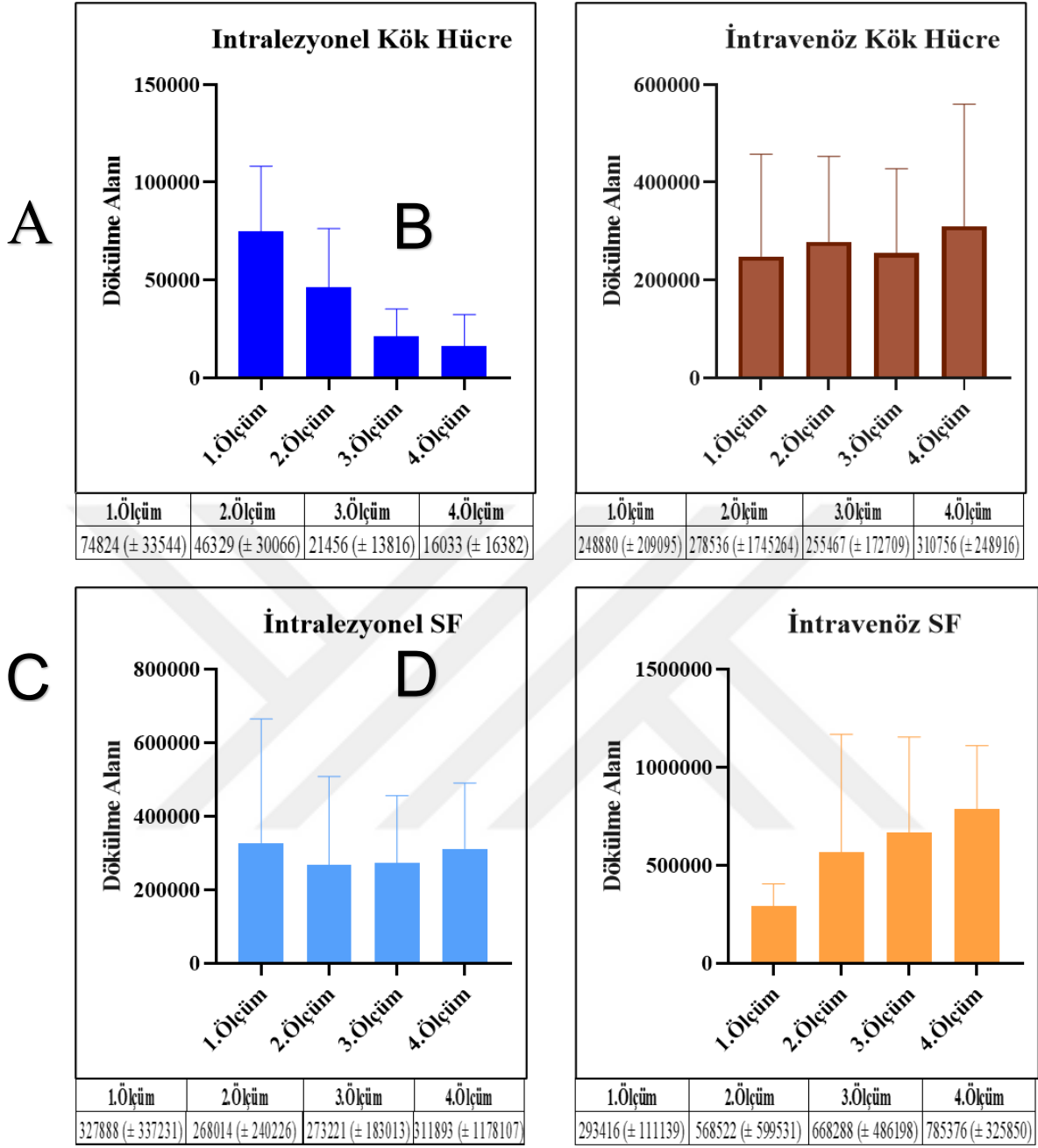
Çalışmamızda, alopesi areata (AA) geliştiren farelerde intralezyonel (IL) ve intravenöz (IV) kök hücre tedavilerinin dökülme alanları üzerindeki etkisi incelenmiştir (Şekil 12). IL kök hücre tedavisinde, başlangıçtaki dökülme alanı 74824 ( $\pm$  33544) birimden tedavi sonrası dördüncü ölçümde 16033 ( $\pm$  16382) birime düşerek yaklaşık %78'lik bir azalma sağlanmıştır. Ara ölçümlerde, dökülme alanı ikinci ölçümde 46329 ( $\pm$  30066), üçüncü ölçümde ise 21456 ( $\pm$  13816) birime düşmüş ve bu tedavinin hızlı ve kalıcı etkiler sağladığı görülmüştür. Buna karşılık, IV kök hücre tedavisi uygulanan grupta başlangıçtaki 248880 ( $\pm$  209095) birimlik dökülme alanı, dördüncü ölçümde 310756 ( $\pm$  248916) birime yükselerek anlamlı bir azalma sağlayamamıştır. Salin uygulanan kontrol gruplarında da benzer bir etki gözlenmiştir; IL salin grubunda dökülme alanı başlangıçtaki 327888 ( $\pm$  337231) birimden dördüncü ölçümde 311893 ( $\pm$  1178107) birime düşerken, IV salin grubunda ise başlangıçtaki 293416 ( $\pm$  111139) birimlik dökülme alanı 785376 ( $\pm$  325850) birime yükselmiştir. Oransal olarak, IL kök hücre tedavisinde ilk ölçümden dördüncü ölçüme kadar değer 1.0'dan 0.21'e kadar düşerken, IV kök hücre ve salin gruplarında dökülme alanında anlamlı bir küçülme gözlenmemiş, hatta IV salin grubunda bu değer 2.67 katına çıkmıştır. Bu bulgular, IL kök hücre tedavisinin dökülme alanını küçültmede etkili yöntem olduğunu, IV kök hücre ve salin uygulamalarının ise bu etkiden yoksun kaldığını göstermektedir.



Şekil 10. İntralezyonel kök hücre (KH) ve salin (SF) uygulanan farelerin fotoğrafları.



Şekil 11. İntravenöz kök hücre (KH) ve salin (SF) uygulanan farelerin fotoğrafları.



**Şekil 12.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğraflar ile hesaplanan dökülme alanlarının farklı ölçüm günlerindeki değişimin gösterilmesi. **A.** İntralezyonel kök hücre uygulama sonrası farklı zamanlardaki dökülme alanının gösterilmesi **B.** İntravenöz kök hücre uygulama sonrası farklı zamanlardaki dökülme alanının gösterilmesi **C.** İntralezyonel salin (SF) uygulama sonrası farklı zamanlardaki dökülme alanının gösterilmesi **D.** İntravenöz SF uygulama sonrası farklı zamanlardaki dökülme alanının gösterilmesi

**Tablo 5.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğralar ile hesaplanan dökülme alanlarının ortalama ve standart sapma değerleriyle birlikte gösterilmesi

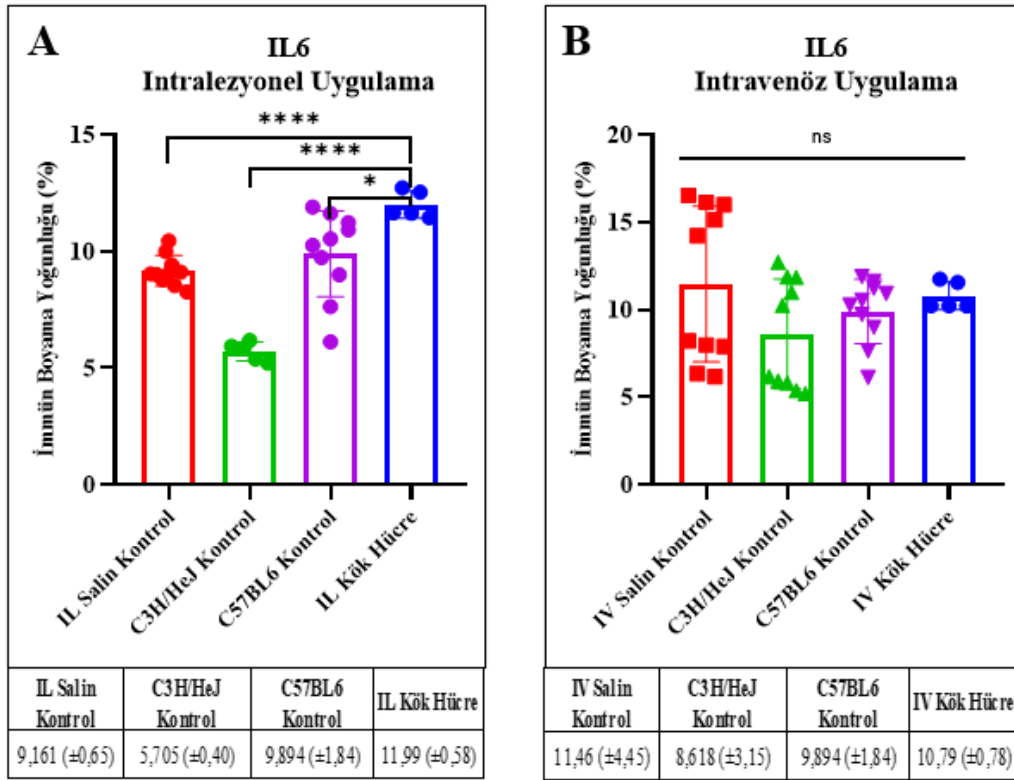
|         | IL Kök Hücre         | IL SF                   | IV Kök Hücre            | IV SF                  |
|---------|----------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| 1.Ölçüm | 74824 ( $\pm$ 33544) | 327888 ( $\pm$ 337231)  | 248880 ( $\pm$ 209095)  | 293416 ( $\pm$ 111139) |
| 2.Ölçüm | 46329 ( $\pm$ 30066) | 268014 ( $\pm$ 240226)  | 278536 ( $\pm$ 1745264) | 568522 ( $\pm$ 599531) |
| 3.Ölçüm | 21456 ( $\pm$ 13816) | 273221 ( $\pm$ 183013)  | 255467 ( $\pm$ 172709)  | 668288 ( $\pm$ 486198) |
| 4.Ölçüm | 16033 ( $\pm$ 16382) | 311893 ( $\pm$ 1178107) | 310756 ( $\pm$ 248916)  | 785376 ( $\pm$ 325850) |

**Tablo 6.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından sonra takip edilerek alınan fotoğraflarla hesaplanan dökülme alanlarının 1.ölçüm bazal (1) kabul edilerek diğer ölçümlerdeki dökülme alanlarının oransal değişimlerinin gösterilmesi

|         | IL Kök Hücre | IL SF       | IV Kök Hücre | IV SF       |
|---------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| 1.Ölçüm | 1            | 1           | 1            | 1           |
| 2.Ölçüm | 0,619172993  | 0,817394964 | 1,119157827  | 1,937597132 |
| 3.Ölçüm | 0,286752914  | 0,833275387 | 1,02646657   | 2,277612673 |
| 4.Ölçüm | 0,214276168  | 0,951218099 | 1,248617808  | 2,676663849 |

#### 4.2. Doku örneklerinde IL-6 ve IL-15 İmmün Yoğunluklarının Gösterilmesi

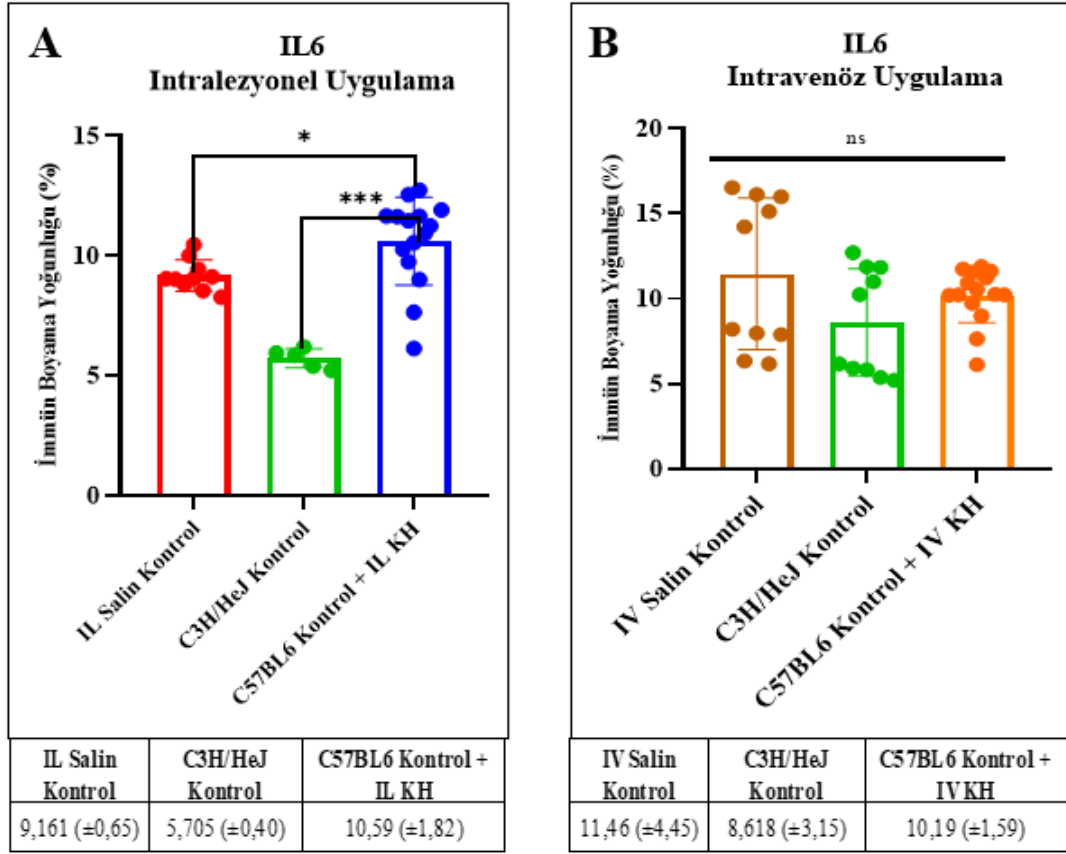
Çalışmamızda intralezyonel kök hücre uygulaması sonrasında deneklerin IL-6 immün boyama yoğunluğu, intralezyonel salin uygulanan denekler ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 13). İntralezyonel kök hücre uygulanan deneklerin IL-6 immün boyama yoğunluğu ( $11,99 \pm 0,58$ ), intralezyonel salin uygulanan ( $p < 0,001$ ) ve CH3/HeJ kontrol gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). C57BL6 kontrol grubuyla da IL-6 immün boyama yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ( $p = 0,030$ ). Diğer grupların kendileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 10A). İkinci olarak intravenöz kök hücre uygulaması sonrasında deneklerin IL-6 immün boyama yoğunluğu, intravenöz salin uygulanan denekler ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 10B). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, gruplar arasında IL-6 immün boyama yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 13.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonel uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi.

Çalışmamızda transgenik olmayan sağlıklı C57BL6 kontrol denekleri ve intralezyonel kök hücre uygulanan denekler “klinik iyileşme sağlanan ve tamamen sağlıklı grup” olarak değerlendirilmiş ve bir grupta ele alınmıştır (Şekil 14). Bu şekilde yapılan istatistiksel analiz sonucunda bu grubun intralezyonel IL-6 immün boyama yoğunluğu, C3H/HeJ kontrol deneklerinden ( $p < 0,001$ ) ve intralezyonel salin uygulanan deneklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $p = 0,012$ ). C3H/HeJ kontrol denekleri ve intralezyonel salin uygulanan denekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 14A). Benzer bir birleştirme İntravenöz kök hücre uygulanan denekler ve transgenik olmayan sağlıklı C57BL6 kontrol denekleri arasında

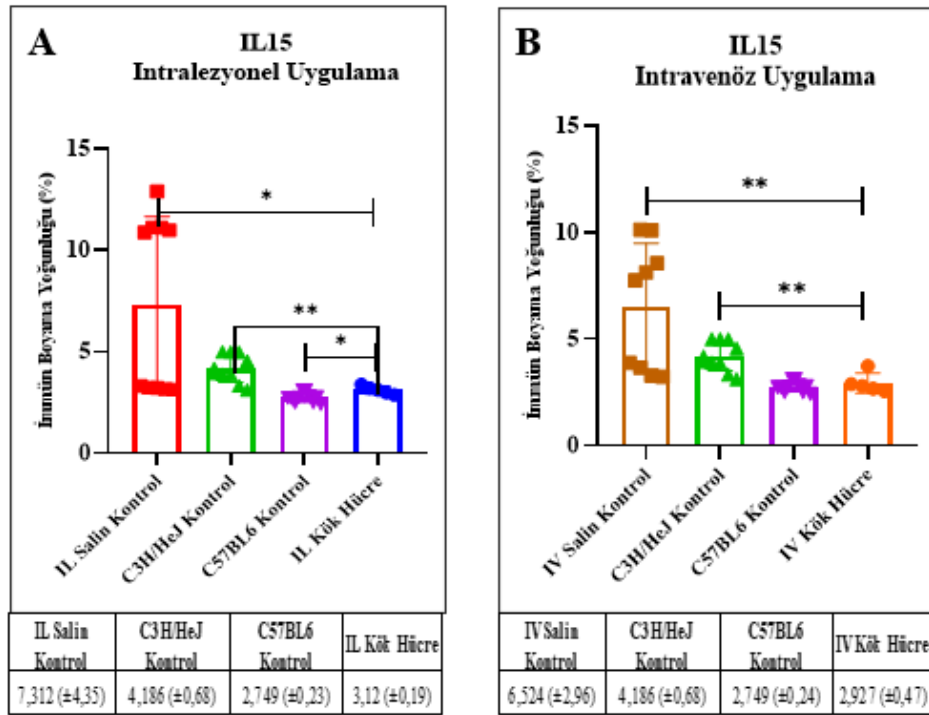
da yapılmıştır (Şekil 14B). Bu işlem sonucunda yapılan analizde, hiçbir grup arasında IL-6 immün boyama yoğunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).



**Şekil 14.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre, salin ve sağlıklı fare gruplarından alınan tam kat deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonel uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi.

Çalışmamızda intralezyonel kök hücre uygulaması sonrasında deneklerin IL-15 immün boyama yoğunluğu, intralezyonel salin uygulanan denekler ve kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 15). İntralezyonel kök hücre uygulanan deneklerin IL-15 immün boyama yoğunluğu ( $3,12 \pm 0,19$ ), C57BL6 kontrol deneklerinden ( $2,74 \pm 0,23$ ) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $p = 0,010$ ). Ancak, İntralezyonel kök hücre uygulanan deneklerin IL-15 immün boyama yoğunluğu, C3H/HeJ kontrol deneklerinden

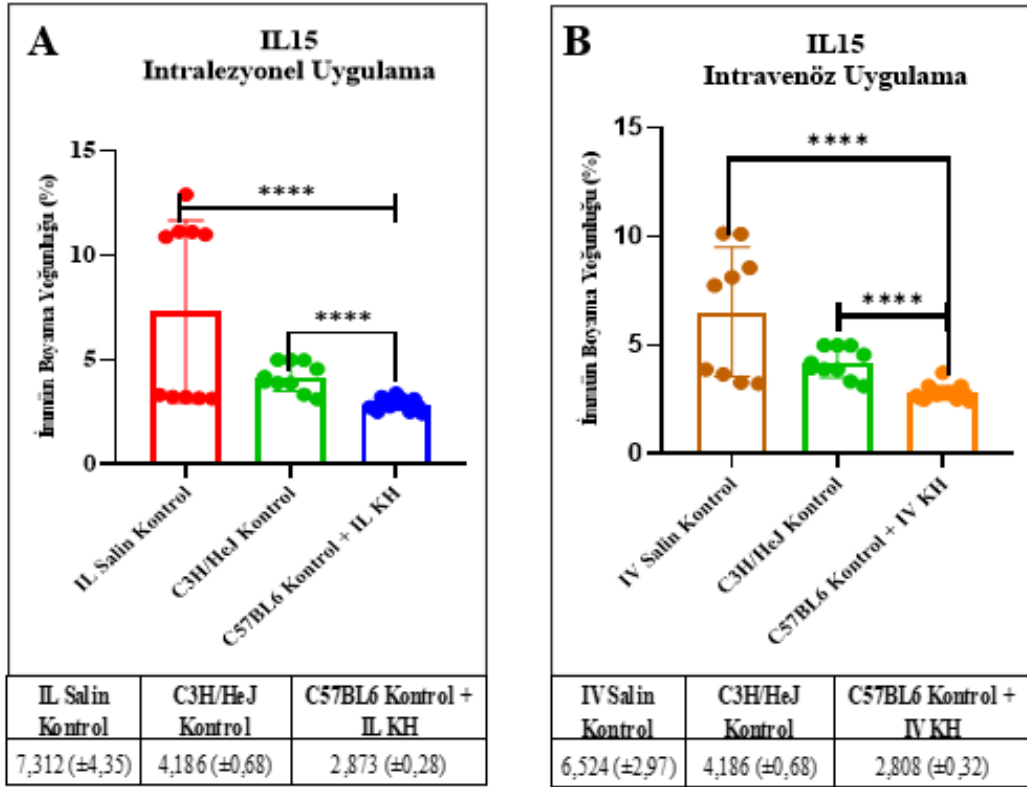
( $p = 0,005$ ) ve intralezyonel salin uygulanan deneklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $p = 0,028$ ). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 15A). İntravenöz kök hücre uygulaması sonrasında deneklerin IL-15 immün boyama yoğunluğu ( $2,92 \pm 0,47$ ), C3H/HeJ kontrol deneklerinden ( $p = 0,003$ ) ve intravenöz salin uygulanan deneklerden anlamlı derecede düşüktür ( $p = 0,007$ ). Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0,05$ ) (Şekil 15B).



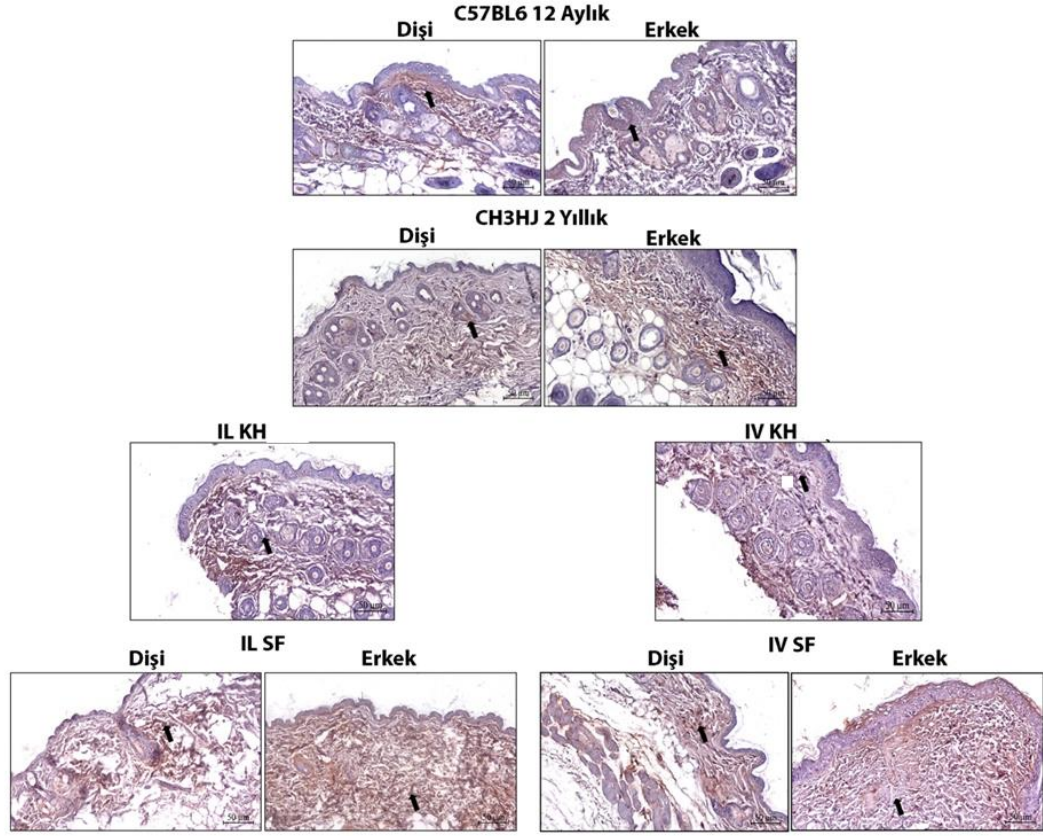
**Şekil 15.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonel uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi.

Çalışmamızda transgenik olmayan sağlıklı C57BL6 kontrol denekleri ve intralezyonel kök hücre uygulanan denekler “klinik iyileşme sağlanan ve sağlıklı grup” olarak değerlendirilmiş ve bir grupta ele alınmıştır (Şekil 16). Bu şekilde yapılan istatistiksel

analiz sonucunda bu grubun IL-15 immün boyama yoğunluğu, C3H/HeJ kontrol deneklerinden ( $p<0,001$ ) ve intralezyonel salin uygulanan deneklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $p<0,001$ ). C3H/HeJ kontrol denekleri ve intravenöz salin uygulanan denekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 16A). Benzer şekilde, intravenöz kök hücre uygulanan denekler ve transgenik olmayan sağlıklı C57BL6 kontrol deneklerinin birlikte ele alındığı grubun IL-15 immün boyama yoğunluğu, C3H/HeJ kontrol deneklerinden ( $p<0,001$ ) ve intralezyonel salin uygulanan deneklerden anlamlı derecede düşüktür ( $p<0,001$ ) (Şekil 16B).

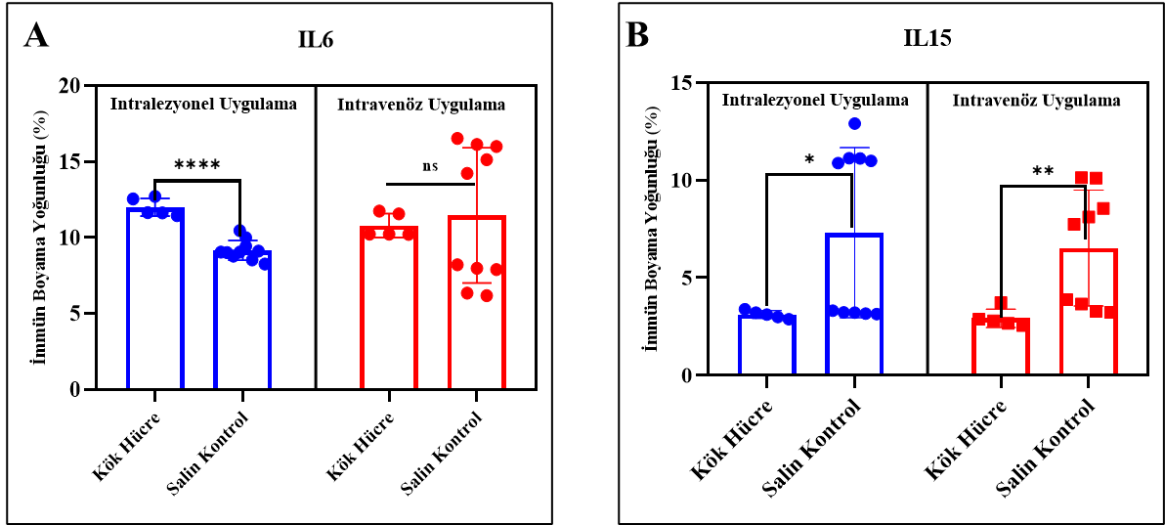


**Şekil 16.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonel uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi.

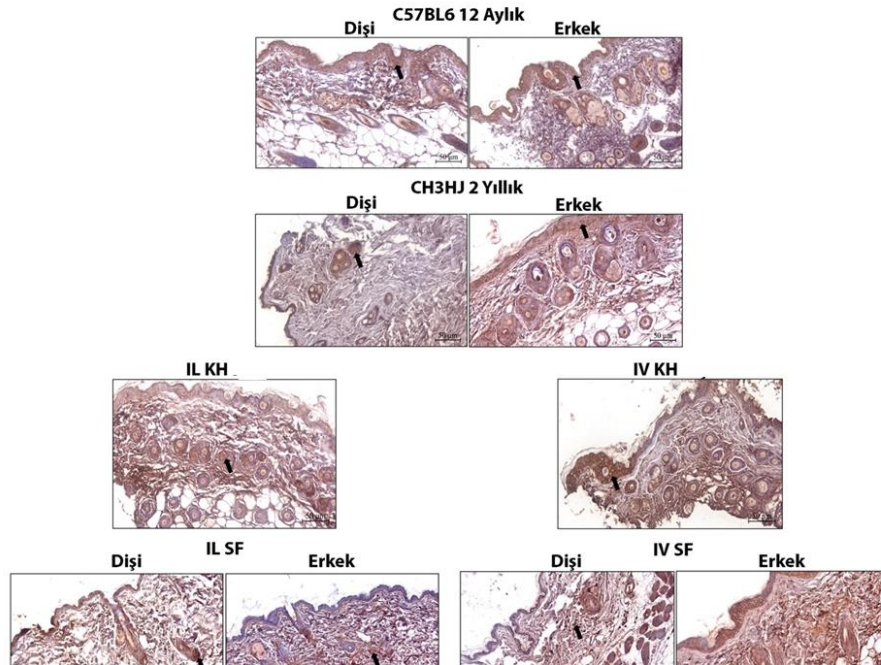


**Şekil 17.** Deney gruplarına ait deri örneklerinde IL-15 immünohistokimya boyama görüntüleri. Siyah ok immunreaktivite gösteren alanları göstermektedir. Büyütme 20X ve skala bar 50  $\mu$ m.

Çalışmamızda IL-6 sitokini immün yoğunluklarının kök hücre ve salin uygulanan alopesi geliştirmiş gruplar arasında karşılaştırması yapılmıştır (Şekil 18). IL-6 immün yoğunluğu intralezyonel kök hücre uygulanan grupta salin gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Benzer bir karşılaştırma intravenöz kök hücre ve salin uygulanan grupları arasında da yapılmıştır ancak bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (Şekil 18A). Bu gruplar arasında IL-15 sitokininin immün yoğunluklarının karşılaştırması da yapılmıştır (Şekil 18B). IL-15 immün yoğunluğu İntralezyonel kök hücre uygulanan alopesi areata geliştirmiş C3H/Hej farelerinde, salin uygulanan alopesi areata geliştirmiş C3H/Hej farelerinden istatistiksel anlamlı derecede düşük bulunmuştur. İntravenöz kök hücre uygulanan alopesi areata geliştirmiş C3H/Hej farelerindeki IL-15 immün yoğunluğu ise intravenöz salin uygulanan alopesi areata geliştirmiş C3H/Hej farelerinden istatistiksel olarak düşük bulunmuştur.



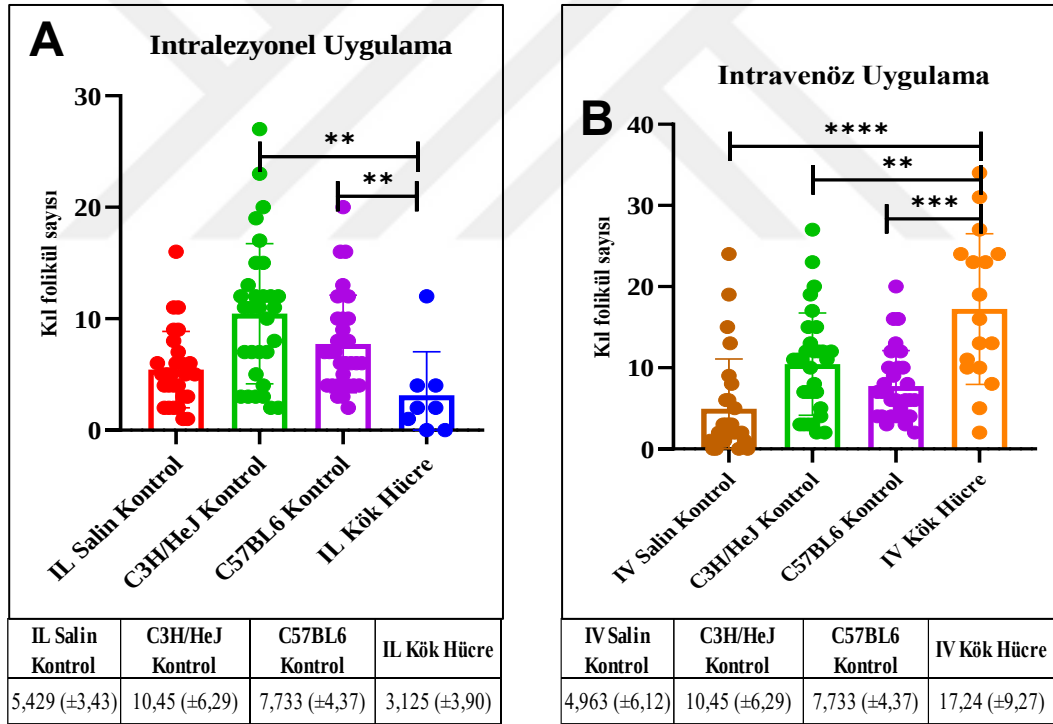
**Şekil 18.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin intralezyonel veya intravenöz uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 ve IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonel veya intravenöz uygulamasından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intralezyonel veya intravenöz uygulamasından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde IL-15 immün yoğunluğunun gösterilmesi



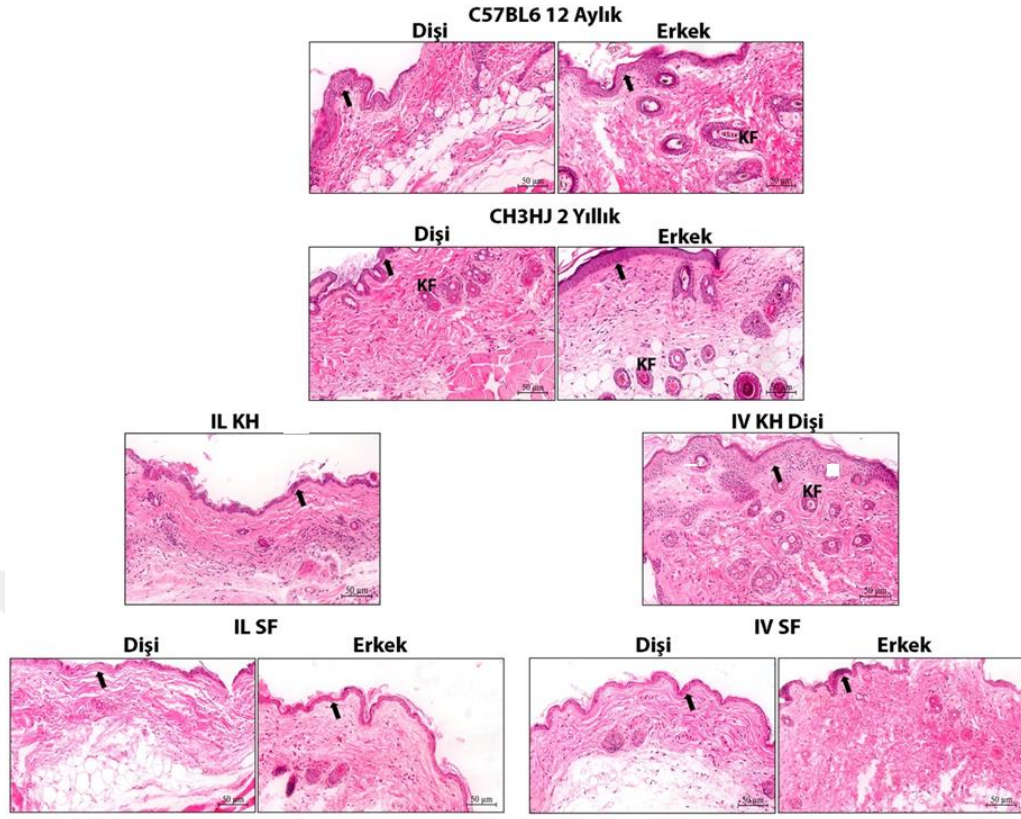
**Şekil 19.** Deney gruplarına ait deri örneklerinde IL-6 immünohistokimya boyama görüntüleri. Siyah ok immunreaktivite gösteren alanları göstermektedir. Büyütme 20X ve skala bar 50  $\mu$ m.

Çalışmamızda bir diğer karşılaştırma kıl folikül sayısı üzerinden yapılmıştır (Şekil 20). İntralezyonel kök hücre uygulanan deneklerin kıl folikül sayısı, C57BL6 kontrol denekleri ( $p = 0,002$ ) ve C3H/HeJ kontrol deneklerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $p = 0,0011$ ). Ancak, intralezyonel salin uygulanan deneklerle intralezyonel kök hücre uygulanan deneklerin kıl folikül sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ) (Şekil 20A) İkincil olarak benzer bir karşılaştırma intralezyonel kök hücre uygulanan grup ile diğer gruplar arasında yapılmıştır. İntravenöz kök hücre uygulanan deneklerin kıl folikül sayısı, C3H/HeJ kontrol denekleri ( $p = 0,004$ ), C57BL6 kontrol denekleri ( $p<0,001$ ) ve intravenöz salin uygulanan deneklerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $p<0,001$ ) (Şekil 20B)

#### 4.3. Doku Örneklerinde Kıl Folikül Sayılarının Gösterilmesi



**Şekil 20.** TLR4 knock out C3H/HeJ farelerinde dökülme tespit edildikten sonra kök hücre veya salin uygulamalarından 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde kıl folikül miktarının gösterilmesi **A.** Kök hücre veya salinin intralezyonal uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde kıl folikül miktarının gösterilmesi **B.** Kök hücre veya salinin intravenöz uygulama sonrası 12 hafta sonra alınan deri biyopsi örneklerinde kıl folikül miktarının gösterilmesi.



**Şekil 21.** Deri örneklerinin hematoksilen ve eozin boyama görüntüleri (Siyah ok: epidermis kalınlığını ve KF: kıl foliküllerini göstermektedir). Büyütme 20X ve skala bar 50  $\mu$ m.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda, poligenik ve karmaşık yapısı nedeniyle kendiliğinden alopesi areata (AA) geliştirebilen TLR-4 knock out C3H/HeJ farelerini kullandık. Bu fare modelinde, adiposit kaynaklı mezenkimal kök hücrelerini (A-MKH) intravenöz ve intralezyonel şekilde uygulayarak AA'daki tedavi etkinliğini araştırdık. Çalışmamız, intralezyonel kök hücre uygulamasının AA tedavisinde etkin olduğunu ve IL-6 ve IL-15 sitokinlerinin düzeylerinde farklılaşmayı sağladığını açık bir şekilde göstermiştir.

Çalışmamız, altı farklı hayvan grubunu içermektedir. Bu gruplardan beşi transgenik farelerden, biri ise transgenik olmayan farelerden oluşmaktadır. İlk dört grup, intravenöz ve intralezyonel olarak kök hücre ve salin (SF) uygulanan, alopesi geliştiren transgenik fareleri kapsamaktadır. Beşinci grup, transgenik olup kendiliğinden alopesi geliştirmemiş farelerden; altıncı grup ise alopesi geliştirmemiş, transgenik olmayan fakat transgenik farelerimizin de köken aldığı C57BL/6 farelerinden oluşmaktadır.

AA, skar bırakmayan kıl dökülmesi tipleri arasında, androjenetik alopesiden sonra en yaygın görülen ikinci tür olarak bilinir ve oldukça karmaşık, çok yönlü bir genetik yapıya sahiptir. AA, dünya çapında geniş bir nüfusu etkileyerek hastalarda kaygı, düşük benlik saygısı gibi psikososyal sorunlara yol açmakta ve bu durum, yaşam kalitesinde belirgin bir düşüşe neden olmaktadır. Psikososyal ve tıbbi birçok ek hastalıkla ilişkili olan AA, etkilenen kişiler ve toplum üzerinde ekonomik bir yük oluşturmaya devam etmektedir(174).

Kıl folikülü, kendi keratinosit ve melanosit peptitlerinin bağışıklık sisteminden korumasını sağlayan bir dizi özelliğe sahiptir. Bu özellikler arasında, sağlıklı kıl köklerindeki keratinosit ve melanositlerin MHC- I antijenlerini düşük düzeyde ifade etmesi, kıl kökünün alt kısmında antijen sunan hücrelerin bulunmaması, immün yetkin hücre sayısının azlığı ve immünsupresif faktörlerin varlığı yer almaktadır. Literatürde bu durum "immünolojik ayrıcalık" olarak tanımlanmakta olup, yalnızca kıl kökü matriksini değil, aynı zamanda kıl kök hücrelerini koruyan folikül çıkıntı bölgesini de kapsamaktadır(175).

AA'nın patogeneze ilişkin temel teori, bu hastalığın otoimmün bir nitelik taşıdığı yönündedir. AA'nın, kıl foliküllerinin bağışıklık sistemi yanıtlarından kaçma yeteneğini yitirmesi ve bunun sonucunda bağışıklık sisteminin hedefi haline gelmesiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Glukokortikoidler, siklosporin, metotreksat ve azatioprin gibi immünsupresif ilaçların AA tedavisinde belli ölçüde başarı sağlaması, hastalığın patolojisinde immün hiperaktivitenin varlığını göstermektedir bu da kıl foliküllerindeki immünolojik toleransın bozulduğuna işaret etmektedir. AA 'daki bu immün sistem hiperaktivasyonu otoimmün ve otoinflamatuvar diğer hastalıklardaki kadar net aydınlatılamamıştır.

MHC I sunumu ile IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi bağışıklıkla ilgili moleküllerin AA'nın gelişimindeki önemli rolleri, yapılan pek çok çalışmada kabul görmektedir. Bununla birlikte, lezyon oluşumundan önce de kıl foliküllerinde immünolojik toleransın bozulduğunun gösterilmesi, AA'ya yol açan ve henüz tam olarak anlaşılmamış farklı immünolojik süreçlerin var olabileceğine işaret etmektedir. Bu süreçlerin CD8+ T lenfositleri, Th17 hücreleri, IL-15, IL-6 gibi çeşitli sitokinler ve hücre yolaklarını içerdiği bilinmektedir. Ancak, AA'nın patogenezinde etkili olan bu immün süreçlerin henüz tam olarak açıklığa kavuşmamış olması, AA 'da hedefe yönelik ve etkili tedavi seçeneklerinin geliştirilmesindeki engellerden biri olmaya devam etmektedir.

Günümüzde kullanılan tedaviler, genellikle spesifik olmayan immünsupresif özellikleriyle hastalığın patogenezi durdurup klinik iyileşme sağlayabilse de kalıcı bir iyileşme sunamamaktadır. Bağışıklık sistemini baskılamaya yönelik bu klasik AA tedavilerindeki en büyük sorunlar tedavi esnasında görülen çeşitli yan etkiler ve tedavi sonrasında sıkça karşılaşılan nükslerdir. Bu durum, normal folikül işlevinin geri

kazanılması için bağışıklık baskılamasının ötesinde ek müdahalelere ihtiyaç duyulduğunun apaçık bir göstergesidir.

AA'nın patogeneğinde immün yolların hangi aşamalarda sorun oluşturduğunu anlamak ve olası spesifik terapötik hedefleri belirlemek, etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır(3). Klasik tedavilerin güvenlik sorunları, etkinlik kaybı, kısa remisyon süreleri ve yan etkileri gibi olumsuzlukları uzun süreli kullanımını sınırlamaktadır. Klasik tedavilerin tatmin edici olmaması, AA tedavisinde yeni alternatif arayışlarını gündeme getirmiştir. Son yıllarda JAK-inh, prostaglandin analogları, PRP ve kök hücre tedavileri gibi yeni yöntemlerin AA üzerindeki etkinliğini değerlendiren çalışmalar yapılmaktadır.

Rejeneratif tıp; psöriasis, vitiligo, diyabetik yaralar ve yanık izleri gibi pek çok hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta olup, kullanım alanları giderek genişlemektedir. Bu tedavi yaklaşımlarında öne çıkan seçenekler arasında MKH, eksozomlar, PRP, SVF ve kök hücre şartlandırılmış ortam gibi biyolojik materyaller bulunmaktadır. Bu alternatif uygulamaların tümü günümüzde "kök hücre tedavisi" başlığı altında toplanmakta ve bu durum literatürde bazı karışıklıklara neden olmaktadır. Çalışmalarda ve klinik uygulamalarda kullanılan bu tedavilerin büyük bir kısmı, aslında yüksek kök hücre içeriğine sahip olduğu düşünülen homojenizatlardır. Bu nedenle, bu tür tedavilerin dokudan saf izole edilmiş ve kültürlenmiş kök hücre tedavilerinden ayrıştırılması gerekmektedir(171).

MKH eksozomları, antiinflamatuvar ve yara iyileştirici özellikleriyle dikkat çekerken, PRP ise trombosit kaynaklı büyüme faktörleri (PDGF) ve çeşitli sitokinler yoluyla doku onarımını ve kolajen üretimini teşvik ederek cilt yenilenmesinde etkili bir biyomateryal olarak kullanılmaktadır. SVF ise yağ dokusundan kolayca elde edilebilen ve çeşitli hücre tiplerini barındıran zengin bir hücresel karışım sunarak cilt hastalıklarının tedavisinde geniş bir uygulama alanına sahiptir. Ayrıca, MKH'lerin kültürlendiği ortamlarda salgıladıkları biyoaktif moleküllerden oluşan hücresiz tedaviler, doku yenilenmesini destekleyip inflamasyonu azaltarak hücre temelli tedavilere etkili bir alternatif sunmaktadır(172,173).

Alopesi tedavisinde kullanılan kök hücre tabanlı tedaviler, kök hücrelerin doğrudan uygulanması ve hücresiz ürünlerin kullanılması şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Hücre bazlı

tedavilerde, kök hücreler tam manipölasyon (kültürleme) veya minimal manipölasyonla izole edilerek kullanılır. Özellikle yetişkin dokulardan, örneğin adipoz dokusu veya kemik iliğinden elde edilen MKH'ler, kıl folikülü mikroçevresini yeniden yapılandırmak ve kıl büyümesini uyarmak amacıyla tercih edilmektedir. Otolog (kendi dokusundan) veya allojenik (başka bir kaynaktan) olabilen bu hücreler doku yenilenmesine, sağlıklı foliküler aktiviteyi destekleyen yüksek farklılaşma ve çoğalma kapasitesine sahiptir. Hücresiz terapilerde ise, kök hücre türevli sekretom, ekstraselüler matriks veya şartlandırılmış ortam gibi zenginleştirilmiş materyallerle kök hücre kaynaklı eksozomlar gibi hücre dışı veziküllerin kullanımı öne çıkmaktadır. Bu terapilerde yer alan büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler, kıl kök hücreleri ile iletişimi güçlendirmekte ve kıl döngüsünün anagen fazına geçişini destekleyerek kıl büyümesini teşvik etmektedir (176).

Kök hücre bazlı tedaviler, çeşitli doku ve organların onarımı ve yenilenmesi için sundukları yenilikçi çözümlerle günümüzde tıbbın önemli bir alanını oluşturuyor. Çalışmamızda da tercih ettiğimiz MKH'ler, doku yenilenmesinde rol alan aktif bileşenlerin üretiminde kritik bir rol üstlenmektedir. Bu hücreler, endotel hücreleri, fibroblastlar ve deri hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü teşvik ederek iyileşme süreçlerini de destekler. Yapılan araştırmalar, MKH'lerin proanjiyojenik, kemoatraktif ve antiinflamatuvar potansiyelinin yanı sıra bağışıklık sistemi aktivitelerini de düzenleyebileceğini göstermektedir. MKH'lerin kullanımı, kıl folikülünde kök hücre oluşumunu yeniden etkinleştirerek kıl dökülmesini önleme yeteneğinin anlaşılmasından sonra yaygınlaşmıştır. Ancak, tıbbi literatürde alopesi tedavisinde MKH'lerin kullanımına dair sınırlı sayıda rapor bulunmaktadır(177).

MKH'lerinin çeşitli doku tiplerinden kolayca elde edilebilmesi ve laboratuvar ortamında geniş ölçekte çoğaltılabilmesi, bu hücrelerin temel araştırma ve deneysel rejeneratif tıp uygulamalarında kullanımını giderek yaygınlaştırmaktadır. MKH'ler, nispeten hip-immünojenik özellikleri sayesinde, HLA eşleşmesine gerek olmadan allojenik tedavilerde de kullanılabilir. Ancak, MKH'lerin klinik araştırmalardaki sonuçları değişkenlik göstermekte ve bu durum, etkinliklerini artırmaya yönelik daha fazla araştırma yapılması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Önceki raporlar ışığında, kıl büyümesinin MKH 'ler tarafından salgılanan parakrin faktörler yoluyla gerçekleştiği düşünülmektedir. MKH'lerin salgıladığı VEGF,

perifoliküler kan damarlarının oluşumunu destekleyerek kıl rejenerasyonunu teşvik edebilir. Benzer şekilde, HGF de  $\beta$ -katenin ekspresyonunu uyararak folikül büyümesini desteklerken, IGF-1 ise kıl foliküllerinin hayatta kalması, çoğalması, doku yeniden şekillenmesi ve kıl büyüme döngüsü ile ilişkilidir. Ayrıca, IL-6 ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) gibi sitokinlerin de yara iyileşmesi sırasında kıl büyümesine aracılık ettiği bildirilmiştir. PDGF ise kıl döngüsünde anagen faza geçirerek büyümeyi tetiklediği gösterilmiştir. Bu parakrin faktörlerin etkileşimleri, kıl foliküllerinin sağlığını ve büyüme döngülerini olumlu etkileyebilir. MKH'lerin bu süreçteki rolü, alopesi tedavisi için yeni stratejiler geliştirme açısından umut vericidir(178).

MKH'lerin immünomodülatör ve immünsupresif etki mekanizmalarına dair bilinenlerin çoğu, kemik iliği kaynaklı kök hücreleri (Kİ-MKH) üzerinde yapılan araştırmalardan elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise tamamen izole edilmiş ve kültürlenmiş adiposit kökenli mezenkimal kök hücreler(A-MKH) tercih edilmiştir. Adipoz doku, kök hücre izolasyonu için birçok avantaj sunmaktadır. Öncelikle, vücutta bol miktarda bulunması, bu hücrelere erişimini kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, deri altındaki konumu sayesinde, adipoz dokusundan elde edilmesi için gerekli olan invaziv işlemler diğer doku türlerine göre daha düşük risk taşır. Bu özellikleri sayesinde, adiposit kökenli kök hücreler günümüzde rejeneratif tıp alanında umut verici bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Adipoz dokudan elde edilen kök hücreler, doku onarımını destekleme, inflamasyonu ve bağışıklık yanıtlarını düzenleme yetenekleri sayesinde çeşitli hastalıkların tedavisinde potansiyel bir tedavi seçeneği olarak öne çıkmaktadır.

Çalışmamızda, AA tedavisinde kullanılan immünsupresif ajanlara alternatif olarak, immünomodülatör özellikleri baskın olan A-MKH 'lerin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık. MKH'lerin hasarlı bölgelere göç edebilme, T ve B lenfositleri ile NK hücrelerin çoğalmasını azaltma ve antiinflamatuvar sitokinler dahil birçok parakrin faktör salgılama yetenekleri olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. MKH'ler, bağışıklık hücrelerinin salgı profillerini antiinflamatuvar sitokinler lehine değiştirerek düzenleyici T lenfosit (Treg) popülasyonunu artırır(179). Ayrıca, Th1 ve Th17 hücre fraksiyonlarını büyük ölçüde etkilemeden, Treg hücre farklılaşmasını güçlü bir şekilde teşvik edebilir ve genel bağışıklığı baskılamadan AA'nın patojenik T hücrelerini immünomodüle edebilir. MKH'lerin, proinflamatuvar sitokin ve kemokin ekspresyonunu tersine çevirdiği ve immün toleransla ilişkili sitokinleri artırdığı bilinmektedir. Bu hücrelerin, dokudaki patojenik

işlevleri tersine çevirerek doku normalliğini destekledikleri düşünülmektedir. Bu özellikler, MKH'lerin artrit, kolit ve diğer otoimmün hastalıkların tedavisinde de potansiyel bir aday olmasını sağlamıştır(180). Genel olarak değerlendirildiğinde, immünmodülatör etkileri ve yüksek immüntolerojenik potansiyeli sayesinde MKH'lerin, şiddetli AA vakalarında tam remisyon sağlanmasını ve bu durumun korunmasını destekleyebileceği yönünde umut vermektedir(5).

Kİ-MKH'lerinin AA fare modelindeki etkilerini inceleyen bir çalışma, MKH'lerin AA tedavisinde etkili bir seçenek olabileceğini destekleyen bulgular sunmaktadır. Kim ve arkadaşlarının bu çalışmasında, intravenöz olarak enjekte edilen Kİ-MKH'lerin, IFN- $\gamma$ , CXCL9 ve CXCL10 üretimini baskılayarak ve CD3 ile CD8+NKG2D+ T hücrelerinin deri dokusuna infiltrasyonunu azaltarak deri grefti kaynaklı AA'nın gelişimini önlediği belirtilmiştir. Bu tür bulgular, MKH'lerin bağışıklık düzenleme potansiyelini destekler niteliktedir. Kim ve ark, Kİ-MKH'lerinin insan dermal papilla hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyerek, bu hücrelerin anagen faza geri dönüş (anagen-reentry) sinyallemesini desteklediğine dair önemli bulgular sunmaktadır. Çalışmada, MKH'lerin immünmodülatör etkileriyle AA hastalarında kıl foliküllerinin bağışıklık ayrıcalığını yeniden kazanmasına yardımcı olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca MKH'lerin IFN- $\gamma$  tarafından baskılanan dermal papilla hücrelerinin çoğalmasını teşvik ederek ve anagen faza geri dönüşle ilişkili moleküllerin ekspresyonunu düzenleyerek etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Wnt5a/ $\beta$ -katenin ve JAK/STAT sinyal yollarının doğrudan uyarılması, MKH'lerin immünmodülasyon yetenekleriyle ilişkili kritik mekanizmalar arasında yer almaktadır. Bu sinyal yollarının kıl foliküllerinin gelişimi ve döngüsü üzerinde önemli bir rol oynaması, MKH'lerin kıl folikülü mikroçevresi üzerinde olumlu etkiler oluşturma potansiyeli, alopesi tedavisinde yeni stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Bu bulgular, MKH'lerin kıl foliküllerinin büyümesini destekleyen ve otoimmün süreçleri düzenleyen potansiyel bir tedavi aracı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir(181). Gonzalez ve çalışma arkadaşlarının yürüttüğü bir araştırmada, A-MKH'lerin, romatoid artrit (RA) tanısı almış hastalardan elde edilen tip-2 kollajen reaktif T hücreleri üzerinde önemli immünmodülatör etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırma, A-MKH'lerin bu T hücrelerinin proliferasyonunu baskılama yeteneğine sahip olduğunu ve sitotoksik T hücreleri tarafından üretilen inflamatuvar sitokinler üzerinde inhibitör etkiler yarattığını ortaya koymaktadır. A-MKH'lerinin, Treg hücrelerinin

oluşumunu teşvik ettiği ve bu hücreler aracılığıyla antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 üretimini artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, A-MKH'lerin otoimmün hastalıklarda bağışıklık tepkilerini düzenleme potansiyeline sahip olduğunu ve bu süreçteki antiinflamatuvar mekanizmaların önemini bir kez daha vurgulamaktadır(182).

AA araştırmalarında kullanılan çeşitli hayvan modelleri, hastalığın patogenezinin ve potansiyel tedavi stratejilerinin anlaşılması açısından önemli bilgiler sağlamaktadır. Farklı indüksiyon yöntemleri, AA'nın temel immünolojik mekanizmalarını aydınlatmada ve terapötik yaklaşımların geliştirilmesinde farklı avantajlar sunar. AA araştırmalarında kullanılan hayvan modellerinde, AA oluşturmak için kriyoprezervasyonlu lenfosit transferi, tam kalınlıkta deri greftleri, kültürlenmiş lenfoid hücre enjeksiyonları ve IFN- $\gamma$  enjeksiyonu gibi çeşitli indüksiyon teknikleri kullanılmaktadır. Ayrıca, insanlaştırılmış fare modelleri ve spesifik bağışıklık hücresi transferleri de AA'nın bağışıklık sistemine dayalı temel mekanizmalarını anlamak ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek açısından önemli indüksiyon yöntemleri olarak öne çıkmaktadır. Bu modeller, AA'nın bağışıklık sistemi kaynaklı doğasını araştırmak için güçlü araçlar sağlayarak hastalığa yönelik yenilikçi tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sunmaktadır(131,148,149).

Ancak, birçok hayvan modeli, AA'yı bu tetikleyici mekanizmalar aracılığıyla oluşturmakta ve tetikleyicinin etkisi sona erdiğinde hastalığın belirtileri gerilemektedir. Bu durum, AA'nın poligenetik ve multifaktöriyel doğasını tam olarak yansıtmayan modellerin geliştirilmesine yol açmaktadır. Buna karşın, genetik yatkınlığı olan (transgenik) hayvan modelleri, herhangi bir indüksiyon yöntemi kullanılmaksızın insanlardaki hastalık mekanizmalarına benzer genetik yatkınlık ve çevresel faktörlerin kombinasyonunu içerdiğinden daha uygun bir model sunmaktadır. Bu modeller, AA'nın farklı yönlerini ve altta yatan mekanizmaları daha iyi anlamamıza olanak tanıyarak hastalığın etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine daha güçlü katkılar sağlamaktadır. Bununla birlikte, transgenik fare modelleri, izole yetiştiricilik gereksinimleri, elde edilme süreçlerindeki zorluklar ve maliyet gibi dezavantajları nedeniyle çalışmaların çoğunda sınırlı olarak tercih edilebilmektedir.

Çalışmamızda tercih ettiğimiz C3H/HeJ farelerinde, tipik olarak bir veya birden fazla alopesi odağı ve bazen de tüm vücutta alopesi universalis (AU) benzeri dökülme görülmektedir. İnsanlarda AA lezyonlarında gözlenen peribulbar T hücre infiltrasyonu,

bu fare modelinde de gözlemlenmiştir. Farelerdeki kıl dökülmesinin dermis ve subkutan dokudaki perifoliküler alanlarda artan T hücre infiltrasyonu gibi birçok histolojik özelliği insan AA'sıyla benzerlik göstermekte ve bu fareleri uygun bir deneysel hayvan modeli haline getirmektedir. Bu sebeple, AA üzerine yapılan birçok çalışmada da C3H/HeJ fare modeli tercih edilmektedir(183).

Çalışmamızın diğer çalışmalardan en önemli farkı, transgenik ve çevresel faktörlere açık farelerin deney grubu olarak kullanılmasıdır. Bu sayede, sadece tek bir tetikleyici faktörün etkisini değil, genetik yatkınlık taşıyan farelerde çevresel faktörlerin de katkısıyla oluşan karmaşık mekanizmaların yol açtığı alopesi sürecini incelemektediriz. Bu hayvan modelinden elde edilen bulguların, hastalığın mekanizmalarını ve tedaviye verilen yanıtları daha doğru bir şekilde yansıttığına inanıyoruz. Transgenik hayvan modellerinin, hastalık sürecini ve tedavi yanıtlarını doğru yansıtmaları gibi önemli avantajları olsa da izole yetiştirme yapılmadığında genetik kayıpların hızla yaşanması ve herhangi bir indükleyici olmadan kendiliğinden alopesi gelişmesi beklendiği için tüm hayvanlarda aynı derecede hastalık gözlenmemesi, çalışmanın yürütülmesini zorlaştırmaktadır. Ancak bu durum, elde edilen bulguların değerini daha da artırmaktadır. Transgenik fare modelinin oluşturulmasının zorluğu ve AA görülme sıklığının sınırlı olması, çalışmada kullanılacak hayvan sayısının artırılmasını da zorlaştırmıştır. Bu nedenle, fare gruplarının geniş sayılara ulaşamaması çalışmamızın kısıtlılıkları arasında yer almaktadır. Fakat çalışmamızda hayvan etik kurullarının yönlendirmesi doğrultusunda, fazla sayıda fare itlafından kaçınılmış ve istatistiksel analizler için yeterli sayıda fare kullanımı sağlanmıştır.

Güncel literatürde, AA tedavisinde transgenik farelerden indükleme yöntemleri kullanılmadan kendiliğinden AA oluşması beklenerek oluşturulan hayvan modeli kullanılarak, A-MKH'lerin tedavi etkinliğinin değerlendirildiği benzer bir deney bulunmamaktadır. Çalışmamızda, intralezyonel ve intravenöz olarak uygulanan A-MKH'lerin AA üzerinde in vivo etkinlik gösterip göstermediğini kendiliğinden AA geliştiren TLR-4 knock out C3H/HeJ fareleri üzerinde inceledik.

İlk üç hafta boyunca kıl dökülmesi ve yeniden uzama oranları kök hücre tedavisi uygulanan gruplarla kontrol grupları arasında karşılaştırılabilir düzeyde kalmıştır. Ancak, bir sonraki kıl döngüsü başlangıcında (farelerde 3-4 hafta), intralezyonel A-MKH ile

tedavi edilen deney grubundaki farelerin alopesik alanlarında anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. İntravenöz A-MKH ve intralezyonel salin uygulanan AA geliştirmiş gruplardaki dökülme alan ölçümlerinde anlamlı bir fark bulunmazken, intravenöz salin ile tedavi edilen AA farelerinde ilk ölçüme kıyasla sonraki ölçümlerde dökülme alanının arttığı tespit edilmiştir. Üçüncü ayda yapılan deri biyopsilerinde, A-MKH uygulanan deney gruplarında IL-15 immün yoğunluğunun, salin uygulanan gruba kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu ve bu düzeyin AA yatkınlığı bulunmayan sağlıklı kontrol grubumuz olan C57BL6 fareleriyle benzer olduğu belirlenmiştir. İntradermal kök hücre uygulamasının hastalıkta bozulmuş olan IL-15 sitokin düzeylerini tam sağlıklı kontrol grubu olan C57BL6 farelerindeki sitokin seviyelerine ulaşmasının gösterilmesi, kök hücre tedavilerinde iddia edilen normalleşme hipotezini desteklemektedir. MKH sonrası gözlenen klinik iyileşmenin sitokin düzeylerinin normalleşmesiyle birlikte olması daha doğal bir yöntem ve daha kalıcı bir tedavi olabileceği konusunda ümit vermektedir.

Çalışmamızda, indüksiyon olmadan kendiliğinden AA geliştiren farelere uygulanan A-MKH tedavisinin, kontrol grubuna kıyasla deride IL-15 düzeylerini azalttığı gözlemlenmiştir. Literatür incelendiğinde, IL-15 ile AA arasındaki ilişkiyi inceleyen çok sayıda çalışmanın mevcut olduğu görülmektedir. IL-15, doğal ve adaptif bağışıklık sistemlerinde önemli rolleri olan ve birçok hücre tipi tarafından yaygın olarak ifade edilen bir sitokindir. Ayrıca anti-apoptotik faktörlerin sentezini artırarak ve pro-apoptotik faktörlerin sentezini azaltarak apoptozu engeller; bu şekilde T, B ve NK hücrelerinin hayatta kalmasını destekler(184).

IL-15 ekspresyonunun sıkı bir şekilde düzenlenmesi, muhtemelen inflamatuvar bir sitokin olarak sahip olduğu güçlü etkiler nedeniyle kritik bir önem taşımaktadır. IL-15'in tümör TNF- $\alpha$ , interlökin-1 beta (IL-1 $\beta$ ), IFN- $\gamma$  ve diğer inflamatuvar sitokinleri indükleme kapasitesi, bu sıkı düzenlemenin otoimmünitenin indüksiyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu özellik, IL-15'in bağışıklık yanıtlarındaki güçlü etkilerinin otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceğine işaret etmektedir (41). Proinflamatuvar bir sitokin olan IL-15, AA'da kıl foliküllerinin bağışıklık sistemi tepkilerinden kaçma yeteneğini yitirmesine ve AA'nın gelişiminden sorumlu olan IFN- $\gamma$  üreten CD8<sup>+</sup> NKG2D<sup>+</sup> T hücrelerinin uyarılmasına yol açar. IL-15'in AA patogenezindeki rolü, IL-15 reseptör beta'nın (IL-15R $\beta$ ) bloke edilmesinin derideki CD8<sup>+</sup> NKG2D<sup>+</sup> T hücrelerinin sayısını azaltması ve bu durumun fare modelinde AA

gelişimini önlemesi ile daha da önem kazanmaktadır. Ayrıca, anti-IL-15R $\beta$  antikorlarının C3H/HeJ farelerinde AA'nın indüklenmesini engellediği bulunmuştur. Bu bulgular, IL-15'in AA'daki kritik rolünü desteklemekte ve tedavi hedefi olarak potansiyelini vurgulamaktadır(44). IL-15, IL-15R $\alpha\beta\gamma$  üzerinden etki ederek NK hücrelerinin proliferasyonunu ve sitotoksitesini indükler. Ayrıca, in vitro ortamda IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve makrofaj inflamatuvar protein-1 $\alpha$  üretimini IL-12 ile birlikte uyarır(185). Aktif ve stabil AA tanısı konmuş 30'ar hasta ile yaş ve cinsiyete göre eşleştirilmiş 60 sağlıklı kontrol katılımcının dahil olduğu bir çalışmada, serum IL-15 düzeyleri ölçülmüştür. AA hastalarında serum IL-15 seviyelerinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. AA hastalarındaki kıl foliküllerinde gözlenen IL-15 artışı, NKG2D reseptör sentezinin artması ve JAK1 ile JAK2'nin inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir. IL-15, AA gelişiminde kritik bir role sahip olan IFN- $\gamma$  ana kaynağı olan CD8+ NKG2D+ T hücrelerini uyarır. IL-15 seviyesinin yükselmesi, Treg hücrelerinin immünsupresif etkisini sınırlandırır ve CD8+ NKG2D+ T hücrelerini aktive ederek folikül hücrelerine saldırımlarına yol açar. Bu kilit rolü nedeniyle, IL-15'in inhibisyonu, AA tedavisinde yeni bir strateji olarak değerlendirilmektedir (186). İmmünstimülatör sitokinlerden IL-2 ve IL-15'in, insan ve C3H/HeJ fare modellerindeki AA lezyonlarında artış gösterdiği bilinmektedir. AA geliştiren farelerin kıl foliküllerinde IL-15 ve onun reseptör alt birimi IL-15R $\alpha$ 'nın sentezinde gözlemlenen bu artış, insan AA hastalarında da benzer şekilde rapor edilmiştir. Bu bulgular da IL-15'in AA patogenezinde bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde kritik bir role sahip olabileceğini işaret etmektedir(187). JAK inhibitörlerinin, IL-15'in tetiklediği pSTAT5 aktivasyonunu ve Granzim B ile IFN- $\gamma$  sentezindeki artışı engelleyerek etki gösterdiği öne sürülmektedir. Bu bulgular, biyolojik tedavi ile IL-15'i hedeflemenin, IL-15'in rol oynadığı birçok inflamatuvar durum için yeni bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, serum IL-15 düzeylerinin, AA aktivitesi ve şiddetinin bir belirteci olarak yararlı olabileceği düşünülmektedir. IL-15'i hedeflemenin, AA tedavisinde umut verici bir strateji sunabileceği ifade edilmektedir. Bir vaka-kontrol çalışmasına 40 AA hastası ve 40 görünüşte sağlıklı kontrol katılımcısı dahil edilmiştir. Çalışmada, IL-15 düzeyinin AA hastalarında kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, IL-15 sitokininin hastalığın yaygınlığı ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum, IL-15'in AA şiddetinin olası bir belirteci olabileceğini desteklemektedir(188). Başka bir çalışmada, AA fare modelinde,

IFN- $\gamma$ , IL-2 veya IL-15R $\beta$ 2 antikor aracılı blokajının, ciltte CD8+ NKG2D+ T hücrelerinin birikimini ve dermal IFN- $\gamma$  yanıtını azaltarak AA gelişimini önlediği gösterilmiştir. Ayrıca, AA için tek FDA onaylı tedavi olan JAK inhibitörlerinin, IFN- $\gamma$  ve IL-15'e verilen yanıtları azaltarak etki gösterdiği bilinmektedir. Bu bulgular, IL-15 ve IFN- $\gamma$ 'nin AA patogeneziindeki rollerine işaret etmektedir(189).

Xing ve çalışma arkadaşlarının gerçekleştirdiği araştırmada, hem C3H/HeJ fareleri hem de insan cilt örneklerinde yapılan gen ekspresyon analizleri, sitotoksik T hücre infiltrasyonu ve IFN- $\gamma$  yanıtı gibi belirgin immünolojik işaretlerin AA için önemini ortaya koymuştur. Araştırmada, IFN- $\gamma$ 'nın STAT1 aktivasyonunu artırdığı ve IFN- $\gamma$  ile TNF- $\alpha$ 'nın yüzey IL-15 ekspresyonunu yükselttiği gözlemlenmiştir. IL-15, Granzim B ve IFN- $\gamma$  ekspresyonunu indükleyerek, kendi üretimini artıran bir ileri besleme döngüsü yaratır. Artan IL-15 üretimi, IFN- $\gamma$  üreten CD8+ NKG2D+ efektör T hücrelerinin aktivasyonunu ve hayatta kalmasını destekleyerek tip I hücrel otoimmüniteyi teşvik eder ve bu süreç kıl folikülü bağışıklık ayrıcalığının çökmesine neden olarak AA patogeneziinde kilit bir rol oynar(45). IL-15, T hücrelerini ve NK hücrelerini aktive ederken, CD8+ hafıza T hücrelerinin kalıcılığında da önemli bir rol oynar. IL-15'in düzensizliği çeşitli otoimmün inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. IL-15'in etkilerini engellemeye yönelik terapötik stratejiler, T hücresi aracılı otoimmün inflamatuvar hastalıkların tedavisi için geliştirilmektedir ve bu alandaki potansiyel tedavi seçenekleri arasında yer almaktadır (190).

Genetik olarak IL-15 eksikliği bulunan C57BL/6 farelerinde, NK hücreleri, T hücreleri, bellek CD8+ T hücreleri ve bağırsak intraepitelyal lenfositlerin farklı alt popülasyonlarının sayılarında belirgin azalmalar gözlemlendiği bildirilmiştir (68). IL-15'in, çölyak hastalığında olduğu gibi AA patogeneziinde de önemli bir rol oynayarak NKG2D aracılığıyla T hücre reseptörü (TCR) bağımsız NK benzeri hücrel öldürmeyi tetiklediği gösterilmiştir(47). Benzer şekilde, aktif çölyak hastalığı bulunan 60 hastadan alınan bağırsak biyopsilerinin incelenmesi sonucunda, NKG2D ve IL-15'in sitotoksik T lenfositlerin TCR aktivasyon eşliğini düşürdüğüne dair son raporlar, bu moleküllerin otoimmün hastalıklardaki rollerini desteklemektedir(191). IL-15 gen ifadesinin posttranskripsiyonel kontrolünden yoksun olan ve dolayısıyla IL-15 proteinini aşırı salgılayan transgenik farelerde, erken dönemde periferik kan lenfositlerinin, özellikle NK hücreler ve bellek CD8+ T hücrelerinin çoğaldığı gözlemlenmiştir. Bu farelerde 4-6 hafta

içinde kendiliğinden progresif alopesi gelişimi ve çoklu organlarda CD8+ T hücrelerinin infiltrasyonu dikkat çekmiştir (189). Bağışıklığı olmayan farelerde bulunan bellek CD8+ T hücreleri, kendi antijenlerine karşı daha yüksek afinite gösterir. Çoğalma ve antijene özgü olmayan sitotoksiste için IL-15'e bağımlı oldukları anlaşılmıştır. İnsanlarda da benzer bir hücre popülasyonunun varlığı tespit edilmiştir. (192,193).

IL-15, AA patogenezinde kilit rol oynayan ve AA için FDA onaylı tek tedavi olan JAK inhibitörlerinin terapötik hedeflerinden biri olan bir sitokindir. Çalışmamızda A-MKH in vivo olarak IL-15 üzerindeki inhibitör etkilerinin gösterilmesi A-MKH'lerin immünsupresif ve immünmodülatör etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. A-MKH'lerin AA tedavisinde immünmodülasyon özellikleriyle dokunun normalleşmesini destekleyen, daha kalıcı ve düşük nüks oranlarına sahip umut verici bir seçenek olarak değerlendirilmesi mümkündür. Bu bağlamda, AA fare modelimizde IL-15'in MKH tedavisi ile inhibisyonu terapötik bir etkiye işaret etmektedir.

Çalışmamızda IL-6 immün yoğunluğu incelendiğinde intralezyonel kök hücre uygulanan grupta, intralezyonel salin uygulanan gruba göre daha yüksek olarak saptanmıştır. Bulgularımız özellikle intralezyonel A-MKH uygulamasının AA'nın ilerlemesini durdurma veya semptomları hafifletme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, intralezyonel kök hücre uygulanan grubun biyopsi örneklerinde IL-6 immün yoğunluğunun, sağlıklı C57BL6 kontrol grubu fareleri ile benzer olduğu görülmüştür. İntradermal kök hücre uygulamasının hastalıkta bozulmuş olan IL-6 sitokin düzeylerini tam sağlıklı kontrol grubu olan C57BL6 farelerindeki sitokin seviyelerine ulaşmasının gösterilmesi, kök hücre tedavilerinde iddia edilen normalleşme hipotezini desteklemektedir. MKH sonrası gözlenen klinik iyileşmenin sitokin düzeylerinin normalleşmesiyle birlikte olması daha doğal bir yöntem ve daha kalıcı bir tedavi olabileceği konusunda ümit vermektedir.

IL-6'nın AA'daki rolü oldukça tartışmalıdır. Bu durumun karmaşıklığı, IL-6 sitokininin farklı sinyal yolları üzerinden birbirleriyle çelişen işlevler gösterebilmesinden kaynaklanmaktadır. IL-6'nın, TNF ve IL-1 gibi diğer alarm sitokinler tarafından indüklendiği ve akut faz reaksiyonlarında rol oynadığı bilinmektedir. TNF- $\alpha$  ve IL-1'in proinflatuar doğası hakkında çok az şüphe bulunurken, IL-6'nın yalnızca akut faz reaksiyonunu tetikleyen bir sitokin olup olmadığı veya bu süreçlerde ek proinflatuar

ya da antiinflamatuvar aktivitelere sahip olup olmadığı belirsizdir. Aslında, IL-6'nın hem lokal hem de sistemik akut inflamatuvar yanıtlar üzerindeki çeşitli işlevlerinin tam olarak anlaşılması, literatürde IL-6'nın hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar bir sitokin olarak tanımlanmasına yol açmıştır. Bu ikili doğası, endojen IL-6'nın etkileri konusunda kafa karıştırıcı bir tablo ortaya koymaktadır.

Literatürde, IL-6 düzeyleri bazı inflamatuvar hastalıklarda düşük bulunmuşken, çalışmamızın bulgularıyla uyumlu olarak bazı çalışmalarda da düşük olarak rapor edilmiştir. İnsanlarda IL-6 inflamatuvar bir sitokin olarak bilinirken, farelerde IL-6 antiinflamatuvar özelliklerini sergilediği klasik sinyalleme yoluyla çalışmaktadır. Proinflamatuvar özelliklerinin baskın olduğu trans-sinyalizasyon yolağı aktif değildir. Bu nedenle, insanlarda psöriasis ve benzeri inflamatuvar hastalıklardaki inflamatuvar rolü farelerde insanlardakinden farklı görevler üstlenmektedir. Farelerde IL-6 daha çok immünregülatör bir işlev üstlenmektedir. Hastalık patogeneğinde suçlanması gereken unsur, yüksek IL-6 düzeyleri değil, düşük IL-6 düzeyleri olabilir. Fare modelinde teorik olarak beklenen bu bulgu, diğer çalışmalardaki bulguların farelerdeki sinyalleme farklılıkları nedeniyle açıklanamamasına neden olmaktadır(194).

Xing ve ark. gerçekleştirdikleri bir araştırmada, IL-6 geninden yoksun fareleri kullanılarak, lokal akciğer veya sistemik endotoksin maruziyetinin yol açtığı lokal ve sistemik akut inflamatuvar yanıtlarda IL-6'nın antiinflamatuvar doğasını ortaya koymuştur. Bu çalışma, proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin kontrol altında tutulmasında IL-6'nın kritik derecede gerekli olduğunu göstermektedir(195). Xing ve ark. bulgularının aksine, alopesik yamalarda IL-6 artışının inflamasyonu tetikleyebileceğini ve MKH'lerin IL-1 $\beta$ , IL-17 $\alpha$  ve IL-6 seviyelerini azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu durum, çalışmamızın sonuçlarıyla çelişmekte olup, IL-6'nın hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliklere sahip pleiotropik bir sitokin olarak işlev gördüğüne dair artan kanıtları destekler niteliktedir. IL-6, farklı hücreler sinyalleme yolları aracılığıyla çeşitli işlevler sergiler. Sadece bazı hücreler IL-6 reseptörünü ifade eder ve IL-6'ya klasik sinyalleme yoluyla yanıt verirken, gp130'un her hücrede bulunması nedeniyle tüm hücreler çözünür bir IL-6 reseptörü aracılığıyla (trans-sinyalleme) da uyarılabilir. IL-6'nın klasik sinyalleme yoluyla rejeneratif ve antiinflamatuvar fonksiyonlar sergilerken; trans-sinyalleme yoluyla ise proinflamatuvar özellikler gösterdiği anlaşılmaktadır(194).

Tip VII kollajene (COL7) karşı otoantikorlar tarafından indüklenen, organ spesifik otoimmün büllöz dermatoz olan epidermolizis bülloza akkisa (EBA) hastalığında hem insanlarda hem de fare modellerinde artmış IL-6 seviyeleri gözlemlenmiştir. Romatoid artrit aksine, IL-6 blokajı deneysel EBA'da çarpıcı bir artışa yol açarken, rekombinant IL-6 ile tedavi koruyucu bir etki göstermiştir. Bu durum, IL-6'nın klasik sinyalleme yoluna bağlıdır ve IL-6'nın trans-sinyalizasyonundan bağımsızdır; çünkü farelerde sgp130Fc ile yapılan tedavinin EBA'nın tezahürü üzerinde hiçbir etkisi olmamıştır. Farelerde EBA indüksiyonu, cilt ve serumda artmış IL-1 reseptör antagonisti (IL-1ra) seviyelerine yol açarken, IL-6 blokajı COL7'ye karşı otoantikorlar tarafından indüklenen IL-1ra ekspresyonunu tamamen engellemiştir. Benzer şekilde, EBA'lı farelerin rekombinant IL-6 ile tedavisi, tedavi edilmemiş hayvanlara kıyasla daha yüksek IL-1ra konsantrasyonları üretmiştir. IL-1ra (anakinra) uygulanması ise deneysel EBA indüksiyonunu önemli ölçüde engellemiştir. Bu bulgular, IL-1ra yolunun klasik IL-6 sinyallemesiyle modüle edilmesinin IL-6'nın in vivo anti-inflamatuar ve koruyucu etkilerini ortaya koyduğunu göstermektedir. (196).

MKH uygulaması sonrası IL-6 artışının immünmodülatör bir rol oynayabileceği veya Th1 baskın otoimmün hastalıklarda Th1 ve Th2 dengesizliğini düzeltmeye yardımcı olabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, IL-6'nın MKH'lerin çoğalmasını artırdığı ve yara iyileşmesini hızlandırdığı bilinmektedir. IL-6'nın MKH'ler tarafından salgılanan ve T lenfositlerini modüle eden önemli sitokinlerden biri olduğu kabul edilmektedir. İlginç bir şekilde, kronik miyokardit gibi AA ile benzer otoimmün hastalıklarda da IL-6'nın kritik bir rol oynadığı kanıtlanmıştır. IL-6 eksikliği olan farelerde, enfeksiyonun erken döneminde yapılan rekombinant IL-6 enjeksiyonu, serum sitokinleri TNF- $\alpha$  ve serum kemokinleri MCP-1, MIP-1 $\beta$ , RANTES ve MIG düzeylerini düşürmek için yeterli olmuştur. Bu bulgular, IL-6'nın inflammatuar yanıt sırasında önemli bir düzenleyici olarak rol oynadığını güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır (197).

IL-6 sitokininin rejeneratif özelliklerini destekleyen çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Farklı fare modellerinde, IL-6'nın klasik sinyallemesinin, hedef hücrelerde antiinflammatuar yolların aktivasyonuna aracılık ettiği gösterilmiştir. Özellikle, IL-6'nın klasik sinyallemesi, inflammatuar kolon kanseri indüksiyonu sonrasında oluşan hasarın ardından bağırsak epitel hücrelerinin yenilenmesini sağlayan STAT3 aracılı sinyal yollarının aktivasyonunda kritik bir rol oynamaktadır. Bu bulgular, IL-6'nın rejeneratif özelliklerine

dikkat çekmektedir(198). Ayrıca, *in vivo* karaciğer rejenerasyonu IL-6 ile ilişkilidir; çünkü IL-6 eksikliği olan farelerde bozulmuş karaciğer rejenerasyonu gözlemlenmekte ve bu fareler iskemi/reperfüzyon hasarını onaramamaktadır. Bu durum, eksojen IL-6 eklenmesiyle düzeltilebilen bir kusur olarak ortaya çıkmaktadır. Söz edilen çalışmadaki veriler, IL-6'nın MKH özelliklerinin korunmasındaki kritik önemini vurgulamaktadır. IL-6, Coxsackievirus B3'e karşı erken bağışıklık tepkisini düzenleyerek hastalığa karşı koruma sağlar. Ayrıca, IL-6'nın anti-inflamatuar aktiviteleri endotoksik akciğer ve endotoksemi hayvan modellerinde de belgelenmiş olup, inflammatuar bağırsak hastalığında epitel hücrelerinin korunması için gerekli olduğu gösterilmiştir. IL-6'nın, endojen IL-1 ve TNF- $\alpha$  antagonistleri olan IL-1ra ve TNF- $\alpha$  için çözünür reseptör (sTNFp55) üretimini indüklediği de bilinmektedir. Bu bulgular, IL-6'nın bağışıklık tepkilerinde çok yönlü bir rol oynadığını ortaya koymaktadır(197)

Başka bir çalışmada, fare ve insan kaynaklı A-MKH'lerinin akut inflammatuar akciğer hasarı (ARDS) üzerindeki yararlı etkilerinin, farklı parakrin faktörlerinin üretiminden kaynaklanabileceği gösterilmiştir. A-MKH uygulaması sonrasında IL-6 ekspresyonunun RNA interferansı ile baskılanması, terapötik etkilerin çoğunu ortadan kaldırmıştır. Bu durum, A-MKH'nın antiinflammatuar özelliklerinde IL-6 salgılanmasının etkin bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. İlginçtir ki, ARDS modelimizde A-MKH tedavisinden sonra akciğerlerde çok yüksek düzeyde IL-6 üretimi tespit edilmiştir. Bu bulgular, IL-6'nın A-MKH'nın tedavi edici etkilerindeki önemli rolünü vurgulamaktadır(199).

MKH'lerin immünosupresif etkilerini iki ana yolak aracılığıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir. İlk olarak, lokal düzeyde NO (nitrojen oksit) ve özellikle PGE2 (prostaglandin E2) gibi antiproliferatif medyatörlerin salgılanması yoluyla inflamasyonu azaltıcı etkiler gösterirler. İkinci olarak, sistemik düzeyde, bağışıklık yanıtını Th1/Th17 profilinden Th2 immün profili lehine değiştirdikleri öne sürülmektedir. Ayrıca, A-MKH'lerin antijen spesifik T hücrelerinin üretimini ve aktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir. Bu bağlamda, IL-6'nın MKH'lerin immünmodülatör özelliklerinde merkezi bir rol oynadığı kabul edilmektedir. IL-6'nın bu süreçlerdeki rolü hem antiinflammatuar etkilerde hem de bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde kritik bir öneme sahiptir. IL-6'nın, COX-2 (siklooksijenaz-2) fonksiyonunda, dendritik hücrelerin olgunlaşmasında ve Treg hücrelerinin oluşumunda rol oynadığı öne sürülmektedir. Bu bağlamda, IL-6 eksikliği olan C57BL/6 farelerinin Kİ-MKH kullanılarak yapılan çalışmalar, IL-6'nın

immün yanıtların düzenlenmesinde önemli rolünü destekleyici kanıtlar sunmuştur. Choi ve çalışma arkadaşlarının araştırmasında, AA ile ilişkili patojenik bir mediatör olarak Dickkopf 1 (DKK-1) molekülü incelenmiş ve bu molekülün TNF $\alpha$  ve IL-6 gibi inflamasyonda rol oynayan çeşitli sitokinlerin üretimi ve salınımını etkileyebileceği bulunmuştur. Çalışmalar, A-MKH'lerin DKK-1 salgılanmasını arttırdığını göstermiş ve bu artışın inflamatuvar yanıtları aktive ederek AA gelişiminde önemli bir rol oynayabileceği hipotezini desteklemiştir(200). Ancak, IL-6'nın AA inflamasyonunu tetiklediği yönündeki bulgular, bizim çalışma sonuçlarımızla çelişmektedir. Bu durum, IL-6'nın AA'daki rolü üzerine daha fazla araştırma yapılmasını gerektiren bir tartışma alanı yaratmaktadır.

Çalışmamız, A-MKH tedavisinin AA üzerindeki in vivo etkilerini ve olası mekanizmalarını aydınlatarak, A-MKH'lerinin AA'da düşük nüks oranlarına ve sınırlı yan etki profiline sahip etkili bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. A-MKH tedavisinin klinik uygulanabilirliğine ilişkin kısıtlamalar arasında fare modelinin insanlarda doğrulanması ihtiyacı, donör faktörleri arasındaki değişkenlik ve uygulama zorlukları yer almaktadır. Fare modellerinde AA gelişimini önleyici etkilerinin gösterilmesinin kök hücre tedavisinin klinik uygulamalara taşınmasında önemli bir adım olacağına inanmaktayız. Gelecekte, A-MKH'lerin insan deneklerde uygulanması ve terapötik sonuçların optimize edilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmalar, etkili dozaj, uygulama aralığı ve yöntemlerinin belirlenmesine odaklanmalıdır. Bu bağlamda çalışmamız, AA tedavisi için umut verici bir yol açmaktadır.

Yetişkin kök hücrelerden elde edilen A-MKH'lerin, tümör oluşturma riskinin düşük olması ve etik kaygılardan muaf olmaları, bu hücreleri klinik uygulamalar için cazip bir seçenek haline getirmektedir. Çalışmamızda kullanılan A-MKH'ler, daha az invaziv prosedürlerle yüksek verimle izole edilebilmesi ve Kİ-MKH'lere benzer veya daha güçlü antiinflamatuvar aktiviteye sahip olmaları nedeniyle daha çekici bir alternatif olarak değerlendirilmektedir. İntralezyonel uygulama yapılan grupta gözlenen klinik iyileşmenin umut verici sonuçları, intravenöz MKH uygulamasında karşılaşılan hücre sayısı belirsizliği, verimlilik ve güvenlik endişeleri gibi sorunlara kıyasla, intralezyonel enjeksiyonun daha pratik bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. İntralezyonel uygulamanın özellikle lokalize inflamasyonu hedeflenmesinde daha etkili olabileceği

fikri, önceki çalışmalarla da desteklenmiştir. MKH'lerin kalıcı immünmodölatör etkileri ve sitotoksik olmamaları, tıp alanındaki kullanım potansiyellerini artırmaktadır. A-MKH'lerin antiinflamatuvar ve immünmodölatör etkilerinin altında yatan spesifik moleküllerin tanımlanması için daha fazla araştırma yapılması gerektiği vurgulanmaktadır.



## 6. SONUÇLAR

Çalışmamız, A-MKH'lerin AA patogeneğinde kilit rol oynayan inflamatuvar bir sitokin olan IL-15'i önemli ölçüde azalttığını, immünmodülatör bir sitokin olduğu bilinen IL-6'yı artırdığını ve kıl çıkışını artırarak gözle görünür klinik iyileşme sağladığının gösterilmesi nedeniyle değerli bilgiler sunmaktadır. Bu veriler, A-MKH'lerin immünmodülasyon yeteneklerine vurgu yaparak AA gibi otoimmün hastalıklarda tedavi potansiyelini ortaya koymaktadır. A-MKH'lerin hastalık modellerindeki olumlu etkileri, klinik tedavi uygulamalarında umut verici bir seçenek olduğunu göstermektedir. Gelecekte, A-MKH'lerin spesifik etki mekanizmalarının daha detaylı incelenmesi, tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda, kök hücre uygulanan gruplarda sağlanan klinik iyileşmesiyle birlikte, IL-6 immün yoğunluğunun sağlıklı C57BL6 farelerindeki benzer ve kontrol gruplarına göre daha yüksek olması, IL-6'nın MKH'lerin terapötik rollerinde önemli bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Verilerimiz, A-MKH'lerin faydalı etkilerine farklı mekanizmaların aracılık edilebileceğini göstermektedir. Özellikle, IL-6'nın AA'da A-MKH'lerin terapötik etkilerinin başlıca aracısı olarak tanımlanması, bu tedavi yönteminin önemini vurgulamaktadır. Çalışmamız, AA tedavisinde MKH'lerin kullanımı için önemli klinik öncesi veriler sunmakta ve A-MKH'lerin otoimmün/inflamatuvar hastalıkların hücre temelli tedavisi için yeni terapötik perspektifler açabileceğini öngörmektedir. A-MKH'lerin çeşitli inflamatuvar araçları düzenleme ve Treg hücrelerinin üretimini teşvik etme kapasitesi, mevcut tedavilere göre bir terapötik avantaj sunabilir. Bu özellikleriyle

A-MKH'ler, AA gibi otoimmün hastalıkların tedavisinde umut verici bir seçenek olarak öne çıkmaktadır.

Otoimmün bir hastalık olan AA için alternatif bir tedavi olarak değerlendirilebilecek A-MKH'lerin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladığımız bu çalışmamızda, AA patogenezinde kilit rol oynadığı düşünülen sitokinlerden IL-6 ve IL-15'in, A-MKH uygulaması sonrası deney gruplarındaki değişimlerini inceleyerek, AA'nın patogenezinde ve A-MKH'lerin tedavi edici mekanizmalarına katkı sağlamayı hedefledik. A-MKH'lerin doku normalleştirici özellikleri sayesinde, mevcut tedavilere kıyasla daha az nüks ve daha kalıcı bir etki sağlayarak AA için umut vadeden bir alternatif tedavi seçeneği olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızın hipotezi, AA lezyonlarına intralezyonel ve intravenöz olarak uygulanan A-MKH'lerin, kıl folikülleri çevresindeki mikro çevreyi iyileştirerek kılların yeniden uzamasını destekleyebileceği yönündedir. Çalışma sonuçlarımız, A-MKH'lerin AA patogenezinde kilit rol oynayan sitokin profilini sağlıklı kabul edilen gruba yaklaştırarak alopesik dokuyu normalleştirdiğini ve AA semptomlarını hafifletici bir etki yarattığını göstermektedir.

Literatürdeki benzer çalışmaların aksine, transjenik farelerde herhangi bir indüksiyon yöntemi kullanılmadan alopesi oluşturma beklenmiştir bu yöntemin modelimizi insanlardaki AA hastalık modeline daha uygun hale getirmiştir. Kültür yöntemiyle elde edilen adiposit kökenli kök hücrelerinin hem intravenöz hem intralezyonel uygulama yapılarak tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi çalışmamızın üstün yönleridir. Özellikle kültüre edilerek elde edilmiş kök hücrelerin intralezyonel uygulamasının yapıldığı deney grubunda gözlenen klinik iyileşme, tedavi başarısını net bir şekilde ortaya koymakta ve çalışmamızı önemli kılmaktadır.

Çalışmamızda, kök hücre tedavisinin AA patogenezinde önemli bir role sahip olan sitokin seviyeleri üzerinde anlamlı değişiklikler yaptığını göstermektedir. Özellikle, AA gruplarında yüksek seviyelerde tespit edilen ve inflamatuvar süreçlerde kritik bir işlev üstlenen IL-15 sitokin düzeylerinin, kök hücre tedavisi sonrasında belirgin şekilde azaldığı gözlemlendi. Bunun aksine, AA gruplarında düşük seviyelerde bulunan IL-6 sitokininin, tedavi sonrası artış gösterdiği belirlendi. Özellikle intralezyonel kök hücre uygulaması yapılan gruplarda sitokinlerin sağlıklı kontrol grubundaki seviyelere ulaştığı tespit edildi. Klinik gözlemlerimizde elde ettiğimiz tedavi başarısının AA sitokin

havuzundaki düzenlemelerle desteklenmiştir. MKH ‘lerin iyileştirici etkilerini hem klinik hem sitokin düzeyinde net bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu yönüyle çalışmamız kök hücre uygulamalarının AA tedavisinde etkin ve kalıcı bir tedavi alternatifi olabileceğine dair kanıtlar sunmaktadır. Çalışmamızın hem metodolojik hem de elde edilen sonuçlar açısından literatüre yeni bilgiler kazandırdığını düşünmekteyiz. Bununla birlikte, A-MKH tedavisinin sitotoksikite riskinin bulunmaması ve uzun süreli immünmodülatör etkiler sunması, bu yöntemi tıp uygulamaları için ideal bir aday haline getirdiğini düşünmekteyiz. Ancak, bu ön bulguların insan klinik denemelerine aktarılması ve uygulanması için daha fazla araştırma gereklidir. Bu tür araştırmaların, kişiselleştirilmiş kök hücre tedavilerinin geliştirilmesine önemli katkılar sağlayacağına inanmaktayız.



## 7. KAYNAKÇA

1. Pratt CH, King LE, Messenger AG, Christiano AM, Sundberg JP. Alopecia areata. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3(1):1–17.
2. Lee S, Lee W. Management of alopecia areata: updates and algorithmic approach. *J Dermatol*. 2017;44(11):1199–211.
3. Meah N, Wall D, York K, Bhoyrul B, Bokhari L, Sigall DA, et al. The Alopecia Areata Consensus of Experts (ACE) study: Results of an international expert opinion on treatments for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2020;83(1):123–30.
4. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: part II. Treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(2):191–202.
5. Kim JE, Lee YJ, Lee KJ, Park SH, Kang H. Ex vivo treatment with allogenic mesenchymal stem cells of a healthy donor on peripheral blood mononuclear cells of patients with severe alopecia areata: Targeting dysregulated T cells and the acquisition of immunotolerance. *Int J Mol Sci*. 2022;23(21):13228.
6. Fuchs E. Skin stem cells: rising to the surface. *J Cell Biol*. 2008;180(2):273–84.
7. Ito M, Yang Z, Andl T, Cui C, Kim N, Millar SE, et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature*. 2007;447(7142):316–20.
8. Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Current biology*. 2009;19(3):R132–42.
9. Paus R, Cotsarelis G. The biology of hair follicles. *New England journal of medicine*. 1999;341(7):491–7.
10. De Berker D, Higgins CA, Jahoda C, Christiano AM. Biology of hair and nails. *Dermatology*. 2012;3:1075–92.
11. Krause K, Foitzik K. Biology of the hair follicle: the basics. In: *Seminars in cutaneous medicine and surgery*. Philadelphia, PA: WB Saunders Co., c1996-; 2006. p. 2–10.
12. Chase HB. The physiology and histochemistry of hair growth. *J Soc Cosmetic Chem*. 1955;6:9–14.
13. Grover S, Grewal RS. Fitzpatrick's dermatology in general medicine. *Med J Armed Forces India*. 2008;64(3):259.

14. Legué E, Nicolas JF. Hair follicle renewal: organization of stem cells in the matrix and the role of stereotyped lineages and behaviors. 2005;
15. Oliver RF. Whisker growth after removal of the dermal papilla and lengths of follicle in the hooded rat. *Development*. 1966;15(3):331–47.
16. Rendl M, Lewis L, Fuchs E. Molecular dissection of mesenchymal–epithelial interactions in the hair follicle. *PLoS Biol*. 2005;3(11):e331.
17. Buffoli B, Rinaldi F, Labanca M, Sorbellini E, Trink A, Guanziroli E, et al. The human hair: from anatomy to physiology. *Int J Dermatol*. 2014;53(3):331–41.
18. Stenn KS, Paus R. Controls of hair follicle cycling. *Physiol Rev*. 2001;
19. Paus R. Principles of hair cycle control. *J Dermatol*. 1998;25(12):793–802.
20. Paus R, Foitzik K. In search of the “hair cycle clock”: a guided tour. *Differentiation*. 2004;72(9-10):489–511.
21. Ntarelli N, Gahoonia N, Sivamani RK. Integrative and Mechanistic Approach to the Hair Growth Cycle and Hair Loss. *J Clin Med*. 2023;12(3):893.
22. Paus R, Arck P, Tiede S. (Neuro-) endocrinology of epithelial hair follicle stem cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2008;288(1–2):38–51.
23. Sun TT, Cotsarelis G, Lavker RM. Hair follicular stem cells: the bulge-activation hypothesis. *Journal of investigative dermatology*. 1991;96(5):S77–8.
24. Dhurat RP, Deshpande DJ. Loose anagen hair syndrome. *Int J Trichology*. 2010;2(2):96–100.
25. Alonso L, Fuchs E. The hair cycle. *J Cell Sci*. 2006;119(3):391–3.
26. Lin X, Zhu L, He J. Morphogenesis, growth cycle and molecular regulation of hair follicles. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:899095.
27. Paus R, Christoph T, Müller-Röver S. Immunology of the hair follicle: a short journey into terra incognita. In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. Elsevier; 1999. p. 226–34.
28. Paus R, Bulfone-Paus S, Bertolini M. Hair follicle immune privilege revisited: the key to alopecia areata management. In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. Elsevier; 2018. p. S12–7.
29. Paus R, Ito N, Takigawa M, Ito T. The hair follicle and immune privilege. In: *Journal of investigative dermatology symposium proceedings*. Elsevier; 2003. p. 188–94.

30. Schmidt-Ullrich R, Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis. *Bioessays*. 2005;27(3):247–61.
31. Nakamura M, Sundberg JP, Paus R. Mutant laboratory mice with abnormalities in hair follicle morphogenesis, cycling, and/or structure: annotated tables. *Exp Dermatol*. 2001;10(6):369–90.
32. Millar SE. Molecular mechanisms regulating hair follicle development. *Journal of Investigative Dermatology*. 2002;118(2):216–25.
33. Oh JW, Kloepper J, Langan EA, Kim Y, Yeo J, Kim MJ, et al. A guide to studying human hair follicle cycling in vivo. *Journal of Investigative Dermatology*. 2016;136(1):34–44.
34. Gilhar A, Etzioni A, Paus R. Alopecia areata. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(16):1515–25.
35. Richmond JM. Immunopathogenesis of alopecia areata. *Current Research in Immunology*. 2021;2:7–11.
36. Kyriakis KP, Paltatzidou K, Kosma E, Sofouri E, Tadros A, Rachioti E. Alopecia areata prevalence by gender and age. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2009;23(5):572–3.
37. Bertolini M, McElwee K, Gilhar A, Bulfone-Paus S, Paus R. Hair follicle immune privilege and its collapse in alopecia areata. *Exp Dermatol*. 2020;29(8):703–25.
38. Waśkiel-Burnat A, Osińska M, Salińska A, Blicharz L, Goldust M, Olszewska M, et al. The role of serum Th1, Th2, and Th17 cytokines in patients with alopecia areata: clinical implications. *Cells*. 2021;10(12):3397.
39. Loh S, Moon H, Lew B, Sim W. Role of T helper 17 cells and T regulatory cells in alopecia areata: comparison of lesion and serum cytokine between controls and patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2018;32(6):1028–33.
40. Ito T, Kageyama R, Nakazawa S, Honda T. Understanding the significance of cytokines and chemokines in the pathogenesis of alopecia areata. *Exp Dermatol*. 2020;29(8):726–32.
41. Waldmann TA. Targeting the interleukin-15/interleukin-15 receptor system in inflammatory autoimmune diseases. *Arthritis Res Ther*. 2004;6:1–4.

42. O'shea JJ. Targeting the Jak/STAT pathway for immunosuppression. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(suppl 2):ii67–71.
43. Brajac I, Gruber F, Petroveckí M, Malnar-Dragojević D. Interleukin-2 receptor alpha-chain expression in patients with alopecia areata. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2004;12(3):154–6.
44. Fuentes-Duculan J, Gulati N, Bonifacio KM, Kunjra via N, Zheng X, Suárez-Fariñas M, et al. Biomarkers of alopecia areata disease activity and response to corticosteroid treatment. *Exp Dermatol.* 2016;25(4):282–6.
45. Xing L, Dai Z, Jabbari A, Cerise JE, Higgins CA, Gong W, et al. Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition. *Nat Med.* 2014;20(9):1043–9.
46. Rajabi F, Drake LA, Senna MM, Rezaei N. Alopecia areata: a review of disease pathogenesis. *British Journal of Dermatology.* 2018;179(5):1033–48.
47. Meresse B, Chen Z, Ciszewski C, Tretiakova M, Bhagat G, Krausz TN, et al. Coordinated induction by IL15 of a TCR-independent NKG2D signaling pathway converts CTL into lymphokine-activated killer cells in celiac disease. *Immunity.* 2004;21(3):357–66.
48. Jabri B, Abadie V. IL-15 functions as a danger signal to regulate tissue-resident T cells and tissue destruction. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(12):771–83.
49. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(2):1–6.
50. Kwack MH, Ahn JS, Kim MK, Kim JC, Sung YK. Dihydrotestosterone-inducible IL-6 inhibits elongation of human hair shafts by suppressing matrix cell proliferation and promotes regression of hair follicles in mice. *Journal of Investigative Dermatology.* 2012;132(1):43–9.
51. Smith SEP, Maus RLG, Davis TR, Sundberg JP, Gil D, Schrum AG. Maternal IL-6 can cause T-cell-mediated juvenile alopecia by non-scarring follicular dystrophy in mice. *Exp Dermatol.* 2016;25(3):223–8.
52. Yu M, Kissling S, Freyschmidt-Paul P, Hoffmann R, Shapiro J, McElwee KJ. Interleukin-6 cytokine family member oncostatin M is a hair-follicle-expressed factor with hair growth inhibitory properties. *Exp Dermatol.* 2008;17(1):12–9.

53. Müller-Röver S, Foitzik K, Paus R, Handjiski B, van der Veen C, Eichmüller S, et al. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *Journal of investigative dermatology*. 2001;117(1):3–15.
54. Turksen K, Kupper T, Degenstein L, Williams I, Fuchs E. Interleukin 6: insights to its function in skin by overexpression in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992;89(11):5068–72.
55. Tanabe A, Ogawa Y, Takemoto T, Wang Y, Furukawa T, Kono H, et al. Interleukin 6 induces the hair follicle growth phase (anagen). *J Dermatol Sci*. 2006;43(3):210–3.
56. Nelson AM, Reddy SK, Ratliff TS, Hossain MZ, Katseff AS, Zhu AS, et al. dsRNA released by tissue damage activates TLR3 to drive skin regeneration. *Cell Stem Cell*. 2015;17(2):139–51.
57. Zhang C, Li Y, Wu Y, Wang L, Wang X, Du J. Interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) pathway is essential for macrophage infiltration and myoblast proliferation during muscle regeneration. *Journal of Biological Chemistry*. 2013;288(3):1489–99.
58. Tang P, Ma S, Dong M, Wang J, Chai S, Liu T, et al. Effect of interleukin-6 on myocardial regeneration in mice after cardiac injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018;106:303–8.
59. Pu CM, Chen YC, Chen YC, Lee TL, Peng YS, Chen SH, et al. Interleukin-6 from adipose-derived stem cells promotes tissue repair by the increase of cell proliferation and hair follicles in ischemia/reperfusion-treated skin flaps. *Mediators Inflamm*. 2019;2019.
60. Philipp D, Suhr L, Wahlers T, Choi YH, Paunel-Görgülü A. Preconditioning of bone marrow-derived mesenchymal stem cells highly strengthens their potential to promote IL-6-dependent M2b polarization. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9:1–17.
61. Dorronsoro A, Lang V, Ferrin I, Fernández-Rueda J, Zabaleta L, Pérez-Ruiz E, et al. Intracellular role of IL-6 in mesenchymal stromal cell immunosuppression and proliferation. *Sci Rep*. 2020;10(1):21853.
62. McElwee KJ, Gilhar A, Tobin DJ, Ramot Y, Sundberg JP, Nakamura M, et al. What causes alopecia areata? Section Editors: Ralf Paus, Manchester/Lübeck and Raymond Cho, San Francisco. *Exp Dermatol*. 2013;22(9):609–26.

63. Jackow C, Puffer N, Hordinsky M, Nelson J, Tarrand J, Duvic M. Alopecia areata and cytomegalovirus infection in twins: genes versus environment? *J Am Acad Dermatol.* 1998;38(3):418–25.
64. Sundberg JP, Silva KA, Li R, Cox GA, King LE. Adult-onset alopecia areata is a complex polygenic trait in the C3H/HeJ mouse model. *Journal of investigative dermatology.* 2004;123(2):294–7.
65. Barahmani N, Schabath MB, Duvic M, Registry NAA. History of atopy or autoimmunity increases risk of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(4):581–91.
66. Goh C, Finkel M, Christos PJ, Sinha AA. Profile of 513 patients with alopecia areata: associations of disease subtypes with atopy, autoimmune disease and positive family history. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2006;20(9):1055–60.
67. Bologna JL, Schaffer J V, Cerroni L. *Dermatología.* Elsevier Health Sciences; 2018.
68. Kennedy MK, Glaccum M, Brown SN, Butz EA, Viney JL, Embers M, et al. Reversible defects in natural killer and memory CD8 T cell lineages in interleukin 15–deficient mice. *J Exp Med.* 2000;191(5):771–80.
69. Freyschmidt-Paul P, Zöller M, McElwee KJ, Sundberg J, Happle R, Hoffmann R. The functional relevance of the type 1 cytokines IFN- $\gamma$  and IL-2 in alopecia areata of C3H/HeJ mice. In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.* Elsevier; 2005. p. 282–3.
70. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book.* Elsevier health sciences; 2014.
71. Finner AM. Alopecia areata: clinical presentation, diagnosis, and unusual cases. *Dermatol Ther.* 2011;24(3):348–54.
72. Tosti A, Whiting D, Iorizzo M, Pazzaglia M, Misciali C, Vincenzi C, et al. The role of scalp dermoscopy in the diagnosis of alopecia areata incognita. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59(1):64–7.
73. Ross EK, Vincenzi C, Tosti A. Videodermoscopy in the evaluation of hair and scalp disorders. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(5):799–806.

74. Messenger AG, McKillop J, Farrant P, McDonagh AJ, Sladden M, Hughes J, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of alopecia areata 2012. *British journal of dermatology*. 2012;166(5):916–26.
75. Chelidze K, Lipner SR. Nail changes in alopecia areata: an update and review. *Int J Dermatol*. 2018;57(7):776–83.
76. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, Sicco K Lo, Brinster N, Christiano AM, et al. Alopecia areata: disease characteristics, clinical evaluation, and new perspectives on pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(1):1–12.
77. Muñoz MA, Camacho FM. Sisaipho: A new form of presentation of alopecia areata. *Arch Dermatol*. 1996;132(10):1255–6.
78. Goldenhersh MA. Rapid whitening of the hair first reported in the Talmud. Possible mechanisms of this intriguing phenomenon. *Am J Dermatopathol*. 1992;14(4):367–8.
79. Muralidhar S, SHARMA VK, KAUR S. Ophiasis inversus: a rare pattern of alopecia areata. *Pediatr Dermatol*. 1998;15(4):326–7.
80. Madani S, Shapiro J. Alopecia areata update. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(4):549–66.
81. Wasserman D, Guzman-Sanchez DA, Scott K, McMichael A. Alopecia areata. *Int J Dermatol*. 2007;46(2):121–31.
82. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2010;62(2):177–88.
83. Sinclair R. Optimal management of hair loss (alopecia) in children. 2003;
84. Takeda K, Arase S, Takahashi S. Side effects of topical corticosteroids and their prevention. *Drugs*. 1988;36:15–23.
85. Fenton DA, Wilkinson JD. Alopecia areata treated with topical minoxidil. *J R Soc Med*. 1982;75(12):963–5.
86. Fiedler-Weiss VC. Topical minoxidil solution (1% and 5%) in the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 1987;16(3):745–8.
87. Stoehr JR, Choi JN, Colavincenzo M, Vanderweil S. Off-label use of topical minoxidil in alopecia: a review. *Am J Clin Dermatol*. 2019;20:237–50.

88. Olsen EA, Dunlap FE, Funicella T, Koperski JA, Swinehart JM, Tschen EH, et al. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47(3):377–85.
89. MacDonald Hull SP, Wood ML, Hutchinson PE, Sladden M, Messenger AG. Guidelines for the management of alopecia areata. *British Journal of Dermatology*. 2003;149(4):692–9.
90. Rokhsar CK, Shupack JL, Vafai JJ, Washenik K. Efficacy of topical sensitizers in the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 1998;39(5):751–61.
91. Happle R. Antigenic competition as a therapeutic concept for alopecia areata. *Arch Dermatol Res*. 1980;267:109–14.
92. Mahasaksiri T, Kositkuljorn C, Anuntrangsee T, Suchonwanit P. Application of topical immunotherapy in the treatment of alopecia areata: a review and update. *Drug Des Devel Ther*. 2021;1285–98.
93. Yoshizawa Y, Izaki S, Kitamura K, Kawana S. Systemic immunotherapy with topical dinitrochlorobenzene as additional treatment of alopecia areata. *Acta Derm Venereol*. 2002;82(2):136–8.
94. Stute J, Hausen BM, Schulz KH. Diphenylcyclopropanone-a new strong contact sensitizer (author's transl). *Derm Beruf Umwelt*. 1981;29(1):12–4.
95. Higgins E, du Vivier A. Topical immunotherapy: unapproved uses, dosages, or indications. *Clin Dermatol*. 2002;20(5):515–21.
96. Hull SM, Cunliffe WJ. Post-therapy relapse rate in alopecia areata after successful treatment with diphencyprone. *Journal of Dermatological Treatment*. 1989;1(2):71–4.
97. Tang L, Cao L, Sundberg JP, Lui H, Shapiro J. Restoration of hair growth in mice with an alopecia areata-like disease using topical anthralin. *Exp Dermatol*. 2004;13(1):5–10.
98. Li ZJ, Choi HI, Choi DK, Sohn KC, Im M, Seo YJ, et al. Autologous platelet-rich plasma: a potential therapeutic tool for promoting hair growth. *Dermatologic Surgery*. 2012;38(7 pt1):1040–6.

99. Lubkowska A, Dolegowska B, Banfi G. Growth factor content in PRP and their applicability in medicine. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26(2 Suppl 1):3S-22S.
100. Albalat W, Ebrahim HM. Evaluation of platelet-rich plasma vs intralesional steroid in treatment of alopecia areata. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(5):1456–62.
101. Novák Z, Bónis B, Baltás E, Ocsosvski I, Ignác F, Dobozy A, et al. Xenon chloride ultraviolet B laser is more effective in treating psoriasis and in inducing T cell apoptosis than narrow-band ultraviolet B. *J Photochem Photobiol B*. 2002;67(1):32–8.
102. Al-Mutairi N. 308-nm excimer laser for the treatment of alopecia areata in children. *Pediatr Dermatol*. 2009;26(5):547–50.
103. Zakaria W, Passeron T, Ostovari N, Lacour JP, Ortonne JP. 308-nm excimer laser therapy in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2004;51(5):837–8.
104. Pimentel CB, Moraes AM de, Cintra ML. Angiogenic effects of cryosurgery with liquid nitrogen on the normal skin of rats, through morphometric study. *An Bras Dermatol*. 2014;89:410–3.
105. Zawar VP, Karad GM. Liquid nitrogen cryotherapy in recalcitrant alopecia areata: a study of 11 patients. *Int J Trichology*. 2016;8(1):15.
106. Talpur R, Vu J, Bassett R, Stevens V, Duvic M. Phase I/II randomized bilateral half-head comparison of topical bexarotene 1% gel for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(4):592-e1.
107. Bearden W, Anderson R. Trichiasis associated with prostaglandin analog use. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*. 2004;20(4):320–2.
108. Coronel-Perez IM, Rodriguez-Rey EM, Camacho-Martinez FM. Latanoprost in the treatment of eyelash alopecia in alopecia areata universalis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2010;24(4):481–5.
109. Ross EK, Bolduc C, Lui H, Shapiro J. Lack of efficacy of topical latanoprost in the treatment of eyebrow alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;53(6):1095–6.
110. Vañó-Galván S, Hermosa-Gelbard Á, Sánchez-Neila N, Miguel-Gómez L, Saceda-Corralo D, Rodrigues-Barata R, et al. Pulse corticosteroid therapy with oral dexamethasone for the treatment of adult alopecia totalis and universalis. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(5):1005–7.

111. Kar BR, Handa S, Dogra S, Kumar B. Placebo-controlled oral pulse prednisolone therapy in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol*. 2005;52(2):287–90.
112. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, Sicco K Lo, Brinster N, Christiano AM, et al. Alopecia areata: an appraisal of new treatment approaches and overview of current therapies. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(1):15–24.
113. Taylor M, Ashcroft ATT, Messenger AG. Cyclosporin A prolongs human hair growth in vitro. *Journal of investigative dermatology*. 1993;100(3):237–9.
114. Açıkgöz G, Çalışkan E, Tunca M, Yeniay Y, Akar A. The effect of oral cyclosporine in the treatment of severe alopecia areata. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014;33(3):247–52.
115. Hammerschmidt M, Mulinari Brenner F. Efficacy and safety of methotrexate in alopecia areata. *An Bras Dermatol*. 2014;89:729–34.
116. Phan K, Ramachandran V, Sebaratnam DF. Methotrexate for alopecia areata: a systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2019;80(1):120–7.
117. Ranganath VK, Furst DE. Disease-modifying antirheumatic drug use in the elderly rheumatoid arthritis patient. *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2007;33(1):197–217.
118. Rashidi T, Mahd AA. Treatment of persistent alopecia areata with sulfasalazine. *Int J Dermatol*. 2008;47(8):850–2.
119. Leitenberger J, Jacobe HT, Cruz PD. Photoimmunology—illuminating the immune system through photobiology. In: *Seminars in immunopathology*. Springer; 2007. p. 65–70.
120. Farshi S, Mansouri P, Safar F, Khiabanloo SR. Could azathioprine be considered as a therapeutic alternative in the treatment of alopecia areata? A pilot study. *Int J Dermatol*. 2010;49(10):1188–93.
121. Patel AA, Swerlick RA, McCall CO. Azathioprine in dermatology: the past, the present, and the future. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(3):369–89.
122. Vañó-Galván S, Hermosa-Gelbard Á, Sánchez-Neila N, Miguel-Gómez L, Saceda-Corrado D, Rodrigues-Barata R, et al. Treatment of recalcitrant adult alopecia areata universalis with oral azathioprine. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(5):1007–8.

123. Lensing M, Jabbari A. An overview of JAK/STAT pathways and JAK inhibition in alopecia areata. *Front Immunol.* 2022;13:955035.
124. Phan K, Sebaratnam DF. JAK inhibitors for alopecia areata: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* 2019;33(5):850–6.
125. Liu LY, Craiglow BG, Dai F, King BA. Tofacitinib for the treatment of severe alopecia areata and variants: a study of 90 patients. *J Am Acad Dermatol.* 2017;76(1):22–8.
126. Winthrop KL. The emerging safety profile of JAK inhibitors in rheumatic disease. *Nat Rev Rheumatol.* 2017;13(4):234–43.
127. Yates M, Mootoo A, Adas M, Bechman K, Rampes S, Patel V, et al. Venous thromboembolism risk with JAK inhibitors: a meta-analysis. *Arthritis & Rheumatology.* 2021;73(5):779–88.
128. McLornan DP, Pope JE, Gotlib J, Harrison CN. Current and future status of JAK inhibitors. *The lancet.* 2021;398(10302):803–16.
129. Gilhar A, Schrum AG, Etzioni A, Waldmann H, Paus R. Alopecia areata: animal models illuminate autoimmune pathogenesis and novel immunotherapeutic strateGilhar, A., Schrum, A. G., Etzioni, A., Waldmann, H., & Paus, R. (2016). Alopecia areata: animal models illuminate autoimmune pathogenesis and novel immuno. *Autoimmun Rev.* 2016;15(7):726–35.
130. Sundberg JP, McElwee K, Brehm MA, Su L, King Jr LE. Animal models for alopecia areata: what and where? In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.* Elsevier; 2015. p. 23–6.
131. McElwee KJ, Boggess D, Sundberg JP, King Jr LE. Experimental induction of alopecia areata-like hair loss in C3H/HeJ mice using full-thickness skin grafts. *Journal of investigative dermatology.* 1998;111(5):797–803.
132. Wang EHC, Khosravi-Maharlooei M, Jalili RB, Yu R, Ghahary A, Shapiro J, et al. Transfer of Alopecia Areata to C3H/HeJ Mice Using Cultured Lymph Node-Derived Cells. *J Invest Dermatol.* 2015;135(10):2530–2.
133. Sundberg JP, Cordy WR, King Jr LE. Alopecia areata in aging C3H/HeJ mice. *Journal of Investigative Dermatology.* 1994;102(6):847–56.

134. McElwee KJ, Silva K, Beamer WG, King Jr LE, Sundberg JP. Melanocyte and gonad activity as potential severity modifying factors in C3H/HeJ mouse alopecia areata. *Exp Dermatol*. 2001;10(6):420–9.
135. Tobin DJ, Sundberg JP, King Jr LE, Boggess D, Bystryn JC. Autoantibodies to Hair Follicles in C3H/HeJ Mice With Alopecia Areata–Like Hair Loss. *Journal of investigative dermatology*. 1997;109(3):329–33.
136. Nakamura M, Jo J ichiro, Tabata Y, Ishikawa O. Controlled delivery of T-box21 small interfering RNA ameliorates autoimmune alopecia (Alopecia Areata) in a C3H/HeJ mouse model. *Am J Pathol*. 2008;172(3):650–8.
137. McElwee KJ, Freyschmidt-Paul P, Hoffmann R, Kissling S, Hummel S, Vitacolonna M, et al. Transfer of CD8+ cells induces localized hair loss whereas CD4+/CD25– cells promote systemic alopecia areata and CD4+/CD25+ cells blockade disease onset in the C3H/HeJ mouse model. *Journal of investigative dermatology*. 2005;124(5):947–57.
138. Peters EMJ, Liotiri S, Bodó E, Hagen E, Bíró T, Arck PC, et al. Probing the effects of stress mediators on the human hair follicle: substance P holds central position. *Am J Pathol*. 2007;171(6):1872–86.
139. Kamath AB, Alt J, Debbabi H, Behar SM. Toll-like receptor 4-defective C3H/HeJ mice are not more susceptible than other C3H substrains to infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun*. 2003;71(7):4112–8.
140. Ito T, Ito N, Saatoff M, Hashizume H, Fukamizu H, Nickoloff BJ, et al. Maintenance of hair follicle immune privilege is linked to prevention of NK cell attack. *Journal of Investigative Dermatology*. 2008;128(5):1196–206.
141. Steinle A, Groh V, Spies T. Diversification, expression, and  $\gamma\delta$  T cell recognition of evolutionarily distant members of the MIC family of major histocompatibility complex class I-related molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(21):12510–5.
142. McElwee KJ, Silva K, Boggess D, Bechtold L, King Jr LE, Sundberg JP. Alopecia areata in C3H/HeJ mice involves leukocyte-mediated root sheath disruption in advance of overt hair loss. *Vet Pathol*. 2003;40(6):643–50.
143. Ito T. Hair follicle is a target of stress hormone and autoimmune reactions. *J Dermatol Sci*. 2010;60(2):67–73.

144. Beeton C, Wulff H, Standifer NE, Azam P, Mullen KM, Pennington MW, et al. Kv1. 3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(46):17414–9.
145. Gilhar A, Keren A, Shemer A, Ullmann Y, Paus R. Blocking potassium channels (Kv1. 3): a new treatment option for alopecia areata? *J Invest Dermatol*. 2013;133(8):2088.
146. John KKG, Brockschmidt FF, Redler S, Herold C, Hanneken S, Eigelshoven S, et al. Genetic variants in CTLA4 are strongly associated with alopecia areata. *J Invest Dermatol*. 2011;131(5):1169–72.
147. Gilhar A, Britva RL, Keren A, Paus R. Mouse models of alopecia areata: C3H/HeJ mice versus the humanized AA mouse model. In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. Elsevier; 2020. p. S11–5.
148. Hashimoto K, Yamada Y, Sekiguchi K, Matsuda S, Mori S, Matsumoto T. Induction of alopecia areata in C3H/HeJ mice using cryopreserved lymphocytes. *J Dermatol Sci*. 2021;102(3):177–83.
149. Shin JM, Choi DK, Sohn KC, Koh JW, Lee YH, Seo YJ, et al. Induction of alopecia areata in C3H/HeJ mice using polyinosinic-polycytidylic acid (poly [I: C]) and interferon-gamma. *Sci Rep*. 2018;8(1):12518.
150. Ito T, Suzuki T, Sakabe J ichi, Funakoshi A, Fujiyama T, Tokura Y. Plasmacytoid dendritic cells as a possible key player to initiate alopecia areata in the C3H/HeJ mouse. *Allergology International*. 2020;69(1):121–31.
151. Prochazkova M, Chavez MG, Prochazka J, Felfy H, Mushegyan V, Klein OD. Embryonic versus adult stem cells. In: *Stem cell biology and tissue engineering in dental sciences*. Elsevier; 2015. p. 249–62.
152. Enver T, Pera M, Peterson C, Andrews PW. Stem cell states, fates, and the rules of attraction. *Cell Stem Cell*. 2009;4(5):387–97.
153. Chen Q, Shou P, Zheng C, Jiang M, Cao G, Yang Q, et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? *Cell Death Differ*. 2016;23(7):1128–39.
154. Knoblich JA. Mechanisms of asymmetric stem cell division. *Cell*. 2008;132(4):583–97.

155. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol.* 2007;213(2):341–7.
156. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8(4):315–7.
157. Nie C, Yang D, Xu J, Si Z, Jin X, Zhang J. Locally administered adipose-derived stem cells accelerate wound healing through differentiation and vasculogenesis. *Cell Transplant.* 2011;20(2):205–16.
158. Caplan AI, Correa D. The MSC: an injury drugstore. *Cell Stem Cell.* 2011;9(1):11–5.
159. El Agha E, Kramann R, Schneider RK, Li X, Seeger W, Humphreys BD, et al. Mesenchymal stem cells in fibrotic disease. *Cell Stem Cell.* 2017;21(2):166–77.
160. Sreeramkumar V, Fresno M, Cuesta N. Prostaglandin E2 and T cells: friends or foes? *Immunol Cell Biol.* 2012;90(6):579–86.
161. Nakanishi M, Rosenberg DW. Multifaceted roles of PGE 2 in inflammation and cancer. In: *Seminars in immunopathology.* Springer; 2013. p. 123–37.
162. Chimenti I, Smith RR, Li TS, Gerstenblith G, Messina E, Giacomello A, et al. Relative roles of direct regeneration versus paracrine effects of human cardiosphere-derived cells transplanted into infarcted mice. *Circ Res.* 2010;106(5):971–80.
163. Kim WS, Park BS, Sung JH, Yang JM, Park SB, Kwak SJ, et al. Wound healing effect of adipose-derived stem cells: a critical role of secretory factors on human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2007;48(1):15–24.
164. Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant.* 2011;20(1):5–14.
165. Kusuma GD, Carthew J, Lim R, Frith JE. Effect of the microenvironment on mesenchymal stem cell paracrine signaling: opportunities to engineer the therapeutic effect. *Stem Cells Dev.* 2017;26(9):617–31.
166. Li C, Li G, Liu M, Zhou T, Zhou H. Paracrine effect of inflammatory cytokine-activated bone marrow mesenchymal stem cells and its role in osteoblast function. *J Biosci Bioeng.* 2016;121(2):213–9.

167. Li J, Wu Z, Zhao L, Liu Y, Su Y, Gong X, et al. The heterogeneity of mesenchymal stem cells: an important issue to be addressed in cell therapy. *Stem Cell Res Ther.* 2023;14(1):381.
168. Mattar P, Bieback K. Comparing the immunomodulatory properties of bone marrow, adipose tissue, and birth-associated tissue mesenchymal stromal cells. *Front Immunol.* 2015;6:560.
169. Duffy MM, Ritter T, Ceredig R, Griffin MD. Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways. *Stem Cell Res Ther.* 2011;2:1–9.
170. Zhu X, Shi W, Tai W, Liu F. The comparison of biological characteristics and multilineage differentiation of bone marrow and adipose derived Mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res.* 2012;350:277–87.
171. Shimizu Y, Ntege EH, Sunami H, Inoue Y. Regenerative medicine strategies for hair growth and regeneration: A narrative review of literature. *Regen Ther.* 2022;21:527–39.
172. Jafarzadeh A, PourMohammad A, Goodarzi A. A systematic review of the efficacy, safety and satisfaction of regenerative medicine treatments, including platelet-rich plasma, stromal vascular fraction and stem cell-conditioned medium for hypertrophic scars and keloids. *Int Wound J.* 2024;21(4):e14557.
173. Nilforoushzadeh MA, Amirkhani MA, Seirafianpour F, Pakbaz Y, Zare S, Goodarzi A. Regenerative medicine in dermatology. *Journal of Skin and Stem Cell.* 2022;9(1).
174. Tan IJ, Jafferany M. Psychosocial impact of alopecia areata in paediatric and adolescent populations: A systematic review. *J Paediatr Child Health.* 2024;
175. Yamaguchi HL, Yamaguchi Y, Peeva E. Pathogenesis of Alopecia Areata and Vitiligo: Commonalities and Differences. *Int J Mol Sci.* 2024;25(8):4409.
176. Vasanthan J, Gurusamy N, Rajasingh S, Sigamani V, Kirankumar S, Thomas EL, et al. Role of human mesenchymal stem cells in regenerative therapy. *Cells.* 2020;10(1):54.
177. Gentile P, Garcovich S. Advances in regenerative stem cell therapy in androgenic alopecia and hair loss: Wnt pathway, growth-factor, and mesenchymal stem cell signaling impact analysis on cell growth and hair follicle development. *Cells.* 2019;8(5):466.

178. Mahmood A, Seetharaman R, Kshatriya P, Patel D, Mishra R, Srivastava A. Mesenchymal stem cell conditioned media induces hair regeneration in alopecia areata: a case study. *Ann Stem Cell Res Ther* 2021; 5 (1). 2021;1041.
179. Wang D, Zhang H, Liang J, Wang H, Hua B, Feng X, et al. A long-term follow-up study of allogeneic mesenchymal stem/stromal cell transplantation in patients with drug-resistant systemic lupus erythematosus. *Stem Cell Reports*. 2018;10(3):933–41.
180. Wang D, Huang S, Yuan X, Liang J, Xu R, Yao G, et al. The regulation of the Treg/Th17 balance by mesenchymal stem cells in human systemic lupus erythematosus. *Cell Mol Immunol*. 2017;14(5):423–31.
181. Kim JE, Oh JH, Woo YJ, Jung JH, Jeong KH, Kang H. Effects of mesenchymal stem cell therapy on alopecia areata in cellular and hair follicle organ culture models. *Exp Dermatol*. 2020;29(3):265–72.
182. Gonzalez-Rey E, Gonzalez MA, Varela N, O’Valle F, Hernandez-Cortes P, Rico L, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T cell responses and induce regulatory T cells in vitro in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2010 Jan 1;69(01):241 LP – 248. Available from: <http://ard.bmj.com/content/69/01/241.abstract>
183. McElwee KJ, Boggess D, Olivry T, Oliver RF, Whiting D, Tobin DJ, et al. Comparison of alopecia areata in human and nonhuman mammalian species. *Pathobiology*. 1998;66(2):90–107.
184. Ma A, Koka R, Burkett P. Diverse functions of IL-2, IL-15, and IL-7 in lymphoid homeostasis. *Annu Rev Immunol*. 2006;24(1):657–79.
185. Carson WE, Giri JG, Lindemann M, Linett ML, Ahdieh M, Paxton R, et al. Interleukin (IL) 15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor. *J Exp Med*. 1994;180(4):1395–403.
186. Omar NM, Ghanem BM, Abdelsalam M, Elmogy MH. Serum interleukin 15 level may serve as a new marker for alopecia areata. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology*. 2022;42(1):34–9.
187. Messenger AG, Slater DN, Bleehen SS. Alopecia areata: alterations in the hair growth cycle and correlation with the follicular pathology. *British Journal of Dermatology*. 1986;114(3):337–47.

188. Ebrahim AA, Salem RM, El Fallah AA, Younis ET. Serum interleukin-15 is a marker of alopecia areata severity. *Int J Trichology*. 2019;11(1):26–30.
189. Fehniger TA, Suzuki K, Ponnappan A, VanDeusen JB, Cooper MA, Florea SM, et al. Fatal leukemia in interleukin 15 transgenic mice follows early expansions in natural killer and memory phenotype CD8<sup>+</sup> T cells. *J Exp Med*. 2001;193(2):219–32.
190. Waldmann TA. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(8):595–601.
191. Groh V, Brühl A, El-Gabalawy H, Nelson JL, Spies T. Stimulation of T cell autoreactivity by anomalous expression of NKG2D and its MIC ligands in rheumatoid arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003;100(16):9452–7.
192. White JT, Cross EW, Burchill MA, Danhorn T, McCarter MD, Rosen HR, et al. Virtual memory T cells develop and mediate bystander protective immunity in an IL-15-dependent manner. *Nat Commun*. 2016;7(1):1–13.
193. Seok J, Cho SD, Lee J, Choi Y, Kim SY, Lee SM, et al. A virtual memory CD8<sup>+</sup> T cell-originated subset causes alopecia areata through innate-like cytotoxicity. *Nat Immunol*. 2023;24(8):1308–17.
194. Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci*. 2012;8(9):1237.
195. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest*. 1998;101(2):311–20.
196. Samavedam UKSRL, Kalies K, Scheller J, Sadeghi H, Gupta Y, Jonkman MF, et al. Recombinant IL-6 treatment protects mice from organ specific autoimmune disease by IL-6 classical signalling-dependent IL-1ra induction. *J Autoimmun*. 2013;40:74–85.
197. Poffenberger MC, Straka N, El Warry N, Fang D, Shanina I, Horwitz MS. Lack of IL-6 during coxsackievirus infection heightens the early immune response resulting in increased severity of chronic autoimmune myocarditis. *PLoS One*. 2009;4(7):e6207.

198. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro-and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2011;1813(5):878–88.
199. Zhang S, Danchuk SD, Bonvillain RW, Xu B, Scruggs BA, Strong AL, et al. Interleukin 6 mediates the therapeutic effects of adipose-derived stromal/stem cells in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Stem Cells*. 2014;32(6):1616–28.
200. Choi N, Hwang J, Kim DY, Kim J, Song SY, Sung J. Involvement of DKK1 secreted from adipose-derived stem cells in alopecia areata. *Cell Prolif*. 2024;57(3):e13562.



**T.C.**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA**

Dr. Nur Büşra AKDAĞ 'e ait " **TLR4 Knock Out C3h/HeJ Fareler İle Oluşturulan Alopesi Areata Fare Modelinde Adiposit Kökenli Kök Hücre Tedavisi**" adlı çalışma jürimiz tarafından Deri ve Zührevi Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: ...../...../2024

Danışman :.....

Üye :.....

Üye :.....