

MEZENKİMAL KÖK HÜCRELERİN RATLARDA CROHN HASTALIĞI MODELİNDE DOKU HASARI,
İNFLAMATUAR VE ANTİNFLAMATUAR SİTOKİNLERE ETKİSİ

EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON TISSUE INJURY, INFLAMMATORY AND ANTI-INFLAMMATORY
CYTOKINES IN CROHN'S DISEASE MODEL IN RATS

İbrahim Volkan ŞENKAL*, Ümit AKYÜZ*, Fırat YALNIZ*, Ferda ÇİFTÇİ**,
Aysel YURTSEVER***, Cengiz PATA**

ÖZET

Amaç: Mezenkimal kök hücreler (MKH) T hücre oluşumunu ve antijen sunan hücreleri inhibe ederek inflammatuar sitokinlerin salınımını baskılayarak (IFN- γ , TNF- α) ve antiinflammatuar sitokinlerin (IL-10) salınımını artırarak immunsupresiv etki oluşturmaktadırlar. Crohn hastalığında bağırsaklarda oluşan mukozal hasarda ise birçok sitokin sorumlu olmakla birlikte TNF- α bunlar içerisinde önde gelenlerdendir. Bu çalışmanın amacı MKH lerin Deneysel Kolit modelinde tedavideki yerini belirlemektir.

Gereç ve yöntem: Deneysel kolit oluşturmak için %3 Dekstran sülfat sodyum (DSS) kullanıldı. Çalışma her grup da 6 sar rat olmak üzere 7 grup üzerinde yapıldı: Grup 1:SHAM grubu, Grup 2: DSS+ placebo, Grup 3: DSS+ metilprednisolon 1 mg/kg, po, Grup 4: DSS + mesalazin 100 mg/kg, po., Grup 5: DSS+ MKH, 10⁶ hücre/rat, intraperitoneal, Grup 6: DSS + metilprednisolon 1 mg/kg, po + MKH, 10⁶ hücre/rat, intraperitoneal, Grup 7: DSS + mesalazin 100 mg/kg, po + MKH, 10⁶ hücre/rat, intraperitoneal. Gruplar patolojik ve biyokimyasal (TNF, INF IL-10) parametrelerdeki değişimler ölçülerek karşılaştırıldı.

Bulgular: Patolojik değerlendirmede Grup 1, 2 ve 3'ün ortalama skorlarının Grup 5, 6 ve 7'nin ortalama skorlarından belirgin yüksek olduğu gözlemlendi (p<0,05). IL-10 düzeyi Grup 1 için 108,33±2,23 pg/ml, Grup 2 için 80,83±3,62 pg/ml olup MKH tedavisi verilen gruplar olan Grup 5, 6 ve 7 de bu değerler sırasıyla 131,66±3,83 pg/ml, 138,33±3,19 pg/ml ve 115,33±5,21 pg/ml olarak ölçülmüş olup, bu son üç grup ortalamalarının anlamlı olarak yüksek olduğu gözlemlendi (p<0,05). IFN- γ ve TNF- α düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Sonuç: Bu çalışmanın sonucuna göre MKH'in IL-10 düzeyini yükselterek Crohn hastalığı tedavisinde yeri olabileceği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Mezenkimal kök hücre, inflammatuar barsak hastalıkları

ABSTRACT

Background: Mesenchymal stem cells (MSC) have immune suppressive effects by decreasing inflammatory cytokines (IFN- γ , TNF- α) increasing antiinflammatory cytokines (IL-10) and inhibiting T cells and antigen presenting cells. Various cytokines are responsible for mucosal damage in Crohn's disease and TNF- α is one of the most important of them. The aim of this study is to determine the role of MSC in the treatment of Crohn's disease model.

Methods: 3% Dextran sulphate sodium (DSS) is used to make Crohn's disease model. There are 7 groups which composed of 6 rats in each group; Group 1: SHAM group, Group 2: DSS+ placebo, Group 3: DSS+ methylprednisolone 1 mg/kg, po, Group 4: DSS + mesalazine 100 mg/kg, po., Group 5: DSS+ MKH, 10⁶ cell/rat, intraperitoneal, Group 6: DSS + methylprednisolone 1 mg/kg, po + MSC, 10⁶ cell/rat, intraperitoneal, Group 7: DSS + mesalazine 100 mg/kg, po + MSC, 10⁶ cell/rat, intraperitoneal. Groups are compared with the alteration of pathological and biochemical (TNF, INF IL-10) parameters.

Results: The average scores of group 1, 2 and 3 were higher than the average scores of Group 5, 6 and 7 significantly in pathological evaluation (p<0.05). IL-10 was 108.33±2.23 pg/ml in Group 1, 80.83±3.62 pg/ml in Group 2 where the levels of IL-10 were 131.66±3.83 pg/ml, 138.33±3.19 pg/ml and 115.33±5.21 pg/ml in Group 5, 6 and 7 respectively, in which MSC was used as a treatment. It is observed that the average of these three groups were significantly higher (p<0.05).

Conclusion: This study suggest that MSC may take a role in the treatment of Crohn's disease by increasing the amount of IL-10.

Key words: Mesenchymal stem cells , inflammatory bowel disease

Date received/Dergiye geldiği tarih: 02.01.2012 - Dergiye kabul edildiği tarih: 20.01.2012

* Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bostancı, İstanbul

** Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Bostancı, İstanbul

*** İstanbul Teknik Üniversitesi, ONKIM Laboratuvarları, Kök hücre Teknolojileri Bölümü, Maslak, İstanbul

(İletişim kurulacak yazar: cengiz.pata@yahoo.com)

GİRİŞ

Mezenkimal kök hücreler (MKH), kemik iliğinden, yağ dokusu, kord kanı, fetal karaciğer, kan gibi diğer dokulardan izole edilebilen, mezoderm kökenli, fibroblast benzeri, hücre topluluklarıdır (3, 8, 14). İn-vitro ve in-vivo olarak kemik, yağ dokusu ve kıkırdak gibi dokulara differansiye olabilmemesinin yanında hasarlı dokuya yerleşip tedavi potansiyel göstermesi, tedaviye rezistan akut graft-versus-host hastalığı, doku tamiri, allograft organ rejeksiyon tedavisi ve otoimmün hastalıklar gibi birçok alanda araştırma ve klinik uygulamada kullanılmasına yol açmıştır (3, 6, 8). MKH, intravenöz infüzyon sonrasında birçok dokuda düşük seviyede saptanabilir ama tercihen hasarlı bölgeye yerleşir (3, 6).

Inflamatuar bağırsak hastalıkları (İBH), doğal ve adaptif immün sistemin, kommensal bakteri ve mikrobiyal ürünleri de içeren birçok normal öğeye karşı kontrol dışı reaksiyonu ile giden hastalıklardır (18). Crohn hastalığı ve deneysel kolit modelinde bağırsakta, lamina propriada artmış hücre aktivasyonu vardır (8, 3, 11). T hücre ekspresyonu ön planda olup, özellikle TH1 yolağı ve IFN- γ TNF- α gibi ilgili sitokinlerde artış gözlenir (11, 23). Artan sitokinler, proteaz ve reaktif oksijen metabolitleri mukozada immün hasara yol açar (11, 23, 27). Inflamatuar hastalığın tedavisinde, artan immün cevabın ve ilgili sitokinlerin baskılanması hedeflenir. Mezenkimal kök hücrelerin immün sistem üzerindeki etkisi, çok çeşitli yollardan supresif yönde ve inflamasyonu baskılayıcı tarzdadır; T helper 1 (TH1) aktivasyonunu ve dolayısı ile bu hücrelerden, inflamatuvar bir sitokin olan Interferon Gama (IFN- γ) salınımını inhibe ederler (1, 4). TH1 proliferasyonunu inhibe ederken T helper 2 (TH2) ve T helper 3 (TH3, Regülatuar T hücreler, CD4⁺ CD25⁺ hücreler) proliferasyonu ve dolayısı ile bu hücrelerden salınan, güçlü bir antiinflamatuvar sitokin olan Interlökin-10 (IL-10) seviyesini artırır (21, 22). Bunun yanında, inflamasyon sürecinde, dendritik hücre gibi antijen sunan hücrelerden yine inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α salınımını inhibe ederler (9, 10, 21, 23, 29).

Bu çalışmanın amacı immunsupresif ve rejeneratif özellikleri olan MKH'in, deneysel inflamatuvar bağırsak hastalığı modelinde inflamasyon sürecine etkilerini belirlemektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Rat grubu seçimi

Bu araştırma Şubat – Mayıs 2010 tarihleri arasında Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarında gerçekleştirildi. MKH, hastanemizde seksiyon ile doğum yapan, aydınlatılmış onam formu alınmış bir gebenin 100 cc kordon kanı alınarak İstanbul Teknik Üniversitesi, Kök Hücre Teknolojileri ONKİM laboratuvarında üretildi. Çalışmaya Wistar türü, 180-250 gr ağırlığında, doğum yapmamış, genç dişi 42 rat alındı. Her grupta 6 rat olmak üzere toplam yedi grup oluşturuldu. Ratlarda, Dekstran sülfat sodyum (DSS) konularak Crohn hastalığı modeli oluşturuldu (9).

Grup 1:DSS verilmedi (SHAM grubu).

Grup 2: DSS+ placebo.

Grup 3: DSS+ metilprednisolon 1 mg/kg, po

Grup 4: DSS + mesalazin 100 mg/kg, po.

Grup 5: DSS+ MKH,10⁶ hücre/rat, intraperitoneal

Grup 6: DSS + metilprednisolon 1 mg/kg, po + MKH,10⁶ hücre/rat, intraperitoneal

Grup 7: DSS + mesalazin 100 mg/kg, po + MKH, 10⁶ hücre/rat, intraperitoneal

DSS, %3 oranında hazırlanarak içme suyuna konuldu ve ratlara 14 gün süresince verildi. MKH, 14 günlük sürecin sonunda (14.günde), bir defa olacak şekilde intraperitoneal olarak, 10⁶ hücre/rat olarak uygulandı. Steroid (1 mg/kg) ve 5 ASA (100 mg/kg dozunda), 14 günlük siklusun 8. gününden başlayarak hergün (8., 9., 10., 11., 12., 13., 14. günlerde) içme suyuna konuldu. Dışkılama değişiklikleri ve içtikleri suyun miktarının daha doğru takip edilmesi amacı ile her kafeste tek rat olacak şekilde takip edildi.

Tüm ratlar 17. günde dekapite edildi. Gruplarda ki değişimler; klinik (kilo kaybı, diare, sağkalım, rektal kanama), histopatolojik (total kolektomi sonrası kolon mukozasında hiperemi, ülserasyon, duvar kalınlaşması) ve biyokimyasal (IL-10, TNF- α , IFN- γ) parametreler ölçülerek karşılaştırıldı.

Mikroskopik skorlama ve Histoloji

Materyaller örneklemeyi takiben %10'luk formalin ile fikse edildi, lümen açılarak makroskopik skorlama yapıldı. Makroskopide tanımlanan patolojik alanlara uygun ve normal alanlardan multipl örneklemeye yapıldı. Tüm örnekler rutin parafin takip aşamasından sonra mikron kalınlığında kesildi ve H&E ile boyandı. Mikroskopide aynı spesimde gözlenen farklı şiddetteki alanlar da dikkate alınarak kör olarak tüm gruplara ait örnekler aşağıdaki skalaya göre skorlanarak değerlendirildi (Grade 0: Normal mukoza, Grade 1: Ödem, Grade 2: Konjesyon, Grade 3: Fokal erozyon, Grade 4: Ülserasyon) (7) (Resim1-2).

Laboratuvar incelemeleri

Her rattan, sakrifiye edildikleri 17. günde ortalama olarak 10 cc kan, kuru tüpe alındı, tüp içindeki kan 4000 devir/dk.da 10 dk çevrildi ve serumu ayrıldı. IL-10 düzeyi; Rat IL-10 ELISA kit – ASSAYPRO ile, TNF- α düzeyi; Rat TNF-alpha ELISA kit – ASSAYPRO ile, IFN- γ düzeyi; Rat IFN-gamma ELISA kitleri kullanılarak Beckman Coulter DTX 880 Multimode Detector cihazı ile kantitatif olarak çalışıldı.

İstatistiksel değerlendirme

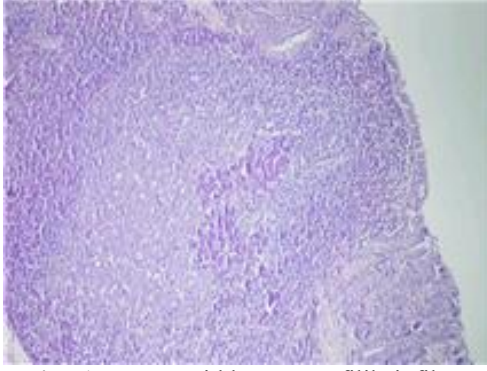
Biyokimyasal ve patolojik verileri analiz etmek için SPSS paket programında One-way ANOVA ve anlamlı olan sonuçlar için Tukey HSD testi kullanıldı. Gruplar arasındaki korelasyonun saptanması için Spearman Correlation test kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık p<0,05 düzeyinde, % 95'lik güven aralığında değerlendirildi.

BULGULAR

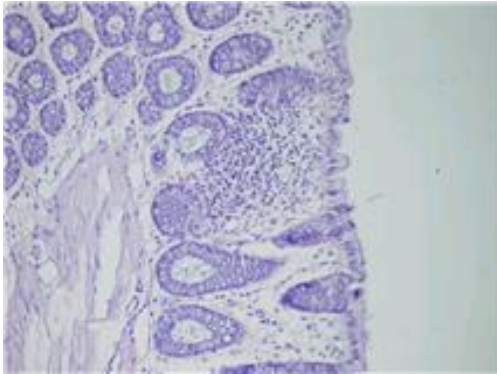
Araştırmanın ilk günü (1. gün) ile son günü (17. gün) arasındaki vücut kilo kaybı yüzdeleri; Grup 1 için %3.3±1.1, Grup 2 için %14.1±2.2, Grup 3 için 11.3±3.3, Grup 4 için %10.6±6.6, Grup 5 için %9.1±1.1, Grup 6 için %8.3±2.2 ve Grup 7 için %12±1.1 idi. MKH uygulanan gruplarda kilo kaybı daha az olma eğilimindeydi. Bu azalma steroid ilavesi ile bir miktar daha belirginleşmesine rağmen gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Çalışmamızda, sağkalım açısından takip edilen gruplarda mortaliteye rastlanılmadı.

Patolojik kesitlerdeki kolit skoru Grup 1 için 0, Grup 2 için 2,83±0,16, Grup 3 için 2,16±0,16, Grup 4 için 2,5±0,22, Grup 5 için 1,0±0, Grup 6 için 1,16±0,16, ve Grup 7 için 1,33±0,21 idi. Grup 1 ile tüm gruplar ve Grup 2 ile 4, Grup 2 ile 5, Grup 2 ile 6, Grup 3 ile 6, Grup 4 ile 5 ve Grup 4 ile 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo 1) (Resim 1, 2). Serum IFN- γ ve TNF- α düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo-1).



Resim 1. Yoğun şiddette nötrofilik infiltrasyonun eşlik ettiği lenfoplazmositer inflamatuvar reaksiyon, epitelit. (Kolit skor; 3)



Resim 2. Hafif şiddette infiltrasyon, ödem mevcut, Fokal erozyon, ülserasyon, epitelit yok (Kolit skor; 1).

Tablo 1. Grupların sitokin düzeyi ve patoloji skoru değeri

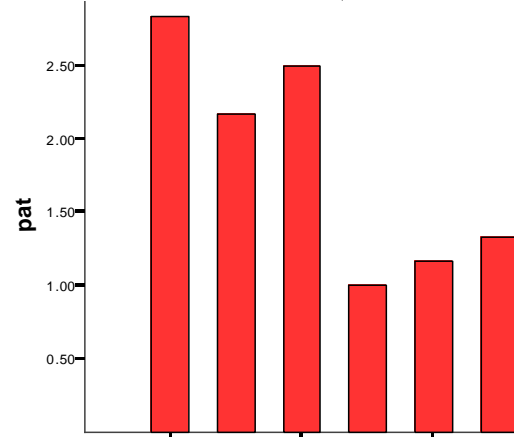
	IL-10 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	IFN- γ (pg/ml)	Patoloji (skor)
Grup 1	108,33 \pm 2,23	61,33 \pm 1,38	52,66 \pm 0,91	0
Grup 2	80,83 \pm 3,62	62,66 \pm 1,80	51,50 \pm 0,22	2,83 \pm 0,16
Grup 3	112,33 \pm 4,27	57,66 \pm 2,64	53,33 \pm 0,55	2,16 \pm 0,16
Grup 4	128,66 \pm 2,74	62,0 \pm 1,59	51,0 \pm 0,36	2,5 \pm 0,22
Grup 5	131,66 \pm 3,83	58,16 \pm 1,47	48,66 \pm 0,55	1,0 \pm 0
Grup 6	138,33 \pm 3,19	59,33 \pm 2,07	51,66 \pm 0,55	1,16 \pm 0,16
Grup 7	115,33 \pm 5,21	61,33 \pm 2,01	51,0 \pm 0,29	1,33 \pm 0,21
P	0,001 ^{l,m}	0,05 ^{a-t}	0,05 ^{a-t}	0,001 ^{a-f, g-j, l, m, o, ö}

Gruplar arasındaki P değeri; a: Grup 1,2; b: Grup 1,3; c: Grup 1,4; d: Grup 1,5; e: Grup 1,6; f: Grup 1,7; g: Grup 2,3; h: Grup 2,4; i: Grup 2,5; j: Grup 2,6; k: Grup 2,7; l: Grup 3,4; m: Grup 3,5; n: Grup 3,6; o: Grup 3,7; ö: Grup 4,5; p: Grup 4,6; q: Grup 4,7; r: Grup 5,6; s: Grup 5,7; t: Grup 6,7

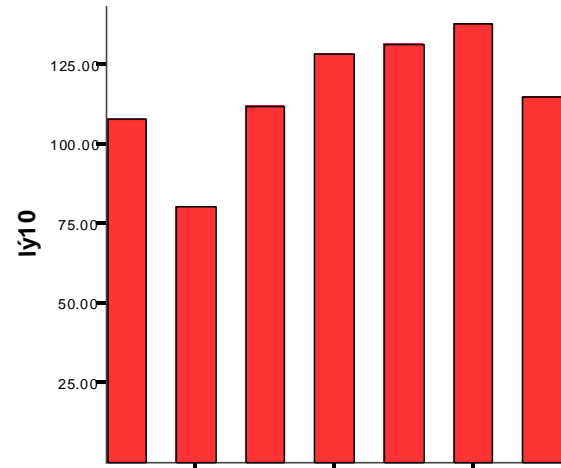
Serum sitokin düzeylerinde IL-10 düzeyi Grup 1 için 108,33 \pm 2,23 pg/ml, Grup 2 için 80,83 \pm 3,62 pg/ml, Grup 3 için 112,33 \pm 4,27 pg/ml, Grup 4 için 128,66 \pm 2,74 pg/ml, Grup 5 için 131,66 \pm 3,83 pg/ml, Grup 6 için 138,33 \pm 3,19 pg/ml ve Grup 7 için 115,33 \pm 5,21 pg/ml idi. Serum IL-10 düzeyleri Grup 2 ile 5, Grup 2 ile 6 ve Grup 3 ile 6 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Tablo-1, Grafik-2).

Patoloji kesitlerindeki kolit skoru ile serum IL-10 düzeyi

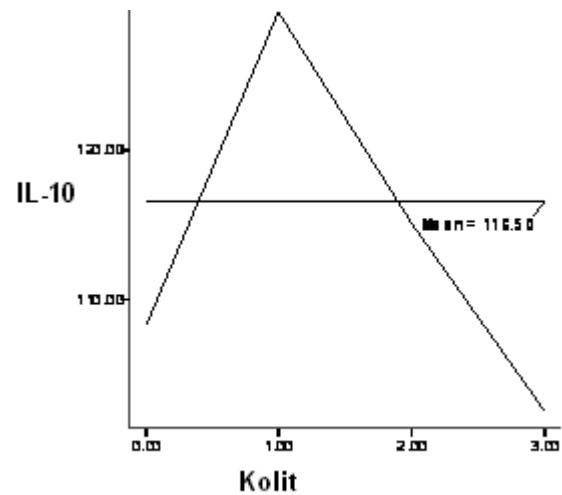
arasında ters korelasyon olduğu görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Grafik-3).



Grafik 1. Kolit skorunun gruplara göre dağılımı



Grafik 2. Serum IL-10 düzeylerinin gruplara göre dağılımı



Grafik 3. Serum IL-10 düzeyi ile kolit skorunun ters korelasyonu

TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel kolit modelinde MKH in sitokin düzeyine ve doku hasarına etkisi belirlenmeye çalışıldı. Literatürde steroid ve mesalazin tedavisinin Crohn hastalığındaki yeri ile ilgili pek çok çalışma mevcut olup, deneysel kolit modelinde MKH'nin etkilerini araştıran az sayıda makale izlenebilmektedir (19, 28). Ancak MKH ile steroid ve mesalazin tedavisini karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda sistemik yayımlı ve kronik bir sürece sahip Crohn hastalığı modeli hedeflendiği için ratların içme suyuna, 14 gün süresince %3'lük DSS ilave edildi, çalışma sonunda Gonzales ve ark. çalışmasındaki, DSS ile ulaştığı kolit skoru (3+) ve kolit olma yüzdesine (%100) başarı ile ulaşıldığı gözlemlendi (8).

Ratlar kilo kaybına göre değerlendirildiğinde 14.gündeki kilo kaybı %10 olarak saptanmıştır; bu oran Hayashi ve ark. çalışmasında %11, Gonzales ve ark. çalışmasında ise %12 olup bizim çalışmamızla benzer görünmektedir (7, 8).

Yine Gonzales ve ark.'nın çalışmasında 14. günde %12'ye varan mortalite ve Elena ve ark.'nın çalışmasında 14. günde %21'ye varan mortalite olmasına rağmen bizim çalışmamızda mortaliteye rastlanılmadı (8, 9). Bu durum, her ratın ayrı kafeste olması, özel havalandırma sisteminin olması, içme suyunun, gıdalarının ve kafes temizliğinin uzman veteriner hekimler tarafından haftanın yedi günü takip edilmesi ile ilgili olabilir.

Chen ve ark.'nın çalışmasında steroid tedavisi; DSS ile oluşturulmuş Crohn hastalığının kolit skorunu %23 oranında azaltmıştır. Misiewicz ve ark.'nın çalışmasında ise mesalazin tedavisi Crohn hastalığındaki kolit skorunu % 14 oranında azaltmıştır (17). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde steroid tedavisi ile %21, mesalazin tedavisi ile %12 oranında kolit skoru azalmıştır. Görüldüğü gibi bu düzelme oranı literatür ile uyumludur ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Gonzales ve ark. Crohn Hastalığında, MKH ile patolojik kesitlerde kolit skorunda %39'a varan gerileme saptamıştır, Elena ve ark. (9) ise MKH, DSS ile oluşturulan Crohn hastalığındaki kolit skorunda %43 oranında gerileme saptamıştır. Bizim çalışmamızda MKH ile kolit skorunda %46 oranında gerileme saptanmıştır.

Çalışmamızda, MKH verilen gruplarda kolit skoru daha düşük olma eğilimindeydi. Bu eğilimin, MKH ile birlikte steroid kullanımında daha belirgin olduğu izlendi.

İnflamasyon kaskadına bakıldığında, IFN- γ ve TNF- α düzeylerinin de yüksek olması beklenebilirdi ancak çalışmamızda bakılan kan sitokin düzeylerinde, IFN- γ ve TNF- α için, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum gruplardaki rat sayısının az olmasından kaynaklanabilir. Öte yandan doku sitokin düzeyi ile kan sitokin düzeyi arasında her patolojik durumda paralellik olmadığı bilinmektedir (5). Gruplar

arasında doku IFN- γ ve TNF- α düzeylerine bakıldığında anlamlı bir fark çıkma olasılığı mevcut olabilir ancak çalışmamızda teknik şartlar dolayısı ile doku sitokin düzeyi bakılamamıştır. Öte yandan MKH'in intravenöz yada intraperitoneal olarak verildiğinde, kısa bir sürede, spesifik olarak hasarlı dokuya yerleştiği daha önceki çalışmalarda gösterilmiş olup, çalışmamızda MKH'in hasarlı kolon mukozasına yerleştiği tespit etmek için ayrı bir yöntemle yer verilmemiştir (8, 9, 2).

Antiinflamatuar bir sitokin olan IL-10 serum düzeyleri incelendiğinde ise MKH ve steroidin bir arada kullanıldığı grupta % 40'a varan artış ve sadece MKH kullanılan grupta %34, sadece steroid kullanılan grupta ise %29 düzeyinde bir artış saptanmıştır. Bu durum MKH'nin kendisinden değil ancak MKH'in ekspresyonunu artırdığı TH3 (Regülatuar T hücreler, CD4⁺ CD25⁺ hücreler) ve dolayısı ile bu hücrelerden artan IL-10 sekresyonu ile ilişkilendirilmiştir (12, 13). Bu sonuç, Elena ve Gonzales 'in çalışmaları ile de benzerdir (8, 9).

Crohn hastalığı, kronik ve idiyopatik bir inflamatuvar bağırsak hastalığıdır. İmmün sistem, kommensal bakteri ve mikrobiyal ürünleri de içeren birçok normal öğeye karşı kontrol dışı reaksiyon geliştirir. Mukozal T hücre disfonksiyonu, artan inflamatuvar hücreler ve sitokinler gastrointestinal traktta mukozal hasar ile sonuçlanır. Steroid, mesalamin ve azatiyopirin gibi immunsupresif tedaviler bu amaçla kullanılmaktadır. Güncel tedavi, inflamatuvar cevabı baskılamak ve kontrolsüz inflamasyon ile oluşan sekelin tedavisinden ibarettir. Bu hali ile mevcut tedavilerin hastalığı önlemesi veya tamamen medikal tedavisiz izlemi sağlaması mümkün değildir.

MKH ise immün sistemi, özellikle T hücre başta olmak üzere, birden fazla noktada ve hücresel düzeyde suprese etmekte, inflamatuvar sitokin salınımını ve antijen sunan hücreleri inhibe etmekte, direkt kendisinden olmasa da aktive ettiği hücrelerden antiinflamatuar sitokinlerin salınımını sağlamaktadır (2, 5, 12, 13, 24). Bu hücrelerin etkileri immün sistem kaskadının daha uç bölgelerindeki noktalardadır. İmmunsupresif etki daha potent ve aynı zamanda daha spesifik olduğu için yan etki potansiyeli de daha az gibi görünmektedir.

MKH'in, mevcut tedavilere olan bir üstünlüğü de intravenöz ya da intraperitoneal verildikten kısa bir zaman sonra hasarlı dokuya yerleşip rejeneratif özelliği olmasıdır (2, 13). Bu hücreler, sadece kendi geliştikleri mezenkimal serinin değil diğer embriyojenik germ katmanlarının hücrelerine de dönüşebilmektedir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi, MKH ile ilgili diğer çalışmalarda da, daha önceki kök hücre çalışmalarında rastlanılan onkolojik potansiyele, teratom gibi tümoral oluşuma rastlanılmamıştır.

Literatürde Crohn hastalığında MKH ile steroid ve mesalazinin birlikte kullanımını veya bu tedavileri kıyaslayan bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız, Crohn hastalığında MKH ile steroid ve

mesalazin tedavilerinin birlikte kullanımı incelenmiş ve etki potansiyelleri karşılaştırılmıştır. Patolojik incelemedeki çoklu kesitlerde saptanan kolit skoru ve serum IL-10 düzeyleri baz alınarak; MKH verilen gruplarda (Grup V, VI, VII) ; kolit skoru daha düşük ve serum IL-10 düzeyi daha yüksek olup bu fark anlamlıydı. Bu eğilim MKH ilaveten steroid kullanımında biraz daha belirginleşmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturacak kadar aşıkâr değildi. Artmış IL-10 düzeyleri MKH'in TH2 ve özellikle TH3 ekspresyonunu artırması ile ilişkilendirilebilir. Steroidin sayısız antiinflamatuvar ve immunsupresif etkisi bulunmaktadır. Bunların başlıcaları proinflamatuvar sitokinlerin, adhezyon moleküllerin, lökotrienlerin, elastazın salınmasındaki inhibisyonudur. MKH ile birlikte anlamlı bir etki artışı oluşmasının nedeni lenfosit apoptozisini artırması, antijen sunan hücrelerdeki inhibisyonu ve bu sayede CD4⁺ TH aktivasyonunu bloke etmesi olabilir ancak bu konuda yeni çalışmaların yapılması uygun olacaktır.

Sonuç olarak; MKH ile ilgili; etki mekanizmaları, güvenilirlikleri ve yan etkilerini araştıran daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır, ancak MKH kullanımının mevcut tedavilere dirençli Crohn hastalarında ileride önemli bir alternatif olabileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stem cells: Nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19: 180-192.
2. Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood* 2001; 98: 2396-2402
3. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641-650.
4. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 3213-3218.
5. Derkx B, Taminiau J, Radema S, Stronkhorst A, Wortel C, Tytgat G, van Deventer S. Tumour necrosis factor antibody treatment in Crohn's disease. *Lancet* 1993; 342:173-174.
6. Devine SM, Cobbs C, Jennings M, Bartholomew A, Hoffman R. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusions into nonhuman primates. *Blood* 2003; 101: 2009-3001.
7. Fedorak RW, Empley LR, Walker K. Verapamil alters eicosanoid synthesis and accelerates healing during experimental colitis in rats. *Gastroenterology* 1992; 102: 1229-1235.
8. González MA, Gonzalez-Rey E, Rico L, Büscher D, Delgado M. Adipose-derived mesenchymal stem cells alleviate experimental colitis by inhibiting inflammatory and autoimmune responses. *Gastroenterology* 2009; 136: 978-989.
9. Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut* 2009; 58: 929-939.
10. Helm GA, Gazit Z. Future uses of mesenchymal stem cells in spine surgery. *Neurosurg Focus* 2005; 19:E13.
11. Irvine EJ, Farrokhyar F, Swarbrick ET. A critical review of epidemiological studies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 2-15.
12. Kemp KC, Hows J, Donaldson C. Bonemarrow-derived mesenchymal stem cells. *Leuk Lymphoma* 2005; 46: 1531-1544.
13. Krabbe C, Zimmer J, Meyer M. Neural transdifferentiation of mesenchymal stem cells-a critical review. *APMIS* 2005; 113:831-844.
14. Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *Journal of Internal Medicine* 2007; 262: 509-525.
15. MacDermott RP. Progress in understanding the mechanisms of action of 5-aminosalicylic acid. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3343-3345.
16. Mary JY, Modigliani R. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: A prospective multicentre study. *Groupe d'Etudes Therapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID)*. *Gut* 1989; 30: 983-989.
17. Misiewicz JJ, Lond MB. Controlled trial of sulphasalazine in maintenance therapy for ulcerative colitis. *Lancet* 1965; 2: 185.
18. Moore KL. The developing human: Clinically oriented embryology. In: Moore KL (ed). *The Developing Human*. WB Saunders, Philadelphia, London, 4th ed., 1988.
19. Munkholm P, Langholz E, Davidsen M, Binder V. Frequency of glucocorticoid resistance and dependency in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35: 360-362.
20. Munkholm P. Crohn's disease—occurrence, course and prognosis: An epidemiologic cohort-study. *Dan Med Bull* 1997; 44: 287-302.
21. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147.
22. Rao MS, Mattson MP. Stem cells and aging: expanding the possibilities. *Mech Ageing Dev* 2001; 122: 713-734.
23. Sands BE. Crohn's Disease. In: Feldman M. (ed). *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, 8th ed. Saunders, 2006; pp 2459-2498.
24. Sands BE. Novel therapies for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28: 323-351.
25. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis: A randomized study. *N Engl J Med* 1987; 317: 1625-1629.
26. Scotinotis I, Rubesin SE, Ginsberg GG. Imaging modalities in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 1999; 28:391-421.
27. Su C, Lichtenstein GR. Ulcerative Colitis. In: Feldman M (ed). *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*, 8th ed. Saunders, 2006; pp 2499-2548.
28. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in ulcerative colitis: Final report on a therapeutic trial. *BMJ* 1955; 2: 1041-1048.
29. Uccelli A, Zappia E, Benvenuto F, Frassoni F, Mancardi G. Stem cells in inflammatory demyelinating disorders: a dual role for immunosuppression and neuroprotection. *Expert Opin Biol Ther* 2006; 6:17-22.