

Ortopedide Sitokin Kullanımı

ORTOPEDİDE GÜNCEL GELİŞMELER:

İYİSİYLE KÖTÜSÜYLE SİTOKİNLER

Dr. Tahsin Beyzadeođlu

Ortopedi ve Travmatoloji Uzmanı, İstanbul

Sitokin Nedir?

Sitokinler, Yunanca Cyto (hücre) ve Kinos (hareket) kelimelerinin birleşiminden oluşan, en basit tanımıyla hücrelere sinyal taşıyan ve hücrelerin birbiriyle iletişim kurmasını sağlayan küçük protein molekülleridir **(1)**. İlk kez 60'lı yıllarda Barry Bloom ve John David isimli bilim adamları tarafından, ayrı laboratuvarlarda yürütölen çalışmalarla tanımlanmışlardır **(2)(3)**. Canlıdaki farklı embriyolojik kökenden olan pek çok hücre tarafından üretilebilirler. Tüm çekirdeği olan hücreler (özellikle endo/epitelial) ve makrofajlar potansiyel Sitokin üreticileridir **(4)**. Golgi cisimciğinde üretilip mediatör olarak salınırlar. İşlevleri açısından bazıları hormon gibi davrandığından; immünologlarla, biyokimyacılar arasında bazı sitokinlerin hormon grubunda sınıflandırılması konusunda tartışma süregelmektedir.

Sitokinlerin Sınıflaması ve Etkileri:

Sitokinler ve özellikle hücredeki reseptörleri hala detaylı şekilde araştırılan ve her gün yeni gelişmelerin bildirildiği konulardır. Sınıflamasında tam bir kargaşa mevcuttur. Mesela İnterlökinler (IL) bulunma sırasına göre sıralanmışlardır ki bugün için 35 adet IL tanımlanmıştır. Fonksiyonlarına (Tümör Nekrozitan Faktör = TNF, Granülosit Koloni-Stimölan Faktör = GCSF), primer hücre menşesine (Monokin = Monosit Derive, Lemfokin = Lemfosit Derive) göre de isimlendirilenler mevcuttur. Popöler konulardan olan Büyüme Faktörleri de (TGF- β , BMP2-15, EGF, PDGF, IGF-1, IGF-2, NGF, aFGF, bFGF, Neurolökin, Amfiregulin, HGF vs.) aslında birer Sitokindir. IL ve İnterferon (IFN) gibi Sitokinlerin immünomodölatör etkileri varken, Eritropoetin ve Trombopoetin gibi Sitokinlerin tamamen farklı, immünolojik olmayan fonksiyonları mevcuttur. Bazları antikorlara bağlanıp etkilerini (zaman zaman ilaçların da biyoyararlanımını) azaltabilirler. *Invivo* olarak bir çok

faktör (hücre-hücre teması, immün kompleks = otoantikorlar, komplemanlar, bakteriler - virüsler veya yıkım ürünleri, reaktif oksijen ve nitrojen mediatörleri, travma, stres, iskemi, radyasyon, ultraviyole, ekstrasellüler matriks bileşenleri gibi) Sitokinlerin salgılanmasına neden olabilir **(5)**. Sitokinler akut ve kronik inflamasyonda rol oynayan potansiyel ajanlardır ve otoimmünite sisteminin önemli bir parçasıdır.

Akut İnflamasyonda Sitokinler:

Akut inflamasyonun her aşamasında Sitokinler, immün cevabın oluşmasını sağlayarak rol oynarlar. Nötrofiller, Natural Killer Hücreler, Makrofajlar, Mastositler, Eozinofiller; doku yaralanması olduğu anda Sitokin üretmeye ve salgılamaya başlarlar. Sitokinler de Lökositleri ve Endotel hücrelerini, mikroba veya kimyasal uyarana karşı harekete geçirerek, ortama reaktif oksijen mediatörlerinin, nitrik oksitin, vazoaktif aminlerin, nöropeptidlerin, kinin ve arasıdonik asit derivelerinin, Prostaglandinlerin, Lökotrienlerin salınmasını sağlarlar. Özellikle IL-1, TNF- α ve IL-6 akut faz cevabının oluşmasında etkili Sitokinlerdir.

Kronik İnflamasyonda Sitokinler:

İnflamasyonun geç döneminde Sitokinlerin negatif etki yapmaya başladığı gösterilmiştir. Mesela IL-2, IL-7, IL-15'in ortamdaki çekilmesiyle apoptozun yani hücre ölümünün başladığı, TNF-R1 ile hücre ölümünün arttığı gösterilmiştir. Sitokinler inflamasyonun her aşamasında, statik - lineer olmadan dinamik - dengesel bir şekilde rol oynarlar. Ancak romatolojik hastalık gibi immün sistemin bozulduğu durumlarda tam tersi bir davranışla, kronik inflamasyona yol açabilirler. Ayrıca akut inflamasyondan sonraki dönemde Sitokinlerin T-hücrelerini aktive ederek, artık lokal bir antijen, yaralanma unsuru kalmasa bile inflamasyonu sürdürmeye çalıştığı ve kronikleşmesine yol açabileceği de gösterilmiştir **(6)**.

İyi ve Kötü Sitokin Var mı? (IL-1'e karşı IL-1Ra, IL-4, IL-10:)

Bazı sitokinlerin osteoartriti de içerecek şekilde pek çok dejeneratif ve inflamatuvar hastalığın tetikleyicilerinden olduğu ve bunları inhibe edebilecek maddelerin tedavide kullanılabileceği, 80'li yılların başından beri araştırılmaktadır **(7)**. Özellikle IL-1'in dejeneratif süreçte ana mediatörlerden olduğunun ve pivot etkisinin gösterilmesiyle, IL-1'i inhibe edecek maddelerin elde edilerek biyolojik tedavi yöntemleri geliştirilmesi

konusunda pek çok çalışma yapılmıştır **(8)(9)(10)(11)**. Her Sitokinin hücre yüzeyinde eşleştiği bir reseptörü vardır. IL-1'in yüzey reseptör antagonisti olan IL-1Ra da yine Sitokin olarak canlı serumunda mevcuttur. IL-1'in biyolojik aktivitelerini ortadan kaldırma; Tip I Sitokinler olan IL-4, IL-10, IL-13'ü inhibitör olarak kullanmak veya IL-1Ra sentezini arttırmak veya her ikisini birden yapmakla mümkün olmaktadır. Arend ve ark.'ları, teknik olarak oldukça karışık bir laboratuvar süreci isteyen ve pahalı olan bir yöntemle, monositlerde IL-1Ra sentezini arttırmak için IgG stimülasyonunu kullanmışlardır **(12)(13)(14)**. IL-1Ra'yı gen transferi ile elde etmek mümkündür ve Rekombinant IL-1Ra, Romatoid Artrit tedavisi için FDA tarafından onaylanarak Kineret jenerik ismiyle piyasaya sürülmüştür. Bu molekülün köpeklerde, tavşanlarda ve atlarda, deneysel Osteoartrit gelişmesini inhibe ettiği gösterilmiştir **(15)(16)(17)**. IL-1Ra'nın sinir kök basısına bağlı ağrı ve inflamasyonu giderdiği konusunda da yayınlar mevcuttur **(11)(18)(19)(20)(21)(22)**.

ORTHOKINE® (Autologous Conditioned Serum = ACS):

2003 yılında yapılan bir yayında, Krom Sülfat ile kaplı cam tanecikleri bulunan bir tüp içinde, etüv ortamında bekletilen kandan santrifüj edilerek elde edilen serumda, yüksek oranlarda IL-1Ra (140 kat fazla), IL-4 ve IL-10 ile büyüme faktörleri elde edilebildiği gösterilmiştir **(23)**. Daha sonrasında ORTHOKINE® jenerik ismiyle piyasaya çıkarılan bu hazır tüplerle yapılan deneysel ve klinik çalışmalar, her geçen gün artmıştır.

Wright-Carpenter ve ark.'ları yaptıkları kontrol gruplu bir deneysel ve onu izleyen sporcularda yapılmış Actovegin/Traumeel ile karşılaştırmalı klinik ve radyolojik çalışmada, ACS enjeksiyonları sonrası kas kontüzyonlarının daha kısa sürede iyileştiklerini göstermiştir. İyileştirmeyi hızlandırıcı etkinin, ACS içinde artmış olarak bulunan ve dejenerasyonu önleyip rejeneratif süreçte rol oynayan IL-1Ra ile HGF (Hepatocyte Growth Factor), TGF- β 1 (Transforming Growth Factor β 1) ve FGF-2'ye (Fibroblast Growth Factor) bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir **(24)(25)**. IL-1Ra'nın inflamatuvar Sitokin olan IL-1 α 'yı kompetatif inhibisyonunun miyojenik diferensiasyonu arttırdığı gösterilmiştir **(26)**.

Orthokine® = ACS ile yapılan diğer klinik çalışmalar arasında lomber radiküler ağrı tedavisi için yapılanlar mevcuttur **(21)(22)**. Triamnisolon ile karşılaştırılmalı olarak yapılan çalışmada, ACS klinik olarak ağrıyı azaltmada kortizondan üstün bulunmuştur **(27)**.

Aşıl tendonunun iyileşmesini değerlendiren karşılaştırmalı 2 deneysel hayvan çalışmasında, ACS'in içerdiği Büyüme Faktörleri ile belirgin olarak iyileşmede etkili olduğu gösterilmiştir **(28)(29)**.

Orthokine® = ACS'in Ön Çapraz Bağ (ÖÇB) cerrahisinde kullanımı ile ilgili 2 çalışma mevcuttur. IL-1β'nin ÖÇB cerrahisi sonrası tünel genişlemesinde önemli olumsuz etkisi olduğu bilinmektedir **(30)(31)(32)**. Kontrollü olarak yapılan bir klinik çalışmada ÖÇB cerrahisi sonrası eklem içi ACS uygulanan grupta IL-1β'nin belirgin olarak azaldığı ve yine başka bir randomize kontrol gruplu çalışmada, ÖÇB cerrahisi sonrası ACS uygulanan hastalarda tünel genişlemesinin belirgin olarak daha az görüldüğü gösterilmiştir **(33)(34)**.

Literatürde Orthokine® = ACS ile ilgili en fazla yapılan çalışma Osteoartrit'de kullanımı ile ilgilidir. Plasebo kontrollü olarak atlar üzerinde yapılan bir çalışmada, Osteoartrit için Orthokine® = ACS'in eklem içi uygulandığı grupta belirgin klinik ve histolojik iyileşme gösterilmiştir **(35)**. Osteoartrit için Plasebo kontrollü klinik bir çalışmada ACS uygulanan hastaların KOOS parametrelerinde istatistiksel olarak belirgin düzelme gösterilmiştir **(36)**. Diz Osteoartriti olan hastalarda, Hyaluronik Asit ve Salin ile prospektif, randomize, kontrollü olarak yapılan ve Osteoarthritis and Cartilage dergisinde yayınlanan bir çalışmada, Orthokine® = ACS uygulamasının, semptomları gidermede diğerlerinden belirgin olarak üstün olduğu bildirilmiş ama hastalığı modifiye edici veya kondroprotektif veya kondrorejeneratif olup olmadığı ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerektiği vurgulanmıştır **(37)**. Tüm bu bilgilere rağmen yayınlanmış iki derlemede, Osteoartrit'de Orthokine®= ACS kullanımının güvenli bir metot olduğu, ancak daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç duyulduğu bildirilmektedir **(38)(39)**.

Özetle Orthokine® = ACS'in, kas ve tendon yaralanmalarında, spinal sinir kök basılarında, ÖÇB cerrahisi sonrası ve Osteoartrit'de kullanımı önerilmektedir **(40)**.

ORTHOKINE® = ACS için Kişisel Görüş:

Uygun olduğunu düşündüğüm endikasyonlarda 8 aydır Orthokine uygulamaları yapmaktayım. Uygulama sıklığına göre sırasıyla hasta gruplarım: 1) Konservatif tedavi etmeye çalıştığım dejeneratif eklem

kıkırdak lezyonları ve diz kemik iliği ödemi 2) Konservatif tedavi etmeye çalıştığım insertional tendinopatiler 3) ÖÇB cerrahisi sonrası 4) Elit profesyonel sporcuda Grade 2-3 kas yaralanmaları olarak özetlenebilir. Halen özellikle PRP ile karşılaştırmalı çalışmalarım sürmekle beraber, minimum yan etkiyle (otolog), kısa dönemde semptomatik olarak, yüksek başarıya sahip olduğunu düşünüyorum. Yine de özellikle PRP ile mukayeseli çalışmalarımın orta ve uzun dönemdeki sonuçlarını merakla bekliyorum.

KAYNAKLAR:

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Cytokine>
2. Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. *Science*. 1966; 153:80-2
3. Ward PA, Remold HG, David JR. Leukotactic factor produced by sensitized lymphocytes. *Science*. 1969;163:1079-81.
4. Boyle, J J, Macrophage activation in atherosclerosis: pathogenesis and pharmacology of plaque rupture. *Curr Vasc Pharmacol* 2005; 3: 63-68.
5. McInnes IB, Chapter 23: Cytokines. In Kelley's Textbook of Rheumatology, 9th Ed, 2013, Saunders, USA.
6. Unutmaz D, Pileri P, Abrignani S, Antigen-independent activation of naive and memory resting T cells by a cytokine combination. *J Exp Med* 1994; 180:1159-66.
7. Dinarello CA, Interleukin-1. *Rev Infect Dis* 1984; 6: 51-95.
8. Dinarello CA, Thompson RC. Blocking IL-1: interleukin 1 receptor antagonist in vivo and in vitro. *Immunol Today* 1991; 12: 404-10.
9. Fernandes J, Tardif G, Martel-Pelletier J, Lascau-Coman V, Dupuis M, Moldovan F et al. In vivo transfer of interleukin-1 receptor antagonist gene in osteoarthritic rabbit knee joints: prevention of osteoarthritis progression. *Am J Pathol* 1999; 154:1159-69.
10. Frisbie DD, McIlwraith CW. Evaluation of gene therapy as a treatment for equine traumatic arthritis and osteoarthritis. *Clin Orthop* 2000: S273-87.
11. Goldring MB. Anticytokine therapy for osteoarthritis. *Expert Opin Biol Ther* 2001; 1: 817-29.

12. Arend WP, Joslin FG, Massoni RJ. Effects of immune complexes on production by human monocytes of interleukin 1 or an interleukin 1 inhibitor. *J Immunol* 1985; 134: 3868-75.
13. Arend WP, Leung DY. IgG induction of IL-1 receptor antagonist production by human monocytes. *Immunol Rev* 1994; 139: 71-8.
14. Arend WP, Smith MFJ, Janson RW, Joslin FG. IL-1 receptor antagonist and IL-1 beta production in human monocytes are regulated differently. *J Immunol* 1991; 147: 1530-6.
15. Pelletier JP, Caron JP, Evans C, Robbins PD, Georgescu HI, Jovanovic D et al. In vivo suppression of early experimental osteoarthritis by interleukin- 1 receptor antagonist using gene therapy. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1012-9.
16. Caron JP, Fernandes JC, J. M-P, Tardif G, Mineau F, Geng C et al. Chondroprotective effect of intraarticular injections of interleukin-1 receptor antagonist in experimental osteoarthritis. Suppression of collagenase-1 expression. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1535-44.
17. Frisbie DD, Ghivizzani SC, Robbins PD, Evans CH, Mcllwraith CW. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Ther* 2002; 9: 12-20.
18. Frisbie DD, Mcllwraith CW. Evaluation of gene therapy as a treatment for equine traumatic arthritis and osteoarthritis. *Clin Orthop* 2000: S273-87.
19. Evans CH, Ghivizzani SC, Herndon JH, Wasko MC, Reinecke J, Wehling P et al. Clinical trials in the gene therapy of arthritis. *Clin Orthop* 2000: S300-7.
20. Kang R, Ghivizzani SC, Herndon JH, Robbins PD, Evans CH. Gene therapy for arthritis: principles and clinical practice. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 533-7.
21. Wehling P, Cleveland SJ, Heininger K, Schulitz KP, Reinecke J, Evans CH. Neurophysiologic changes in lumbar nerve root inflammation in the rat after treatment with cytokine inhibitors. Evidence for a role of interleukin-1. *Spine* 1996; 21: 931-5.
22. Wehling P, Reinecke J, Meijer H. Epidural Injections with Interleukin-1-Receptor-Antagonist-Protein (IRAP) in Lumbar Radicular Compression: Pathophysiological Background, Safety and Clinical Results, International Society for the Study of the

Lumbar Spine, Brüssel, 1998. International Society for the Study of the Lumbar Spine.

23. Meijer H, Reinecke J, Becker C, Tholen G, Wehling P. The production of anti-inflammatory cytokines in whole blood by physico-chemical induction. *Inflamm Res*. 2003 Oct;52(10):404-7.
24. Wright-Carpenter T, Opolon P, Appell HJ, Meijer H, Wehling P, Mir LM. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model. *Int J Sports Med*. 2004; 25:582-7.
25. Wright-Carpenter T, Klein P, Schäferhoff P, Appell HJ, Mir LM, Wehling P. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: a pilot study on sportsmen with muscle strains. *Int J Sports Med*. 2004;25:588-93.
26. Harrington MA, Daub R, Song A, Stasek J, Garcia JG. Interleukin 1alpha mediated inhibition of myogenic terminal differentiation: increased sensitivity of Ha-ras transformed cultures. *Cell Growth Differ*. 1992;3:241-8.
27. Becker C, Heidersdorf S, Drewlo S, de Rodriguez SZ, Krämer J, Willburger RE. Efficacy of epidural perineural injections with autologous conditioned serum for lumbar radicular compression: an investigator-initiated, prospective, double-blind, reference-controlled study. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2007;32:1803-8.
28. Heisterbach PE, Todorov A, Flückiger R, Evans CH, Majewski M. Effect of BMP-12, TGF- β 1 and autologous conditioned serum on growth factor expression in Achilles tendon healing. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20:1907-14.
29. Majewski M, Ochsner PE, Liu F, Flückiger R, Evans CH. Accelerated healing of the rat Achilles tendon in response to autologous conditioned serum. *Am J Sports Med*. 2009;37:2117-25.
30. Dinarello CA. The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J*. 1994;8:1314-25.
31. Höher J, Möller HD, Fu FH. Bone tunnel enlargement after anterior cruciate ligament reconstruction: fact or fiction? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1998;6:231-40.
32. Irie K, Uchiyama E, Iwaso H. Intraarticular inflammatory cytokines in acute anterior cruciate ligament injured knee. *Knee*. 2003;10:93-6.

33. Darabos N, Hundric-Haspl Z, Haspl M, Markotic A, Darabos A, Moser C. Correlation between synovial fluid and serum IL-1beta levels after ACL surgery-preliminary report. *Int Orthop*. 2009;33(2):413-8.
34. Darabos N, Haspl M, Moser C, Darabos A, Bartolek D, Groenemeyer D. Intraarticular application of autologous conditioned serum (ACS) reduces bone tunnel widening after ACL reconstructive surgery in a randomized controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011;19:S1:36-46.
35. Frisbie DD, Kawcak CE, Werpy NM, Park RD, McIlwraith CW. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *Am J Vet Res*. 2007;68:290-6.
36. Yang KG, Raijmakers NJ, van Arkel ER, Caron JJ, Rijk PC, Willems WJ, Zijl JA, Verbout AJ, Dhert WJ, Saris DB. Autologous interleukin-1 receptor antagonist improves function and symptoms in osteoarthritis when compared to placebo in a prospective randomized controlled trial. *Osteoarthritis Cartilage*. 2008;16:498-505.
37. Baltzer AW, Moser C, Jansen SA, Krauspe R. Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009;17(2):152-60.
38. Fox BA, Stephens MM. Treatment of knee osteoarthritis with Orthokine-derived autologous conditioned serum. *Expert Rev Clin Immunol*. 2010 May;6(3):335-45.
39. Frizziero A, Giannotti E, Oliva F, Masiero S, Maffulli N. Autologous conditioned serum for the treatment of osteoarthritis and other possible applications in musculoskeletal disorders. *Br Med Bull*. 2012 Jul 4. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22763153.
40. Wehling P, Moser C, Frisbie D, McIlwraith CW, Kawcak CE, Krauspe R, Reinecke JA. Autologous conditioned serum in the treatment of orthopedic diseases: the orthokine therapy. *BioDrugs*. 2007;21:323-32.