

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Anabilim Dalı Başkanı
Prof.Dr.Oktay İMECİK

RATLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER FİBROZİSİNDE
TALİDOMİDİN ANTIİNFLAMATUAR VE ANTİFİBROTİK ETKİSİ

Dr.Tuğba ÇETİN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı
Prof.Dr.Adil ZAMANI

KONYA -2011

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----------|
| İÇİNDEKİLER | II |
| KISALTMALAR..... | IV |
| TABLO DİZİNİ..... | V |
| ŞEKİL DİZİNİ..... | VI |
| RESİM DİZİNİ..... | VII |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 3 |
| 2.1 İDİYOPATİK İNTERSTİSYEL PNÖMONİ..... | 3 |
| 2.2.İDİYOPATİK PULMONER FİBROZİS..... | 4 |
| 2.2.1 EPİDEMİYOLOJİ..... | 5 |
| 2.2.2. ETİYOLOJİ..... | 5 |
| 2.2.3. PATOGENEZ..... | 5 |
| 2.2.3.1 Sitokinler..... | 6 |
| 2.2.3.2. İnterlökin-6 (IL-6)..... | 11 |
| 2.2.3.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta (TGF-β)..... | 15 |
| 2.2.4. PATOLOJİK ÖZELLİKLER..... | 19 |
| 2.2.5. TANI..... | 20 |
| 2.2.5.1. Anamnez ve Klinik Belirtiler..... | 20 |
| 2.2.5.2. Laboratuvar ve Serolojik Testler..... | 21 |
| 2.2.5.3. Görüntüleme Yöntemleri..... | 21 |
| 2.2.5.4. Solunum Fonksiyon Testleri..... | 23 |
| 2.2.5.5. Bronkoalveoler Lavaj..... | 24 |
| 2.2.5.6. Akciğer Biyopsisi..... | 25 |
| 2.2.6.TEDAVİ..... | 27 |
| 2.2.6.1.Kortikosteroidler..... | 28 |
| 2.2.6.2.Sitotoksik Ajanlar..... | 29 |
| 2.2.6.3.Antifibrotik Ajanlar..... | 30 |
| 2.2.6.4.Akciğer Transplantasyonu..... | 35 |
| 3.TALİDOMİD..... | 35 |
| 3.1.Farmakoloji..... | 36 |
| 3.2.Farmakokinetik | 37 |
| 3.3.Metabolizma..... | 37 |
| 3.4.Etki Mekanizması..... | 39 |
| 3.5.İlaç Etkileşimi..... | 38 |
| 3.6.Talidomidin Kullanıldığı Hastalıklar..... | 38 |
| 3.7.Yan Etkiler..... | 39 |
| 4. PULMONER FİBROZİS VE HAYVAN MODELLERİ..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 4.1.Bleomisin..... | 39 |
| 4.2.Bleomisinli Hayvan Modelleri..... | 39 |
| 4.3.Bleomisinli Modellerde İlaç Etkileşim Çalışmaları..... | 42 |
| 4.4.Ashcroft Skorlama Sistemi..... | 43 |
| 5.GEREÇ VE YÖNTEM..... | 45 |
| 5.1.Deney Hayvanları..... | 45 |
| 5.2.Deney Grupları..... | 46 |
| 5.3.Yapılan İşlemler..... | 46 |
| 5.4.Bronkoalveoler Lavaj (BAL)..... | 50 |
| 5.6.Histopatolojik İnceleme..... | 50 |
| 5.7.İmmünohistokimyasal İnceleme..... | 51 |
| 5.8.İstatistiksel analiz..... | 51 |
| 6. BULGULAR..... | 52 |
| 6.1.BAL'da Differansiyel Hücre Sayımı..... | 53 |
| 6.2.BAL sıvısında IL-6'nın ELİSA ile Değerlendirilmesi..... | 56 |
| 6.3.BAL sıvısında TGF-β1'in ELİSA ile değerlendirilmesi..... | 57 |
| 6.4.Histopatolojik değerlendirme..... | 58 |
| 6.5.İmmünohistokimyasal Sonuçlar..... | 63 |
| 7.TARTIŞMA ve SONUÇ..... | 68 |
| 8.ÖZET..... | 72 |
| 9.ABSRACT..... | 74 |
| 10.KAYNAKLAR..... | 75 |
| 11.TEŞEKKÜR..... | 84 |

KISALTMALAR

- İİP** :İdiyopatik İnterstisyel Pnömoniler
İPF:İdiyopatik Pulmoner Fibroz
NSİP:Nonspesifik İnterstisyel Pnömoni
AİP:Akut İnterstisyel Pnömoni
RB-İAH:Akut Respiratuar Bronşiolit ile Seyreden İnterstisyel Akciğer Hastalığı
DİP:Deskuamatif İnterstisyel pnömoni
KOP:Kriptojenik Organize Pnömoni
ATS/ERS: American Thoracic Society/ European Respiratory Society
BAL: Bronkoalveoler Lavaj
ECM: Ekstraselüler Matriks
TGF-β:Transforming Growth Factor-beta (Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta)
CTGF:Konnektive Doku Büyüme Faktörü
PDGF:Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü
İL: İnterlökin
TNF:Tumor Nekozis Faktör
IFN: İnterferon
DPAH: Diffüz Parankimal Akciğer Hastalığı
MHC: Major Histokompatibilite Kompleks
VEGF:Vasküler Endotelyal Growth Factor
FGF: Fibroblast Growth Factor
BLM:Bleomisin

TABLO DİZİNİ

Tablo-1: İdiyopatik İnterstisyel Pnömonilerin Klinik ve Histolojik sınıflaması

Tablo-2: Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının Sınıflaması

Tablo-3: Sitokinler ve Biyolojik aktiviteleri

Tablo-4: İdiyopatik Pulmoner Fibroziste Potansiyel Medikal Tedaviler

Tablo-5: Ashcroft Kriterleri

Tablo-6: BAL sıvısında IL-6'nın ELİSA ile değerlendirilmesi (ng/ml)

Tablo-7: BAL sıvısında TGF- β 1'in ELİSA ile değerlendirilmesi (ng/ml)

Tablo-8: Kontrol, bleomisin ve talidomid grupları Ashcroft fibrozis skorlaması.

Tablo-9: İmmünohistokimyasal olarak IL-6 sekrete eden hücrelerin sayısal ortalaması (A: sağ akciğer, B: sol akciğer).

Tablo-10: İmmünohistokimyasal olarak TGF- β 1 sekrete eden hücrelerin sayısal ortalaması (A: sağ akciğer, B: sol akciğer)

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil-1: İnterlökin-6'nın kristal yapısı

Şekil-2: IL-6'nın biyolojik aktiviteleri

Şekil-3: TGF-beta'nın kristal yapısı

Şekil-4: Normal ve premalign durumlarda TGF-β'nın hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi.

Şekil-5: Talidomidin kimyasal yapısı

Şekil-6: Talidomid deriveleri

Şekil-7: Bleomisin'in indüklediği fibrozisin gelişim süreci.

Şekil-8: Makrofaj sayılarının gruplara göre dağılımı (%).

Şekil-9: Nötrofil sayısının gruplara göre dağılımı (%).

Şekil-10: Lenfosit değerlerinin gruplara göre dağılımı(%).

Şekil-11: Eozinofil sayısının gruplara göre dağılımı (%).

Şekil-12: BAL IL-6 düzeyi (ng/ml) (p=0.455).

Şekil-13: BAL TGF-β1 düzeyi (ng/ml) (p=0.845).

Şekil-14: İmmünohistokimyasal incelemede IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücre sayılarının ortalaması.

Şekil-15: İmmünohistokimyasal incelemede TGF-β1 sekrete eden inflamatuvar hücre sayılarının ortalaması.

RESİM DİZİNİ

Resim-1:YRCT: İdiyopatik Pulmoner Fibrozis

Resim-2: BAL örneği (interstisyel akciğer hastalığı)

Resim-3: Usual interstisyel pnömoni

Resim-4: Boyun ön bölgesi orta hat kesisi

Resim-5: Cilt ve cilt altı dokuların klemp yardımı ile açılması

Resim-6: İntratrakeal instilasyon (insülin enjektörü ile trakea içine bleomisin uygulaması)

Resim-7: Kesi bölgesinin sütür ile kapatılması

Resim-8: İnsülin enjektörünün ucunda intraket

Resim-9: Talidomid süspansiyonunun gavaj ile verilmesi

Resim-10: BAL işlemi

Resim-11: Talidomid grubundan 22. günde ölen ratın akciğerin morfolojik görünümü

Resim-12: Bleomisin grubundan 16. günde ölen ratın akciğer morfolojik görünümü

Resim-13: Bleomisin grubu, BAL (PAPX40).

Resim-14: Bleomisin grubu, BAL (PAPX40).

Resim-15: Talidomid grubu BAL (PAPX40).

Resim-16: Kontrol grubu peribronşial hafif lenfositik infiltrasyon (H&EX10).

Resim-17: Bleomisin grubu grade 2'ye uyan kollabe fibrotik akciğer dokusu, alveol duvarında kalınlaşma ve lümende makrofaj kümeleri, lenfositik infiltrasyon ve histiyosit kümeleri (H&EX10)

Resim-18: Bleomisin grubu, aspirasyona sekonder pnömonik konsolidasyon, abseleşme ve grade 3'e uyan fibrotik alan (H&E X5).

Resim-19:Talidomid grubu amfizem ve fibrotik alan (H&EX5)

Resim-20: Talidomid grubu yabancı cisim reaksiyonu (H&EX20).

Resim-21:Akciğer doku kesitlerinin IL-6 immünohistokimyasal incelemesi

Resim-22:Akciğer doku kesitlerinin TGF-β1 immünohistokimyasal incelemesi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İdiopatik pulmoner fibrozis (İPF) kronik bir hastalıktır, etiyolojisi bilinmemekte ve sıklıkla progresif olarak malign hastalıklara benzer şekilde ve ölümcül seyretmektedir. Histolojik karakteri olan usual interstisyel pnömoni (UIP) parankimde remodeling ile fibrotik alanlar ve 'bal peteği' görünümü içermektedir. Çoğu hasta tanı konulduğunda ileri evdedir.

İPF tedavisi sınırlıdır; klinik yaklaşım daha çok sağ kalp yetmezliği ve infeksiyon gibi komplikasyonların tedavisi şeklinde olup, destekleyici niteliktedir. Bazı hastalarda prednizon gibi antiinflamatuvar ilaçlar çok az bir semptomatik rahatlama sağlar ancak fibrozise ilerleyişine etkisi açık değildir. Siklofosamid, azotiopürin gibi sitotoksik ilaçların ise akciğer fonksiyonlarında düzelme, yaşam kalitesinde artma gibi etkileri belkide yan etkilerinin fazlalığından dolayı gösterilememiştir. Medikal tedavi yöntemlerinin yeterli olmaması nedeni ile gündeme gelen akciğer transplantasyonu ise çok kısıtlı bazı hasta gruplarında uygulanabilmektedir.

Sonuç olarak İPF progresyon gösteren sinsi ve fetal seyirli bir hastalıktır. Spontan remisyon görülmez. İnflamasyonun akciğer hasarı ve fibrozise yol açtığı düşüncesi ile inflamatuvar ve immün yanıtı baskılamak ve yok etmek tedavinin amacını oluşturur. Fakat İPF'li hastalarda yaşam kalitesini ve sağ kalımı artıracak herhangi bir tedavi şekli yeterli klinik verilerle henüz gösterilememiştir.

Son zamanlarda İPF'nin altında yatan mekanizmaların araştırılmasında gelişmeler olmakta ve etkili tedavi için potansiyel hedefler belirlenmeye çalışılmaktadır. Deneysel aşamada olan çok sayıda antifibrotik ilaç ile prelinik çalışma yapılmaktadır. Ancak bu çalışmaların klinik pratikte uygulanması henüz yeterli aşamada değildir.

Talidomid ilk olarak 1954'de Almanyada üretilmiş ve sedatif, trankilizan ve sabah bulantısı için antiemetik olarak kullanılmıştır. Fakat geri dönüşümsüz nörit potansiyeli nedeniyle o dönemde FDA onayını alamamıştır .Tek doz talidomid alan gebelerin bebeklerinde ekstremitte anomalileri (fokomeli, dismeli, ameli, kemik hipoplastisi) ve diğer konjenital defektlerin (kulak, kalp, iç organ) ilk bildirimlerinden sonra Avrupa ve Kanada'da 1961-1962 yıllarında ilacın satılması yasaklanmıştır.

Eritema nodozum leprozum lezyonlarında etkin bir tedavi sağladığı için 1965’de ilaç yeniden gündeme gelmiş ve 1998’de bu endikasyon için FDA onayı almıştır. 1994’de D’Amato ve ark. talidomid ile ilişki malformasyonların vaskülogenezisteki ilaç etkileşimi sonucu oluştuğunu göstermiş ve bunun solid tümörlerdeki kan damarlarının büyümesini benzer mekanizma ile engelleyebileceğini öne sürmüşlerdir.

Antiinflamatuvar, immünmodulatör ve antianjiyogenik ajan olarak talidomid günümüzde bir çok hastalığın tedavisinde 2-8 mg/kg/gün dozunda tedavi protokollerine girmiştir. Talidomid, TGF- β 1, IL-6 gibi antiinflamatuvar mediatörlerin üretimini, anjiyogenezi, hücreyel adezyon moleküllerinin salınımını baskılayan ve hem proapoptotik hemde antiapoptotik özellikleri olan yeni bir immunmodulatör ajandır. Bu etkilerinden dolayı, Behçet hastalığı, Crohn hastalığı, sarkoidoz, SLE’nin cilt bulguları, multipl myeloma ve solid tümörler gibi immun sistemle ilişkili hastalıklarda kullanılmaktadır.

Fibroblastik aktivitenin temel indükleyici faktörlerinden birisi olan TGF- β 1, fibroblastlardan, in vivo ve in vitro olarak, kollajen gibi ekstraselüler matriks (ECM) yapıtaşlarının üretimini artırmaktadır. Aktive fibroblastlar (miyofibroblastlar), ECM yapıtaşlarının sentezi yanında, IL-6, TGF- β 1, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve kollajen doku büyüme faktörü (CTGF) gibi pro-fibrotik sitokin ve büyüme faktörlerini de üretirler. Böylece, fibroblastlar bir kez aktive olduktan sonra otokrin özellik kazanmakta ve aktivasyon için inflamatuvar hücre uyarımına gereksinimleri kalmamaktadır.

Biz de bu çalışma ile deneysel olarak talidomidin İPF patogenezindeki inflamasyonu ve sonrasında gelişen fibrozisi tedavi edici etkinliğini göstermeye çalıştık. Bu nedenle bleomisinle oluşturduğumuz deneysel akciğer fibrozisi modelinde, antifibrotik ilaç etkinliğinin tedavi edici olduğu dönemlerde, talidomidi diğer çalışmalardan farklı olarak oral yolla uygulayarak antiinflamatuvar ve aynı zamanda terapötik etkinliğini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İDİOPATİK İNTERSTİSYEL PNÖMONİ

İdiopatik interstisyel pnömoniler (İİP) akciğer parankiminin inflamasyon ve fibrozisi ile seyreden interstisyel akciğer hastalıkları olarak da bilinen diffüz parankimal akciğer hastalıklarının bir grubudur. Bilinmeyen bir nedenle akciğer parankiminin değişik derecede inflamasyon ve fibrozis ile hasarlanması sonucu oluşmaktadır. Epitel ve endotelial bazal membranlar arasındaki alanı kapsayan interstisyum primer hasar bölgesi olmakla birlikte alveoller periferik hava yolları endotelial ve epitelial alandaki damarları da etkilemektedir (1-3). İİP Heterojen hastalıklardır. Bunlar;

- İdiopatik pulmoner fibrozis (İPF),
- Nonspesifik interstisyel pnömoni(NSİP),
- Akut interstisyel pnömoni(AIP),
- Respiratuar bronşiolit ile seyreden interstisyel akciğer hastalığı(RB-İAH),
- Deskuamatif interstisyel pnömoni(DIP),
- Lenfoid interstisyel pnömoni(LİP),
- Kriptojenik organize pnömoni(KOP),

American Thoracic Society/European Respiratory Society (ATS/ERS) 2001 yılında idiyopatik interstisyel pnömoniler için yeni bir sınıflama önermiştir. Bu sınıflama histolojik ve klinik özelliklere göre yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo-1. İdiopatik İnterstisyel Pnömonilerin Klinik ve Histolojik sınıflaması

| Histolojik patern | Klinik tanı |
|----------------------------------|--|
| Usual interstisyel pnömoni | İdyopatik pulmoner fibroz- kriptojenik fibrozan alveolit |
| Nonspesifik interstisyel pnömoni | Nonspesifik interstisyel pnömoni |
| Organize pnömoni | Kriptojenik organize pnömoni |
| Diffüz alveolar hasar | Akut interstisyel pnömoni |
| Respiratuar bronşiyolit | Respiratuar bronşiyolit interstisyel akciğer hastalığı |
| Deskuamatif interstisyel pnömoni | Deskuamatif interstisyel pnömoni |
| Lenfositik interstisyel pnömoni | Lenfositik interstisyel pnömoni |

Yeni ATS/ERS sınıflaması İPF,NSİP,AİP,respirtuar bronşiolit interstisyel akciğer hastalığı (RB-İAH),DİP,LİP ve kriptojenik organize pnömoniye içermektedir. İPF tanımı yalnızca histolojisi UİP olan olgular için kullanılmaktadır.LİP ise tekrar interstisyel pnömoniler arsına dahil edilmiştir (Tablo -2).

Tablo-2. Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının Sınıflaması

| |
|---|
| İlaç veya kollejen vasküler hastalık gibi bilinen nedenlere sekonder DPAH |
| Granümatöz DPAH (Sarkoidoz gibi) |
| Diğer DPAH (LAM, HX , eozinofilik pnömoni gibi) |
| İdyopatik interstisyel pnömoniler |
| İdyopatik pulmoner fibroz |
| İdyopatik pulmoner fibroz dışındaki İİP'ler (DİP, AİP, NSİP, RBİAH, KOP, LİP) |

(DPAH: Diffüz parankimal akciğer hastalıkları, LAM: Lenfajiyoleyomiyomatoz, HX: Langerhans hücreli histiositoz, DİP: Deskuamatif interstisyel pnömoni, AİP: Akut interstisyel pnömoni, NSİP: Nonspesifik interstisyel pnömoni, RBİAH: Respiratuar bronşiolit interstisyel akciğer hastalığı, KOP: Kriptojenik organize pnömoni, LİP: Lenfositik interstisyel pnömoni)

2.2.İDİOPATİK PULMONER FİBROZİS

Uluslararası konsensus'a [ATS/ERS/ACCP (American College of Chest Physicians)] göre İPF; cerrahi akciğer biyopsilerinde (torakoskopik veya açık akciğer biyopsileri) UİP'nin histolojik görünümü olan ,akciğere sınırlı kronik fibrozan interstisyel pnömoninin spesifik bir formudur. Etiyolojisi bilinmemektedir. Cerrahi biyopside UİP tespit edildiğinde İPF'nin kesin tanısı için gerekli koşullar şunlardır.

1-İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve kollajen vasküler hastalıklar gibi interstisyel akciğer hastalığının diğer bilinen nedenlerinin olmaması.

2- Reskriptif pulmoner fonksiyon bozukluğu (sıklıkla FEV1/FVC oranında artma ile birlikte VC'de azalma) ve /veya gaz alışverişinde bozulma (istirahat ve egzersizde alveolo-arteriyel parsiyel oksijen basınç farkında (P(A-a)O₂) artma veya akciğer difüzyon kapasitesinde (DLCO) düşme

3-Konvansiyonel göğüs grafisinde veya toraksın yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografisinde (YRCT) İPF için tipik bulguların olması

Diğer tüm interstisyel akciğer hastalıklarında olduğu gibi klinikte dispne ve radyolojik olarakda diffüz retiküler görünüm ile karakterizedir (4).

2.2.1.EPIDEMİYOLOJİ

İdiopatik interstisyel akciğer hastalıkları içinde en sık görülen tipidir, tüm vakaların yaklaşık olarak %40 'oluşturur.Prevalans erkeklerde 100.000'de 20, kadınlarda 100.000'de 13 olarak hesaplanmıştır (5) .Hastalığın hem insidansı, hem de prevelansı yaşla birlikte artmaktadır.Çocuklarda görülmesi nadirdir.Kesin bir coğrafik dağılım göstermez.Bununla birlikte mesleksi ya da çevresel maruziyete bağlı olarak coğrafik bazı farklılıklar gözlenebilir (6) .

İrk ve etnik ayrımı yoktur.Ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 3.2-5 yıldır (2).

2.2.2. ETİYOLOJİ

Etiyolojisi bilinmemekte ancak birçok faktörün rol oynadığına dair bulgular vardır.Üzerinde en çok çalışılanlar kalıtsal duyarlılık ve immünolojik mekanizmalarla ortaya çıkan inflamasyon ve fibrozisdir.

Viral enfeksiyonlar; Bir çok virüsün İPF patogeneğinde rol oynadığı düşünülmüş, ancak viral etioloji için kesin bir kanıt bulunamamıştır (7).

Çevresel etmenler; spesifik çevresel ve mesleksi faktörlerle doğrudan ilişkili olmasa da, bazı epidemiyolojik çalışmalar solvent (8)ve toz (9) maruziyeti ile zayıf korelasyon olabileceğini düşündürmektedir.

Gastroözofageal reflü;

Genetik faktörler ;aile bireylerinde sık görülmesi hastalığın ortaya çıkmasında genetik faktörlerin önemli rolü olduğunu düşündürmektedir (10-11).

Aile hastalığı olan bazı hastalarda sürfaktan protein C geninde mutasyon olduğu gösterilmiştir (12).Bu mutasyonla patogenez arasında bir ilişkinin olup olmadığı çok net olmamakla birlikte bunun tanı ve tedavi açısından önemli olduğu açıktır(13). Ailesel hastalığı olmayanlarda ise genetik polimorfizm IL-1 reseptörleri , tümör nekroze edici faktör (TNF-alfa), IL-6 ve anjiotensin konverting enzim (ACE) düzeylerinde değişikliklere neden olur (14-15). Bazı hastalarda transforming büyüme faktörü β 1, (TGF- β 1) reseptör geninde de mutasyonlar tanımlanmıştır (16).

2.2.3.PATOGENEZ

İmmünolojik ve inflamatuvar etkiler, histolojik incelemelerde interstisyumda lenfositler, plazma hücrelerinin görülmesi nedeni ile İPF patogeneğinde inflamasyonun ve bunun sonucunda oluşan fibrozisin temel mekanizmalar olduğu varsayılır (16). Gerçekte günümüzde bu hipotezin muhtemelen doğru olmadığını gösteren çok sayıda kanıt vardır (17). Örneğin ,insan biyopsi örneklerinde ve deney

hayvanlarında alınan dokularda bağ dokusunun arttığı alanlardaki (UIP)'de inflamatuvar hücre birikiminin çok az olduğu ,diğer alanlarda ise hemen hiç olmadığı gösterilmiştir (18).

Bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısı hücre içeriği ve galyum 67 sintigrafisinde aktivite artışı gibi akciğer inflamasyonunu gösteren bir çok inceleme hastalığın prognozu ile bir korelasyon göstermemektedir (18).Ayrıca antiinflamatuvar tedavinin hastalığın gidişine hemen hiç etkisi yoktur.Diğer taraftan akciğer biyopsisinde fibrotik odakların yaygınlığı kısalımış yasam süresi ile doğrudan ilişkili bulunmuştur(19).

2.2.3.1. Sitokinler

Sitokinlerin aktiviteleri ilk kez 1926' da Zinsser ve Tamiya tarafından tanımlanmış, bunların lökositlerden salgılanan geniş dağılımlı ürünler oldukları ve damar duvarı fonksiyonlarını etkiledikleri bildirilmistir(20). Yapılan bir çok çalışmada sitokinler, multiple skleroz, romatoid artrit, sistemik lupus eritromatosus, akut myeloid lösemi, astım ve skleroderma vb. gibi esitli hastalıklarla iliskilendirilmiştir.

Skleroderma patogenezinin temel sebebi olarak görölen ve mikrogranölasyon ile yayılan düzensiz ekstraselöler matriks (ECM) birikimi; matriks moleküllerini oluşturan proteinler, bu proteinleri uyaran faktörler, sinyal mekanizmaları ve aracı moleküllerle doğrudan ilgilidir (21). Sitokinler ve büyüme faktörlerinin anlatımlarındaki esitli değişimler ve bu değişimlerin fibroblast ve kollajen sentezindeki, endotel hücre fonksiyonlarındaki ve T hücre yanıtlarındaki güçlü etkileri sistemik skleroz (SSc) hastalarında gösterilmiştir (22,23). Ayrıca Dönüştürücü Büyüme Faktörü “Transforming Growth Factor-beta” (TGF-β), Bağ Dokusu Büyüme Faktörü “Connective Tissue Growth Factor” (CTGF), Platelet Kökenli Büyüme Faktörü “Platelet Derived Growth Factor” PDGF, interlökin 1, 2, 4, interferonlar ve Tümör Nekroz Faktör’ü “Tumor Nekrozis Factor” (TNF) kapsayan inflamatuvar hücrelerin ürünleri ile fibroz olusumu arasındaki iliski de araştırılmıştır (24). Bu sitokinler, kendi konsantrasyonları ve diğer sitokin ve büyüme faktörü içeriklerinin oranına göre, özellikle fibroblast aktivitesini, çoğalmasını ve ECM üretimini tesvik ediyor veya baskılıyor olabilirler ve bazen de çift yönlü fonksiyon gösterebilirler (25).

Sitokinler normal fonksiyon gören, gelişmesini tamamlamış organizmada olduğu gibi embriyogenezde de kanda çözünür halde bulunan moleküller hücreler arasında bilgi alışverişi sağlar.Spesifik uyarılar sonucu orijin hücrelerden salınan bu moleküller, gen ekspresyonu üzerinde pozitif veya negatif etki göstererek hedef hücrenin uyarıya yanıtları ve fonksiyonlarını ölçerler.Normal fizyolojideki önemine ek olarak, bu

polipeptidlerin fazla salınması veya kontrol altına alınamaması insanda otoimmün veya inflamatuvar bir çok hastalığın patofizyolojisinde rol oynar(26).Hücre iletişimini sağlayan bu moleküler interlökinler (IL),interferonlar (IFN), büyüme faktörleri ve koloni stimüle faktörlerdir.Sitokinler hücrelerde salınan faktörlere verilen genel bir isimdir.Bu hücre orijini lenfositlerden alıyorsa lenfokin,monositlerde alıyorsa monokin olarak tanımlanırlar (Tablo-3 sitokinler ve biyolojik aktiviteleri).

Tablo-3. Sitokinler ve Biyolojik Aktiviteleri (27).

| SİTOKİN | Orijin aldığı hücre | | | AKTİVİTE |
|--------------|---------------------|----------|-------|--|
| | T | makrofaj | diğer | |
| İnterlökin-1 | | + | | Ateş:kemik rezorbsiyonu, PG salınımı; makrofaj ve T lenfositlerde sitokin sentezini uyarır; B ve T hücre proliferasyonunu sağlar. |
| İnterlökin-2 | + | | | Sitotoksik T ve NK hücreleri aktive eder.T ve NK hücre proliferasyonunu,T ve LAK hücre farklılaşmasını sağlar B hücre proliferasyonu ve antikor sekresyonunun stimülasyonu |
| İnterlökin-3 | + | | | Mast hücre ve pre –B hücrelerin proliferasyonu; stem hücrelerin farklılaşması |
| İnterlökin-4 | + | | + | İstirahat halindeki B hücrelerin ve makrofajların aktivasyonuna veLPS ile aktive B hücrelerin IgG ve IgE sekresyonuna yol açar.T ve mast |

| | | | | |
|---------------------|---|---|---|--|
| | | | | hücrelerin proliferasyonunu stimüle eder.Monositlerde TNF-alfa, IL-1 ve IL-6'yı süprese eder. |
| İnterlökin-5 | + | | | LPS ile aktive B hücrelerden IgA sentezini ve IgM sekresyonunu indükte eder.Eosinofil proliferasyonunu ve sitotoksik T hücre farklılaşmasını sağlar. |
| İnterlökin-6 | + | + | + | Antikor sekresyonunu sitotoksik T hücre farklılaşmasını ve megakaryosit proliferasyonunu sağlar.Myelom hücre büyümesine katkıda bulunur. |

Orijin aldığı hücre

| SİTOKİN | T | makrofaj | diğer | AKTİVİTE |
|----------------------------|----------|-----------------|----------------|--|
| İnterlökin-7 | | | Timik hücreler | pre-B hücrelerin proliferasyonunu ve farklılaşmasını, timositlerin proliferasyonunu sağlar. |
| İnterlökin-8 | | + | | Nötrofil ve T hücrelerin kemotaksisini sağlar. |
| İnterlökin-9 | + | | | T helper hücre klonlarının büyümesini sağlar. |
| İnterlökin-10 | + | | | Bazı T helper ve hücre klonlarında sitokin sentezini inhibe eder. |
| TNF-alfa (kaşeksin) | + | + | | Ateş, şok, makrofaj aktivasyonunu, PMN kemotaksisin stimülasyonu, anjiogenez, kemik rezorpsiyonu, bir çok hücreye sitotoksiktir. |

| | | | | |
|----------------------------------|---|---|----------|--|
| TNFbeta (lenfotoksin) | + | + | + | Endotel, granülosit ve B hücreleri aktive eder. |
| IFN-gama | + | | NK hücre | NK hücreler, sitotoksik T hücre, endotel hücre ve makrofajları aktive eder. Antitümör aktivitesi, B hücre proliferasyonu stimülasyonunu ve T hücre proliferasyonunun inhibisyonunda rol oynar. |

LAK: Lenfokin Aktive Killer
NK: Naturel Killer
TNF: Tümör Nekrosis Faktör

Sitokinler primer olarak hematopoetik ve mezenkimal orijinli normal hücrelerin büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynar (28). Bu polipeptidler spesifik membran reseptörleriyle birleşerek orijinal hücrede (otokrin), komşu hücrelerde (parakrin) veya uzak hücrelerde (endokrin) hücre fonksiyonları belirleyen, kanda çözünür halde bulunan moleküllerdir. Sitokin reseptör kompleksi, genellikle uyarı transdüksiyonunu protein kinaz fosforilasyonu veya G-protein bağımlı fosfoinositol değişiklikleri ile başlatır (29). IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-4, IL-6, TNF alfa ve IFN gama, büyüme ECM komponentlerinin üretimi, kollajen ve prostaglandinlerin sentezi, klas 1 ve klas 2 major histokompatibilite komplekslerinin (MHC) açığa çıkarılması gibi bazı fibroblast aktivitelerinde etkili olan sitokinlerdir.

Bu sitokinler aynı zamanda, MHC proliferasyonu, açığa çıkarılması, adezyon moleküllerinin ekspresyonu, nötrofil ve T lenfositlere adhezyon gibi endotel hücre fonksiyonlarını da yönlendirir. IL-2 endotel hücrelerine NK hücrelerinin bağlanma kapasitesini artırır (30).

İPF'de ise hastalığın erken dönemlerinde geçici inflamasyon ve mediatör salınımının (TGF- β 1 gibi) fibrozis için gerekli olan mezenkimal epitel etkileşimini sağladığı varsayılabilir (31).

Başka bir hipoteze göre ise histolojik olarak UIP için tipik olan fibroblast ve myofibroblast proliferasyonu ile oluşan fibrotik odaklarda hastalığın başlamasıdır (18,19,31,32). Bu hipoteze göre mezenkimal ve epitelyal hücreler arasındaki

karmaşık etkileşim fibrozisi başlatmaktadır. Değişik gözlemler hastalığın patogenezinde alveol epitel hücrelerinin çok önemli olduğunu düşündürmektedir. Bu hücrelerin herhangi bir nedenle zedelenmesi değişik büyüme faktörlerinin özellikle TGF- β 1'in salınımına ve bu büyüme faktörleri de fibroblastların migrasyonuna ,proliferasyonuna ve myofibroblastlara dönüşümüne neden olmaktadır. Zedelenmeyi takiben sağlıklı normal kişilerde alveol yapısını onarmak için oluşan epitel hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması İPF'li hastalarda yavaş olur ve tam olarak gerçekleşemez.Sonuçta sürfaktan yetersizliği ve alveoller kollaps gelişir.Buna ek olarak muhtemelen TGF- β 1 ve diğer sitokinlerin etkisi ile epitelyum hücrelerinin apoptozisi hızlanır (33). Hayvan modellerinde bu olayın inhibe edilmesi ile hastalık gelişmesinin önlenildiği gösterilmiş (34). Sonuçta prokoagülan ve trombolitik etkileri nedeni ile epitel hücreleri ECM'i onarmak için gerekli olan hücrelerin ortama göçünü engeller (35).

Difüz pulmoner fibroz gelişiminde iki farklı yolak mevcuttur (36).

1) İnflamatuar yolak :İPF dışında bütün diffüz parankimal akciğer hastalıkları (DPAH)'da oluşur.Erken alveoliti sonuçta gelişen fibrozis izler.

2) Epitelyal yolak: İPF patogenezinde başlıca üzerinde durulan mekanizmadır. Alveoller epitelyum bütünlüğünde bozulma İPF'nin tüm evrelerinde ayırıcı bir özelliktir.Alveoller dökülme bölgeleri hiperplastik hücrelerle doldurulur ve bu özellikler başlıca fibroblastik fokus olarak tanımlanan bölgelerde gözlenir (37). Bir başka deyişle İPF'de patoloji ;uygun reepitelizasyon sağlanamaması ve anormal bir yara iyileşmesi oluşmasıdır (38).

Alveolde hasar oluştuktan sonra ,alveoller bariyerin bütünlüğünü sağlamak için yara iyileşmesi başlar.Bu sürecin en önemli aşaması reepitelizasyondur.Epitel hücre migrasyonu ,proliferasyonu ve differansiyasyonu yoluyla oluşturulur.İPF'de bu yanıt yavaş ve yetersizdir.

Tip 1 hücrelerde kayıp ,tip 2 hücrelerde hiperplazi ,adezyon molekülleri ve MHC antijen ekspresyonunda değişim gözlenir (39,40). Bazal membranın intakt olduğu alanlarda tip 2 hücreler epitelyal yüzeyi iyileştirmek amacı ile çeşitli enzimler , sitokinleri ve büyüme faktörlerini eksprese ederler (39).

İmmünohistokimya ve insitu hibridizasyon çalışmalarında, İPF'li olguların alveol epitelyum hücrelerinin, pulmoner fibrozis gelişimini sağlayan PDGF, TNF-alfa, CTGF, endotelin 1 ve TGF- β 1 eksprese ettiklerini bildirmiştir (36-38). Ayrıca alveoller

epitelyumun Th-2 paterni içeren sitokinlerden bir mikroçevre oluşturulduğu bildirilmektedir.

.Normal yara iyileşmesi sırasında ,doku zedelenmesi kan damarlarının kesintiye uğramasına ve kan elemanlarının damar dışına çıkmasına neden olur.Bu aşamada hemostaz ve geçici ECM oluşur.Normal yara iyileşmesinde epitelyum hücreleri oluşan fibrini yıkar (41). İPF'yi de içeren normal akciğer hastalıklarında ise lokal prokoagülan aktivite artmıştır.Aktive epitel hücrelerinden doku faktörü (TF), plazminojen aktivatör inhibitör-1(PAI-1) ve PAI-2 salınımı sonucunda intraalveoler prokoagülan, antifibrinolitik bir çevre oluşur (42).

İdiopatik pulmoner fibrozun başlıca ayırıcı morfolojik özelliği, fibroblastik foküs oluşumudur.Fibroblastik foküsler, subepitelyal fibroblastların oluşturduğu agregatlar ve ECM içine gömülmüş, miksoid görünümde myofibroblastlar şeklinde gözlenir.Bu mezenkimal hücreler, organize akut akciğer zedelenmesi ve aktif ilerleyen fibrojenik süreci gösterir.Fibroblast/miyofibroblast foküs miktarı ,İPF'li olgularda en önemli prognostik faktörlerden biridir (43).

Derideki yara iyileşmesinde olduğu gibi fibroblastların öncelikle migratuar özellik kazandıkları, daha sonra proliferatif ve en son profibrotik miyofibroblast fenotipini aldıkları varsayılmaktadır (36). Normal yara iyileşmesinde, myofibroblastlar apoptozise giderek progresif olarak azalır.İPF'li olgularda ise myofibroblastların yaşam süresi uzamıştır; bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte sitokin /büyüme faktörleri /matriks ağı ilişkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.Doku metalloproteinaz -2 inhibitör (TIMP-2) ekspirasyonunun fibroblastların uzun sağ kalımı ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (36,44,45).

Neovaskülarizasyonun da fibrogenezi artırdığı gösterilmiştir (41). Neovaskülarizasyonda ilk aşama kollojenaz 1, gelatinaz A ve B yoluyla matriks yıkımı ve ardından vasküler endotelial growth faktör (VEGF) anjiopoetinler ve fibroblast growth faktör (FGF-2) uyarımı ile endotelial hücre migrasyonudur (38).

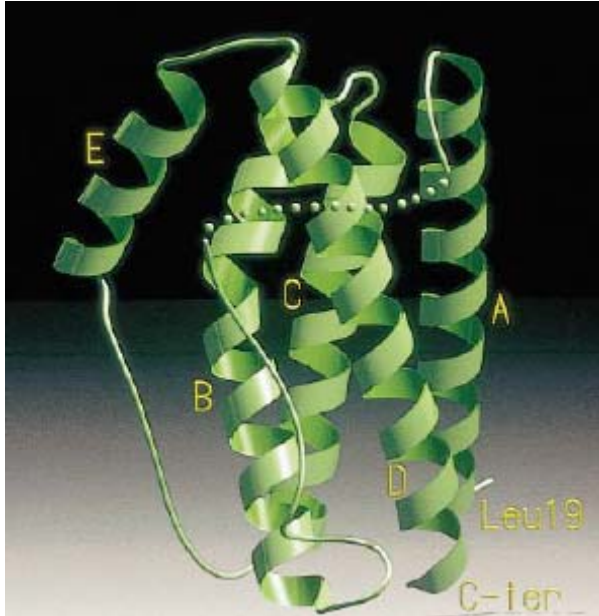
2.2.3.2. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6 lenfoid ve non-lenfoid hücre tipi tarafından üretilen pleotropik bir sitokindir.T ve B hücre fonksiyonlarını ayarlaması immünglobülin sekresyonu,akut faz inflamasyon reaksiyonları ve hematopoez gibi bir çok biyolojik etkisi vardır.IL-1 ve TNF-alfa gibi IL-6 'da vucut savunmasında çok önemli bir yeri olan immüninflamatuvar yanıtı düzenleyen sitokin kaskadının bir molekülüdür (46,47).IL-6; T ve B lenfositleri, monositler/makrofajlar, fibroblastlar, endotelial hücreler, epitelyal hücreler, mast

hücreleri, nöronal hücreler, astrositler gibi çok geniş bir hücre grubu tarafından üretilmektedir (48).

Fahreas 1921'de hastalarda eritrosit sedimasyon hızının serumda yükselmesinin inflamasyonu gösterdiğini açıkladı. Yıllar sonrasına kadar bu bilgi IL-6'nın spesifik aktivitesi hakkında bilinen ilk bilgi olmuştur. IL-6 karaciğerde üretilen bir akut faz proteinidir. 1960 ve 1970'lerden beri CRP ve daha sonrasında ortaya çıkan IL-6, inflamasyon ve klinik infeksiyonun ölçümünde daha kesin belirteçler olarak kullanılır. IL-6'nın dahil olduğu çeşitli sitokinler endojen pirojenler ya da lökosit endojen mediatörler olarak tanımlanırlar. Bu faktörler ateşe neden olur ve enfeksiyondan sonra belirgin olarak artarlar (49).

IL-6'nın Molekül Yapısı



Şekil-1. İnterlökin-6'nın kristal yapısı Somers W et al, EMBO J, 1997 (50).

IL-6, 184 aminoasitten oluşan 26 kD ağırlığında bir glikopeptitdir. IL-6 geni yedinci kromozomda 3 farklı alel halinde bulunur. IL-6 monositler, T lenfositler ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. IL-6, T hücre çoğalmasının modülasyonu ve farklılaşmasının belirlenmesinde IL-3 ile sinerjistik olarak hematopoetik koloni formasyonunda ve B hücrelerinden immünglobulin sentezinin artmasında rol oynar. En önemli fonksiyonu, karaciğerde akut faz proteinlerinin sentezinin indüksiyonudur.

IL-6 çeşitli hücre tipleri tarafından üretildiği gibi aynı zamanda IL-1, TNF-alfa, PDGF gibi inflamatuvar sitokinler, virüsler, endotoksin gibi bakteriyel ürünler tarafından da sentezi indüklenir. IL-6 sentezinin artmış olduğu durumlar arasında bazı malign

hastalıklar, otoantikorlar ve romatoid faktör oluşumu bulunan otoimmün hastalıklar sayılabilir (51).

IL-1 ve TNF-alfa ile uyarılmış sinoviyal hücrelerde IL-6 büyük miktarlarda üretilir. Her ne kadar IL-6'nın bazı biyolojik aktiviteleri IL-1 ve TNF-alfa ile benzerlik gösterse de, IL-6'nın fibroblast ve sinovyal hücreler tarafından prostaglandin E2 ve kollagenaz üretimini stimüle edici etkisi yoktur. IL-6 poliklonal B hücre aktivasyonu ile karakterize bir çok hastalıkta önemli rol oynar. Kardiyak miksoma, romatoid artrit, kronik HIV enfeksiyonu, alkolik karaciğer hastalığındaki hipergamaglobulinemiden sorumludur. IL-6'ya has bir özellik olan malignensilerde plazma lenfoid hücrelere olan otokrin uyarıcı etkisidir (51). İnsanda keratinositler IL-6 sentez ederler ve bu sitokini in-vivo ortamdaki rolü bilinmemektedir.

Hücresel Kaynakları ve Üretimi

Çeşitli hücre tipleri İnvitro şartlarda IL-6 sekrete edebilir. Çeşitli sitokinler ve IL-6 salınımını sağlayan ajanlar, örneğin glukokortikoidler gibi aynı zamanda IL-6'nın potent inhibitörleridir. IL-6 hücrelerde yüksek oranda depolanamaz. Hücresel stimülasyon ve artmış IL-6 mRNA seviyesi hızlı protein sentezi ve sekresyonunu sağlar (49).

Monosit ve makrofajlar IL-6'nın inflamasyondaki ilk sorumlusudur. TNF-alfa üzerinden fibroblast gibi stromal hücrelerden, IL-6 salınımının güçlü bir indükleyicisidir. Anlamlı sayıda bu hücre tipleri IL-6'nın hızlı salınımı ile lokal sentezini, dolayısıyla sistemik seviyesinin hızla artışı sağlar. Biyolojik sıvılardaki seviyesi değerlendirildiğinde yaygın ve çeşitli hastalıklarla ilişkisi olduğu göstermiştir. Hastalık durumlarında seviyesi 103-104 kat artar (49).

Monosit ve makrofajların IL-6 cevabı lipopolisakkaritlere benzer IL-1, TNF, IFN-gama ve granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF), fibrin fragmantları B, E proteaz kompleks, bazı ilaçlar ve metaller IL-6 üretimini monositler üzerinden IL-4, IL-10 ve glukokortikoidler aracılığı ile inhibe ederler (49).

IL-6 Biyolojik Fonksiyonları

1-B hücre farklılaşması ve Ig sentezinin uyarılmasında etkilidir.

2-Akut faz yanıtının öncüsüdür ve bunu CRP, kompleman bileşenleri, haptoglobulin, fibrinojen, proteaz inhibitörleri gibi akut faz proteinleri sentez etmek için hepatositleri aktive ederek sağlar. Akut faz cevabı arasındaki etkileri IL-1 ve TNF gibi birkaç diğer sitokin ile sinerjik aktiviteyi içermektedir.

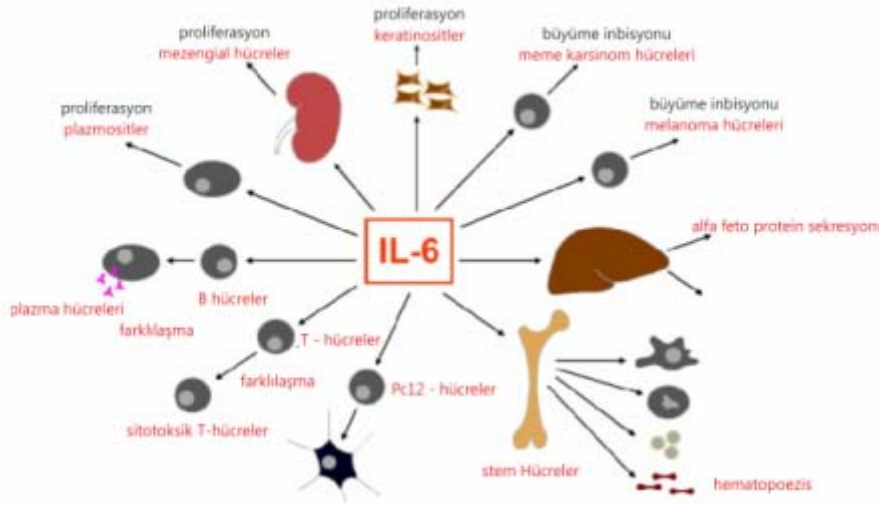
3-T hücrelerinin ve timositlerin kostimulatörüdür.Tc lenfositlerin farklılaştırıcı faktörü ve erken kemik iliği hematopoetik stem hücrelerinin gelişimi için bir kofaktördür.IL-10 üretimi, insan T hücreleri içinde IL-6 ve IL-12 tarafından artırılmaktadır.IL-6 NK hücre aktivitesini de artırmaktadır.IL-6,nötrofil, monosit, eosinofil ve megakaryositlerin proliferasyonunun desteklenmesi için IL-13 ile birlikte çalışmaktadır.

4-Lenfosit migrasyonu için endotelial hücreler üzerine etki göstermektedir.Ayrıca kemotaksis inhibitör etkiye sahip olduğunda ortaya çıkmıştır.

Dendritik hücrelerin ve epidermal langerhans hücrelerinin IL-6'nın önemli bir kaynağı olduğunu gösteren çalışmalar kutanöz immüninflatuar cevapların oluşumunu açıklamaktadır.

5-IL-1 ve TNF ile ortak olarak, IL-6 ateşi oluşturan bir endojen pirojen olarak önemli rol oynar.

6-IL-6 bir çok hücre tipi için otokrin büyüme faktörü olmasından dolayı fazla üretimi, plasmastom, multiple myeloma, serviks karsinomu ve kaposi sarkomu gibi bazı malignensilerle de ilişkilendirilmiştir (Şekil-2 IL-6'nın biyolojik aktiviteleri)(27).



Şekil-2. IL-6'nın biyolojik aktiviteleri (www.biochemie.uni-freiburg.de/heinrich/f2.jpg)

Geniş bir sahada IL-6 etkisini inflammatuar hücrelerle ,lenfosit etkileşimi ve aktivasyonu ile öncelikle lokal olarak gösterir. Bu etki otokrin ya da parakrin olabilir.Yarı ömrü kısadır ,sistemik olarak hedef organda endokrin protein gibi davranır (49).

Akut Faz Cevabı ve İnflamasyon

IL-6'nın in vivo olarak öncelikli etkisi inflamasyonda akut faz cevabı oluşturan major sitokin olmasıdır.Mediatör cevabı ile salınır.Lokal etki ile karaciğer hücrelerinde

sirkülasyonu artar. İnvitro olarak IL-6 indüksiyonu, tüm pozitif akut faz proteinleri ile tipik albümin ve transferin gibi negatif akut faz proteinlerinin gerilemesine neden olur. Serum seviyesi inflamatuvar stimulus sonrası 6-12 saatte pik yapar. Karaciğer cevabı saatler ve hatta günlere kadar uzayan bir peryotta devam eder ve 3-5 gün yüksek seyreder(49).

IL-6 fibroblastlarda doku inhibitör metalloproteazları (TIMP-1) ve keratinositleri indükler. Kollojen dokuda enzimatik bozulmayı aktive metalloproteazları ve bunların inhibitörlerini (TIMP-1) düzenleyerek kontrol eder. Normal ve hastalıklı dokularda ekstraselüler matriks bozulmasını kontrol eder(49).

2.2.3.3. Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta (TGF- β)

20 yıl önce non-neoplastik hücrelerin dönüşümünü uyaran hücreyel bir sitokin olarak keşfedilmiş ve transforming growth factor beta olarak adlandırılmıştır (TGF- β). TGF- β , 50'den fazla üyesi olan büyüme faktör alilesinin prototipidir. Bunlardan bazıları kemik morfogenezik proteinler (BMP's), Müllerian inhibitör protein (MIS) ve diğer dönüştürücü büyüme faktörleri.

TGF- β in-vitro olarak daha çok insan platelet hücrelerinden elde edilir. İnsan plasentasından klonlanarak DNA'sı gösterilmiştir. Aynı zamanda onkogenik transformasyonu stimüle ettiği, ancak proteinlerin multifokal biyolojik aktivitelerini de kısıtladığı görülmüştür. Yeni yapılan çalışmalarda TGF- β 'nın stimülatör etki kadar epitel ve tümör hücrelerinde inhibitör etki gösterdiği, kondriyogenik farklılaşmayı indüklediği, immünsüpresif etkili olduğu, omphogenik differansiyasyonu sağladığı bulunmuştur.

Geçen yüzyıldaki çalışmalarda TGF- β sinyal üretim yolunun, hücre yüzeyindeki spesifik intraselüler substratların (çekirdek içinde yer değiştiren smad proteinlerinin) fosforilasyonu ve serin-teronin kinaz reseptör aktivasyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Öncelikle çekirdek içinde olan smad proteinler, diğer DNA bağlayıcı proteinlerle etkileşerek spesifik hedef genlerle ilişkili etkileri ortaya çıkar (52).

İnsanda üç farklı işlevsel ve yapısal izoformu olan TGF- β , embriyonik gelişmede, immün yanıtta ve yaralanmaların ardından doku onarımının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Fibronektin ve kollajen gibi matriks proteinlerinin sentezini ve birikimini uyarır (53,54). Hücreler arası matriks sentezini uyarıcı etkisine ek olarak ayrıca, kollajen azaltan metaloproteinlerin etkisini, metaloproteinaz-1 doku inhibitörleri gibi enzimleri uyararak azaltır. Birçok çalışma ile TGF- β 'nın sistemik skleroz ile deri ve iç organlarda fibroza yol açan diğer hastalıkların patogeneğinde rol oynadığına işaret

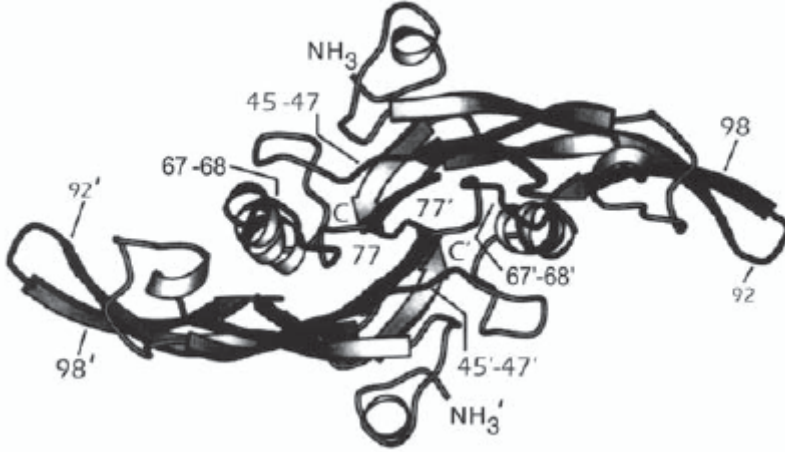
edilmiştir. Bu çalışmalarla TGF- β etkisiyle sağlıklı fibroblastlarda kollajen artışı, fibronektin matriks birikimi gibi sistemik skleroz patogenezinde gözlenen değişiklikler taklit edilmiştir (55).

TGF- β hücreSEL immün sistem üzerinde belirgin supresif etkiye sahiptir. Yara iyileşmesi ile ilgili deneylerde TGF- β 'nin lokal olarak uygulanması skar kuvvetinde ve yeni kollajen sentezinde artmayla birlikte fibroblastların bölgeye hücumuna yol açar. Subkutan olarak enjekte edildiğinde, TGF- β yoğun mononükleer hücre inflamatuvar yanıtına, yeni damar oluşumuna ve şiddetli doku fibrozisine yol açar. TGF- β endotel üzerindeki inhibitör etkisiyle birlikte PDGF'ün otokrin salınımını stimüle ederek fibroblast proliferasyonuna ve matriks sentezine neden olur (56).

TGF- β 'nin Moleküler Yapısı

TGF- β , diğer sekretuar polipeptitler gibi; endoplazmik retikulumdan gelen sinyale uygun olarak glikolizlenmiş preproteinlerle ilişkili olarak amino terminal sinyal ağzından sentezlenir. 390 aminoasitlik glikolize preproteinden 29 aminoasitlik hidrofobik grup ayrılarak pro-TGF- β 1 oluşur. 112 aminoasit uzunluğunda karboksiterminal uç monomerik olarak ortaya çıkar (TGF- β 1). Aminoterminal propeptit dibazik tarafa ayrılır. Homodimerizasyon ile 112 aminoasitlik subüniteden 25-kDa dimerik polipeptit oluşur (57).

TGF- β 'nin 3 izoformu vardır. Bunlar TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3'tür. Her bir izoform belli bir gen tarafından kodlanır ve doku spesifik sentezi yapılır. TGF- β 1 endotelde, hematopoetik hücrelerde ve bağ dokusu hücrelerinde, TGF- β 2 epitel ve sinir hücrelerinde ve TGF- β 3 başlıca mezenşimal hücrelerde sentezlenir. Gelişim esnasında TGF- β 1 ve TGF- β 3 morfogeneze katılan embriyonik hücrelerde sentezi yapılırken TGF- β 2 ileriki aşamalarda ve epitel farklılaşmasında sentezlenir. Her 3 izoform da önemli biyolojik fonksiyonlara sahip olduğundan memelilerde oldukça korunmuştur (58). Bu izoformlar TGF- β reseptörlerine olan bağlanma ilgilerine göre farklılık göstermektedir ve farelerde her bir izoformun delesyonu farklı fenotiplerin oluşumuna yol açmaktadır (59).



Şekil-3. TGF- β 'nin kristal yapısı (Flanders KC et al, CM&R,2003).

TGF- β 'nin Biyolojik Fonsiyonları

1-Normal hücrelerde başlıca fonsiyonu; proliferasyonu baskılaması ve differansiyasyonu hızlandırması ile ilgili olanıdır. Epitelyal ve hemotopoetik hücrelerde TGF- β antiproliferatif etkilidir ve hücre siklusunun G1 fazında durmasını sağlamaktadır.

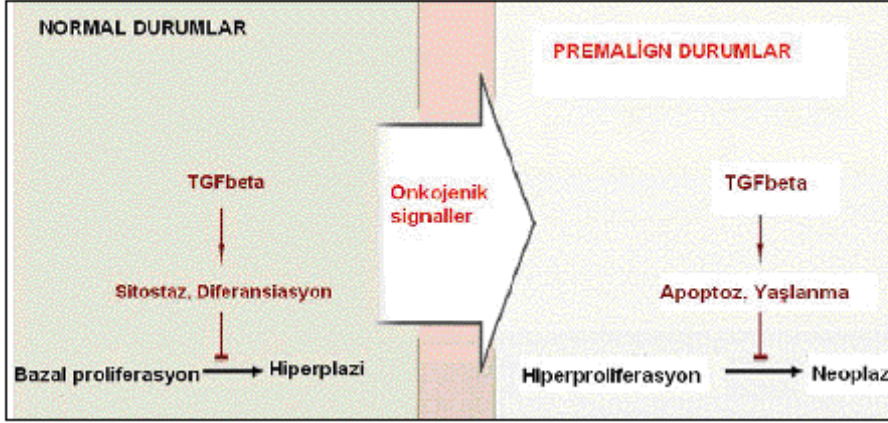
2-Bazı hücre tiplerinde apoptozisi indükler. Hepatoma hücrelerinde TGF- β ile başlatılan apoptoz sürecinin indüksiyonu DAPK (dead associated protein kinase) aktivasyonu ile gerçekleştirilir.Mide karsinom hücrelerinde TGF- β Fas proteinlerine bağlanarak sitozolde çeşitli kaskadların aktivasyonunu ve hücrenin apoptoza uğramasını sağlamaktadır.

3-TGF- β bilinen en güçlü immünsüpresif moleküllerden biridir.T (Th1 ve Th2) ve sitotoksik T hücrelerini baskılayarak, düzeleyici T-reg hücrelerini ise aktifleyerek immün ve inflamatuvar cevabı baskılar.

4-TGF- β kanser oluşumunda iki farklı şekilde etki gösterir. Bazı durumlarda tümör süpresör, bazı durumlarda ise onkogen gibi davranabilmektedir.Normal durumlarda hücrelerde TGF- β , ön sitotoksik ve differansiyasyonunu hızlandırıcı etkisini gösterir.Herhangibir nedenle TGF- β yolunda bir duraksama olduğunda hiperplazi gelişir.Hiperplazide hücre çoğalması kontrol altındadır. Premalin durumlarda ise TGF- β yolunun baskılanması sonucu hücreler kontrolsüz bir şekilde çoğalmaya başlar ve neoplaziler gelişir. TGF- β 'nin antiproliferatif ve tümör süpresör etkisi ortadan kalkar ve onkojenik özellik kazanan kanser hücreleri kontrolsüz bir şekilde çoğalır (60).

5-TGF- β 1'in fibrozis patogenezinde anahtar rol oynadığı bilinir. Doku hasarı olan bölgelerdeki trombositler ve fibroblastlarda bol miktarda bulunan bu sitokin,

degranulasyon ile salınmakta ve fibrozisten sorumlu inflamatuvar hücre ve trombositlerin kemoatraksiyonunu sağlamaktadır (61) Fibroblastik aktivitenin temel indükleyici faktörlerinden birisi olan TGF- β 1, fibroblastlardan, in vivo ve in vitro olarak, kollajen gibi ECM yapıtaşlarının üretimini artırmaktadır(62).



Şekil-4. Normal ve premalign durumlarda TGF- β ' nin hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi (60.)

TGF- β Regülasyonu ve Apoptozis

Multiselüler organizmaların normal gelişim süresi ve hemostatik dengesi hücre çoğalması ve programlanmış hücre ölümü ile ilgilidir. Apoptotik kontrolün bozulması benzer şekilde hücresel çoğalmanın kontrolsüz olması, kanserler dahil, otoimmün ve dejeneratif hastalıklara neden olur (63).

TGF- β gibi multifonksiyonel proteinlerin ilişkili olduğu aile üyeleri hemostatik dengenin sürdürülmesinde kritik rol oynar. TGF- β potansiyel olarak, etkileştiği hücre tipi ve hücresel bağlantılara göre, hem proapoptotik hem de antiapoptotik olarak etkilidir. Apoptotik etki 3 farklı hücre tipi içindir; prostat epiteli, hepatositler ve B lenfositler (63).

Anti-apoptotik etkinlik; TGF- β DNA'sı parçalanmış keratinositlerde ve hücresel adezyon kaybına uğramış hücrelerde koruyucu etki gösterir. Nöronal orijinli hücreler ile Fas aracılı insan T hücrelerinde (sinovial romatid hücreler ve kemik iliğinde bazı progenitör hücrelerde) apoptozisi inhibe eder. Nöronal hücrelerde glutamat reseptörlerinin eşlik ettiği kalsiyumun aşırı artışı ile aktive olur (63).

TGF- β 1 ve Fibrozis

Fibrozis ve iyileşen yara dokusunda aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır. Yükselmiş TGF- β 1 seviyesi, kadiyak inflamasyon, karaciğer, akciğer ve böbrekte fibrozis ile

ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde kemik iliği transplantasyonu sonrasında plazma seviyesinin yüksekliği transplantasyon sonrası hayatı tehdit eden komplikasyonlar gelişebileceği yönüyle prediktör olarak değerlendirilebilir. Sıklıkla ortaya çıkan fibrotik etki molekülünün aşırı sekresyonuna bağlıdır. Sonuç olarak yüksek sistemik TGF- β 1 seviyesinin kontrol edilemeyen patolojik sonuçlar doğurduğunu gösterilmiştir (64).

2.2.4. PATOLOJİK ÖZELLİKLER

İPF histolojik olarak UIP ile karakterizedir (65). Akciğer biyopsi örneklerinde aynı doku parçasının hatta tek bir lobun değişik bölgelerinde sağlam akciğer dokuları arasında değişen ağırlıkta parankim tutulumunun gösterilmesi hastalık için tipiktir. Alveoler septalar inflamatuvar hücre infiltrasyonu nedeni ile hafifçe kalınlaşmış görülebilir. İnflamasyonda en sık yer alan hücreler, lenfositlerdir. Plazma hücreleri, histiyositler, eozinofiller ve polimorf nüveli lökositler (PML)'ler ise daha az sıklıkla görülür. İnterstisyumun daha kalın olduğu alanlarda ise bağ dokusu birikimi söz konusudur. Biriken bağ dokusu genellikle olgun kollajen olabileceği gibi, fibrogenezin göstergesi olan gevşek bağ dokusu birikimi de sık görülür.

Yoğun olarak etkilenmiş bölgelerde, interstisyel kalınlık o kadar fazla olur ki alveollerin yapısı bozulur. Bununla birlikte transisyonel hava yollarında oluşan dilatasyon, bal peteği görünümünün histolojik bulgusunu oluşturur. Ağır fibrozisin olduğu alanlarda ek olarak elastik doku artışı, düz kas hiperplazisi ve epitel metaplazisi görülür, bu da özellikle skuamoz ve mukus salgılayan hücrelerde olur. Bazen distrofik kalsifikasyon ve kemik metaplazisi görülebilir.

Alveol boşluğunda makrofajlar artmıştır, ancak DİP'nin aksine sayıları alveolden alveole değişir ve çok yoğun bir birikim söz konusu değildir. Bitişikteki alveol septumları hiperplastik tip 2 hücrelerle kaplanmıştır. Alveol boşluklarında ve transisyonel hava yolu lümeninde taze fibröz doku odakları görülür, ancak bu odaklar interstisyumdaki kadar belirgin değildir ve genellikle de yama tarzında görülür. Alveol boşluklarında eksüda oluşmaz. Pulmoner arterlerde, özellikle fibrozisin yoğun olduğu bölgelerde değişik derecede intimal fibrozis ve medial hiperplazi görülür. Bu değişiklikler pulmoner hipertansiyonla ilişkili olabileceği gibi, hastalığın çoğunda lokal interstisyel hastalığın yansıması olarak da kabul edilir (65).

İPF'nin erken dönemlerinde akciğere bakıldığında parankimdeki düzensizlik minimal görülür ve alt lobun bazal ve posteriorunda özellikle subplevral bölgelerde daha yoğundur. Hastalığın ilerlemesi ile 1-2 mm çapında kistik yapılar içeren, kesin sınırlarla ayrılmış fibrozis alanları görülür. Sonunda lobun büyük kısmı fibrotik

dokularla ayrılmış, çok sayıda 5-20 mm çapında kistik yapılarla kaplanır.Bu değişiklikler alt loblarda ve subplevral bölgelerde çok yoğundur,genellikle santral bölgeler daha az etkilenmiştir.Fibrozin yoğun olduğu bölgelerde traksiyon bronşektazileri oldukça sık görülür (65).

2.2.5. TANI

Anamnez ve Klinik Belirtiler

Genellikle ileri yaşlarda ve erkeklerde daha sık olarak görülmektedir.İPF şüpheli olgularda asbest ve ağır metal maruziyeti İPF ile aynı klinik tabloyu oluşturabileceğinden, olası çevresel ve mesleki maruziyete ilişkin ayrıntılı öykü alınmalıdır.Kuş ve fungal antijenlere uzun süre maruziyet sonucu gelişen ekstresek alerjik alveolitin, kronik fibrozan formu klinik olarak İPF'yi taklit edebilir.Kimi zaman kollojen vasküler hastalıklarda akciğer tutulumu en belirgin özellik olabildiğinden Reynaud fenomeni, artrit ve miyozite ait semptomlar ve GÖR'e ait anamnez dikkatle alınmalıdır. İlaç anamnezi çok önemlidir (özellikle sitotoksik ajanlar ,nitrofurantoin ve amiodaron).Lenfatik yayılım İPF'yi taklit edebileceğinden daha önceki ve halen varolan malignite anamnezde önemlidir (66).

İPF genellikle sinsi başlangıç gösterir.Tipik olarak progresif seyir gösteren nefes darlığı ve kuru öksürük semptomları vardır.Dispnenin başlangıcı hastaların çoğunda 6 aydan daha uzun süre öncesine dayanmaktadır. Kuru öksürük antitusif ajanlara yanıt vermez. Hastalığın ileri dönemlerinde mukoid balgam olabilir (66).Hemoptizi hastalığın belirtisi değildir, varsa öncelikle eşlik eden malignite ekarte edilmelidir.İPF'li olgularda akciğer malignitesi sıklığı, genel populasyona göre 14 kat fazladır (67).Göğüs ağrısı nadirdir. Genellikle kardiyak kökenlidir, özellikle ilerlemiş hastalıkta hipokseminin tetiklediği kardiyak olay en sık ölüm nedenidir.

Non prodüktif öksürük, ilerleyici nefes darlığı, halsizlik ve kilo kaybı en sık görülen semptomlardır (68). Çomak parmak sıktır ve diğer semptomlar ile akciğer bulguları ortaya çıkmadan önce görülebilir.Hastalığı yeni ortaya çıkan hastalarda myalji ve artralji görülebilir (69). İleri hastalarda seyrek ekspiratuar raller de duyulabilir (70). Erken dönemlerde fizik muayene bulguları normal olabilir, ancak hastalığın ilerlemesi ile akciğer tabanlarında daha yoğun olmak üzere yaygın raller duyulur (71). Siyanoz pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonale geç dönemde ortaya çıkan bulgulardır. İdiopatik pulmoner fibrozda ekstra-pulmoner tutulum yoktur ancak kilo kaybı halsizlik ve yorgunluk gibi genel semptomlar olabilir.Ateş nadirdir.Ateş varsa KOP, ekstresek alerjik alveolit ve NSİP gibi alternatif bir tanı düşünülmelidir (3).

İPF'de karakteristik fizik muayene bulgusu; oskültasyonda akciğer bazallerinde inspiryum sonunda işitilen ince-kuru (velcro ralleri) rallerdir.Olguların %80'inden fazlasında bulunur.Hastalığın ilerlemesi ile raller akciğerin üst zonlarına yayılır ve tüm inspiryumı kaplayabilir.Yaygın olmayan hastalıkta hasta öne doğru eğildiğinde ralleri kaybolabilir; ancak genellikle orta ve aksiller hatta raller kalıcıdır (66).

Çomak parmak yaklaşık olguların %50'sinde bulunur.Hastalığın ilerlemesi sonucu sıklıkla takipne ile birlikte olan santral siyanoz görülür.Akciğer fibrozuna bağlı pulmoner dolaşımın obliterasyonu sonucu pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonale bulguları (parasternal lift, ikinci sesin pulmoner komponentinin şiddetlenmesi) ortaya çıkar, sağ ventrikül yetmezliği ile periferik ödem gelişir (72).

Son dönem İPF'li olgularda solunum işinin artması ve venöz konjesyona bağlı gastrointestinal absorpsiyonun azalması sonucu kötü beslenme bulguları ortaya çıkar.Preterminal hastalıkta hipoksi kardiyak dekompanseasyona neden olabilir, sol ventrikül yetmezliğini veya kardiyak aritmileri tetikler .

Laboratuvar ve Serolojik Testler

Rutin hematolojik ve biyokimyasal testler DPAH'nın diğer nedenlerini dışlama haricinde genellikle yararlı değildir.Hastalığın ileri dönemlerinde sekonder polisitemi sonucu hematokrit yükselebilir, eritrosit sedimentasyon hızı sıklıkla orta dercede yüksektir.Sedimentasyonun belirgin yükselmesi klinisyeni malignite, enfeksiyon ve romatolojik hastalıklar açısından uyarmalıdır.Nötrofili araya giren enfeksiyonlara bağlıdır.

Sistemik otoimmün bir hastalığın klinik bulguları olmaksızın dolaşımda antinükleer antikorların (ANA) veya romatoid faktörün pozitif olması İPF'li hastaların %10-20'sinde görülür, fakat titreleri nadiren yüksektir (73). Romatolojik hastalığa bağlı diffüz akciğer hastalığının prognozu İPF'ye göre daha iyidir.

Görüntüleme Yöntemleri

İdiyopatik pulmoner fibrozlu hastaların göğüs radyografisinde, alt zonlarda daha belirgin olan periferik retiküler veya lineer opasiteler karakteristik bulgulardır (74).Bu opasiteler genellikle bilateral, sıklıkla asimetric ve akciğer volümlerinin azalması ile birlikte dir.Hastalığın ilerlemesi ile tüm akciğer zonları eşit derecelerde tutulur.İlerlemiş hastalıkta fibrozis ve alveoler obsrüksiyon sonucu 3-15 mm çapında kistik havalı alanlar ortaya çıkar .Birleşmeye eğilimli alvoler opasiteler nadiren izlenir ve eğer varsa DİP veya KOP gibi diğer tanılar düşünölmelidir. Amfizem ve İPF'nin birlikte bulunduğu durumlarda akciğer volümleri değişmez veya artar.Bazal retiküler

opasitelerin ayırıcı tanısında asbestoz ve konnektif doku hastalığı (skleroderma veya romatoid artrit) düşünölmelidir.İdiopatik pulmoner fibrozun erken dönemlerinde buzlu cam görünümü bulunabilir, olguların %10-15'inde göğüs radyografisi normaldir.

Plevral tutulum İPF'nin özelliğı olmamakla birlikte sistemik lupus eritamatozis (SLE), romatoid artrit (RA) ve asbestozda sık görülür.Pnömotoraks nadirdir.Pulmoner arterde genişleme pulmoner hipertansiyonun önemli bir bulgusudur. İleri dönemlerde kardiyomegali gelişebilir.

Yüksek Rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi

Tipik yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı (YRCT) bulgusu özellikle alt zonlarda ve subplevral bölgelerde retiküler görünümlere neden olan intralobüler interstisyel kalınlaşmalardır (75-76). Hastaların çoğunda bu retiküler lezyonlar normal akciğer sahaları ile karışmış şekilde ve yama tarzında görünürler.Düzensiz görünen çizgisel lezyonları plevra, bronş ve damarlar oluşturur ve bunlar bozulmuş parankim yapısının, bronş ve bronşiyol dilatasyonunun (traksiyon bronşektazisi) belirtisidir (77).İlk tanı konduğunda hastaların % 80-90'ında 20 mm çaplarında hava içeren kistler (bal peteğı görünümü) görülür (75-78). YRCT ile incelendiğinde, hemen tüm hastalarda retiküler lezyonların ve "bal peteğı" görünümünün çok daha yaygın olduğu saptanır (78).Mediastinal lenf bezi büyüklüğü hastaların %70-90'ında görülebilir.Deneyimli radyologlar tarafından hastaların %50-70'inde kesin İPF tanısı YRCT ile konulabilir ve %90-100 oranında bu tanı doğrudur (79-81). Daha az deneyimli olanlarda ise tanının doğruluk oranı daha düşüktür.Bir çalışmada YRCT ile kesin İPF tanısının konmasının pozitif beklenen değeri %96 bulunmuştur (82).İPF ile karışabilecek hastalıklar sistemik skleroz, romatoid artrit ve asbestozdur (83,84).Asbestoz birlikte plevra plaklarının olması ile ayırt edilebilir. Retiküler ve "bal peteğı" görünümleri kronik hipersensivite pnömonisinde de olabilir.Ancak, YRCT ile hipersensivite pnömonisinde alt zonların çok belirgin olarak tutulmaması ve sentrlobüler nodüllerin görülmesi ile İPF'den ayırt etmek mümkün olabilir (85).

İPF'de Başlıca YRCT Bulguları

1-Fibrotik bulgular: İnalobüler interstisyel kalınlaşma, arayüz bulgusu, intralobüler bronşiyollerin görünür hale gelmesi, traksiyon bronşektazisi ve bronşiyolektazi, "bal peteğı" görünümü, düzensiz interlobüler septal kalınlaşma

2-Buzlu cam görünümü

3-Lezyonların periferik ve subplevral; alt zon ve posterior yerleşimi (Resim-1)



Resim-1. YRCT: İdiyopatik Pulmoner Fibrozis (Fishman's pulmonary diseases and disorders, McGraw-Hill, 2008)

Diğer Görüntüleme Yöntemleri

DTPA sintigrafisi:Tc 99m DTPA hidrofilik bir ajandır.Kapiller permeabilite arttığında daha hızlı temizlenir, inflamasyonun bir göstergesidir, İPF'de klinik değeri net değildir (1).

Pozitron emisyon tomografisi (PET):İPF'de metabolik aktivitedeki azalmayı belirlemek için kullanılmıştır. Komplike ve pahalı bir tekniktir.

Manyetik Rezonans Görüntüleme:Akciğerlerin manyetik geçirgenliğinin homojen olmaması, akciğer parankiminin görüntülenmesinde manyetik rezonansın kullanılmasını güçleştirir.Gelecekte akciğer inflamasyonu ile fibrozis arasındaki ayrımı yapmak için kullanılabilir.

Solunum Fonksiyon Testleri

Tipik olarak solunum fonksiyonlarında reskriptif tipte bozukluk ve difüzyonda azalma görülür (86).Hastaların çoğunda ekspiratuar akım hızları normal ve ya artmıştır,ancak küçük bir grupta muhtemelen sigara içimine bağlı olarak maksimum ekspirasyon ortası akım hızında ve FEV1'de azalmalar görülebilir (87,88). Hava yolu obsrüksiyon göstergeleri ile YRCT ve amfizem bulgularının olması arasında korelasyon vardır (89).İstirahatte hipoksemi sık görülür, başlıca nedeni ventilasyon-perfüzyon dengesizliğidir, ancak hastaların %20'sinde difüzyon bozukluğu nedeni ile ortaya çıkar (90).

Egzersiz performans testlerinde de birçok bozukluk görülebilir.Hastalarda tipik olarak her bir iş yükü için total ventilasyonun fazla olduğunu gösteren hızlı ve yüzeysel bir solunum vardır, bu da kısmen ölü boşluk solunumuna ve kısmen de hiperventilasyona bağlıdır.Aynı zamanda maksimum solunum kapasitesi azalmıştır

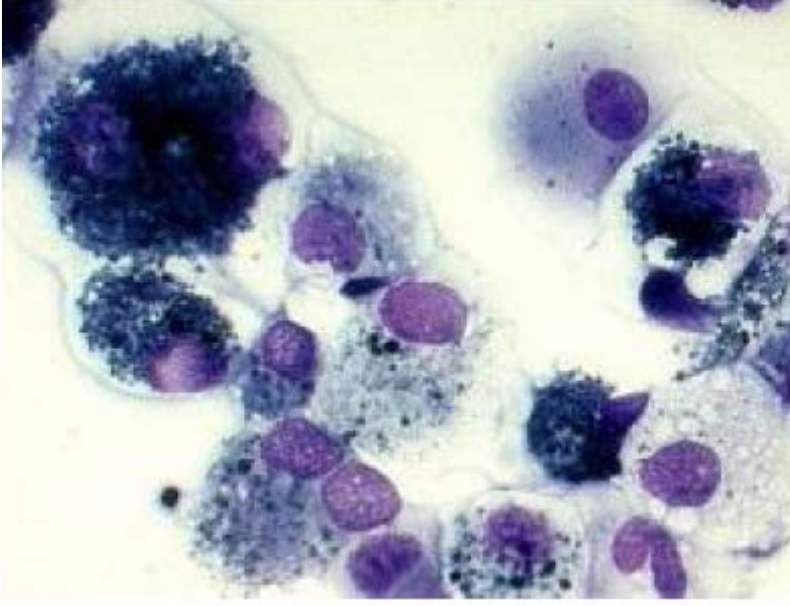
(85).Egzersiz sırasında büyük oranda difüzyonda azalmaya bağlı olarak arteriyel hipoksemi ortaya çıkar ya da daha ağırlaşır (90). Kardiyak performansda bozulmalar olsa da egzersiz kısıtlanması genelde akciğer hastalığına bağlıdır (91).Patolojik bulgular ile solunum fonksiyonundaki bozulmalar arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir (89-92).

Bronkoalveoler Lavaj

Bronkoalveoler lavaj (BAL), alt solunum yollarından selüler ve non-selüler materyal elde etmek için kullanılmaktadır.İlk zamanlarda İPF'de biyopsinin yerine geçeceği; tanıda ve hastalığın aktivitesinin belirlenmesinde kullanılabileceği ümit ediliyordu.İPF'li hastaların BAL'ında polimorf nüveli lökositler, nötrofil ürünleri, eozinofiller, eozinofil ürünleri, aktive alveoler makrofajlar, alveoler makrofaj ürünleri, sitokinler, fibroblast büyüme faktörleri ve immün komplekslerin arttığı gösterilmiştir(93). BAL araştırma yönünden değerli olmasına karşın İPF'de tanısal değeri sınırlıdır. BAL ile malignite, eozinofilik pnömoni, enfeksiyonlar, histiyositoz X, alveoler proteinoz, ağır metal akciğer hastalığı ve bazı spesifik alternatif hastalıklara tanı konulabilir.İnflamatuar hücre tipi de ayırıcı tanıda yararlı olabilir ancak BAL İPF'de tanısal değildir.

İdiopatik pulmoner fibrozda BAL'da tipik olarak nötrofil sayısı artar.Nötrofiller İPF dışında romatolojik hastalıklara bağlı fibrozan alveolit, asbestoz ve fibrotik sarkoidoz gibi fibrozisle seyreden hastalıklarda da artmaktadır.İPF'li hastaların %40-60'ında eozinofillerde, ve %10-20'sinde lenfositlerde artış görülmektedir.Eozinofil oranının %20 'nin üzerinde olduğu durumlarda eozinofilik akciğer hastalıkları, lenfosit oranının %15'in üzerinde olduğu durumlarda ise NSİP, LİP, KOP, hipersensivite pnömonisi ile birlikte sarkoidoz gibi granülomatöz hastalıklar düşünülmelidir (1-2).

İPF izlenmesinde ve evresini göstermede BAL'ın klinik değeri sınırlıdır.Bazı klinik çalışmalarda BAL sıvısında nötrofillerin, eozinofillerin veya her ikisinin birlikte yüzdesinin artmasının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (94).Nötrofillerin artışı YRCT'de retiküler opasitelerin yaygınlığı ile de orantılıdır.BAL lenfositozu, daha selüler akciğer biyopsisi, daha az bal peteği görünümü ve kortikosteroid tedaviye iyi bir yanıtla koreledir.Bununla birlikte bu ilişki hastadan hastaya farklılık gösterdiğinden BAL'ın güvenilir bir prognostik gösterge olması çelişkilidir (59,66).



Resim-2. BAL örneği (interstisyel akciğer hastalığı) (Roudebush VA Medical Center, Indiana University,USA)

Akciğer Biyopsisi

İPF'nin histopatolojik tanısı UIP paternidir. Transbronşial akciğer biyopsisinin diğer patolojileri dışlamak haricinde, İPF'de tanısal değeri yoktur. Birçok olguda transbronşial biyopsiler anormal olmasına karşın UIP tanısını doğrulamaz. Örnek boyutunun küçük olması (2-5mm) nedeni ile transbronşial biyopsiler inflamasyon ve fibrozis derecesini değerlendirmede kullanılmamalıdır. Klinik bulgular önderliğinde , özel histopatolojik metodlar ve boyalar kullanılarak alternatif bir spesifik tanı (malignite, sarkoidoz, KOP, hipersensivite pnömonisi, eozinofilik pnömoni, histiyositoz X) konularak, UIP ekarte edilebilir.

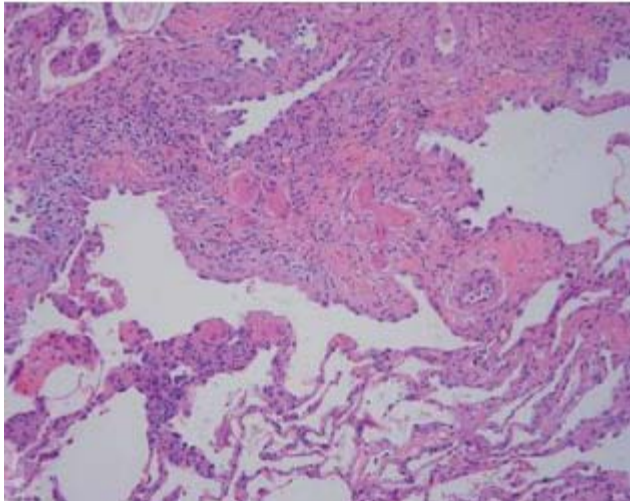
Torakotomi veya video eşliğinde torakoskopi ile alınan cerrahi akciğer biyopsisi, İPF'nin diğer formlarından UIP'yi ayırt etmek için en iyi doku örneklemesini sağlar. Açık akciğer biyopsisi, cerrahi kontrendikasyonu olmayan ve İPF'den şüphe edilen hastalara önerilmektedir. DPAH'da kesin tanısında açık akciğer biyopsisi altın standarttır. İPF'nin tipik klinik ve radyolojik görünümü olmayan her hastada cerrahi akciğer biyopsisi önemlidir; çünkü, böyle olgularda prognozu farklı, tedaviye iyi yanıt veren UIP dışında histopatolojik paternlerin görülme olasılığı sıktır. Açık akciğer biyopsisi maliyeti ve potansiyel riskleri; klinik tanı kesinliği, DPAH'nın tedavi edilebilir bir formunun tesbit edilme olasılığı ve potansiyel riskleri; klinik tanı kesinliği , DPAH'nın tedavi edilebilir bir formunun tesbit edilme olasılığı ve tedavi etkinliği ile karşılaştırılmalıdır. Cerrahi komplikasyon riskinin arttığı durumlarda (70 yaş üzerinde

hasta, ciddi obezite, eş zamanlı kardiyak hastalık, akciğer fonksiyonlarındaki ciddi bozukluk) hasta, risk-yarar oranı yönünden tekrar değerlendirilmelidir (2). Son zamanlarda yapılmaya başlanan video eşliğinde torakoskopik akciğer biyopsisi (VATS), açık akciğer biyopsisinin avantajlarını önemli ölçüde azaltmıştır. Açık akciğer biyopsisi ile karşılaştırıldığında, göğüs tüpü drenaj süresi daha kısa, hastanede kalış süresi daha kısa ve morbidite daha azdır. Tanı konma oranı eşittir (95).

Histopatolojik Özellikler

İPF'nin patolojik görünümü olan UIP'nin anahtar histolojik özelliği; yapısal destruksiyon, sıklıkla "bal peteği" görünümü ile birlikte olan fibrozis, dağılmış fibroblastik odaklar, yamalı dağılım ve asinus veya lobüllerin periferinin tutulumudur (1,41). Mikroskopik olarak küçük büyütmelerde normal akciğer interstisyumunun yanı sıra inflamasyon, fibrozis ve "bal peteği" içeren heterojen bir görünüm vardır. Histolojik değişiklikler periferik, subplevral parankimde çok belirgindir. İnterstisyel inflamasyon genellikle hafif orta derecedir ve yama tarzındadır. İnflamasyonu tip 2 pnömositlerin hiperplazisi ile lenfositlerin plazma hücrelerinin ve histiyositlerin alveoler septal infiltrasyonu oluşturur. Fibrotik alanlar, yoğun aselüler kollajen ve yer yer fibroblastik odaklar içerir.

Bal peteği alanları sıklıkla bronşiyoler epitel ile çevrili mukus dolu kistik fibrotik hava boşluklarından oluşur. Düz kas hiperplazisi, fibrozis ve bal peteği alanlarında görülür (42).



Resim-3. Usual interstisyel pnömoni (Fishman's pulmonary diseases and disorders, McGraw-Hill, 2008).

Histolojik Ayırıcı Tanı

Diğer interstisyel akciğer hastalıklarından ayırt etmek için cerrahi biyopsi örnekleri; nisbeten normal akciğer alanları içermelidir.UİP hemen hemen ayrılamayan interstisyel inflamasyon ve fibrozis paterni kollajen vasküler hastalıklar, bazı ilaçlara bağlı akciğer hastalıkları, kronik hipersensivite pnömonisi, asbestoz ve ailesel İPF'li hastalarda bulunabilir.İdiopatik pulmoner fibrozun tedaviye cevabı veya prognozu ile korelasyon gösteren histolojik bir bulgu yoktur.

UİP paterninin histolojik ayırıcı tanısı diğer İİP'lerle (NSİP, DİP, OP ve AİP) yapılmalıdır.Histopatolojik olarak UİP tanısı konulduğunda da, histolojik görünümleri aynı olan İPF dışındaki hastalıklar ayırıcı tanıda düşünülmelidir.Bu hastalıklar; asbestoz kollajen vasküler hastalık, hipersensivite pnömonisinin fibröz fazı, radyasyon pnömonisi ve Hermansky Pudlak sendromudur.

Romatoid artrit, progresif sistemik skleroz, Sjögren sendromu, dermatomyozit ve polimiyozit gibi kollajen doku hastalıkları ekstrapulmoner klinik bulguları ve otoantikolar ile kolay tanınırlar.Asbestoz ve ilaç reaksiyonu tanısı için meslek ve ilaçları içeren ayrıntılı anamnez alınmalıdır.Asbestozda doku örneklerinde ferriginöz asbest cisimcikleri görülür.Hiler ve paratrakeal lenfadenopati ile birlikte diffüz akciğer hastalığı tanısı izlenmesi öncelikle sarkoidozu düşündürür.Nörofibromatoz ve tüberoskleroz, lenfajitis karsinomatoza, histiyositozis X, eozinofilik pnömoni , KOP, LİP, RB-İAH ayırıcı tanıda diğer düşünülmesi gereken hastalıklardır (96,97).

2.2.6.TEDAVİ

İPF progresyon gösteren sinsi ve fatal seyirli bir hastalıktır.Spontan remisyon görülmez.İnflamasyonun akciğer hasarı ve fibrozuna yol açtığı düşüncesi ile inflamatuvar ve immün yanıtı baskılamak ve yok etmek tedavinin amacını oluşturur.Fakat İPF'li hastalarda yaşam kalitesini ve sağ kalımı artıracak herhangi bir tedavi şekli yeterli klinik verilerle henüz gösterilememiştir (3).

İdiopatik pulmoner fibrozlu hastaların prognozunun kötü olması nedeni ile birçok uzman tarafından kontrendikasyonu olmayan hastaların tümüne tedavi başlanması önerilmektedir.ATS ve ERS'nin 2000 yılında yayınladığı uzlaşma raporunda ise tüm hastalarda tedavinin gerekli olmadığı bildirilmektedir.Günümüzdeki tedavilerin başarısı sınırlı olduğu için İPF'li hastalara uygulanan herhangi bir tedavi protokolünün potansiyel yararları, tedaviye ilişkin olası komplikasyonlar ile birlikte değerlendirilmelidir (2).

Tedaviye başlamak için kesin zaman bilinmemektedir.Fibrozis gelişmeden önce, hastalığın erken döneminde tedaviye başlanırsa yanıtın daha iyi olacağına inanılmaktadır.Bu nedenle, akciğer fonksiyonlarındaki azalmanın veya klinik ve fizyolojik bozulmanın ilk saptandığı dönemde tedavi verilmesi önerilmektedir (2,3).

İPF tedavisinde kortikosteroidler, immünsüpresif sitotoksik ajanlar (azotioprin ve siklofosfamid), antifibrotik ajanlar (kolşisin, D-penisilamin, pirfenidon, interferon-gama ve antioksidan ajanlar (N-Asetil sistein) kullanılmaktadır.Tedaviye başlanmadan önce hastaya kortikosteroid ve sitotoksik tedavinin yan etkileri konusunda bilgi verilmelidir.

Kortikosteroidler

Kortikosteroid kullanan ve kullanmayan hasta gruplarının karşılaştırıldığı çalışmaların sonuçlarına göre; tedavisiz grupta düzelme gözlenmezken, tedavi verilen grupta %10-30 objektif yanıt, %40'dan fazla semptomatik düzelme gözlenmiştir.Yanıtlar genelde parsiyel ve geçicidir (97,98). Çok az sayıda hastada iyileşme elde edilir. Steroide yanıt veren hastalarda bile başlangıçta gözlenen yanıtın sonra nüks veya hastalığın progresyonu sık karşılaşılan bir durumdur.Kortikosteroidlerin İPF'de etki mekanizması kesin olarak bilinmemekle birlikte, akciğerde nötrofil ve lenfosit göçünü engellediği, immün kompleks düzeylerinde azalmaya neden olduğu, alveoler makrofajların fonksiyonlarını değiştirdiği, fibroblast proliferasyonuna neden olan inflamatuvar sitokinleri inhibe ettiği düşünülmektedir (99).

Tedaviye yanıtı olumlu etkileyen faktörler; hastanın kadın ve genç olması, radyolojik ve fizyolojik hasarın az olması, açık akciğer biyopsisinde histopatolojik olarak deskuamatif interstisyel pnömoni varlığı, BAL'da lenfosit oranının yüksek olması ve YRCT'de buzlu cam görünümünün olmasıdır.Yüksek doz intravenöz pulse metilprednisolon (1-2gr/hafta veya iki hafta) kullanılmış fakat oral kortikosteroidlere göre bir avantaj saptanmamıştır (100).

En son İPF uzlaşısı raporunda önerilen tedavi şemasında prednizolon (veya eşdeğeri);

0.5 mg/kg(LBW) /gün oral 4 hafta

0.25 mg /kg(LBW) /gün oral 8 hafta

0.125 mg/kg (LBW) /gün veya 0.25 mg/kg/ gün aşırı; tedaviye yanıtına göre 1 veya 2 yıla kadar devam edilir.(LBW-lean body weight; boy, cins ve yaşa göre hesaplanan yağsız vücut ağırlığı)

Kortikosteroid tedavisi genellikle iyi tolere edilmekle birlikte yan etkiler sık görülür. Peptik ülser, posterior kapsüller katarakt, intraoküler basınç artması, hipertansiyon, endokrin ve metabolik bozukluklar (obezite, aydede yüzü, menstrüasyon bozuklukları, impotans, hiperglisemi, hipokalemi, metabolik alkaloz , sekonder adrenal yetmezlik, femur ve humerus başının aseptik nekrozu, miyopati), psikiyatrik bozukluklar (depresyon, öfori, psikoz) ve fırsatçı enfeksiyonlardır. Miyopati , diyafragmatik ve interkostal kas gücünü zayıflatır ve tedavi etkinliğinin değerlendirilmesini güçleştirebilir. Steroidin indüklediği osteoporoz özellikle postmenopozal kadınlarda kısa süreli (3-6 ay) tedavide sık görülebilir.

İdiopatik pulmoner fibroz uzlaşma raporunda, kortikosteroid tedavi, başarısının sınırlı olması ve tedavi ile ilgili komplikasyonların riskinden dolayı bazı durumlarda (70 yaş üzeri, aşırı şişmanlık, kontrol altına alınamayan hipertansiyon ve diyabet, ileri derecede osteoporoz, ileri derecede solunum fonksiyon bozukluğu ve son dönem "bal peteği" akciğeri olanlara) önerilmemektedir.

Sitotoksik Ajanlar

İPF'de sitotoksik ve immünsüpresif ajanlar kortikosteroid tedavisine yanıt alınamayan hastalarda, kortikosteroid tedavi ile ilgili ciddi yan etki ortaya çıkanlarda ve kortikosteroid için yüksek risk taşıyanlarda kullanılmaktadır.

Azotioprin (İmuran)

DNA ve RNA sentezini inhibe eden bir pürin analogudur. Antiinflamatuar etkisini prostaglandin sentezini ve nötrofil göçünü inhibe ederek gösterdiği düşünülmektedir. Kortikosteroidlere bağlı yan etki gözlenen ve yanıt alınamayan hastalarda kullanılır. Azotioprin ve kortikosteroid kombinasyonu ile az da olsa daha iyi yanıt alındığını gösteren çalışmalar vardır. Azotioprin kortikosteroid tedaviye eklendiğinde bazı hastalarda sağ kalıma olumlu katkı sağlar (101,95).

Azotioprin dozu 2-3 mg/kg (LBW) /gün; maksimum doz 150mg/gün oraldır. Doz 25-50 mg /gün olarak başlanır. Her 7-14 günde maksimum doza erişinceye kadar 25 mg artırılır (2,3).

Azotioprin, siklofosfamid ile karşılaştırıldığında, daha az toksiktir ve daha iyi tolere edilir. Bulantı, kusma, peptik ülser, diyare, karaciğer enzimlerinde yükselme , anemi, lökopeni, trombositopeni gibi yan etkiler görülebilir.

Siklofosfamid :

İdiopatik pulmoner fibroz tedavisinde tek başına siklofosfamidin kortikosteroidlere göre üstün olduğunu gösteren çalışma yoktur. Siklofosfamid ve düşük doz

kortikosteroid tedavisinin, yüksek doz kortikosteroid tedavisine üstünlüğü gösterilememiştir (102).

İPF uzlaşısı raporunda, siklofosfamid için önerilen doz 2mg/kg/gün; maksimum doz 150 mg/gün oraldır. Doz 25-50 mg/gün olarak başlanır, 7-14 günde bir artırılarak maksimum doza ulaşılır (3).

İlacın yan etkileri olguların 1/3'ünde tedaviyi bıraktıracak kadar sıktır (102). Siklofosfamidin yan etkileri; hematolojik yan etkiler (lökopeni, anemi, trombositopeni), sekonder enfeksiyon (balteriyel ve fırsatçı enfeksiyon), ürogenital komplikasyonlar (hemorajik sistit, mesane kanseri, overlerde fibrozis, amenore, infertilite), gastrointestinal komplikasyonlar (stomatit, bulantı, kusma, diyare), hematolojik maligniteler (lösemi)(103).

Siklosporin A

Öncelikle polimiyozit ve dermatomiyozite eşlik eden interstisyel pnömoniler ile kortikosteroid tedavisine dirençli kollajen vasküler hastalıklarda kullanılmaktadır. Yeni yapılan çalışmalarda İPF'nin akut alevlenmesinde kullanıldığına ilişkin yayınlar mevcuttur. İPF akut alevlenme döneminde steroid tedavisi ile eş zamanlı olarak verilen düşük doz siklosporin A (100-150 mg/gün) alan hastalarda prognoz sadece steroid alan hastalara göre anlamlı olarak daha iyi olduğu görülmüş (104). Nörolojik, renal ve GİS toksisitesi yüksektir (105).

Klorambusil

Bazı araştırmacılar İPF tedavisinde siklofosfamidin yerine klorambusili kullanmışlardır. Bu ilaç GİS, kemik iliği toksisitesine neden olabilir, lösemiye indükleyebilir. Toksikitesi ve İPF tedavisi için mevcut verilerin eksikliği nedeni ile İPF tedavisinde önerilmemektedir (2).

Antifibrotik Ajanlar

Kolşisin

Kollajen oluşumunu baskılar, İPF ve sarkoidozlu hastalardan elde edilen invitro kültüre edilmiş alveoler makrofajlardan fibronektin ve alveoler makrofaj kaynaklı büyüme faktörü (AMDGF) salınımını inhibe eder (106). Ayrıca tubuline bağlanarak hücre replikasyonunu, polimorf nüveli lökositlerden sitokin salınımını inhibe eder. Etkinliği kortikosteroidlere benzer, ancak yan etkileri nadirdir (107). Kolşisin oral olarak 0,6 mg günde bir veya iki kez ilk basamak tedavisi olarak veya kortikosteroide refrakter hastalarda immünsüpresif sitotoksik ajanlarla kombine veya

tek başına verilebilir (2).İPF tedavisinde kolşisinin etkinliği konusunda kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

D-Penisilamin:

İdiopatik ve konnektif doku hastalığına bağlı akciğer fibrozunda yanıt alındığı bildirilmiştir (108).Toksik ve önemli yan etkilerinden (tat kaybı, bulantı, kusma, stomatit, nefrotoksisite) dolayı antifibrotik ajan olarak kullanımı sınırlıdır.Toksisitesi ve etkinliği hakkında doğrudan çalışmalar olmaması nedeniyle İPF tedavisinde yeri netleşmemiştir.

Diğer antifibrotik ajanlar

İnterferon Gama(IFN); Akciğer fibroblastlarının büyümesini inhibe eder, TGF-β1 ve kollajen üretimini azaltır (109).Fibrogenezi düzenlemede rol oynadıkları bilinmekte; protein sentezini regüle eder, alveoler makrofaj ve fibroblastların proliferasyonunu düzenleyerek antifibrotik etki gösterir.Haftada 3 gün 200 mikrogram subkutan uygulanır.IFN-gama1b dirençli IPF olgusuna denenmiş .olguların bir kısmında sadece prednizolon verilirken bir kısmına prednizolon ile birlikte IFN-gama1b verilmiş.1 yıl sonraki kontrolde kombine tedavi grubunda total akciğer kapasitesi ile istirahat ve maksimal eforla PaO2 'de belirgin düzelme saptanmıştır (110).

Pirfenidon; Oral olarak kullanılan antifibrotik bir ajandır.Fibrotik sitokinleri inhibe eder.Bir çalışmada İPF'li hastalara oral yoldan verilen pirfenidonla klinik düzelme olduğu ve solunum fonksiyon testinde bozulmanın yavaşladığı bildirilmiştir(111).

Suramin; profibrotik sitokin inhibitörüdür(2).

Prostaglandin E2; kollajen oluşumunu inhibe eder(2).

Diğer tedavi yöntemleri

İdiopatik pulmoner fibrozda oksijen radikallerinin alveol epitel hücrelerinde hasara yol açması nedeniyle antioksidan tedavinin yararı olacağı düşünülmektedir.Glutatyon düşük konsantrasyonlarda antioksidan olarak davranır.Mitojenlere yanıt olarak ortaya çıkan akciğer fibroblast proliferasyonunu suprese eder.İdiopatik pulmoner fibrozlu hastaların alveol epitel yüzeyinde glutatyonun eksik olduğu gösterilmiştir.N-asetil sistein (N-ac) glutatyon prekürsörüdür.Glutatyon sentezini stimüle eder.Yapılan çalışmalarda N-ac'nin oral ve intravenöz verilmesinin fibrozlu hastalarda ekstraselüler akciğer glutatyon düzeyini arttırdığı öne sürülmektedir.Bu mekanizma ile oksijen radikallerinin neden olduğu epitelyal hücre zedelenmesini önler (38,112).

Taurin; antioksidan özellik gösteren bir aminoasit(2).

Niasin; akciğer zedelenmesinde, fibrozis gelişimini önleyici etkisi olduğu gösterilmiştir (2).

Anjiotensin Konverting Enzim İnhibitörleri; kaptopril

Statin; (lovastatin) antifibrotik etkinliği nedeni ile denenmektedir.

Sitokin İnhibitörleri (transforming growth factor inhibitörleri) üzerinde çalışmalar devam etmektedir (2).

Tablo 4. İdiopatik Pulmoner Fibrozisde Potansiyel Medikal Tedaviler (113).

| Ajan | Biyolojik gerekçe ve güvenlik | Çalışmalar |
|-------------------------------------|---|--|
| Bosentan | <p>Endotelin-1, diffüz olarak mitojenik, vazoaaktif ve immünomodülatör etkileri olan endotel ve düz kas hücreleri tarafından salgılanan bir aminoasit, etkisini TGF-β1 üretimini artırarak gösterir, TGF-β1'in fibroblastlar üzerinde bağımsız uyarıcı etkileri vardır</p> <ul style="list-style-type: none">• Bosentan ,endothelin ET(A/B) reseptör antagonistidir. | <p>Faz II çalışması son zamanlarda tamamladı. Ön raporlara göre; 6 dakikalık testi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı, ancak ölüm ya da tedavi başarısızlığı için önceden belirlenmiş kombine sonuçlarda iyileşme gösterdiği yönünde destekleyici veriler vardır. Bu verilere dayanarak, bosentan için bir faz III çalışma başlatılması bekleniyor.</p> |
| Kaptopril, losartan (Cozaar) | <ul style="list-style-type: none">• Angiotensin II fibroblastlar üzerinde mitojenik etkileri olan vazoaaktif bir peptid. Anjiyotensin II aracılı fibroblast proliferasyonu TGF-β1 ,üretime bağlı gibi görünüyor .• Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibisyonu, Fas-insan alveol epitel hücrelerinde apoptozisin indüksiyonunu tamamen ortadan kaldırır .• in-vitro olarak fibroblast proliferasyonunu inhibe ve in- | <p>Solunum Hastalıkları, Meksika Ulusal Enstitüsü • Çalışmalar devam ediyor.</p> <ul style="list-style-type: none">•Retrospektif çalışmalara göre mortalite üzerine anlamlı bir etkisi yok . |

| | | |
|---|--|--|
| | vivo olarak da fibrotik akciğer yanıtı azaltır . | |
| Siklosporin | <ul style="list-style-type: none"> • Giderek artan şekilde T hücreleri üzerinde inhibitör etkisi var. T-hücre bağımlı antijenlere karşı gecikmiş tip aşırı duyarlılık, allogreft reddi ve antikor yanıtını baskıladığı bilinmektedir. | <ul style="list-style-type: none"> • interstisyel akciğer hastalığında siklosporin kullanımı ile ilgili az sayıda yayınlanmış raporlar teşvik edici olmaktan çok anekdotal olmuştur . |
| Etanercept (Enbrel) | <ul style="list-style-type: none"> • Etanercept bir TNF-α antagonistidir. • TNF-alfa, fibroblastların farklılaşmasını ve kollajen sentezini sağlar ama öncelikle mitojenik etkilere sahip bir sitokindir. | <ul style="list-style-type: none"> • Faz II çalışması devam ediyor. |
| Imatinib mesilat (Gleevec) | <ul style="list-style-type: none"> • Çeşitli tümör hücreleri ve akciğer fibroblastları gibi mezankimal hücrelerinin çoğalmasında rol oynadığına inanılır . • PDGF sinyal iletimi ve salınımın engellenmesi, hayvan modellerinde fibroproliferative yanıtı azaltır | <ul style="list-style-type: none"> • Faz II çalışması ABD'de devam etmektedir. |
| IFN-β1a | <ul style="list-style-type: none"> • In vitro olarak, fibroblastların göçü ve çoğalmasını azaltır. • Fibroblastlar üzerinden kollajen üretimini inhibe eder. | <ul style="list-style-type: none"> • Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada'daki randomize klinik çalışmalarda herhangi bir yararı gösterilemedi . |
| Keratinosit growth factor (Repifermin) | <ul style="list-style-type: none"> • Tip II pnömositlerin çoğalmasının uyarımı (anormal stimüle edilmiş alveol epitel hücreleri) fibrojenik sitokin sekresyonu ve intraalveolar antifibrinolitik aktivitenin bozulmasına neden olabilir. • Çeşitli yara modellerinde skar veya fibrozis uyarısı yapmadan reepitelizasyonu sağlar . | <ul style="list-style-type: none"> • Intravenöz, FDA onayı yok • Fibrozis oluşuktan sonra verildiğinde akut akciğer hasarında başarısızdır . • Kronik deri ülserleri, mukozit, ülseratif kolit (İnsan Genomu Bilimleri) için Faz II çalışmaları . |
| Lovastatin | <ul style="list-style-type: none"> • In vitro ve in vivo olarak fibroblast apoptozis indüksiyonu ile granülasyon | <ul style="list-style-type: none"> • Retrospektif çalışmalarda sağkalıma katkısı yok . |

| | | |
|---|---|--|
| | dokusu oluşumunu bloke eder. | |
| Mycophenolate mofetil (CellCept) | <ul style="list-style-type: none"> • İnozin monofosfat dehidrogenaz enzim inhibisyonu yoluyla pürin sentezi bloke ederek lenfosit fonksiyonu bozar | <ul style="list-style-type: none"> • İnterstisyel akciğer hastalığında, mikofenolat mofetil kullanımı ile ilgili az sayıda yayınlanmış raporlar ve anekdot mevcut. |
| D-penicillamine | <ul style="list-style-type: none"> • Çapraz bağları bozarak kollajen sentezini inhibe eder. • T hücre fonksiyonlarını süprese eder. | <ul style="list-style-type: none"> • Sınırlı çalışmalar nedeni ile İdiopatik interstiyel fibrozisde etkinliği gösterilemedi. • Çalışmaların çoğu, tasarım kusurları nedeniyle (kontROLSÜZ, yeterli birincil veya ikincil sonuç değerlendirmesi olmadığı için) başarısız, idiyopatik pulmoner fibrozisde diğer hastalar dahil yanıtı değerlendirmek için yeterli veri yok . |
| Pentoksifiline | <ul style="list-style-type: none"> • Metilksantin türevi, TNF- alfa sentezini azalır • İn vitro sıçan modellerinde, sekonder bilier fibrozisde karaciğer stellat hücre proliferasyonu ve kollajen sentezini engeller . | <ul style="list-style-type: none"> • İnsanlarda alkolik hepatit tedavisine yönelik çalışılmakta. |
| Sirolimus (Rapamune, rapamycin) | <ul style="list-style-type: none"> • Makrosiklik bir antibiyotik. • Antiproliferatif özelliğinden dolayı özellikle transplantasyonda immünsüpresif olarak kullanılmakta.. • Tekrarlayan karaciğer hastalığı olan hastalarda stellat hücre çoğalması İnhibe ederek, potansiyel fibrotik cevabı azaltır. | <ul style="list-style-type: none"> • Avusturalyada, fibrozisli hastalarda randomize klinik çalışmalar devam etmekte. |
| Suramin | <ul style="list-style-type: none"> • Nematod enfestasyonlarının tedavisinde kullanılan sentetik bir bileşiktir. • Sayısız profibrotik büyüme faktörlerinin etkisini inhibe eder. | |

- Tavşanlarda, göz cerrahisi sonrası gecikmiş yara iyileşmesine bağlı hipertrofik skar oluşumunu .

FDA = Food and Drug Administration; PDGF = platelet-derived growth factor; TNF = tumor necrosis factor.

Akciğer Transplantasyonu

Optimal ilaç tedavisine yanıt vermeyen ve hızlı progresyon gösteren olgular akciğer transplantasyonuna adaydır. Transplantasyon endikasyonları; vital kapasite veya total akciğer kapasitesinin %60 altında olması, karbonmonoksit difüzyon kapasitesinin %40 altında olması ve sürekli oksijen ihtiyacı. Kontrendikasyonları; 60 yaş üzerindeki hastalar, psikososyal sorunları olan hastalar ile karaciğer, böbrek ve kalp gibi ekstrapulmoner hastalıkları olanlar.

Uygun merkez ve verici olasılığının çok kısıtlı olması nedeni ile çok az sayıda hastada bu seçim şansı vardır. Akciğer transplantasyonu için uygun verici bulmak iki yıla kadar uzayabilmektedir. Bu nedenle hastalar erken dönemde listeye alınmalıdır. Ancak hızlı progresyon gösteren ve ciddi İPF'li hastalar bu süre içinde kaybedilmektedir.

Tek akciğer transplantasyonu günümüzde daha fazla tercih edilmektedir. Başarılı transplantasyondan sonra oksijen gereksiniminde azalma akciğer volümlerinde ve DLCO 'da düzelme, pulmoner hipertansiyon ve sağ ventrikül basıncında azalma gözlenir. Tek akciğer transplantasyonu ile sağ kalım bir yıl için %80, üç yıl için %55, beş yıl için %50 olarak bildirilmektedir. Greft yetmezliği, enfeksiyon, kalp yetmezliği erken mortalitenin; bronşiolit obliterans, malignite ise geç mortalitenin en sık nedenleridir (95,114).

3.TALİDOMİD

Talidomide 1956 yılında bir batı Alman firması tarafından Alman marketlerine sunulmuştur. Daha sonra 1958 yılında İngiltere ve diğer ülkelerde özellikle uykuya yardımcı olması, hızlı etkisi ve güvenli görünüşü nedeniyle marketlere girmiştir. Talidomide o dönemde FDA onayı alamadığı için Amerikan marketlerine girememiştir. Uzun zaman talidomide kullanan hastalarda periferik nöropatiler bildirilmiştir. McBride ve Lenz 1960 yılında talidomid kullanan annelerin bebeklerinde

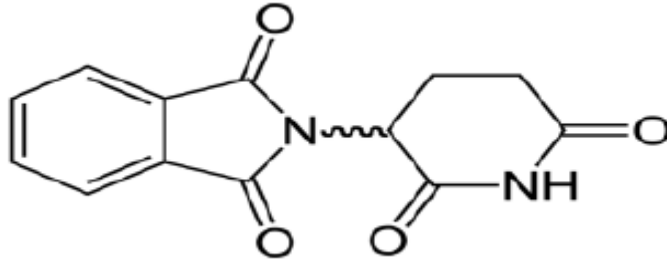
infant kol ve bacak defektleri bildirmişlerdir.Tahminen 5000-6000 infantta talidomid kullanımına bağlı fakomeli ve iç organlarda deformite bildirilmiştir(115).

Talidomide 1961 yılında sadece sınırları iyi tanımlanmış araştırma amaçlı kullanılmak üzere marketlerden kaldırılmıştır.Sheskin 1990'lı yıllarda eritama noduzum leprosum (ENL) üzerinde talidomid kullanımının dramatik tedavi edici etkilerini açıklayarak diğer otoimmün ve inflamatuvar tabanlı çalışmaların önünü açmıştır

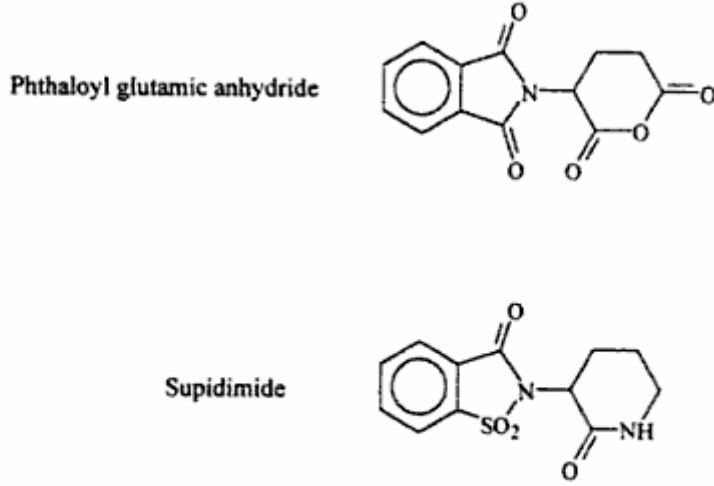
Farmakoloji

Yapı ve Kimyasal Özellikleri

Talidomide ya da alfa-phthalimidoglutarimide, bir glutamik asit derivativesi olup bemegrade (alfa-etil-alfa metil glutarimide) ve glutethimide (beta-etil beta phenyl glutarimide) ile ilişkili ancak farklı farmakolojik özelliklere sahip bir ajandır. L halka sisteminin sonunda phtalimide, sağında asimetrik karbon atomu ile glutarimide vardır.(Şekil- 5).Talidomide optik olarak aktif L-ve R- izomer formlarını içermekte ancak farklı klinikte optik olarak inaktif rasemik karışımı kullanılmaktadır.Her enantiomer formunun farklı klinik özelliklerinin olup olmadığı açık değildir (115).



Şekil-5.Talidomidin kimyasal yapısı.



Şekil-6. Talidomid deriveleri

Talidomid benzen ve eterde çözünmez ancak su, metanol,aseton, glisyal asetik asitte az çözünürken, dioksan, dimetil formamid, piridin ve kloroformda süratle çözünür .

Farmakokinetik

Talidomide farmakokinetiği ve üriner sekresyonu yüksek performanslı likid kromatografik analizi ile yapılmıştır.Gönüllü hastalarda yapılan çalışmalarda 8 gönüllünün 6'sında 200 mg oral alım sonrası 4,39 + 1.27 saat sonra 1.15 + 0,2 mg/ml olan pik değerlerine ulaşılmıştır.Absorbsiyon yarılanma ömrü 8.7+ 4.11 saattir.Total dozdan 24 saat sonraki üriner ekskresyon miktarı sadece % 60 + %0.22 olup plazma ve idrar örneklerinde hiçbir metaboliti bulunamamıştır.Ancak tek oral doz alım sonrasında 24 saat sonra bile plazmada izlenebilmektedir(115).

Metabolizma

Hayvan çalışmalarında non enzimatik hidrolitik yolla parçalandığı izlenmiştir. Talidomid, karaciğerde sitokrom p-450 ailesi tarafından metabolize edilir. Talidomid nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ile inkübe edildiğinde tümör hücrelerinin konkavalin-A kaplı polietilene yapışmasını önlemektedir.Hepatik mikrozomlarda p-450 inhibitörleri ile talidomid aktivasyonu engellenmektedir(115).

Etki Mekanizmaları:

Hipnosedatif etki :

Talidomidin hipnosedatif etkisinin glutarimid halkasından kaynaklandığı bilinmektedir.Talidomid, barbitüratlardan farklı olarak ön beyindeki uyku merkezini

aktive etmektedir. Çok yüksek dozlarda bile respiratuar depresyona yol açmaz. İmmünsupresyon:

Farelerde yapılan çalışmalarda donör ve alıcıda talidomid kullanımını takiben homograft ömürlerinin uzadığı izlenmiştir. Baboon ve rhesus cinsi maymunlarda yapılan çalışmalarda böbrek reddinin progresyon faktörü olan eritropoetin düzeylerini renal allogreftlerde düşürdüğü gözlenmiştir (115).

Diğer etkiler

Polimorfonükleer hücreler ile talidomidin preinkübasyonu kemotaksisini önlemekte fakat kemotaktik faktörlere direkt ilacın eklenmesi kemotaksisi önlememektedir. Talidomide 10 ug/ml dozunda sitotoksik etki olmaksızın anlamlı bir şekilde monosit fagositozunu önlemektedir. Sağlıklı gönüllülerde talidomide verilmesini takiben dolaşan T-helper hücrelerinde azalma T-süpresör hücrelerinde anlamlı şekilde artış izlenmiştir. Talidomid IL-1, IL-6, GM-CSF ve genel proteinleri etkilemeden TNF-alfa mRNA yapımını azaltarak TNF-alfa üretimini azaltmaktadır. İnsan periferik kan mononükleer hücre kültürlerinde eklenen talidomid ile IFN-gama üretimi azalmış, IL-4 ve IL-5 üretimi artmıştır. Bir başka çalışmada koyun kırmızı kan hücreleri ile immünizasyon öncesi 5-7 gün talidomid verilen farelerde IgM antikoru formasyonu azalmıştır. Talidomide verilen AIDS (Acquired İmmün Deficiency Syndrome) hastalarında HIV-1 (Human İmmündeficiency Virus-1)'in latent aktivasyonunun baskılandığı izlenmiştir. Ayrıca anjiyogenezisin indüklediği tavşan kornealarında basic fibroblast growth factor (β FGF) yapımının inhibe edildiği izlenmiş, Wallerian dejenerasyonu izlenen ratlarda talidomide kullanımını takiben hücre proliferasyonunun, subperinöral ödemin ve miyelin fagositozunun azaldığı saptanmıştır (115).

Talidomidin Kullanıldığı Hastalıklar

1965'den sonra talidomide yeniden oluşan ilgi, onun eritema nodozum leprozum, subkütan ağrılı nodüllerle karakterize lepranın vaskülütik komplikasyonları, ateş ve diğer konstitüsyonel bulgularına yararlı olabileceği bulundu. 15 yılda 4000'den fazla hastadan elde edilen veri 24-48 saat içerisinde %99 hastada cevap oluştuğunu göstermiştir. Sarkoidozun granümatöz lezyonlarında da aynı derecede etkilidir. Lupusun dirençli cilt lezyonlarının tedavisinde talidomid orta derecede etkiliyken, eklem ve iç organ tutulumundaki etkisi tartışmalıdır. Behçet hastalığının oral ve genital lezyonlarında talidomid tedavisinden sonra düzelme bildirilmiştir

Talidomid tedavisinin piyoderma gangrenozum, prurigo nodularis, porfira kutanea tarda, liken planus gibi dermatozların takibinde yararlı olduğunu bildiren yayınlar vardır TNF- α ile ilişkilendirilen bir hastalık olan dirençli romatoid artritde, talidomidin etkisi eklem ağrısında değişkendir. Bir yayında romatoid faktörde azalma ile %80 tam veya kısmi yanıt bildirilmiştir

Ankilozan spondilit, Still's hastalığı, sistemik sklerozis, sjögren sendromu ve diğer romatolojik hastalıklarla ilgili talidomidle sınırlı sayıda hasta içeren çalışmalar mevcuttur.

TNF- α ve IL-12 ile kısmi ilişkilendirilen crohn hastalığı steroide bağımlı hastalarda kısa sürede talidomidle etkin olarak kontrol edilebilmiştir. Ayrıca steroid dozunda yarıya düşürmüştür.

Talidomid HIV-1'deki Kaposi Sarkomunda orta derecede etkili bulunmuştur. Oral aftöz lezyonlarda %50'nin üzerinde düzelme, gastrointestinal şikayetlerde azalma, kilo kaybında azalma da bildirilmiştir.

İlerlemiş kalp yetersizliği, TNF- α 'yıda içeren inflamatuvar mediatörlerde artışla karakterizedir. Talidomid verilerek yapılan sınırlı bir çalışmada fonksiyonel kapasite, ejeksiyon fraksiyonunda düzelme bildirilmiştir.

Multibl myelom, prostat kanseri, renal hücreli karsinom, glioma, kolorektal kanserler, melanomada da kullanılmaktadır (116).

Yan Etki

Teratojenite:

Konsepsiyondan 34-50 gün sonra alınan tek doz 100 mg talidomid (plazma konsantrasyonu 1 mg/l) malformasyon oluşturmaya yetmektedir Son 3 dekadır yapılan çalışmalara rağmen talidomidin hangi mekanizmayla embriyopati yaptığı anlaşılamamıştır. Kol ve bacak tomurcukları oluşurken kan damarlarının büyümesinde bir inhibisyon yaptığı varsayılmaktadır. Elektron mikroskopi ile yapılan çalışmalarda deforme embriyo dokuları ile talidomid tedavisi verilen tavşanlardaki korneal neovaskülarizasyonun inhibisyonunda görülen örneklerde ultrastruktüel yapıların angiogenezis inhibisyonundaki yapılara benzer olduğu görülmüştür (115)

Periferel Nöropati

Talidomid kullanan hastalarda daha çok sensoriyel semptomlar izlenmekte, orta şiddette piramidal yol hasarına bağlı olarak hafif şiddette proksimal kas güçsüzlüğü şikayetleri görülmektedir. İlacın kesilmesinden sonra kas güçsüzlüğü hızla azalmasına rağmen duyuusal bozukluklar devam edebilmekte, bazen de ilaç kesilmesine rağmen

kötüleşmektedir.Talidomid nöropatisi izlenen hastaların 4 ile 6 yıl arası takiplerinde %25 hastada tamamen iyileşme, %25 hastada hafif bozukluk, %50 hastada duysal semptom ve bulgularda hiç değişme izlenmemiştir (115)

Talidomid bağlı nöropati retrospektif çalışmalarda lepra tedavisi görenlerde %1, prurigo nodularis tedavisi alanlarda %70 oranında bildirilmiştir.

Talidomide diğer sedatif ilaçlar gibi çok az miktarda tiroid sekresyonunu azaltmakta ve bu etkisinin tiroid stimulan hormon yapımının azalmasına bağlı ortaya çıktığı düşünülmektedir.Ayrıca ACTH ve prolaktin üretim ve sekresyonunu stimüle etmekte ve hipoglisemiye neden olmaktadır (115).

Diğer yan etkileri

İlaç etkileşimleri

Talidomid barbiturat, alkol, klorpromazin ve rezerpinin etkisini artırmaktadır.Histamin, serotonin, asetil kolin ve prostaglandinlerin etkisini antagonize etmektedir (115).

Sonuç olarak talidomid ile tedavi birçok mukokutanöz hastalıklarda iyiden mükemmele kadar değişik sonuçlar vermiştir. Ayrıca diğer tedavilere dirençli hastalarda iyi cevaplar alınmıştır.Çeşitli yan etki ve tehlikelerine rağmen uygun hastalarda rahatlıkla kullanılabilir (115).

4. PULMONER FİBROZİS VE HAYVAN MODELLERİ

Hayvan modelleri çoğu zaman hastalıkların araştırılmasında önemli rol oynar.Kronik hastalıklar ise daha zor modellerdir.İPF ise etiyolojisinin ve başlangıç zamanının bilinmemesi ve indükleyici tek bir neden olmaması nedeni ile daha komplikedir.Bu nedenlerle de hayvanlarda sadece indüklenerek oluşturulabilmektedir.Yıllardır farklı fibrozis modelleri geliştirilmiştir.Çoğu özelliği benzer ancak asla tam olarak insandaki özelliklerle, progresif ve irreversibl olma özelliği gibi İPF özelliklerini taşımaz.Radyasyon hasarı, bleomisin instilasyonu, slika yada asbestoz instilasyonu, tranjenik (fibrojenik sitokinleri oluşturma oluşturma hasarı olan gen transferi yapılan) fareler gibi çeşitli methodlar mevcuttur.Ancak deneysel fibrozis modeli için indükleyici standart ajan bleomisindir (117).

Bleomisin

Bleomisin, baş, boyun, serviks, ösefagusun yassı hücreli karsinomu, germ hücreli tümörler, intraplevral uygulama ile malign plevral efüzyon, Hodking ve non-Hodking lenfomalar da dahil olmak üzere çeşitli kanserlere karşı anlamlı etkinliği olan bir antibiyotiktir.Belirlenmiş akciğer toksisitesi insidansı %2-%40 arasında değişmekte,

sıklıkla subakuttan, kronik interstisyel pnömoniye kadar geniş bir tablo ile kendini belli ederken daha az sayıdaki hastada immünolojik patogeneze bağlı ortaya çıkan akut hastalık ve geri dönüşümlü eozinofilik pnömoni tablosu göstermektedir.

Bleomisin çoğunlukla akciğer ve deride birikerek, buradaki DNA'yı oksijen radikalleri oluşturarak parçalar. Teorik olarak bu oksidanlar ve bölgesel olarak üretilen antioksidanlar arasındaki dengesizlik, epitel hasarı ve interstisyel fibroza neden olabilir (118). Pulmoner fibrozis ile hayvan deneylerinde kullanımının temelinde, bleomisinin, insan kemoterapisindeki majör advers ilaç yan etkisi olan fibrozis oluşturma özelliğine dayanmaktadır. Bleomisin hidrolaz, bleomisini inaktive eden bir enzimdir, akciğerde düşük düzeyde bulunan bu enzimden dolayı bu alanda daha fazla hasara neden olur. Hastalarda pulmoner yen etki doz bağımlıdır. Yaşla ilişkili olarak, yeni sigarayı bırakanlarda ve hala içenlerde daha çok hasar oluşturur. Akciğer toksisitesi bleomisin alan hastaların %10'unda meydana gelir. %1 hastada ise haftalar ve aylar içinde progrese olabilir (117).

Bleomisinli Hayvan Modelleri

Bleomisin köpek, fare, rat ve hamsterlarla yapılan deneysel çalışmalarda instilasyondan çok kısa bir zaman sonra inflamasyon ve fibrozis oluşturması nedeni ile ilk tercih edilen ajandır.

İlk olarak artan proinflamatuvar sitokinler (IL-1, TNF-alfa, IL-6 ve IFN-gama) sonra pro-fibrotik markırlar (TGF- β 1, fibronektin ve prokollajen-1) salınır. 14. gün civarında sitokin salınımda pik oluşur. İnflamasyon ve fibrozis arasındaki geçiş dönemi bleomisin verildikten sonraki ilk 9 günlük dönemde olur.

Histopatolojik görünüm, alveoller arası dallanmalar, mural kollajen köprüleri ve alveoler boşluğun obliterasyonu şeklinde ve İPF'li hastaların patolojik görünümüne benzerdir. Bu nedenle de bleomisin ile oluşturulan modeller deneysel çalışmalarda oldukça popülerdir. Aynı zamanda bleomisin modelinin oluşturulması kolay, geliştirilebilir olması, yaygın ulaşılabilmesi, üretilebilmesi ve İPF'ye ait en önemli kriterlerin çoğunu karşılayabilmesi nedeni ile iyi bir hayvan modelidir.

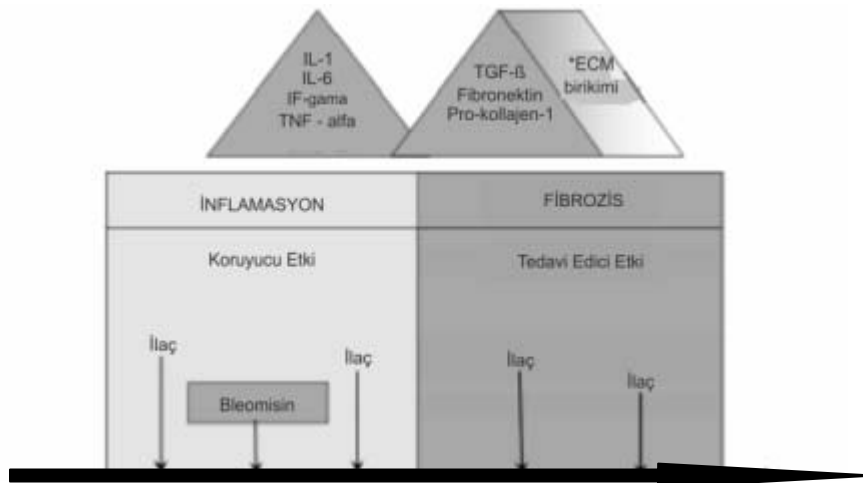
Her bir denek için fibrotik cevabın oluşması ya da farklı fibrotik paternler gelişmesi için tahmin edilen uygun doz miktarı saptanmıştır. Bu da tedaviye bağlı olarak farklıdır. Bleomisinin standart rutin uygulama yolu instilasyondur ve bronkosentrik tarzda fibrozise neden olur. İntravenöz ve intraperitoneal uygulamada subplevral skar oluşumunu indükleyici tarzda ve insanlardaki hastalığa benzer şekilde fibrozis gelişir.

Bleomisin modelleri çoğunlukla sitokinler, growth faktör ailesi ve pulmoner fibrozise uzanan sinyal yolunu içerir. Örneğin pulmoner fibrozis gelişiminde TGF- β 1 'in anahtar rol oynadığının bilinmesi ve deneyde kullanılması, fibrozis gelişimin gösterilmesinde yardımcıdır.En yeni ajanlar (TGF- β antagonistleri gibi) ve daha eski bilinen (ACE inhibitörleri) ilaçlarla birlikte bleomisinle oluşturulan modellerde TGF- β 1 'in keşfedilmesi oldukça umut vericidir.Bu ilaçlardan biri olan decorin endojen bir proteoglikan ve TGF- β inhibitörü olarak bilinir.

Yinede tartışmasız şekilde bazı özellikleri ve histolojik değişikliklere benzerlikleri olsa da progresif gelişen insan İPF'sini anlamaya çalışmak açısından bleomisinli hayvan modelleri ciddi sınırlandırmalar içerir.Mantıksal olarak da bleomisinle oluşan inflamatuvar cevapla birlikte serbest radikallerin aşırı üretimini, nötrofiller ve makrofajların aktive olması ile pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımını tetikler .Bu kaskad akut akciğer hasarında ortaya çıkar, sıklıkla fibrozis gelişse de yine de kısmen reversible olur.Dolayısıyla yavaş ve irreversibl progresyonundan dolayı, bleomisinli modellerle insan İPF'si tam olarak taklit edilemez.İlaç çalışmaları da hayvan modellerinin bu özelliği göz önüne alınarak yapılır.

Bleomisinli Modellerde İlaç Etkileşim Çalışmaları

Potansiyel antifibrotik ajanlar, yaygın olarak bleomisinli hayvan modelleri ile değerlendirilir.Bu modellerde çok sayıda fibrotik progresyonu koruyucu etken madde gösterilmiştir.Klinik kullanımda 1980-2006 yılları arasında 232 makale sınıflandırılmış, tüm makalelerde başarılı olduğu ve antifibrotik ajanın aynı zamanda koruyucu tedavi gösterdiği belirtilmiştir.Bunun anlamı, bleomisin uygulandıktan sonraki ilk 7 gün içinde verilen ajan koruyucu 7 günden sonra uygulanan ajanlar tedavi edicidir.



*ECM:ekstraselüler matrix

Şekil-7. Bleomisinin indüklediği fibrozisde gelişim süreci

Çalışmaların çoğunda bleomisin tek doz olarak intratrakeal instilasyon ile kiloya uygun dozda verilmiş ve bleomisin verildiği gün 0. gün kabul edilmiştir.

Karşılaştırmak için yapılan skalada antiinflamatuvar ve antifibrotik ilaç etkinliğinin ayırımını yapmak önemlidir.İlaç etkinliği zamanlamaya kritik olarak bağımlıdır.Erken dönemde verilen ajanlar daha çok antiinflamatuvar ajanlardır ve koruyucu tedavi olarak değerlendirilir.Buna karşın doğru antifibrotik ajanın belki de etkinliği irreverzibl olan, fibrotik dönemde kullanılması tedavi edici etkinliğin ortaya çıkarılması açısından önemlidir.

Geçmişte yapılan benzer çalışmalar tarandığında antifibrotik ajanların büyük kısmı koruyucu tedavi olarak uygulanmıştır. İlaç uygulamalarında oral, subkutan, intraperitoneal ve intravenöz enjeksiyon gibi farklı metodlar kullanılmıştır ve aynı zamanda adenovirus ve Japon Hemaglutinasyon Virus (HVJ) gibi gen modifiye teknolojiler de kullanılmıştır.Çalışmanın sonlandırılması ise bleomisin uygulamasından sonraki 1. günden 80. güne kadar değişmekte ancak en yaygın uygulama 14 ila 28 gün arasında olmaktadır.Çalışmada doğru sonlandırmayı seçmek önemlidir.Özellikle standart sonuç parametreleri 21 günden sonra yükselir ve 21 günden sonra akciğer hidrokspolin düzeyi ve histomorfometri değerleri bazal değerlerine döner.

Fibrozisi değerlendirmede çeşitli metodlar mevcuttur .Örneğin semikantitatif histolojik analiz, bazı skora sistemleri (Ashcroft, Simpson ve Timbrell), hidrokspolin düzeyi ve kollajen uzunluğunun ölçümü, BAL 'da toplam hücre sayısının analiz edilmesi, diferansiyel hücre sayımı, TNF-alfa ve TGF-β1 seviyesinin ölçümü. Proinflamatuvar mediatörler, örneğin monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ve makrofaj inflamatuvar protein-2 (MIP-2) gibi bazı vakalarda ölçülebilir diğer parametrelerdir (117).

4.1.Ashcroft Skorlama Sistemi

Ashcroft ve ark.'nın geliştirdiği yöntemde, akciğer örneklerinin parafin kesitleri hematoksilen eozin ve trikrom metodu ile boyanıp 10'luk objektif büyütme ile mikroskopta sistematik olarak incelenip, ard arda gelen her bir alan fibrozis yönünden değerlendirilip, 0-8 arasında puanlanır.Kesitteki bütün alanların incelenmesinden sonra tüm alanların ortalama skoru fibrozis skoru olarak değerlendirilir.Her alanda, alanın yarısından fazlasını kapsayan predominant fibrozis derecesi kaydedilir.

Ashcroft kriterlerinin başlıca avantajı; fibrozisi iyi derecelendirmeye imkan sağlamasıdır. Alan skorları, ortalaması 0'dan 8'e kadar değişen numarasal skala ile verilmektedir. Önceki yıllarda kullanılan şemalar akciğerde fibrozisin yaygınlığını değerlendirmeyi sağlarken bu yöntem küçük bir akciğer dokusu örneğinde fibrozisin skorlanmasına imkan sağlar (119).

Tablo-5. Ashcroft Kriterleri.

| Fibrozis Derecesi | Histolojik Bulgular |
|--------------------------|---|
| 0 | Normal akciğer |
| 1 | Alveoler veya bronşiyal duvarlarda kalınlaşma yapan minimal fibrozis |
| 2-3 | Akciğer dokusunda bariz değişme olmadan duvarların orta derecede değişmesi |
| 4-5 | Akciğer dokusunda tanımlanabilir bir hasar yapan artmış fibrozis ve fibrötik bant oluşumu veya küçük fibröz kistler |
| 6-7 | Dokunun ciddi harabiyeti ve geniş fibrozis alanları, 'bal peteği' akciğer |
| 8 | Alanın total fibrozisle obliterasyonu |

5.GEREÇ VE YÖNTEM

5.1.Deney Hayvanları

Çalışmamızda Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden Wistar tipi ağırlıkları 350-450 gr arasında olan 30 adet erkek rat kullanıldı. Standart rat kafeslerinde optimal şartlarda 28 gün su ve ad libitum standart pellet yem verildi. Kafesleri, yatakları, yiyecek ve suları kullanılmadan önce sterilize edildi. Oda sıcaklığı 24-27° C arasında tutulup 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı. Ratlar kontrol (K), bleomisin (B) ve talidomid (T) şeklinde rastgele alınarak 3 gruba ayrıldı. Her bir grupta 10 adet rat mevcuttu.

5.2.Deney Grupları

Grup I (n=10, kontrol grubu): Bu gruptaki ratlara çalışmanın 1. günü tek doz intratrakeal (i.t.) 0.4 cc fosfatla tamponlanmış steril salin (PBS; phosphate buffered saline) ile çalışmanın 14. günü başlanarak haftada 5 gün orogastrik sonda ile 0.6 cc %0.5'lik karboksimetil selüloz (CMC) uygulandı. Çalışmanın 28. günü ratlara anestezi koşullar altında BAL işlemi yapıldı, sonrasında patolojik değerlendirme yapılması amacıyla her iki akciğer dokusundan örnekler alındıktan sonra sakrifiye edildi.

Grup II (n=10, Bleomisin (BLM) grubu) : Bu gruptaki ratlara çalışmanın 1. günü bleomisin sülfat (BLM) (ONCO-İstanbul) i.t. olarak PBS içinde çözündürülerek 7.5 U/kg olacak şekilde tek doz yapıldı. Çalışmanın 14. günü başlanarak haftada 5 gün, toplamda 10 gün olmak üzere orogastrik sonda ile 0.6 cc %0.5'lik CMC uygulandı. Çalışmanın 28. günü ratlara anestezi koşullar altında BAL işlemi yapıldı, sonrasında patolojik değerlendirme yapılması amacıyla her iki akciğer dokusundan örnekler alındıktan sonra sakrifiye edildi.

Grup III (n=10, Bleomisin ve Talidomid grubu): Bu gruptaki ratlara 1. günü BLM sülfat i.t. olarak PBS içinde çözündürülerek 7.5 U/kg olacak şekilde tek doz yapıldı. Çalışmanın 14. günü başlanarak haftada 5 gün, toplamda 10 gün orogastrik sonda ile 0.6 cc %0.5'lik CMC ile hazırlanmış süspansiyon halindeki talidomid (ERKİM-istanbul) 100 mg/kg dozunda verildi. Çalışmanın 28. günü ratlara anestezi koşullar altında BAL işlemi yapıldı, sonrasında patolojik değerlendirme yapılması amacıyla her iki akciğer dokusundan örnekler alındıktan sonra sakrifiye edildi.

5.3.Yapılan İşlemler

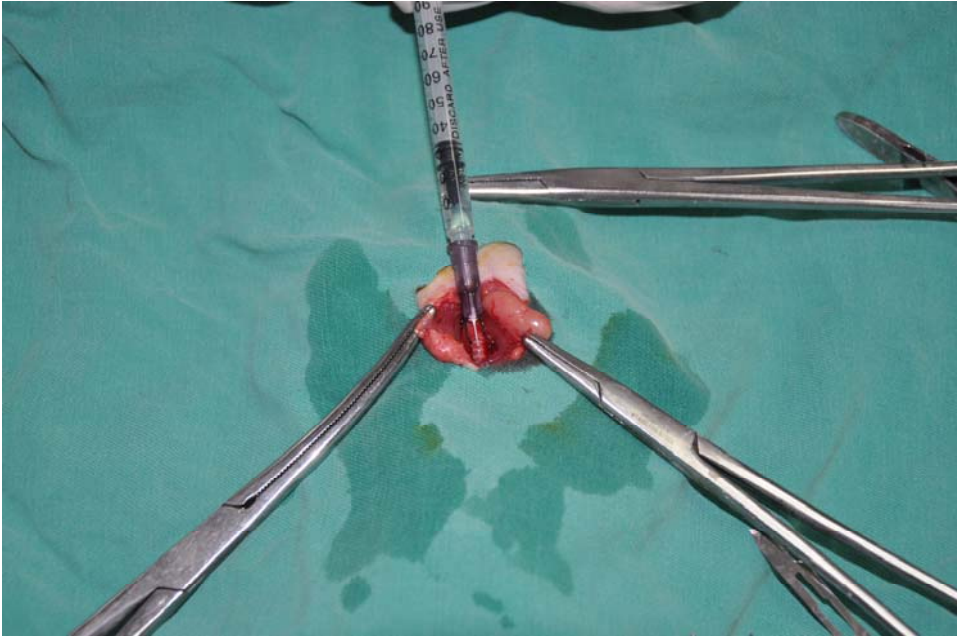
Tüm ilaç uygulamaları aynı saatte yapıldı. BLM ve PBS uygulaması anestezi altında yapıldı. Anestezi için 1 mg/kg %2'lik Alfazyne (EGE-VET-İzmir) ile 0.5 ml/kg dozunda Ketalar (PFİZER-İstanbul) aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anesteziye girmeleri beklendi. Bu sürede BLM'nin 15 Ü 'lik flakon formu PBS içinde çözündürüldü. Anestezi altındaki ratların boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı (Resim-4), cilt ve cilt altı dokular klemp yardımı ile ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı (Resim-5). Trakea içine 100 ünitelik insülin enjektörü ile girilerek BLM uygulaması yapıldı (Resim-6). BLM akciğere tam ulaşabilmesi için ratlara eğimli bir zemin üzerinde iken enjeksiyonlar yapıldı. Kontrol grubuna da 0.4 cc PBS verildi. İşlem bittikten sonra kesi bölgesi sütür ile kapatılarak (Resim-7), antiseptik iyotlu solüsyon ile yara bakımı yapıldı. Çalışmanın 14. günü 0.6 cc %0.5 'lik CMC içinde 100mg/kg talidomid süspansiyon olarak hazırlandı ve talidomid grubuna haftada 5 gün (toplam 10 gün) orogastrik yoldan verildi. 100 ünitelik insülin enjektörü ucuna iğnesi çıkarılan intraket takılarak (Resim-8) ratların özofagus bölgesinden kanül uzatıldı ve ilaç enjekte edildi (Resim-9).



Resim-4. Boyun ön bölgesi orta hat kesisi.



Resim-5. Cilt ve cilt altı dokuların klemp yardımı ile açılması.



Resim-6.İntratrakeal instilasyon (insülin enjektörü ile trakea içine bleomisin uygulaması).



Resim-7. Kesi bölgesinin sûtür ile kapatılması.



Resim-8. İnsülin enjektörünün ucunda intraket.



Resim-9. Talidomid süspansiyonunun gavaj yöntemi ile uygulanması

Ratlara çalışmanın 28. günü anestezik koşullar altında (50 mg/kg Ketalar ve 10 mg/kg Alfazyne) boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı, cilt ve cilt alt dokular klemp yardımı ile ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı. 5 ml salin trakeal kanül aracılığı ile akciğerlere verilerek tekrar geri alındı ve bu işlem 4 kez tekrarlanarak BAL (ortalama 17 cc) elde edilmiş oldu (Resim-10). Sıvı differansiyel hücre sayımı ve sitokin (IL-6 ve TGF- β 1) düzeyi bakılması için ayrıldı. Ratların akciğerleri %10 'luk formalin solusyonu içinde fikse edilerek fibrozis derecelendirilmesi ve dokuda immünohistokimyasal olarak IL-6 ve TGF- β 1 incelemesi için ayrıldı.



Resim-10. BAL işlemi

5.4.Bronkoalveoler Lavaj (BAL)

Ratlar aneztezik koşullar altında iken sakrifikasyondan hemen önce 5 ml PBS, trakeal kanül aracılığı ile akciğerler içine uygulandı ve bu işlem 4 kez tekrarlandı (Resim-9).Toplanan BAL eşit ölçüde 'cytoprezervation' sıvısında fiske edilerek saklandı.Daha sonra her bir rattan alınan materyal eşit miktarda 'Shandon Cytorich Red Collection Fluid' (%39 alkol, %3 carbowax, %2 isopropanol) içerisine konulup 15-20 dk bekletildikten sonra konvansiyonel santrifüj cihazında (Nüve-NF400) 2000 devirde 5 dk santrifüj edildi. Daha sonra lamlara yayılan materyal Shandon Cytospin (UK) cihazında 1000 devirde 5 dk daha santrifüj edilerek kurutuldu ve tüm lamlara Papanicolaou (Bio-optica, 2012-08, Milano) boyası uygulandı. Differansiyel hücre sayısı, Papanicolaou boyası ile boyanan sıvı materyalin X40 büyütme ile 10 adet randomize alanda varolan hücrelerin sayılması, bunların katogorize edilmesi ve ortalamalarının alınması ile bulundu.

5.6.Histopatolojik İnceleme

Her bir rattan alınan nekropsi materyalleri %10'luk nötral tamponlu formaldehit içine konuldu.24 saat fiksatifte kalan 0.5X0.5X0.3 cm 'lik akciğer dokuları ototeknikonda 16 saat süreli rutin doku takibi işleminden geçirilerek parafin bloklara gömüldüler.Parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlığında alınan kesitler rutin ışık mikroskobik değerlendirme için Hematoksilen Eozin boyası ile boyandı.İşık

mikroskopik kesitler gruplar arasında oluşan fibrozisin farklılıklarını ve şiddetini belirleyebilmek amacıyla Arschoff Skorlamasına göre 10 adet X40 büyütmede skorlanarak ortalamaları değerlendirildi.

5.7.İmmünohistokimyasal İnceleme

Daha sonra immünohistokimyasal olarak parafin bloklara IL-6 (Novocastra, Lot no;155309) ve TGF- β 1 (Novocastra, Lot no;6002933) boyaları uygulandı.Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler 60 C'de etüvde 1 saat bekletildikten sonra deparafinizasyon işlemi tamamlanıp antijen retrieval aşaması için mikrodalga fırında en yüksekte düşük devre doğru 5'er dakikalık devirlerle toplam 20 dakika kaynatıldı.Hidrojen peroksit aşamasını takiben primer antikolar damlatılarak kesitler sıcak ve nemli kapalı ortamda 1 saat inkübe edildi. Sekonder antikor işlemlerini takiben DAB-kromojen ile muamele edilerek Mayers Hemotoksilen ile hücre çekirdekleri boyandı ve kesitler entellan ile kapatılarak değerlendirmeye alındı. Değerlendirme sonuçları kesitler 10 adet X40 büyütme alanında IL-6 ve TGF- β 1 sekrete eden makrofaj ve diğer inflamatuvar hücrelerin sayılması ve ortalamaların alınması ile bulundu.

5.8.İstatistiksel Analiz

İstatistikler Windows 95-98 uyumlu SPSS 16.0 paket programı kullanıldı.Tüm histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler 'tek-kör' olarak yapıldı.BAL'da IL-6 ve TGF- β 1 düzeyinin istatistiksel değerlendirmesi tek yönlü varyans analizi ile fibrozis skorlamasında dereceler sıralama düzeyinde olduğundan parametrik olmayan Mann-Whitney U testi ile çalışıldı.Differansiyel hücre sayılarının istatistiksel analizinde; lenfosit, nötrofil, eozinofil ve eritrosit sonuçları 3 grupta da Kruskal-Wallis parametrik olmayan testi ile makrofajlar ise grupların dağılımına göre yine parametrik olmayan testlerden one-sample Kolmogorov-Smirnov Test ile bakıldı.İmmünohistokimyasal sonuçların istatistiksel değerlendirmelerinde üç bağımsız grubun IL-6 ve TGF- β 1 düzeyi veriler normal dağılım göstermediği için parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arasındaki anlamlılık incelenmiş ve istatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olan değerler kabul edilmiştir.

6. BULGULAR

Çalışmamızda, bleomisin ve talidomid grubuna ratlarda akciğerde fibrozis oluşturmak üzere 7,5Ü/kg tek doz intratrakeal BLM uygulandı.Ayrıca talidomid grubuna 14. günden itibaren haftada 5 gün (toplam 10 gün) oral olarak 28. güne kadar talidomid uygulandı. Ratlar günlük olarak gözlemlendi. Bleomisin ve talidomid grubundan iki ratın çalışmanın 13. ve 14. gününde ani olarak öldüğü görüldü.Yine bleomisin ve talidomid grubundan iki ratın zamanla beslenmelerinde bozulma ile birlikte ağırlıklarında azalma, diğer ratlara kıyasla hareket azlığı, burun, ağız mukozası ve ekstremitelerinde siyanotik renk değişimi gözlemlendi.Bu 2 ratın da sırayla çalışmanın 16. ve 22. gününde öldüğü görüldü.



Resim-11. Bleomisin grubundan 16. günde ölen ratın akciğer morfolojik görünümü (periferde fibrotik lezyonlar)



Resim-12. Talidomid grubundan 22. günde ölen ratın akciğerin morfolojik görüntüsü

Akciğer fibrozisinin göstergesi olarak; alınan BAL sıvısında ELİSA ile bakılan artmış TGF- β 1 ve IL-6 düzeyi, dokuda artmış TGF- β 1 ve IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücre sayısı ve Ashcroft fibrozis skorları kullanıldı.

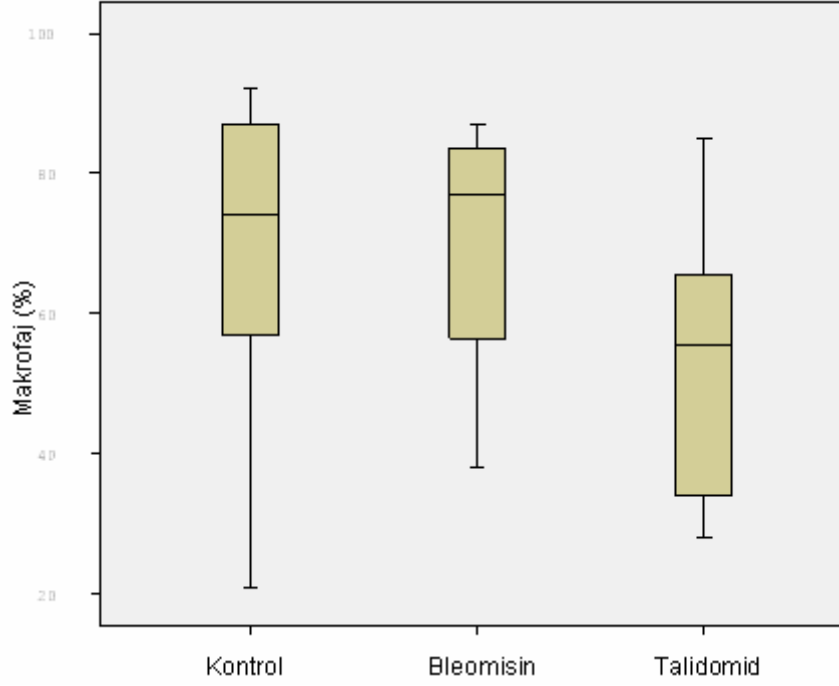
6.1.BAL'da Differansiyel Hücre Sayımı

BAL'dan hazırlanan preparatlardaki diferansiyel hücre sayıları kontrol (K), bleomisin (B) ve talidomid (T) gruplarında sırasıyla Tablo 6'da gösterildi.

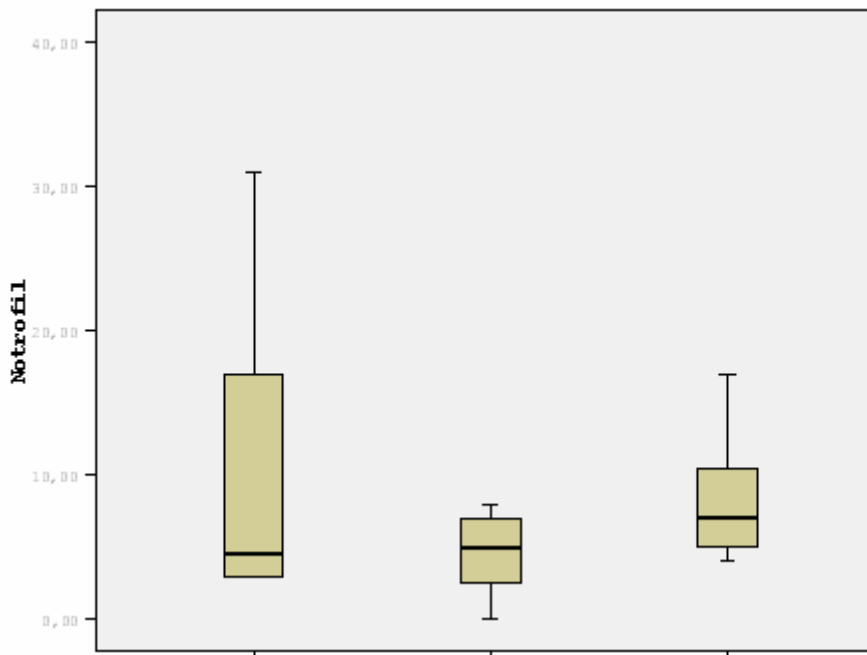
Tablo-6. Kontrol, bleomisin ve talidomid gruplarında BAL'da differansiyel hücre dağılımı (%).

| | Makrofaj | | | Lenfosit | | | Nötrofil | | | Eozinofil | | | Eritrosit | | |
|-----------|----------|----|----|----------|----|----|----------|---|----|-----------|----|----|-----------|----|----|
| | K | B | T | K | B | T | K | B | T | K | B | T | K | B | T |
| 1 | 91 | 71 | 40 | 5 | 12 | 33 | 4 | 0 | 12 | 0 | 1 | 15 | 0 | 16 | 16 |
| 2 | 87 | 45 | 61 | 8 | 16 | 32 | 3 | 4 | 7 | 0 | 0 | 0 | 2 | 35 | 35 |
| 3 | 91 | 84 | 57 | 5 | 8 | 25 | 3 | 8 | 7 | 0 | 0 | 11 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 61 | 38 | 85 | 12 | 17 | 6 | 17 | 8 | 9 | 0 | 37 | 37 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 67 | 68 | 54 | 12 | 12 | 42 | 31 | 6 | 4 | 0 | 4 | 0 | 0 | 10 | 0 |
| 6 | 72 | 83 | 70 | 22 | 10 | 17 | 5 | 6 | 6 | 0 | 1 | 7 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 91 | 83 | 28 | 5 | 12 | 18 | 3 | 4 | 4 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 50 |
| 8 | 21 | 87 | 28 | 34 | 10 | 13 | 17 | 1 | 17 | 0 | 2 | 12 | 28 | 0 | 30 |
| 9 | 82 | | | 14 | | | 4 | | | 0 | | | 0 | | |
| 10 | 45 | | | 12 | | | 11 | | | 0 | | | 32 | | |

Lenfosit, nötrofil, eozinofil ve eritrosit sonuçlarının 3 grupta karşılaştırılması sonucunda sadece lenfosit değerlerinin gruplara göre değiştiği belirlenmiştir. Lenfosit değerlerinin gruplarda ikili karşılaştırmaları sonucunda kontrol ile bleomisin grupları arasında anlamlı fark görülmezken, talidomid grubunda lenfosit değerleri düzeyi hem kontrol ve hem de bleomisin grubundan daha yüksek düzeydedir ($p=0.045$).

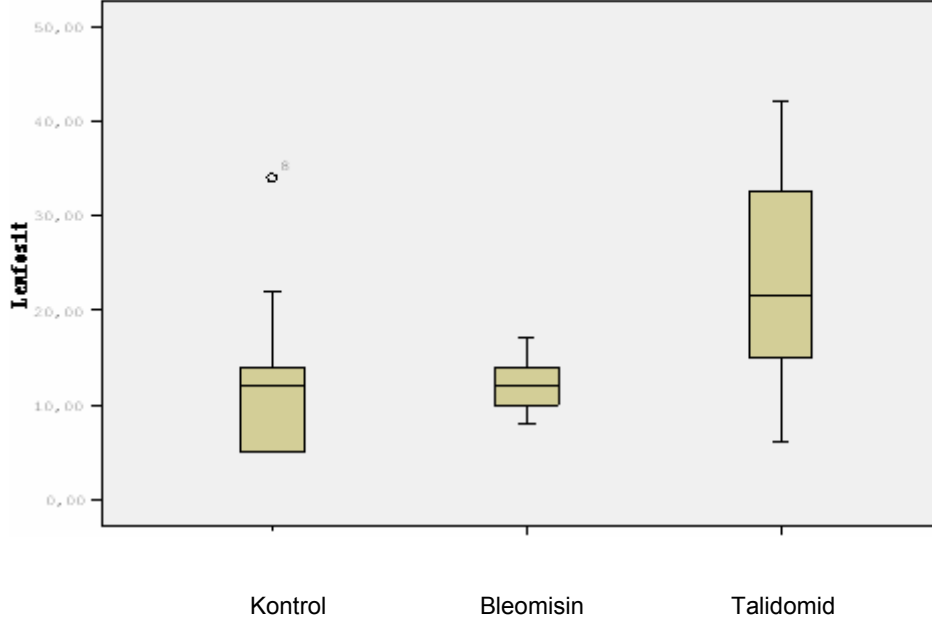


Şekil 8. Makrofaj sayılarının gruplara göre dağılımı (%) ($p=0.914$).

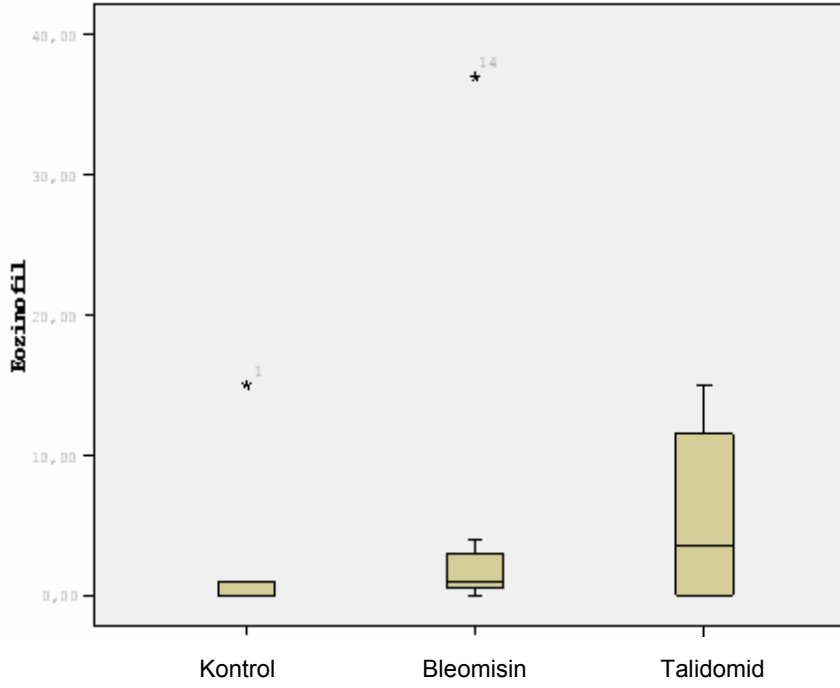


Kontrol Bleomisin Talidomid

Şekil-9. Nötrofil sayısının gruplara göre dağılımı (%) (p=0.332).



Şekil-10. Lenfosit değerlerinin gruplara göre dağılımı (%) (p=0.045).



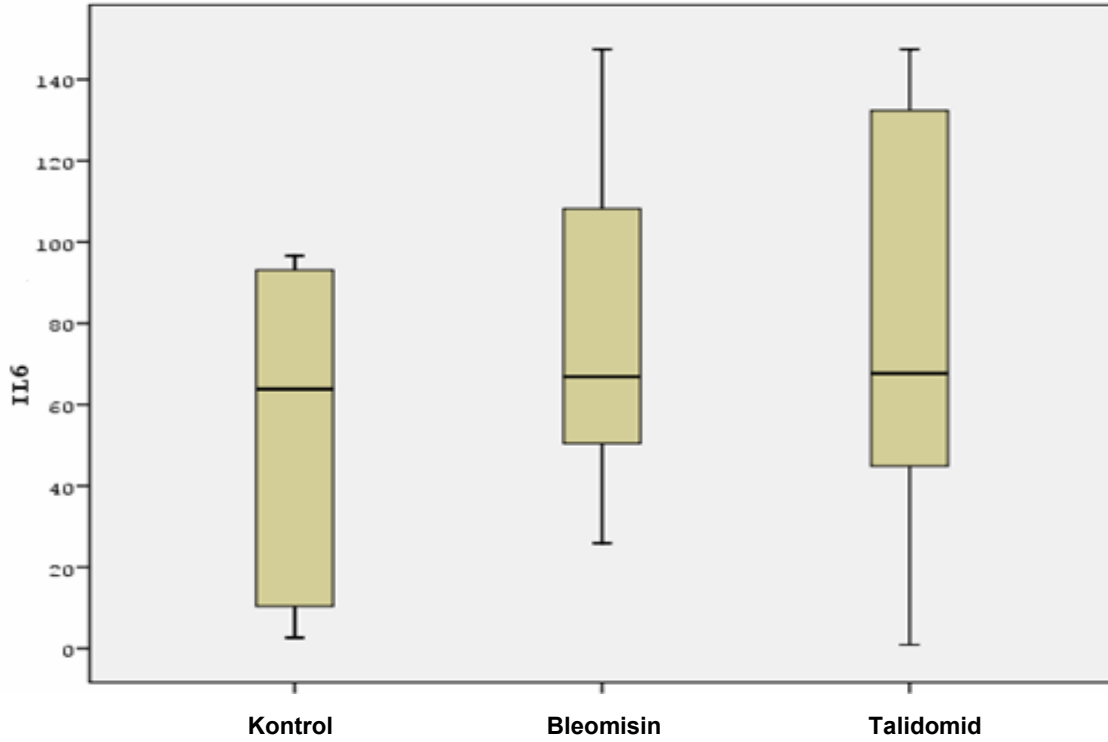
Şekil-11. Eozinofil sayısının gruplara göre dağılımı (%) (p=0.232).

6.2. BAL sıvısında IL-6'nın ELİSA ile Değerlendirilmesi

Kontrol, bleomisin ve talidomid grupları arasında BAL IL-6 düzeyi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p=0.455$) (Tablo-6).

Tablo-6. BAL'da IL-6'nın ELİSA ile değerlendirilmesi (ng/ml).

| | Kontrol | Bleomisin | Talidomid |
|----|----------|-----------|-----------|
| 1 | 69.5868 | 25.90347 | 63.82399 |
| 2 | 2.63406 | 75.02778 | 50.03471 |
| 3 | 10.39053 | 40.55458 | 0.9104 |
| 4 | 4.35772 | 71.58046 | 132.77039 |
| 5 | 57.79118 | 147.4215 | 71.58046 |
| 6 | 96.57353 | 141.38869 | 39.69275 |
| 7 | 93.12621 | 60.37667 | 131.90856 |
| 8 | 74.16595 | 62.37667 | 147.4215 |
| 9 | 95.7117 | | |
| 10 | 56.06752 | | |



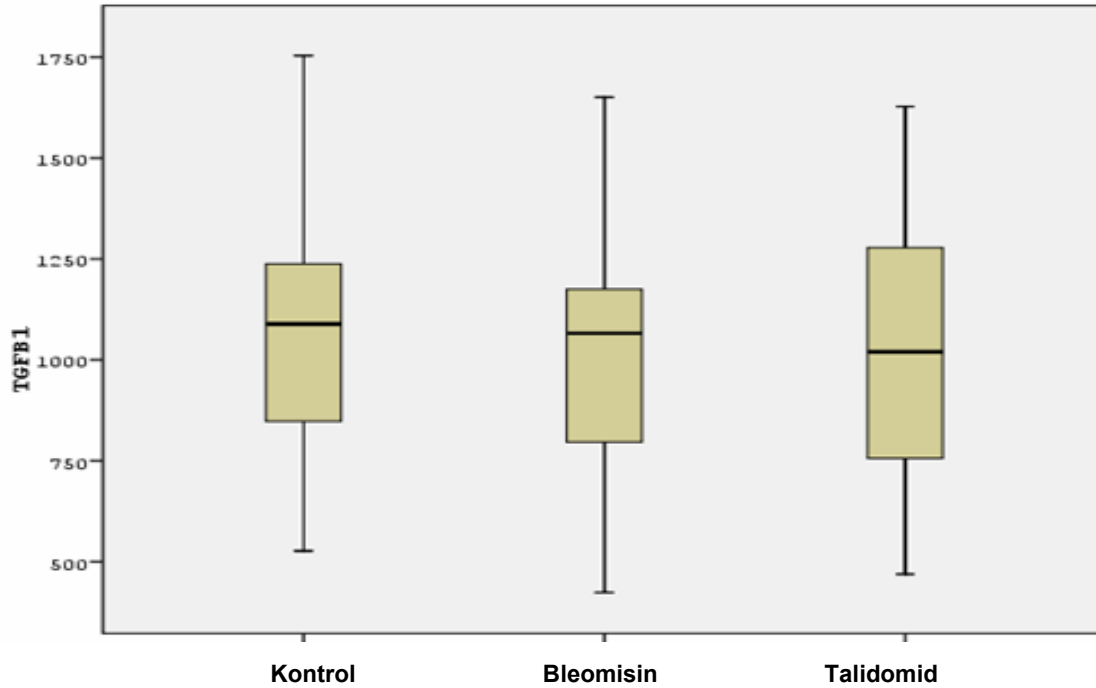
Şekil-12. BAL IL-6 düzeyi (ng/ml) ($p=0.455$).

6.3. BAL sıvısında TGF- β 1'in ELİSA ile değerlendirilmesi

Kontrol, bleomisin ve talidomid grupları arasında BAL TGF- β 1 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p=0.845$) (Tablo-7).

Tablo-7. BAL sıvısında TGF- β 1'in ELİSA ile değerlendirilmesi (ng/ml).

| | Kontrol | Bleomisin | Talidomid |
|----|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 1134.6392 | 1650.7712 | 1627.832 |
| 2 | 1237.8656 | 1260.8048 | 1432.8488 |
| 3 | 1753.9976 | 1065.8216 | 1088.7608 |
| 4 | 1581.9536 | 561.1592 | 561.1592 |
| 5 | 1100.2304 | 423.524 | 469.4024 |
| 6 | 526.7504 | 1031.4128 | 951.1256 |
| 7 | 802.0208 | 1088.7608 | 956.1256 |
| 8 | 1077.2912 | 1065.8216 | 1123.1696 |
| 9 | 1042.8824 | | |
| 10 | 847.8992 | | |



Şekil-13. BAL TGF- β 1 düzeyi (ng/ml) ($p=0.845$)

6.4 Histopatolojik Değerlendirme

Kontrol grubundaki ratların akciğer dokusunda histopatolojik incelemenin çoğunda, periferde fokal amfizematöz değişiklikler mevcuttu. Ayrıca, K1 ve K2'de intraalveoler hemoraji ve peribronşial hafif lenfositik infiltrasyon mevcuttu .

B1 'de sağ akciğerde periferde fokal amfizematöz değişiklikler mevcuttu.Sol akciğerde grade 2'ye uyan kollabe fibrotik akciğer dokusu, alveol duvarında kalınlaşma ve lümende makrofaj kümeleri ,lenfositik infiltrasyon ve histiyosit kümeleri görüldü. B2'de aspirasyona sekonder yabancı cisim reaksiyonu,pnömonik konsolidasyon ve grade 3'e uyan abseleşme ve fibrotik alan görüldü.. B3 'de grade 1'e uyan bronş çevresinde santral fibrozis mevcuttu. B4 ve B5'de her iki akciğerde, bronş çevresinde grade 1'e uyan minimal fibrozis mevcuttu.B6'da her iki akciğer grade 3'e uyan fibrotik alan görüldü. B7 ve B8'de her iki akciğer periferde fokal amfizematöz alanlar mevcuttu.Ayrıca B8'de sol akciğerde hafif peribronşial lenfositik infiltrasyon görüldü.

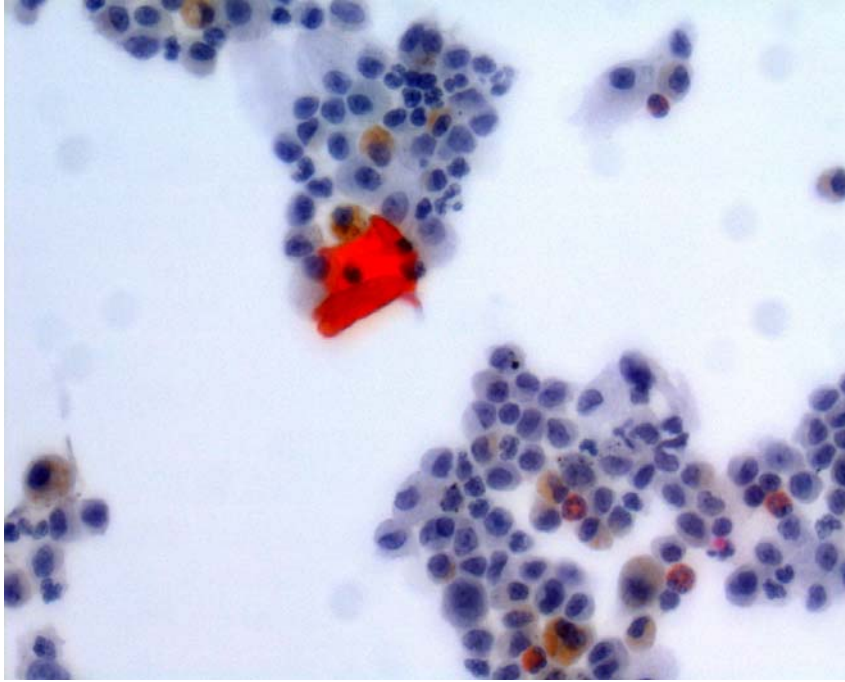
T1'de sağ ve sol akciğerde aspirasyona sekonder yabancı cisim reaksiyonu, küçük granülom oluşumları, multinükleer yabancı cisim dev hücreler ,fokal abseleşme odakları görüldü. Ayrıca periferde amfizematöz değişiklikler ile birlikte alveol duvarında grade 1'e uyan fibrotik değişiklikler mevcuttu.

T2'de periferde amfizematöz değişiklikler ile birlikte intraalvolar hafif kanama,peribronşial hafif derecede lenfosit infiltrasyonu mevcuttu.T3'de her iki akciğerde peribronşial yaygın şiddetli inflamasyon, aspirasyona sekonder granülatöz yabancı cisim reaksiyonu ile yine aspirasyona sekonder periferde abse oluşumu vardı. T4'de sağ akciğer şiddetli peribronşial lenfositik infiltrasyon,akciğer periferinde amfizematöz değişiklikler ,sol akciğerde ise bronş çevresinde orta şiddetli inflamasyon,alveoler kollaps ,intraalveoler hemoraji ile grade 3 'e uyan fibrotik duvar kalınlaşması mevcuttu.T5' ve T6'da her iki akciğer periferinde amfizematöz değişiklik mevcutken aynı zamanda T5'de alveol içi kanama ile T6'da sağ akciğerde grade 3'e uyan fibrotik duvar kalınlaşması görüldü. T7'de sağ akciğerde grade 3 'e uyan fibröz nodül ile sol akciğerde grade 5'e uyan küçük fibröz kitleler görüldü.T8'de sağ akciğerde aspirasyona bağlı yabancı cisim reaksiyonu abse oluşumu ve abse formasyonu görüldü.

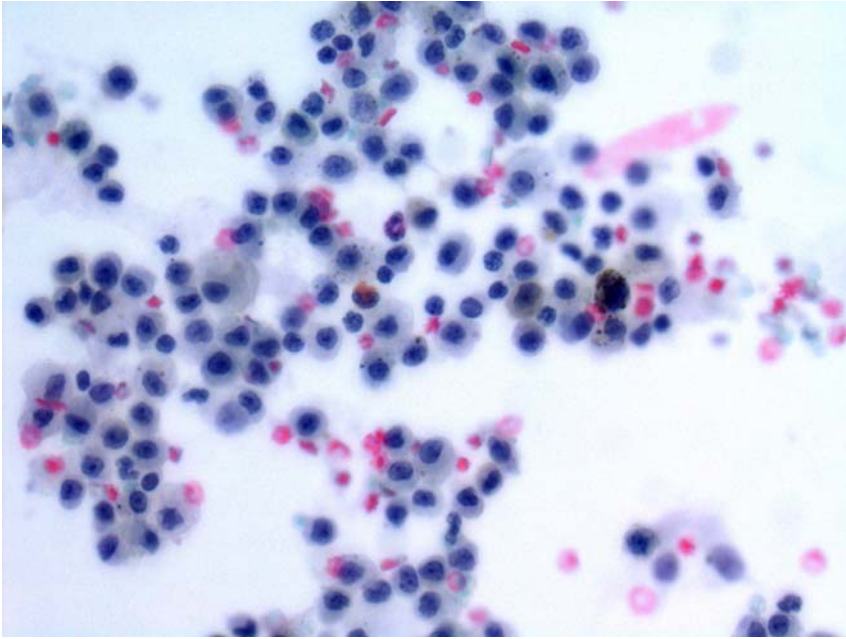
Tablo-8. Kontrol,bleomisin ve talidomid grupları **Ashcroft** fibrozis skorlaması.

| | Sağ akciğer (grade) | | | Sol akciğer (grade) | | |
|----|------------------------|-----|-----|------------------------|-----|-----|
| | K | B | T | K | B | T |
| 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2-3 | 1 |
| 2 | 0 | 4-5 | 1 | 0 | 1 | 2-3 |
| 3 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 4 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2-3 |
| 5 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 6 | 0 | 2-3 | 2-3 | 0 | 2-3 | 1- |
| 7 | 0 | 1 | 2-3 | 0 | 1 | 4-5 |
| 8 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| 9 | 0 | | | 0 | | |
| 10 | 0 | | | 0 | | |

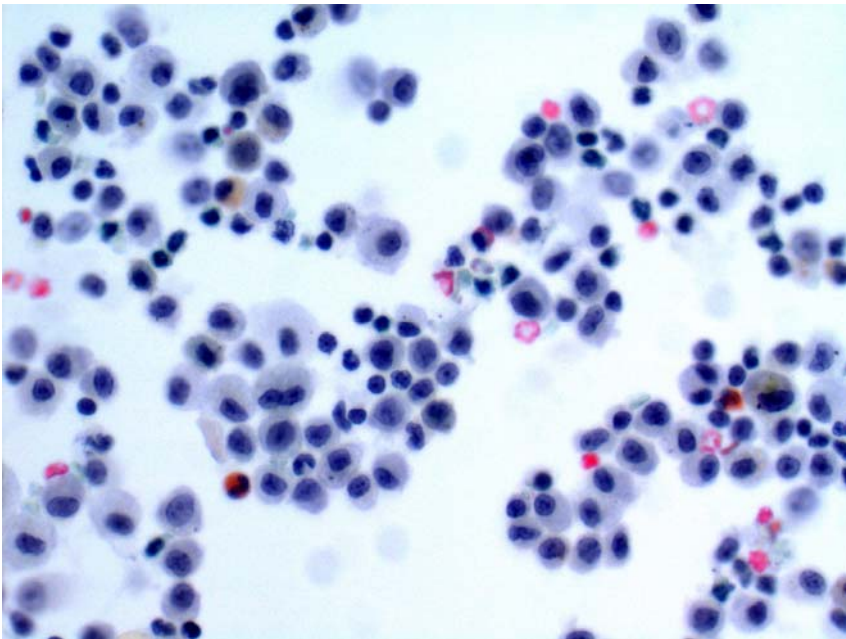
Sağ ve sol akciğerde, talidomid ve bleomisin gruplarının analizinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir (sağ için;p=0.580, sol için p=0.645) .



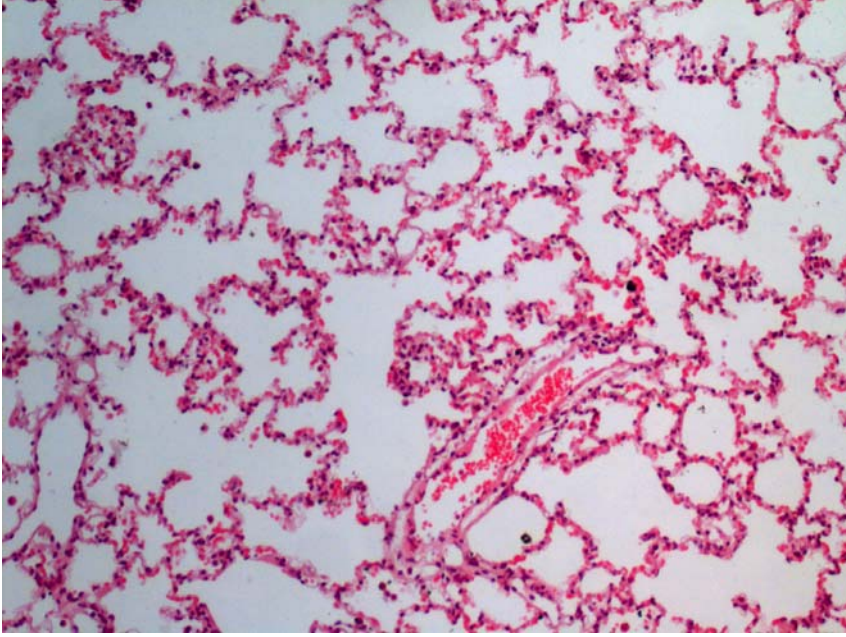
Resim-13. Bleomisin grubu, BAL (PAPX40).



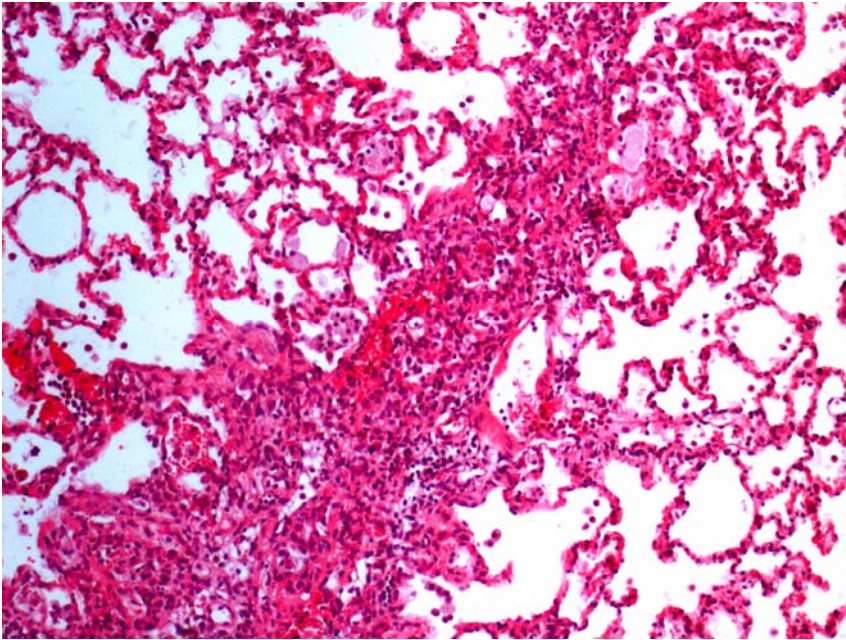
Resim-14. Bleomisin grubu, BAL (PAPX40).



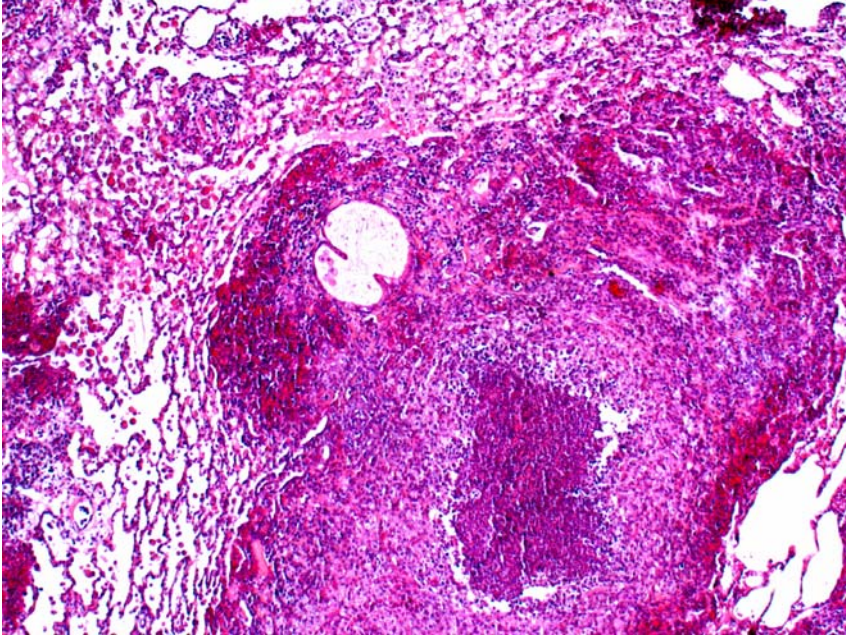
Resim-15. Talidomid grubu BAL (PAPX40).



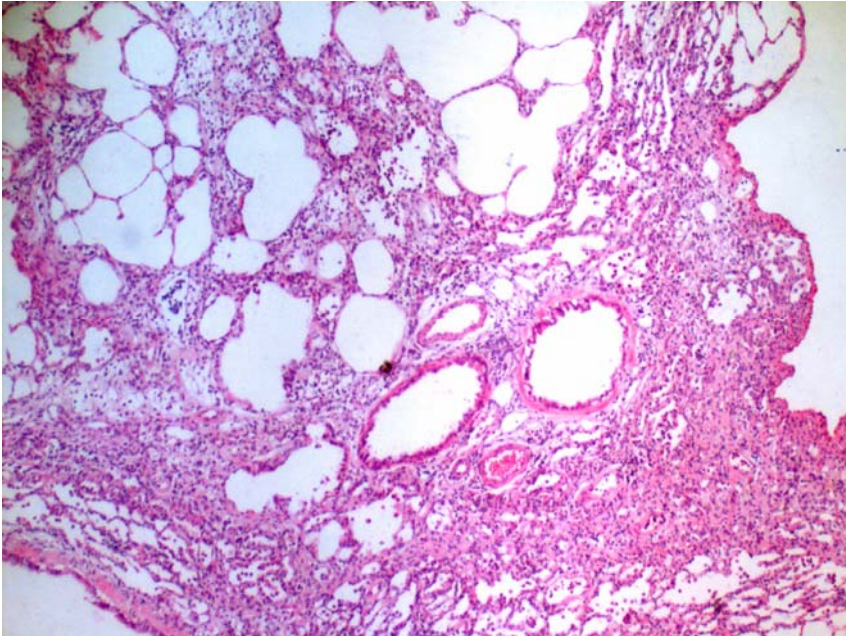
Resim-16. Kontrol grubu peribronşial hafif lenfositik infiltrasyon (H&EX10).



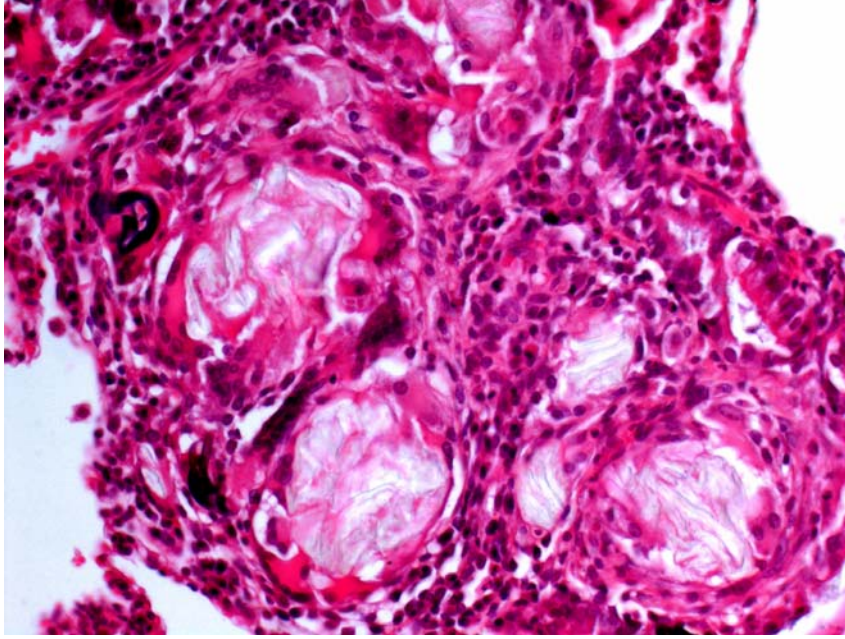
Resim-17. Bleomisin grubu grade 2'ye uyan kollabe fibrotik akciğer dokusu, alveol duvarında kalınlaşma ve lümeninde makrofaj kümeleri, lenfositik infiltrasyon ve histiyosit kümeleri (H&EX10).



Resim-18. Bleomisin grubu, aspirasyona sekonder pnömonik konsolidasyon,abseleşme ve grade 3'e uyan fibrotik alan (H&E X5).



Resim-19 Talidomid grubu amfizem ve fibrotik alan (H&EX5).



Resim-20. Talidomid grubu yabancı cisim reaksiyonu (H&EX20).

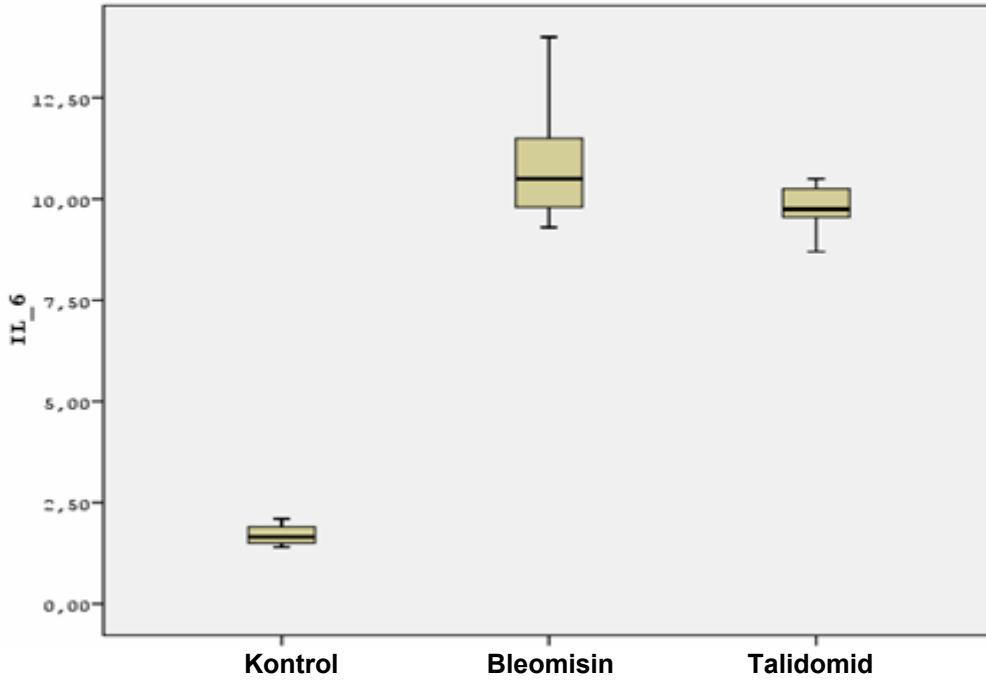
6.5. İmmünohistokimyasal Sonuçlar

Değerlendirme sonuçları her bir denekte 10 adet büyük büyütme (X40) alanında TGF- β 1 ve IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücrelerinin sayılması ve ortalamalarının alınmasıyla bulunmuştur (Tablo-9 ve Tablo-10).

Bleomisin ve talidomid grubunda hem IL-6 değeri, hem de TGF- β 1 değeri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (IL-6 için $p=0.001$, TGF- β 1 için $p<0.001$) (Şekil-14 ve Şekil-15).

Tablo-9. IL-6 sekrete eden hücrelerin sayısal ortalaması (A: sağ akciğer, B: sol akciğer).

| | IL-6 | | | | | |
|---|---------|-----|-----------|------|-----------|------|
| | KONTROL | | BLEOMİSİN | | TALİDOMİD | |
| | A | B | A | B | A | B |
| 1 | 1.6 | 1.8 | 9.3 | 9.8 | 8.9 | 9.6 |
| 2 | 1.9 | 1.4 | 10.4 | 9.8 | 9.7 | 10.1 |
| 3 | 1.4 | 1.5 | 11 | 10.8 | 8.7 | 9.5 |
| 4 | 1.6 | 1.9 | 11.6 | 11.5 | 9.7 | 10.2 |
| 5 | 2.1 | 1.7 | 10.4 | 9.9 | 10.3 | 10.1 |
| 6 | | | 10.3 | 10.6 | 8.9 | 9.6 |
| 7 | | | 11.2 | 11.7 | 10.4 | 10.3 |
| 8 | | | 9.6 | 9.4 | 10.5 | 9.8 |



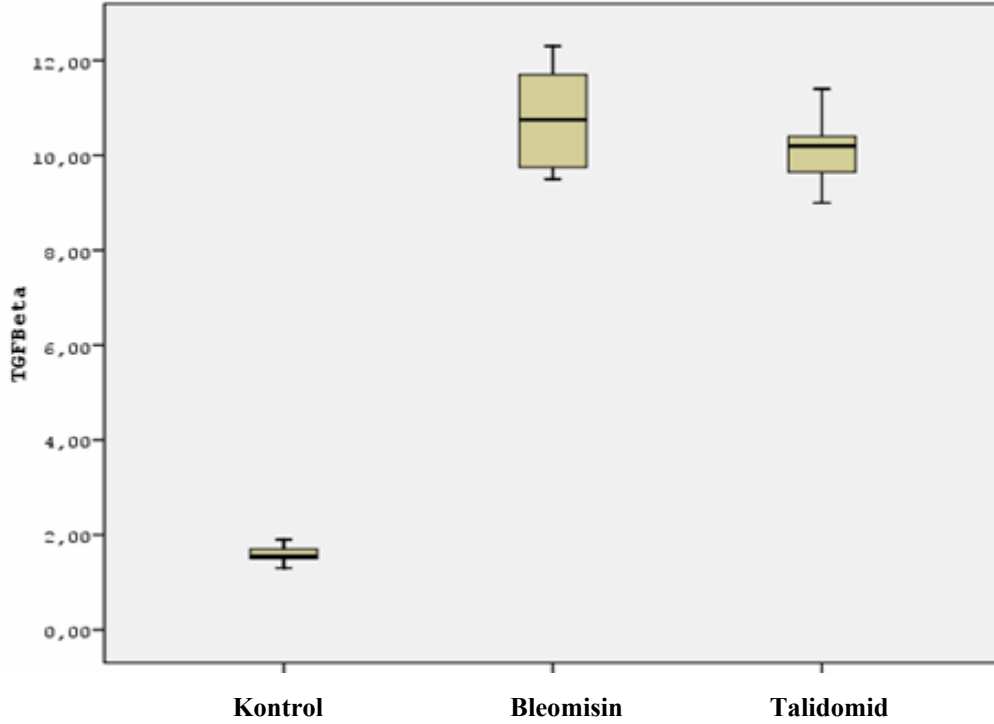
Şekil- 14. IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücre sayılarının ortalaması.

Bleomisin ve talidomid gruplarını karşılaştırdığımızda ise IL-6 değeri talidomid grubunda anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0.014$) (Şekil-14).

Tablo-10. TGF- β 1 sekrete eden hücrelerin sayısal ortalaması (A: sağ akciğer, B: sol akciğer)

| | TGF- β 1 | | | | | |
|----------|----------------|-----|-----------|------|-----------|-----|
| | KONTROL | | BLEOMİSİN | | TALİDOMİD | |
| | A | B | A | B | A | B |
| 1 | 1.3 | 1.5 | 11.9 | 11.8 | 9.0 | 9.5 |

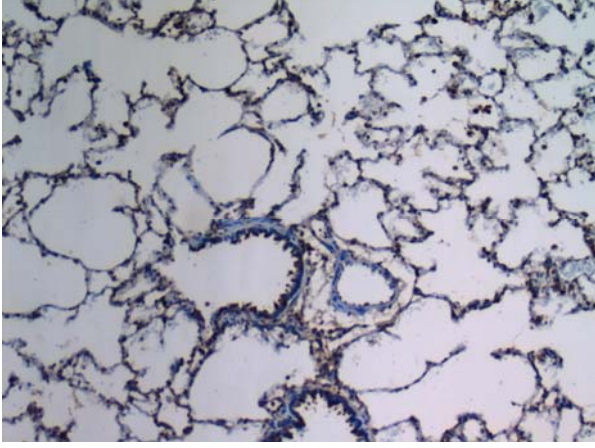
| | | | | | | |
|---|-----|-----|------|------|------|------|
| 2 | 1.7 | 1.6 | 12.0 | 11.5 | 9.8 | 9.7 |
| 3 | 1.4 | 1.8 | 12.3 | 11.6 | 10.4 | 9.9 |
| 4 | 1.5 | 1.7 | 9.8 | 10.7 | 9.9 | 10.3 |
| 5 | 1.9 | 1.5 | 9.6 | 9.6 | 10.4 | 9.6 |
| 6 | | | 9.7 | 10.5 | 10.3 | 11.4 |
| 7 | | | 11.3 | 10.8 | 10.8 | 9.4 |
| 8 | | | 9.9 | 9.5 | 10.3 | 10.1 |



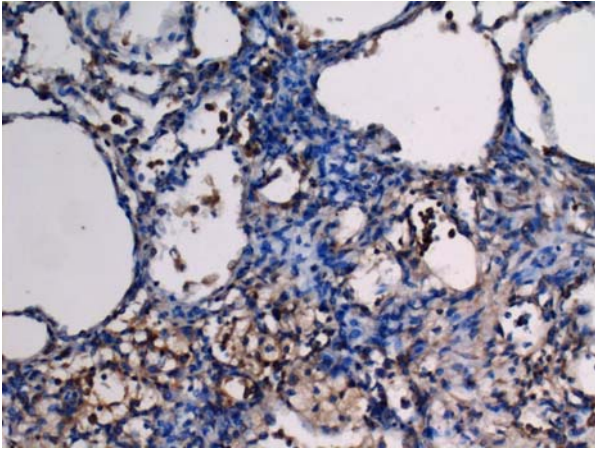
Şekil-15. TGF-β1 sekrete eden inflamatuvar hücre sayılarının ortalaması.

Bleomisin ve talidomid gruplarını karşılaştırdığımızda TGF-β1 değerinde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (p=0.067).

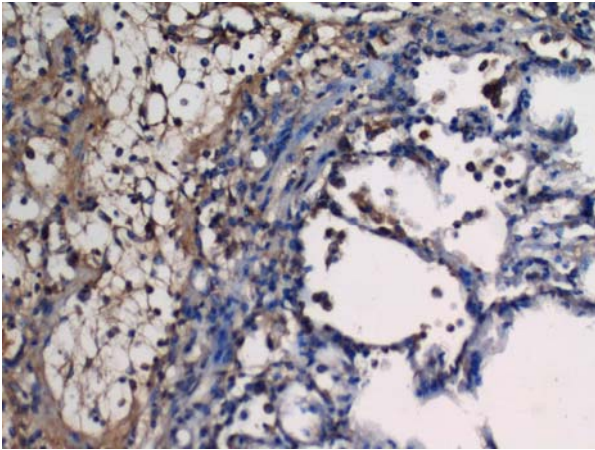
Resim-21 ve resim-22'de sitoplazmaları koyu-kahve rengi ile boyananlar; TGF-β1 ve IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücreler olarak görülmektedir.



A)



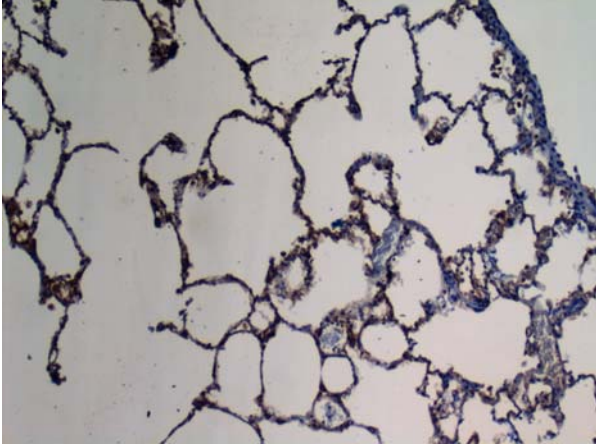
B)



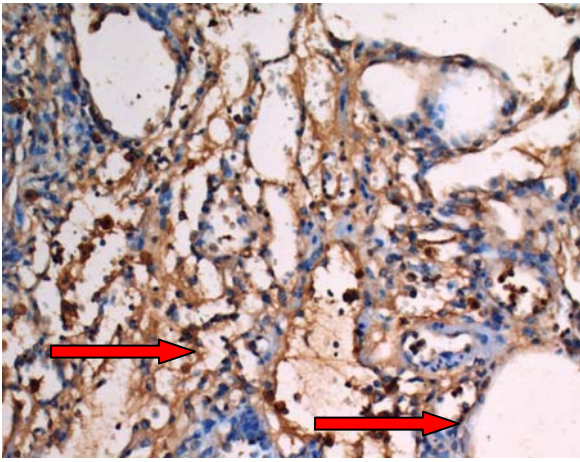
C)

Resim-21. Akciğer doku kesitlerinin IL-6 immünohistokimyasal incelemesi

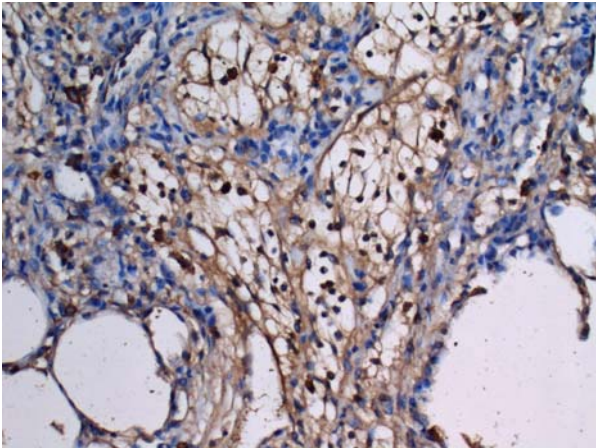
- A) Kontrol deneği (X10)
- B) Bleomisin deneği(X20)
- C) Talidomid deneği (X20)



A)



B)



C)

Resim-22.Akciğer doku kesitlerinin TGF- β 1 immünohistokimyasal incelemesi

- A) Kontrol deneği (X10)
- B) Bleomisin deneği (X20)
- C) Talidomid deneği (X20)

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma ile deneysel olarak bleomisinle oluşturduğumuz akciğer fibrozisi modelinde talidomidin inflamatuvar sitokinler (TGF- β 1 ve IL-6) üzerine etkisini araştırdık.Talidomidi diğer çalışmalardan farklı olarak fibrozis oluştuktan sonraki dönemde gavaj yöntemi ile uygulayarak, antiinflamatuvar ve tedavi edici etkinliğinin gösterilmesi amaçlandı. Benzer şekilde bleomisinle oluşturulan deneysel modellerle yapılan çok az sayıda çalışma olmakla birlikte talidomidin etkinliğinin gösterilebileceği farklı şekillerde yapılabilecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

İPF'de alt solunum yolları BAL sıvısında inflamatuvar hücrelerin tip ve miktarında değişiklik olur.Nötrofil ve eozinofil yüzdesi artışıyla karakterize alveolit ve alveoler makrofaj ve sekretuar ürünlerinde artış görülür (120). BAL sıvısında çalıştığımız differansiye hücre sayımında makrofaj sayısının kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek olmasına karşın gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını görüldü. Nötrofil, eozinofil ve lenfosit sayıları değerlendirildiğinde ise sadece lenfosit değerlerinin gruplara göre değiştiğini gözlemlendi ve talidomid grubunda anlamlı olarak yüksek olduğunu görüldü (p=0.045). İPF izlenmesinde ve evresini göstermede BAL'ın klinik değeri sınırlıdır. Bazı klinik çalışmalarda BAL sıvısında nötrofillerin, eozinofillerin veya her ikisinin birlikte yüzdesinin artmasının kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir (94). BAL lenfositozu, daha selüler akciğer biyopsisi, daha az "bal peteği" görünümü ve kortikosteroid tedaviye iyi bir yanıtla koreledir. Bununla birlikte bu ilişki hastadan hastaya farklılık gösterdiğinden BAL güvenilir bir prognostik gösterge değildir (59,66).

Watters ve ark. yaptığı çalışmada İPF'li hastalardaki histopatolojik anormallik ile BAL 'daki hücre içeriği arasında korelasyon olabileceği düşünülmüş, histolojik olarak

“bal peteği” görünümü olmayan orta-şiddetli alveoler septal inflamasyonla da lenfositozun ilişkili olduğu gösterilmiş olmakla birlikte, eozinofil ve nötrofil içeriğinin artmış histopatolojik değişikliklere ilişkili olmadığı, ayrıca nötrofil ve lenfosit içeriğinin ise klinik bozulma ile ilişkilendirilemeyeceği gösterilmiştir. Ancak BAL eozinofil miktarının ise klinik kötüleşmenin şiddeti ile ilişkili olabileceği gösterilmiş (121). İPF prognozu ile BAL sıvısı hücre içeriği ilişkisi yönünden yapılan farklı bir çalışmada ise eozinofil miktarı ve yüzdesinin sağ kalım ile ilişkisi olmadığı gibi, diğer hücre tiplerinin de sağ kalım ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (122).

Çalışmamızda BAL sıvısında ELİSA yöntemi ile IL-6 ve TGF-β1 düzeyi değerlendirildi. Her iki sitokin düzeyinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi.

Jung-Yoon Choe ve ark. yaptığı çalışmada her bir deneysel grupta TGF-β1 ve IL-6 seviyesi BAL sıvısında değerlendirilmiş. Sadece bleomisin verilen grupta TGF-β1 seviyesi normal farelere göre anlamlı olarak yüksekken, talidomid uygulanan farelerde ise bleomisin verilen farelerle karşılaştırıldığında azaldığı görülmüştür. Bleomisin uygulanan farelerde BAL sıvısında IL-6 seviyesi normal farelere oranla artmışken, talidomid verilen farelerde ise, bleomisin uygulananlara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur (124). Fumitake S. ve ark. genetik olarak IL-6 hasarı oluşturduktan sonra intratrakeal olarak bleomisin ile akciğerde fibrozis gelişen farelerle yaptıkları bir çalışmada BAL’da 21. günden sonra değerlendirdikleri TGF-β1 düzeyinde genetiği değiştirilen farelerle kıyasla normal farelerle fark olmadığını bulmuşlardır (125).

Çalışmamızda ratlardan alınan akciğer dokuları histopatolojik inceleme için ayrılarak hazırlanmış ve fibrozis dereceleri Ashcroft fibrozis skorlamasına uygun olarak değerlendirilmiştir. Sağ ve sol akciğerler kendi içinde ayrı ayrı skorlanmış ve her iki akciğerde de gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Çalışmamıza benzer şekilde Tabata ve ark.’nın yaptığı, deneysel olarak farelerde oluşturulan pulmoner fibrozisde, talidomidin fibrozis üzerinde olası koruyucu etkinliğine histolojik olarak bakılmış ayrıca IL-6 ve TGF-β1’in bleomisin ile oluşturulan fibrozisde akciğer dokusunda kantitatif ölçümleri yapılmıştır. Oluşturulan fare modelinde bleomisin ve talidomid uygulaması intraperitoneal olarak yapılmış sonunda histopatolojik olarak yapılan fibrozis skorlamasında talidomidin dokuda IL-6 ve TGF-β1 üretimini azalttığı, ayrıca akciğerde fibrozisi inhibe ettiği görülmüştür. Aynı çalışmada ayrıca talidomidin in-vitro olarak oluşturulan hücre kültürlerindeki insan akciğer fibroblastlarında IL-6 ve TGF-β1 ‘in üretimini azalttığı, IL-6 bağımlı hücre

proliferasyonunu ve TGF- β 1 bağımlı hücre farklılaşmasını önlediği gösterilmiş. Kısa süreli bleomisin uygulaması ile erken dönemde inflamasyonun olduğu ve geç dönemde ise, inflamasyon sonrası fibrotik değişikliklerin geliştiği gösterilmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak Tabata ve ark.'nın yaptığı çalışmada talidomid uygulaması çalışma süresince, ilk 14 gün ve son 14 gün olmak üzere üç farklı şekilde yapılarak talidomidin daha fazla koruyucu etkinliği gösterilmekle birlikte, aynı zamanda akciğer fibrozisinde tedavi edici etkinliği de gösterilmiştir (126).

Jung-Yoon Choe ve ark. yaptığı aynı çalışmada, talidomidin uygulama yöntemi ve uygulanan gün sayısı farklı olmakla birlikte, immünohistokimyasal olarak akciğer dokusunda TGF- β 1, tip1 kollojen ve fibronektin antikor sekresyonu taranmışken bizim çalışmamızda IL-6 ve TGF- β 1 düzeyi değerlendirildi. Söz konusu çalışmada bu antikorlar bleomisin verilen farelerde artmışken talidomid ile tedavi edilenlerde ise bleomisinli gruba göre belirgin olarak azalmış bulundu (124). Bizim çalışmamızda ise IL-6 ve TGF- β 1 düzeyinin kontrol grubunda diğer iki gruba göre anlamlı olarak düşüktü. IL-6 düzeyi ise bleomisin ve talidomid grupları arasında karşılaştırıldığında talidomid grubunda anlamlı olarak düşük bulundu. TGF- β 1 düzeyinde ise bleomisin ve talidomid grupları arasında istatistiksel fark yoktu.

İPF'li hastalarda, talidomidin diğer özelliklerine yönelik, refrakter öksürükde etkinliği ile ilgili prospektif olarak yapılan bir çalışmada günlük olarak 100-400 mg oral dozda verilen talidomid tedavisi ile İPF'li ve kronik non-produktif öksürük ile seyreden 11 hastada öksürüğün sıklığının azaldığı, 3 hastada ise yan etkileri nedeniyle (konstipasyon ve uyuklama) talidomid alımını kesmelerinden dolayı 2 hafta sonra öksürük şikayetlerinin yeniden başladığı görülmüş (127).

İnterstisyel akciğer fibrozisinde talidomidin terapötik etkinliği başka bir in-vivo ve in-vitro deneysel çalışma ile gösterilmiş. İn-vitro olarak TGF- β 1 fetal akciğer fibroblastlarının myofibroblastlara dönüşümünü indüklediği bu dönüşümde talidomidin etkinliğinin düzeyi hidroksprolin alfa smooth aktin kas proteini, prokollojen 3 mRNA sekresyonu ile değerlendirilmiş. İn-vivo olarak ise farelerde subkutan bleomisin enjeksiyonu ile oluşturulan akciğer fibrozisinde 8 haftalık talidomidin gastrik perfüzyonu sonrasında 1,4,6 ve 8 haftalık dönemlerde elde edilen akciğer dokusu histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak incelendiğinde 4 haftalık sürede akciğer dokusunda hidroksprolin sentezini azalttığı ve alfa-smooth aktin protein pozitif hücreleri de azalttığı görülmüş. Talidomidin TGF- β 1 ile indüklenen fetal insan akciğer fibroblastlarında hidroksprolin, prokollojen 3 mRNA ve alfa-smooth aktin proteini up

regülasyonunu inhibe ettiği ve ek olarak bu hücrelerin myofibroblastlara dönüşümünü engellediği gösterilmiş (128).

Yapılan başka bir çalışma ile, steroid ve sitotoksik ilaçlara cevap vermeyen 19 İPF'li hastaya 1 yıl boyunca günlük 400 mg oral verilen talidomid tedavisi sonrasında post mortal alınan biyopsilerde talidomidin uygulanabilir, koruyucu ve etkin olduğu aynı zamanda fibrozise ilerleyen progresyonu durdurduğu gösterilmiş (129). Talidomid ile yapılmış başka bir çalışmada, talidomidin insan alveoler makrofajlarından TNF-alfa üretimini baskıladığı görülmüş. TNF-alfa çeşitli inflamatuvar durumlarda makrofaj ve diğer hücrelerden aşırı salgılanarak akciğerde devam eden kronik bir hasar oluşmasına neden olur. Yan etkileri düşünülmesizin aktive makrofajlardan TNF-alfa üretimini engelleyen bir ajana ihtiyaç vardır. Bu çalışma talidomidin tüberküloz ya da diğer grup hastalıklarda, aktive makrofajların lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen TNF-alfa üretimine etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada 31 hastadan (tüberküloz:12, sarkoidoz :3, akciğer kanseri:5, kronik bronşit:5, pnömoni:6) elde edilen BAL sıvısından alveoler makrofajlar elde edilmiş. LPS, tek yada talidomid veya deksametazon ile birlikte kombine edilerek stimülasyon oluşması sağlanmış. TNF-alfa immünohistokimyasal olarak ve ELİSA ile çalışılmış. İnkübasyon sonunda sadece LPS ile stimüle olan hücrelerde TNF-alfa düzeyi artarken talidomide ve deksametazon ile LPS kombinasyonunda TNF-alfa düzeyi daha düşük olarak bulunmuştur (130).

Talidomidin interstisyel akciğer hastalıklarında alveoler makrofajlardan çeşitli profibrotik sitokinleri azalttığına yönelik yapılan başka bir çalışmada; talidomidin çeşitli konsantrasyonlarında hipersensivite pnömonili (HP), sarkoidozlu ve İPF'li hastalardan toplanan BAL sıvısında alveoler makrofajlardan salınan TGF- β , TNF-alfa, IL-1b, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-12p40 ve IL-18 düzeyleri incelenmiş. Sarkoidoz ve HP hastalarda talidomid doz bağımlı olarak TNF-alfa, IL-12p40 ve IL-18 düzeylerini kısmen süprese etmiştir. Yüksek talidomid konsantrasyonlarında ise IL-8 üretimi belirgin şekilde süprese olmuştur. İPF'li hastalarda ise LPS ile spontan olarak stimüle olan TNF-alfa, IL-12p40, IL-18 ve IL-8 sitokin salınımı HP ve sarkoidozlu hastalardan daha fazla baskılanarak seviyeleri daha düşük bulunmuştur (131).

Sonuç olarak; çalışmamızda diğer çalışmalardan farklı olarak antifibrotik etkinliğini vurgulamak için IL-6 ile TGF- β 1 düzeyi araştırıldı. Bleomisin ve talidomid grupları arasında histopatolojik olarak fark olmamasına rağmen, immünohistokimyasal olarak

IL-6 düzeyinde anlamlı fark olduğu ve diğer çalışmalara benzer şekilde talidomidin antiinflamatuvar etkinliğini görüldü, ancak antifibrotik etkinliği bulunamadı.

8. ÖZET

Bu çalışma; İdiopatik pulmoner fibrozisin, hızlı ilerleyen ve kötü prognozlu bir hastalık olması ve günümüzde geçerli tedavisinin olmaması nedeni ile potansiyel tedavi hedefleri oluşturmak için, talidomidin antifibrotik etkinliğini göstermek amacı ile yapılan deneysel bir çalışmadır.

Çalışmaya Wistar tipi 30 adet erkek rat alındı. Ratlar rastgele seçilerek, her bir grupta 10 adet rat olmak üzere kontrol, bleomisin ve talidomid olmak üzere 3 grup oluşturuldu. Kontrol grubuna çalışmanın 1. günü i.t. olarak PBS verildi. Bleomisin ve talidomid grubuna ise yine çalışmanın 1. günü i.t. olarak 7.5 Ü/kg dozunda BLM sülfat verildi. Çalışmanın 14. gününden itibaren, haftanın 5 günü (toplam 10 gün) kontrol ve bleomisin grubuna gavaj yöntemi ile 0.6 cc CMC uygulanırken, talidomid grubuna ise 0.6 cc CMC içinde çözündürülmüş süspansiyon halindeki talidomid uygulandı. Çalışmanın 28. günü genel anestezi altında tüm ratlardan BAL alındı. Her bir rattan alınan BAL, differansiyel hücre sayımı ve ELİSA yöntemi ile IL-6 ve TGF- β 1 düzeyi ölçümü için ayrıldı. Sonrasında sakrifiye edilen ratların her iki akciğer doku örnekleri çıkarılarak histopatolojik ve immünohistokimyasal inceleme için ayrıldı.

BAL sıvısından yapılan differansiyel hücre sayımında, makrofaj, nötrofil, lenfosit ve eozinofil yüzdeleri hesaplandı. Sadece lenfosit değerinin talidomid grubunda diğer gruplara oranla anlamlı olarak yüksek olduğu görüldü ($p=0.045$). Yine BAL sıvısında ELİSA ile bakılan IL-6 ve TGF- β 1 düzeyleri her 3 grupta karşılaştırıldı. Ancak anlamlı bir farklılık bulunamadı (IL-6 için $p=0.455$, TGF- β 1 için $p=0.845$). Histopatolojik incelemede; her iki akciğer doku örnekleri Ashcroft fibrozis skorlaması ile derecelendirildi. İstatistiksel incelemede bleomisin ve talidomid grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı (sağ akciğer için $p=1.000$, sol akciğer için $p=0.645$). İmmünohistokimyasal inceleme; her iki akciğer doku örneğinde, her bir

vakada 10 adet büyük büyütme alanında (X40), TGF- β 1 ve IL-6 sekrete eden inflamatuvar hücrelerinin sayılması ve ortalamalarının alınmasıyla yapılmış olup, istatistiksel değerlendirme sonucunda ise IL-6 ve TGF- β 1 için kontrol grubu ile bleomisin ve talidomid grupları arasında, kontrol grubunda daha düşük olmak üzere anlamlı farklılık mevcuttu (IL-6 için $p=0.001$ ve TGF- β 1 için $p< 0.01$). Bleomisin ve talidomid gruplarının ikili karşılaştırmalarında ise TGF- β 1 değerinde istatistiksel anlamlılık görülmezken ($p=0.067$), IL-6 değerinin talidomid grubunda bleomisin grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğunu görüldü ($p=0.014$).

Bu konuda yapılmış araştırmaların çoğunda daha çok antiinflamatuvar, koruyucu etki değerlendirilmişken, biz diğer çalışmalardan farklı olarak; antifibrotik etkinliğini araştırdığımız ilacımız çalışmanın 14. gününden itibaren uygulandı ve buna yönelik olarak incelenen TGF- β 1 sonuçlarına göre antifibrotik etkinliği bulunamadı. Ancak her ne kadar histopatolojik olarak istatistiksel anlamlı fark olmamasına rağmen, immünohistokimyasal incelemede IL-6 sonuçlarında anlamlı fark mevcut olması dolayısıyla ilacımızın antiinflamatuvar etkinliği görüldü.

9. ABSRACT

Antiinflammatory and Antifibrotic Effects of Thalidomide in Bleomycin-induced Lung Fibrosis

Idiopathic pulmonary fibrosis is a rapidly progressive disease. Because of the lack of the current therapy, its prognosis is poor. The aim of the study is to investigate antiinflammatory and antifibrotic effects of Thalidomide in bleomycin-induced lung fibrosis model in rats.

The study was carried out in thirty male rats. The rats were randomly selected in three groups: control (n=10), bleomycin (n=10) and thalidomide (n=10). In control group PBS was given intratrachealy at the first day of study. In bleomycin and thalidomide groups bleomycin sulfate (7.5 Ü/kg) was given at the first day. On the 14th day of the study, thalidomide was given by gavage for 10 days. On 28th day, bronchoalveolar lavage (BAL) from rats was obtained for differantial cell count; in addition, IL-6 and TGF- β 1 levels were measured by ELISA method. After this procedure the rats were sacrificed and the tissue samples were obtained for histological and immunohistochemical examinations.

Only BAL lymphocytes were significantly higher in the thalidomide group than in the other groups ($p=0.045$).The levels of IL-6 and TGF- β 1 in the BAL fluid were compared; however, no significant difference was found ($p=0.455$ for the IL-6, $p=0.845$ for the TGF- β 1). Histopathologic findings of lung tissue samples were graded by Ashcroft's criteria. Statistical analysis showed no significant difference between the bleomycin and thalidomide groups ($p= 1.000$ for right lung, $p=0.645$ for left lung). On immunohistochemical examination of lung tissue samples, TGF- β 1 and IL-6 secreting inflammatory cells were counted. The average counts of IL-6 and TGF- β 1 were significant higher in bleomycin and thalidomide groups than in the control group ($p=0.001$ for IL-6 and $p<0.001$ for TGF- β 1). There was no statistically

significant difference between the two groups regarding the average count of TGF- β 1 ($p=0.067$). However, IL-6 average count was significantly lower in the bleomycin group than in the thalidomide group ($p=0.014$).

In conclusion our study demonstrated the antiinflammatory effect of Thalidomide in the bleomycin-induced lung fibrosis model.

10. KAYNAKLAR

- 1- Erdoğan Y, Yılmaz-Turay Ü. İdyopatik İnterstisyel pnömoniler. Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B (Editörler). Difüz Parankimal Akciğer Hastalıkları. 2004 (1) ; 1-42.
- 2-King TE Costabel U, Cordier J F,do Pico GA,du Bois RM,Lynch JP, et al.İdiopathic pulmonary fibrosis:Diagnosis and treatment.Am J Respir Crit Care Med 2000 ;161: 646-664.
- 3-Costabel V, King TE İnternational consensus statement on idiopathic pulmonary fibrosis.European Respiratory Journal 2001;17:163-7.
- 4-Gross TJ,Hunning GW:İdiopathic pulmonary fibrosis.N Engl J,Med 345:517-525,2001.
- 5-Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, et al.The epidemiology of interstitial lung disease.Am J Respir Crit Med. 150;967-972,1994.
- 6-Mannino D.M.R.A. Edgel and RG Parrish.Pulmonary Fibrosis deaths in the United States1 1979-1991 ;ana analysis of multiple-cause mortality data.Am J Respr Crit Care Med.1996;153:1548-52.
- 7- King TE,Costabel U ,Cord JF,do Pico GA,du Bois RM,Lyn ch JP,et al.İdiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and treatment .Am J Respir Crit Care Med 2000;161:646-664.
- 8-Iwai K, Mori T, Yamada N, et al:idiopathic pulmonry fibrosis.Am J Respir Crit Care Med166:550-513,2002.
- 9-Tobin RW,Pope CE,2nd,Pellegrini CA,et al.:increased prevalance of gastroesophageal reflux in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.Am J respir Cirit.Care Med 158:1804-1808,1998.
- 10-Hodgson U, Laitinen T, Tukiainen P:Nationwide prevalance of sporadic and familial idiopathic pulmonary fibrosis.evidence of foundder effect among multiplex families in filnland.Thorax 57;338-342,2002.
- 11-Wahidi MM,Speer MC,Steele MP,et al:Familial pulmonary fibrosis in the United States.Chest 121:305,2002.
- 12-Thomas AQ,Lane K, Philllips J 3 rd et al Heterozygosity fo a surfactant protein C gene mutation assosiated with usual interstitial pneumonitis and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred .AmJ Respir Crit Care Med 165:1322-1328.2002.

- 13-**Whitsett JA:Genetic basis of familial interstitial lung disease;Misfolding or function of surfactant protein C .Am J Respir Crit.Care.Med. 165:1201-1202,2002.
- 14-**Morrison CD Papp AC, Hejmanowski AQ,et al:increased D allele frequency of the angiotensin-converting enzyme gene in pulmonary fibrosis .Hum Pathol 32:521-528-2001.
- 15-**Pantelidis P, Panning:GCWells AU, et al:Analysis of tumor necrosis factor-alpha, lymphotoxin-alpha, tumor necrosis factor receptorII, and interleukin-6 polymorphisms in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.Am J.Respir.Crit.Care.Med.163-1432-1436,2001.
- 16-**Mori M, Kida H, Morishita H, et al Microsatellite instability in transforming growth factor-beta I type II receptor gene in alveolar lining epithelial cells of idiopathic pulmonary fibrosis.AmJ.Respir Crit.Care.Med 165:1205-1206,2002.
- 17-**Gauldie J:Pro-inflammatory mechanisms are a minor component of the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis.Am J Respir Crit.Care Med 165:1205-1206,2002.
- 18-**Selman M, King TE, Pardo A: idiopathic pulmonary fibrosis:Prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy.Ann Intern Med.134:136-151,2001.
- 19-**King TE Jr, Schwarz MI, Brown K, et al:idiopathic pulmonary fibrosis:Relationship between histopathologic features and mortality.Am J Respir Crit Care.Med. 164:1025-1032,2001.
- 20-** Mantovani, A. Dejana, E. 1989, Cytokines as communication signals between leucocytes and endothelial cells, Immunology Today, 10,11;370-374.
- 21-** Pandey, J.P., LeRoy, E.C., 2002, A profibrotic polymorphism (of TGF-beta1) in systemic sclerosis, Ann Rheum Dis, 61:671-672 .
- 22-** Postlethwaite, AE., 1995, Role of T cells and cytokines in effecting fibrosis. Int Rev Immunol. 12:247-58 .
- 23-** Fujii, H., Hasegawa, M., Takehara, K., Mukaida N., Sato, S., 2002, Abnormal expression of intracellular cytokines and chemokine receptors in peripheral blood T lymphocytes from patients with systemic sclerosis, Clin. exp. Immunol, 130:548-56.
- 24-**Denton, C.P., Black, C.M., Abraham, D.J., 2006, Mechanisms and consequences of fibrosis in systemic sclerosis. Nat Clin Pract Rheumatol. 2(3):134-44.
- 25-**Jimenez, S.A. ve Derk, C. T. 2004, Following the Molecular Pathways toward an Understanding of the Pathogenesis of Systemic Sclerosis, Annals of Internal Medicine, 140: 37-50.
- 26-**Arend WP, Dayer JM; Cytokines and growth factors.Kelley WN, Haris ED Jr, Ruddy S,Sledge CB: Textbook of Rheumatology içinde 3rd Ed WB Saunders Company Philadelphia 1993;s:227-47.

- 27-** Arzu E. Aktif ve İnaktif Dönem Behçet Hastalarında IL-6 ve Adiponektin Düzeyleri (Uzmanlık Tezi).İstanbul: Sağlık Bakanlığı İstanbul Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi,2008.
- 28-** Arend WP, Dayer JM; Cytokines and growth factors.Kelley WN, Haris ED Jr, Ruddy S, Sledge CB: Textbook of Rheumatology içinde 3rd Ed WB Saunders Company Philadelphia 1993;s:227-47.
- 29-** LeRoy EC, Trojanowska MI, Smith EA: Cytokines and human fibrosis.Eur Cytokine Netw.1990 ;1:215-9(abstract).
- 30-**Needleman BW, Wigley FM , Stair RW:İnterleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor alfa, and interferon-gama levels in sera from patients with scleroderma.Arthritis Rheum 1992;35:67-73.
- 31-** Gauldie J, Kolb M, Sime PJ a new direction in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis.Respir Res 3.1 2002.
- 32-**Katzenstein AL,Myers JL:idiopathic pulmonary fibrosis:Clinical relevance of pathologic classification.Am JRespir Crit.Care.Med 157:1301-1315,1998.
- 33-**Barbas –Filho JV Ferreira MA,Sesso A et al:Evidence of type II pneumocyte apoptosis in the development of pulmonary fibrosis (İPF)/usual interstitial pneumonia (UİP).J Clin Pathol 54:132-138,2001.
- 34-**Kuwano K,:Hagimoto N,Kawasaki M,et al.Essential roles of the Fas-Fas ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis .J C Clin Invest 104:13-19,1999.
- 35-**Fujii M Hayakawa H,Urano T,et al Relevance of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for hypercoagulable state in the lung of patients with idiopathic pulmonary fibrosis.Thromb Res 99:111-117 2000.
- 36-**Pardo A, Selman M.Molecules in focus.İdiopathic pulmonary fibrosis:new insights in its pathogenesis.The international Journal of Biochemistry and Biology 2002 ;34:1534-38.
- 37-**Katzeinstein A, Myers JL.idiopathicpulmonary fibrosis.Clinical Relevance of pathologic classification.Am J Respir Cirit Care Med.1994; 150: 967 -72.
- 38-**Selman M, King TE, Pardo A.İdiopathic pulmonary fibrosis, prevailing and envolving hypothesis about its pahogenesis and implications for terapy.Ann İnter Med 2001;134: 136-151.
- 39-**Kasper M,Haroske G,Alterations in the alveoler epithelium after injury leading to pulmonary fibrosis Histol Histopathol 1996 ;11:463-83.
- 40-**Kollenberg CG, Schilizzi BM, Beaumont F, Deleji L, Poppema S, Expression of class II major histocompatibility complex antigens on alveoler epithelium in interstitial lung disease; relevance to pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis.J.Clin Pathol 1987;40:725-33.
- 41-**MartinP.Wound healing.Aiming for perfect skin regeneration.Sience 1997;276:75-81.

- 42.**Imokawa S, Sato A, Hayakawa M, Kotani M, Urano T, Takada A. Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:631-6.
- 43.**King TE, Swartz MI, Brown K, Tooze JA, Colby TV, Waldrom JA, Flint A, Thulbeck W, Cherniac RM. Idiopathic pulmonary fibrosis; relationship between histopathologic features and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1025-32.
- 44.**Selman M, Ruiz V, Cabrera S, Segura R, Ramirez R, Barrios R, Pardo A. TIMP-1-2-3 and-4 in idiopathic pulmonary fibrosis. A prevailing nondegradative lung microenvironment. *Am J Physiol* 200;279:562-74.
- 45.**Flatherty KR, Colby TV, Travis WD, Toews GB, Mumford J, Murray S, Thannickal VJ, et al *Respir Crit Care Med* 2003;167:1410-5.
- 46.** Elgert KD. Immunology: understanding the Immun System. New York , Wiley-Liss, 1996.
- 47.**Seymour GJ, Savage NW ,Walsh LJ : Immunology : An Introduction for the Health Scienses. McGraw-Hill, 1995.
- 48.**Abbas AK ,Lichtman AH, Pober JS.: Cellular and Molecular Immunology.2nd ed. Philadelphia ,W.B.sounders, 1994.
- 49-** Angus W.thomson.The Cytokine Handbook 4 th edition Volume 1 ;IL-6.
- 50 .**Somers W et al, *EMBO J*, 1997
- 51.**Arend WP, Dayer JM: Cytokines and growth factors.Kelley WN,Haris ED Jr,Ruddy S, Sledge CB: Textbook of Rheumatology içinde 3rd Ed. WB Saunder Company Philadelphia 1993 ; s:227-47.
- 52.** Cytokines and Chemokines in Autoimmune Disease,Advances in Experimental Medicine and Biology Volume 520.
- 53.** Roberts, AB., 1998, Molecular and cell biology of TGF-beta. *Miner Electrolyte Metab.*;24:111-9.
- 54.** Varga J, Rosenbloom J, Jimenez SA., 1987, Transforming growth factor beta (TGF beta) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts. *Biochem J*; 247:597-604.
- 55.** Smith E.A., LeRoy E.C., 1990, A possible role for transforming growth factor-beta in systemic sclerosis, *J. Invest. Dermatol.*, 95:125-127 .
- 56.**Seibold JR:Connective tissue diseases characterized by fibrosis Kelley WN,Haris ED Jr, Ruddy S,Sledge CM: Textbook of Rheumatology içinde, 3rd, WB Saunders Company, Philadelphia 1993;s:1113-43.
- 57.**Philip H.Howe,The Cytokine Handbook, 4th Edition,edited by Angus W.Thomsan and Michael T.1119-1121.
- 58.**Blobe, G.C., Schieman, W.P., Lodish, H.F., 2000, Role of transforming growth factor-beta in human disease, *The New England Journal of Medicine*, 342:18; 1350-59.

- 59.**Sanford, L.P. Ormsby, I., Gittenberger-de Groot, A.C., Sariola, H., Friedman, R., Boivin, G.P., Cardell, E.L., Doetschman, T, 1997, TGF β 2 knockout mice have multiple developmental defects that are non-overlapping with other TGF- β knockout phenotypes. *Development* 124,2659-2670.
- 60.**Pervin Vural, The Suppressing Role of Transforming Growth Factor- in Cancer.*Türk Klinik Biyokimya Derg* 2010; 8(1): 35-42.
- 61.** Sanlı O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, Solakoglu S, Nurten A, Tunc M, Uysal V, Kadioglu A Nötralizan TGF- β 1 antikorları iskemik priapizmin fibrotik etkilerini azaltmaktadır .*Int J Impot Res* 2004 Derg, 16(6), 492-497.
- 62.**Metin Ö. Süleyman S. K. Sklerodermanın Etiyopatogenezi ve Güncel Tedavisi,*Fırat Üniv.Sağlık Bilimleri Tıp Derg* 2010;24(1):069-0756 .
- 63.**Philip H.Howe,*The Cytokine Handbook*, 4th Edition,edited by Angus W.Thomsan and Michael T.1135-1136.
- 64.**Cytokines ,edited by Anthony R.Mire-Sluis and Robin Thorpe; *Transforming Growth Faktör*;28. section :9.2.
- 65.**American Thoracic Society/Europan Respiratory Society İnternational Multidisciplinary Concensus Classification of the İdiopathic interstitial Pneumonias .*Am J Respir Crit Care Med*.165;277,2002.
- 66.**du Bois R.M,Wells AV.Cryptogenic fibrosing alveolitis /idiopathic pulmonary fibrosis.*Eur Respir J* 2001 ;18 (Suppl) 32, 43S-55S.
- 67.**Turner-Warnick M, Lebowitz M, Burrow B; Johnson A, Cryptogenic Fibrosing alveolitis and lung cancer .*Thorax* 1980 ;35:496-9.
- 68** .American Thoracic Society-idiopathic pulmonary fibrosis:Diagnosis and treatment *Am.J Respir Crit Care Med* 161-646-664,2000.
- 69.**Patchtsy AS,Banner M Freundlich JM:Desquamative interstitial pneumonia.Significance of intranuklear viral-like inclusion bodies.*Ann intern Med* 74:322-327,1971.
- 70.**Walshaw MJ, Nisar M, Pearson MG, et al Expiratory lung crackles in patients with fibrosing alveolitis.*chest* 97:407-409 ,1990.
- 71.**King TE Jr Tooze, JA Schwartz MI, et al .Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis.Scoring system and survival model.*Am J Respir Crit.care Med* 164 1171-1181.2001.
- 72.**Panos R.J, Mortenson R.L, Niccoli SA, King TE.Clinical deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis:caused and assesment .*Am J,Respir Crit Care Med*.1990 ;88:396-404.
- 73.**Chapman JR, Charles PJ, Venables PV, et al.Definition and clinical relevance of antibodies to nuclearribonucleoprotein and other nuclear antigens in patients with crytogenic fibrosing alveolitis .*Am Rev Respir Dis* 1984 ;130: 439-443.

- 74.**Guerry–Force, ML, Mueller JZ, Wright B et al.A comparison of bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia,usual interstitial pneumonia, and small airways disease.Am Rev Respir Dis.1987;135:705-12.
- 75.**Müller NL,Colby TV:idiopathic interstitial pneumonias:high resolution CT and histologic findings.Radiographics 17:10016-1022,1992.
- 76.**Müller NL Miller RR,Webb WR, et al Fibrosing alveolitis CT-Pathologic correlation.Radiology 160-585-588,1986
- 77.**Nishimura K,Kitaichi M,izumi T,et al Usual interstitial pneumonia:Histologic correlation with high resolution CT.Radiology 182,342,1992.
- 78.**Akira M, Sakatani M, Ueda E idiopathic pulmonary fibrosis:Progression of honeycombing at thin-section CT.Radiology 189-687-691,1993.
- 79.**Koyoma M, Johkoh T, Honda O, et al chronic cystic lung disease:Diagnostic accuracy of high resolution CT in 92 patients AJR Am J Roentgenol 180-827,2003.
- 80.**Mathieson JR, Mayo JR, Stables CA, et al Chronic diffuse infiltrative lung disease.Comparison of diagnostic accuracy of CT and chest radiography.Radiology 171:111,1989.
- 81.**Swensen SJ,Aughenbaugh GL, JL:diffuse lung disease:Diagnostic accuracy of CT in patients undergoing surgical biopsy of the lung.Radiology 205-229,1997.
- 82.**Hunninghake GW,Zimmerman MB,schwartz DA,et al Utility of a lung biopsy for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis.Am J Respir Crit.Care Med164-193,2001.
- 83.**King TE Jr, Costabel U, Cordier J-F, et al: idiopathic pulmonary fibrosis.Diagnosis and treatment .consensus statement.Am JRespir Crit Care Med 161:646,2000.
- 84.**Johkoh T, Ikezoe J,Kohho N, et al:high resolution CT and pulmonary function tests in collagen vascular disease:Comparison with idiopathic pulmonary fibrosis.Eur J Radiol 18:113-121,1994.
- 85.**Lynch DA,Newel JD,Logan PM,et al Can CTdistinguish hypersensitivity pneumonitis from idiopathic pulmonary fibrosis.AJR Am.Roentgenol 165;807 -811,1995
- 86.**Agustri c Xaubet a,Agustri AG,et al Clinical and functional assesment of patients with idiopathic pulmonary fibrosis.Results of a 3 year follow –up.Eur.Respir J 7;643 -650,1994
- 87.**Pande JN Interrelationship between lung volume, expiratory flow, and lung transfer factor in fibrosing alveolitis .Thorax 36:858,867,1981
- 88.**Cherniack.RM.cobly TV, Flint A, et al, Correlation of structure and function in idiopathic pulmonary fibrosis.Am J Respir Crit.Care Med.151;1180-1188,1995.
- 89.**Wells AU, King AD, Rubens MB, et al, Lone cryptogenic fibrosing alveolitis:A functional-morphologic correlation based on extent of disease on thin–section computed tomography.Am J Respir Crit Care Me 155:1367-1375,1997.

- 90.**Agusti AG, Roca J, Gea J, et al :Mechanisms of gas–exchange impairment in idiopathic pulmonary fibrosis.Am J.Respir Dis.143:219-225,1991.
- 91.**Marciniuk DD, Watts RE, Gallagher CG:Dead space loading and exercise limitation in patients with interstitial lung disease.Chest 105:183-189,1994.
- 92.**Chinet T, Jauber F, Dusser D , et al Effects of nflammation and fibrosis on pulmonary function in diffuse lung fibrosis.Thorax 45,675-678,1990.
- 93.**American Thorasic Society. American Thorasic Society Statement: Clinical role of bronchoalveoler lavage in adults with pulmonary disease .Am Rev Respir Dis 1990 ;142:481-6.
- 94.**Ferson PF, Landreneau RJ,Dowling SR, et al.Comparison of open versus thorascopic lung biopsy for diffuse infiltrative pulmonary disease.J.Thorac.Cardiovasc.Surg 1993;106:194-199
- 95.**British Thoracic Society standarts of care committee.The diagnosis, assesmentand treatment of diffuse lung disease in adults.Thorax 1999;54 (supp 1):15-30.
- 96.**King TE.Ídiopathic Pulmonary Fibrosis .In:Schwartz MI ,King TE.(eds).Ínterstitial lung disease 3 rd ed.BC.Decker Inc Hamilton.London 1998 :597-644.
- 97.**Wrigth OH, Heard BE, Steel SJ,et al.Criptogenic fibrosing alveolitis :assesment by graded-trephine lung biopsy histology compared with clinical ,radiographic and physiological features.Br J Dis Chest 1981;75:63-70.
- 98.**Rudd RM,Haslan PL,Turner –Warwick.Criptogenic fibrosing alveolitis relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to treatment and prognosis .Am J Rev Respir Dis 1981 ;124:1-8.
- 99.**Dauglas W,Ryu JH, Schroder DR.Ídiopathic pulmonary fibrosis.Am J.Respir Crit Care Med 2000;161 :1132-38.
- 100.**Gulsvik AF, Kjelsberg A,Bergman S,et al. High –dose intravenous methylprednisolone pulse therapy as initial treatment in crptogenic fibrosing alveolitis :a pilot study .Respiration 1986;50:252-7.
- 101.**Raghu G, Depaso WJ,Cain K,et al.Azothioprine combined with prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis :a prospective, double blind, randomised, placebo-controlled clinical trial.Am Rev Respir Dis 1991;144:291-6.
- 102.**Johnson MA, Kwan S, Sneil NJ, et al.Randomised controlled trial comparing prednisolone alone with cyclophosphamid and low dose prednisolone in combination in cryptogenic fibrosing alveolitis.Thorax 1989;44:280-8.
- 103.** Reinhold-Keller E,Beuge N,Latza U, et al. An interdisciplinary approah to the care of patients with Wegener’s granulomatosis: long term outcome in 155 patients.Arthritis Rheum 2000;43:1021-32.

- 104.**Sakamoto S, Homma S, Miyamoto A, et al. Cyclosporin A in the treatment of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Intern Med* 2010;49:109-115.
- 105.Fukazawa M, Kawans M,Hisano S,et al.Efficaccy of cyclosporin for idiopathic pulmonary fibrosis.*Eur J Pediatr*1999;149:441-2
- 106.**Rennard SI, Bitterman PB,Osaki T,et al.Colchicine suppresses the release of fibroblast growth factors from alvoler macrophages in vitro.the basis of possible therapauthic approach to the fibrotic disorders .*Am Rev.Respir Dis* 1988;137:181-5.
- 107.**Douglas WW, Ryu JH,Swensen SJ, et al. Colchicine versus prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis a randomised prospective study .*Am J.Respir Crit Care Med*.1998;158:220-5.
- 108.**Selman MG,Carnello G,Salas J,et al. Colchicine ,D penicilamine and prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis:a controlled clinical trial.*Chest* 1998;114:507-12.
- 109.**Narayama AJ, Whitney BA, Sevza A,et al. Effect of gama interferon on collojen synthesis by normal and fibrotic human lung fibrobast.*Chest* 1992;101:1326-31.
- 110.**Zesche R, Hofbauer E, Wittmann K, et al.A preliminary study of long term treatment with interferon gamma-1b and low dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis.*N Engl J Med* 1999;341 :1264-1269.
- 111.**Ragu G, Johson WC, Lockhatr D,Mageto Y.Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new antifibrotic agent ,pirfenidone.*Am,J Respir Crit Care Med* 1999 ;159 : 1061-1069.
- 112.**Behr J,Mauer U, Degenkolb B,et al.Antioxidative and clinical effects of high dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis ;adjunctive therapy to maintanence immunosupression .*Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1897-901.
- 113.**Nicholas Walter,Harold R.Collard,and Talmadge E.King Jr.Current Perspectives on the treatment of idiopathic pulmonary Fibrosis.2006;Vol 3:334.
- 114.**Hosenpud JD,Bennet LE,Kech BM, et al. Effect of diagnosis on survival benefit of lung transplantation for end stage lung disease .*Lancet* 1998;351:24-7
- 115.**Aydoğan S.Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarında Talidomidin Rolü (Uzmanlık Tezi).Elazığ:Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,2005.
- 116.** Soran M. Adriyamisin ile Oluşturulan Deneysel Nefrotik Sendrom Modelinde Talidomidin Nefrotik Senfromun Laboratuvar Bulguları Üzerine Etkisi (Yan Dal Uzmanlık Tezi).Adana:Çukurova Üniv.Tıp Fakültesi,2010
- 117.**Antje Moeller,Kjetil Ask,David Warburton,Jack Gaulde,Martin Kolb.The Bleomisin Animal Model:A Useful tool to İnvestigate Treatment Options For İdiopathic Pulmonary Fibrosis.*The İnternational Journal of Biochemistry and Cell Biology* 40 (2008) 362-382.

- 118.**Richard S.F.Nestor L.Müller ,Neil Colman,P.D. Pare.Synopsis of Diseases of The Chest. Chapter 18.syf:765.
- 119.**Ashcroft T., Simpson J.M.,Timbrirel V.,Simple Method of Estimating Severity of Pulmonary Fibrosis On A Numerical Scale. J Clin Pathol 1998;41:467-70
- 120.**Reynolds HY. Idiopathic pulmonary fibrosis: Contribution of bronchoalveolar lavage analysis. Chest 1986; 89:139-144.
- 121.**Watters LC, Schwarz MI, Cherniack RM, et al. Idiopathic PulmonaryFibrosis. Pretreatment Bronchoalveolar Lavage CellularConstituents and Their Relationships With Lung Histopathology and Clinical Response to Therapy. Am Rev Respir Dis 1987; 135:696-704.
- 122.** Boomars KA,Wagenaar SS,Mulder PG, van Velzen-Blad H, van den Bosch JM. Relationship Between Cells Obtained by Bronchoalveolar Lavage and Survival in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Thorax 1995;50: 1087-92.
- 123.**Toshiaki A.,Hiroaki K., Fumitaka T.,Satoru I.,ve Yoshinori H. Thalidomide attenuates Airway Hyperresponsiveness and Eosinophilic İnflammation İn A Murine Model of Allergic Asthma (2010) vol: 33, no:6;1028-1032 .
- 124.**Jung-Yoon Choe,Hyun-Joo Jung,Ki-Yeun Park,Yoon-Seup Kum,Gwan Gyu Song, Dae-Sung Hyun, Sung-Hoon Park, Seong-Kyu Kim. Anti-fibrotic effect of Thalidomide Through İnhibiting TGF- β -induced ERK $\frac{1}{2}$ Pathways in Bleomycin-İnduced Lung Fibrosis İn Mice .İnflammation Research 2010,59;177-188.
- 125.**Fumitake Saito, Sadatomo Tasaka, Ken-ichiro Inoue, ve ark. Role of Interleukin-6 in Bleomycin-İnduced Lung İnflammatory Changes in Mice. Am J Respir Cell Mol Biol (2008); Vol 38: 566-571.
- 126.**Chiharu Tabata, Rie Tabata,Yoshio K., Shigeo Hisamori, Meiko T., Michiaki M.,Takashi N. and Hajime Kubo. Thalidomide Prevents Bleomycin-İnduced Pulmonary Fibrosis in Mice. The Journal of İmmunology.2007;179:708-714.
- 127.**M. R. Horton, S.K. Danoff, N Lechtzin .John Hopkins Universty School Of Medicine .Thorax 2008;63;749.
- 128.** L. Zhao, K. Xiao, H, Wang, Z. Wang, L. Sun, F. Zhang, X. et.all. Thalidomide has a therapeutic effect on İnterstitial Lung Fibrosis: Evidence From İn Vitro and İn Vivo Studies.Clinical and Experimental İmmunology 2009,1365-2249.
- 129.**Paola R.,Marco M.,Maria A.P., ve Cesare S.New Perspectives in the Treatment of İdiopathic Pulmonary Fibrosis.Therapeutic Advances in Respiratory Disease 2008,2121:75-93.
- 130.**J.L.Tavares, A.Wangoo, P.Dilworth, B. Marshall, S. Kotecha ve R. J. Shaw Thalidomide Reduces Tumor Necrosis Factor-alfa Production by Human Alveolar Macrophages.

Department of Respiratory Medicine, İmperial College of Medicine at St.Mary's London (1997) 91,31-39.

131.Q.Ye, B.Chen, Z Tong, S Nakamura, R Sarria ,U Costabel ve J.Guzman. Thalidomide Reduces IL-18,IL-8 TNF-alfa Release From Alveolar Macrophages in İnterstitial Lung Disease. Eur Respir J 2006:28; 824-831.

11. TEŞEKKÜR

Deneysel çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde yapılmış (proje no:13.03.2009 tarih 2009 /14 sayı) ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (proje no: 09102057) tarafından desteklenmiştir.

Uzmanlık eğitimim ve tezimin hazırlanmasında büyük katkıları olan tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr.Adil Zamani'ye, Uzm. Dr. Soner Demirbaş'a, BAL ve doku örneklerinin patolojik incelemelerini yapan Selçuk Üniversitesi Selçuklu Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında öğretim üyesi Doç. Dr. Füsun Baba'ya, bronkoalveoler lavaj örneklerinde sitokin düzeylerinin çalışılmasına yardımcı olan Selçuklu Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Ali Ünlü, Dr. Fikret Akyürek ve Dr. Abdullah Sivrikaya'ya, çalışmamızın deneysel aşamasında yardımları olan veteriner hekim Mehmet Öz ve yardımcı personeline, istatistiksel değerlendirmeyi yapan Yrd. Doç Dr. Mustafa Semiz'e ayrıca Doç. Dr. Murat Ayaz'a ve Prof.Dr.İsmet Aydoğdu'ya, Meram Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkların'da görev yapan diğer hocalarıma, asistanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım, hemşire ve personellere tesekkür ederim.