

## BÖLÜM 5

### PULMONER FİBROZİSİN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI

Elif EKİNCİ<sup>1</sup>  
Necati TİMURKAAN<sup>2</sup>

#### GİRİŞ

Pulmoner fibrozis (PF), akciğer parankiminin ekstraselüler matriks bileşenlerinin birikimine bağlı olarak sertleşmesi ve skarlaşması ile karakterize kronik seyirli, ilerleyici ve tedaviye dirençli bir akciğer hastalığıdır. ECM proteinlerin birikiminin, özellikle kollajenin, fizyolojik doku mimarisini bozarak akciğer parankiminin elastikiyetini kaybetmesine neden olur. İntersitisyel alanda bağ doku artışı akciğerlerde gaz değişimini bozarak solunum yetmezliğine neden olmaktadır (1-4).

Pulmoner fibrozisin prevalansı, Amerika Birleşik Devletleri'nde 14-63/100.000, Avrupa da 1.25-23,4/100.000 olarak kayıtlara geçmiştir. Türk Toraks Derneği tarafından Türkiye de yapılan çalışmaya göre akciğer hastalıkları içinde pulmoner fibrozis prevalansı %19,9 olarak saptanmıştır (5).

PF'in oluşumunda genetik yatkınlık ile birlikte radyasyon, asbest, silika, metal tozlarına maruziyet gibi çevresel faktörler, infeksiyöz hastalıklar, bleomisin, sulfasalazin, amiodaran, oksaliptatin tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar, gastro-özofageyal reflü, travmatik yaralanmalar, dokuda gelişen şiddetli inflamasyon, allerjik yanıtlar ve otoimmün reaksiyon gibi multifaktöryel nedenler yer alır (6, 7). Bu risk faktörlerine maruz kalma, akciğer hücrelerinin yapısında ve işlevinde fibrozis nedeniyle fenotipik değişikliklere yol açar. Pulmoner fibrozisin patofizyolojik mekanizmaları ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış, ancak moleküler mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (8). Etkili tedavilerinin geliştirilmesi için hücresel süreçler ve moleküler yollar hakkında ek çalışmalar gereklidir. Özellikle moleküler mekanizmaları çözümlenmeye yönelik çalışmalarda, bugüne kadar fibrozis sürecinde etkili çeşitli moleküller ve sinyal yolları ortaya çıkarılmıştır. Bunların

1 Arş Gör., Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD., elif.ekinci2@dicle.edu.tr

2 Prof. Dr., Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji AD., ntimurkaan@firat.edu.tr

daha iyi anlaşılması, anormal hücresel süreçlerin etkin modülasyonuna ve akciğerde doku homeostazının korunmasına yol açabilir (8-10)

Bilim insanlarının pulmoner fibrosis çalışmalarına olan ilgisi Covid-19 pandemisi ile birlikte artmıştır. Dünyada 6 Eylül 2022 itibariyle Covid-19 nedeniyle 600 milyona yakın toplam vaka, 6 milyondan fazla ölüm meydana gelmiştir. Türkiye’de ise 17 milyona yakın toplam vaka, 100 binin üzerinde ise ölüm bildirilmiştir (11, 12). Bu virüs ile enfekte olan insanların çoğunda ateş, halsizlik, öksürük gibi hafif semptomlar görülse de hastaların yaklaşık % 40’ ında akut solunum güçlüğü sendromu (ARSD) gibi ağır seyirli klinik bulgular gösterir. Covid 19 ile enfekte ve akciğer tutulumunun görüldüğü vakaların iyileşme sonrası takiplerinde, pulmoner fibrosis ile ilgili önemli veriler elde edilmiştir (13). Schwensen ve ark. Covid 19 enfeksiyonu geçirmiş hastaların akciğerlerinde karakteristik fibrotik semptomların geliştiğini bildirmiştir (14). Covid 19 sonrası yapılan değerlendirmelerle ilgili çalışmada ise hastaların bir kısmının akciğer hasarı olmadan iyileşirken, 3’ te 1’ inden fazlasında fibrotik lezyonlar gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmaya göre ise şiddetli covid 19 pnomonisi olan 118 hastanın 85’ inin akciğerlerinde fibrotik değişiklikler ortaya konmuştur. Bir diğer çalışmaya göre ise 114 katılımcıdan 40’ ının fibrotik değişiklikler gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca Li ve ark. yaptığı çalışmaya göre 462 hastanın yarsından fazlasında anormal akciğer fonksiyonları bildirilmiş olup bu hastaların %62.03 ‘ ünde ise pulmoner fibrosis geliştiği ortaya konmuştur (13, 15).

Bu çalışma pulmoner fibrosis patogenezinde gelişen anahtar kavramları, hastalığın başlangıcı ve ilerlemesinde rol oynayan hücresel ve moleküler mekanizmaları tartışmaktadır (13).

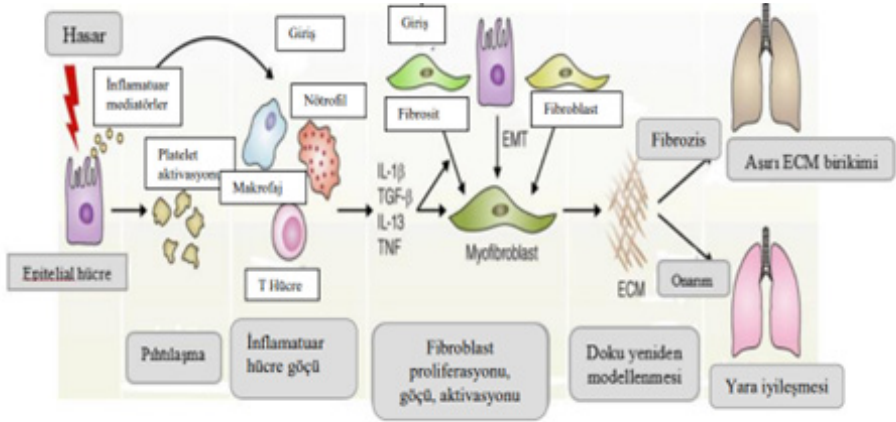
## **PULMONER FİBROZİSİN MOLEKÜLER MEKANİZMALARI**

Pulmoner fibrosis patogenezinde inflamasyon ve oksidatif stresin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlar akciğer hasarını takiben tek başına veya kombinasyon halinde ECM artışına neden olan değişikliklerden sorumlu ana mekanizmalar olarak kabul edilmektedir (16).

### **İnflamasyon**

İnflamasyonun pulmoner fibrosis üzerindeki rolü uzun yıllardır devam eden araştırma konusu olmuştur. Pek çok araştırmacı inflamasyonun pulmoner fibrozisin oluşumunda önemli rol oynadığı konusunda hem fikirdir (17, 18). Bronşioalveolar lavaj (BAL) sıvısında inflamatuvar hücre sayısındaki artış inflamasyonun fibrozisdeki rolünü doğrular niteliktedir. Ayrıca, pulmoner fibrosisli akciğer bi-

yopsilerinde de fibroblast ve kollajen ile birlikte nötrofil, makrofaj ve lenfositlere rastlandığı bildirilmektedir (16). Risk faktörlerine maruz kalan akciğerin endotel ve epitel hücrelerinde hasar meydana geldiğinde bir dizi bağışıklık aktive edici sinyal üretilir. Makrofajlar, nötrofiller ve eozinofiller gibi bağışıklık hücreleri hasarlı dokuya toplanır ve doku onarımını sürdürmek için interlökin (IL)-1 $\beta$ , transforming growth faktör beta (TGF- $\beta$ ), IL-13 ve tümör nekroz faktör (TNF- $\alpha$ ) gibi sitokinleri ve büyüme faktörlerini aktive eder (8). Tekrarlanan parankim hasarlarında iyileşme rejenerasyondan ziyade organizasyon ile sonuçlanır. Bu durumda fibroblastlar ekstraselüler matriks üreterek pulmoner fibrozise yol açar. Akciğerlerde ECM üreten hücrelerin üç farklı kaynaktan köken aldığı bildirilmektedir (6). Bunlar; akciğerlerdeki fibroblastlardan, kemik iliği kökenli fibrositlerden ve epitelial-mezenşimal transizyon kaynaklı olduğu bildirilmektedir. Aktive olmuş fibroblast ve myofibroblastlar aşırı ECM bileşenlerini üreterek intersitisyel alanda birikir ve fibroblastik odaklar oluşturur (Şekil 1). Böylece akciğer parankiminde fonksiyonel ve yapısal bir işlev bozukluğuna neden olan pulmoner fibrozis şekillenir (19-21).



Şekil 1: Pulmoner fibrozis ile ilişkili inflamasyonla aktive olan moleküller ve hücreler (8).

Pulmoner fibrozisin oluşumunda epitelial mezenşimal transizyon (EMT) mekanizmasının rol oynamaktadır. İlk olarak embriyonik gelişim ve organogenez döneminde önemli görevler üstlenen ve son yıllarda fibrozisin potansiyel katkı sağlayıcısı olarak kabul edilen EMT, bazal membran yapısının bozulmasına bağlı olarak epitel hücrelerin epitelial özelliklerini kaybederek myofibroblast benzeri özellik kazandığı bir süreç olarak tanımlanmaktadır (22). Hasara bağlı olarak in-

tegrin gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonu azalırken, hücre hareketliliği ise artar. Böylece epitel hücreleri profibrotik özelliklerini gösterecekleri yara bölgesine göç ederek fibrotik sürece katkı sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar EMT'nin fibrozise katkısını desteklemektedir (23).

TNF- $\alpha$  ve TGF- $\beta$  gibi sitokinlerin uyarılması, kollajen üreten miyofibroblastların aktivasyonunu, çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik ederek pulmoner fibrozisin patogeneğinde önemli rol oynamaktadır (24). Bu nedenle pulmoner fibrozisi önlemeye yönelik bazı çalışmalar genellikle bu sitokinlerin antagonistlerine yoğunlaşmış, ancak kimi çalışmalara göre TNF- $\alpha$  antagonistinin bazı pulmoner fibrozis modellerinde tedavi amacıyla kullanılması, her zaman olumlu sonuçlara yol açmayıp, hatta pulmoner fibrozisi daha da şiddetlendirdiği ileri sürülmektedir (8, 25). Tedavi amacıyla kullanılan TGF- $\beta$  antagonistlerinin ise kısmen iyileşme sağladığı bildirilmiş olup pulmoner fibrozis mekanizmasını spesifik olarak hedef alan herhangi bir sitokin antagonisti henüz ortaya konamamıştır (25).

### **Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, oksidan üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengesizlik olarak ya da reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunun, onları nötralize etme kapasitesini aşan dengesizliği olarak tanımlanır. Bunlar dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron taşıyan ve etrafındaki moleküller ile etkileşime girerek kararlı hale gelmeye çalışan moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronlar, süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali (OH), hipoklorik asit (HOCl) ve peroksinitrit (ONOO) gibi oldukça reaktif radikaller üretir. ROS'un aşırı üretimi, doku hasarına neden olan oksidatif strese yol açar (26).

ROS hücrelerde mitokondriyal elektron taşıma zinciri, oksidan enzimlerin reaksiyonu, fagositik hücre aktivasyonu gibi endojen etkenler ya da ilaç oksidasyonları, iyonize radyasyon, toksik gazlar gibi ekzojen etkenlere bağlı olarak oluşabilir. Nispeten daha yüksek oksijen gerilimlerine maruz kalması nedeniyle akciğerler diğer dokulara göre bu radikallere daha duyarlıdır (27, 28).

ROS akciğerlerde çeşitli mekanizmalarla hasar oluşturup fibrozise katkı sağlar. Artan ROS seviyesi hücre hasarına neden olarak hücrelerden sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınmasına aracılık eder. Böylece inflamasyon tetiklenir. İnflamatuar süreç sırasında aktive olmuş fagositik hücreler de ROS üretimine katkı sağlayarak doku hasarının ilerlemesine neden olur. Ayrıca inflamasyonla birlikte oksidatif stres de ECM parçalanmasına eşlik ederek fibrogenезisin tetiklenmesinde rol oynar. Ayrıca DNA hasarına yol açarak p53 genlerini aktive eder. Aktive genler alveolar epitel hücrelerinin apoptozunu uyararak rejenerasyon yeteneği-

nin bozulmasına ve organizasyonla iyileşmesine neden olur. Bu mekanizmalar sonucunda hasarlı dokularda anormal yara iyileşmesi şekillenerek fibrotik süreç tetiklenmiş olur (28).

## **HAYVAN MODELLERİ**

Hayvan modelleri, hastalıkların araştırılmasında önemli katkılar sunmaktadır ve pulmoner patofizyolojiyi incelemek için birçok model oluşturulmuştur. Kronik hastalıkları modellemek zordur. Hastalığın etiyojisi ve doğal seyri belirsiz olduğundan ve hayvanlarda pulmoner fibrozisi uyaraabilecek birçok tetikleyici olabileceğinden durum daha da karmaşıktır (29). Yıllar içinde farklı pulmoner fibrozis modelleri geliştirilmiştir. Çoğu, insan pulmoner fibrozisinin bazı özelliklerini, özellikle de durumun ilerleyici ve geri döndürülemez doğasını taklit eder. Yaygın yöntemler arasında radyasyon hasarı, bleomisin, FITC (Fluorescein isothiocyanate), silika veya asbest damlatılması, transgenik fareler veya fibrojenik sitokinler kullanılarak gen aktarımı yer alır (29, 30). Ancak pulmoner fibrozis modellemede kullanılan en yaygın yöntem bleomisin olarak kabul edilmektedir (31).

Deneyssel akciğer fibrozunu uyaran bir ajan olarak bleomisin ilk olarak köpeklerde daha sonra farelerde ve ratlarda tanımanmıştır. Bleomisin, "Streptomyces verticillus" bakterisi tarafından üretilen kemoterapötik bir antibiyotiktir (32). Pulmoner fibrozisin hayvan modellerinde kullanımı, fibrozisin insan kanser tedavisinde bleomisinin başlıca yan etkilerinden biri olduğu gerçeğine dayanmaktadır. Bleomisin, lenfoma, skuamöz hücreli karsinomlar, germ hücreli tümörler ve malign plevral efüzyon tedavisinde önemli bir rol oynar ve burada intrapleural olarak enjekte edilir. Bleomisinin, tümör hücrelerinde tek ve çift zincirli DNA kırılmalarına neden olarak ve böylece hücre döngüsünü kesintiye uğratarak etki ettiğine inanılmaktadır. Bu, metal iyonlarının şelasyonu ve oluşan psödoenzimin oksijenle reaksiyona girmesiyle olur. Bunun sonucunda DNA parçalayıcı süperoksit ve hidroksit serbest radikallerinin üretimine yol açar (33). Böylece reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi, pulmoner toksisiteye, fibroblastların aktivasyonuna ve ardından fibroze neden olan bir inflamatuvar yanıtı yol açmaktadır (34, 35).

## **SONUÇ**

Pulmoner fibrozisin farmakolojik tedavi seçenekleri sınırlıdır. Tedavi protokolüne bulunan ilaçlar, tam bir tedavi etmekten ziyade bulguları hafifletmek ve ilerlemeyi yavaşlatmak amacıyla kullanılmaktadır. Prednizon, azatioprin ve N-asetilsistein ile standart bakım kombinasyon tedavisi olarak kullanılan tedavinin pulmoner

fibrozis için etkin bir tedavi sağlamadığı bildirilmiştir. Günümüzde pulmoner fibroze özgü tedavi, iki yeni antifibrotik ve antiinflamatuvar olan pirfenidon ve nintedanibe dayanmaktadır. Pirfenidon TGF-b ile indüklenen fibronectin sentezini inhibe ederek, inflamatuvar hücre birikimini, fibroblast proliferasyonunu, sitokin üretimini ve salgılanmasını azaltarak etki gösteren antiinflamatuvar ve antifibrotik bir ajandır. Nintedonid ise tirozin kinaz inhibitörü olarak bilinen, fibroblast büyüme faktörü, trombosit büyüme faktörü ve VEGF üzerine etkili olan ayrıca fibroblast miyofibroblast kaskadını inhibe eden antifibrotik ajan olarak kullanılır. Her ikisi de akciğer fonksiyonundaki düşüşü yavaşlatabilir ancak tedavi ile sonuçlanmaz (36, 37). Pulmoner fibrozisin patogeneziinde rol oynayan patolojik mekanizmaların ortaya konması etkili tedavilerin geliştirilmesi ve hastaların yaşam kalitelerinin artırılması için önem arz etmektedir (38).

## KAYNAKLAR

1. Venkatesan N, Ouzzine M, Kolb M, et al. Increased deposition of chondroitin/dermatan sulfate glycosaminoglycan and upregulation of  $\beta$ 1,3- glucuronosyltransferase I in pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2011; 300(2), 191-203.
2. Giacomelli C, Chiara R, Piccarducci R, et al. Pulmonary fibrosis from molecular mechanisms to therapeutic interventions: lessons from post-COVID-19 patients. *Biochemical Pharmacology, Elsevier* 2021, 193: 114812.
3. Pardo A, Selman M. Molecular mechanisms of pulmonary fibrosis. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 2002, 7.4: 1743-1761.
4. Chatterjee S, Chakraborty K, Moitra S, et al. Role of Proteases in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: *Pathophysiological Aspects of Proteases*. Springer Link. 2017. p. 553-566.
5. Demirköse M, Erden E. Ratlarda bleomisin ile oluşturulan deneysel akciğer fibrozisi modelinde erdosteine ve N-asetsisteine'in fibrozis üzerine etkilerinin incelenmesi. *JOMPAC* 2021; 2(4), 136-142
6. Kayalar Ö. Pulmoner Nöroendokrin Hücrelerin Akciğer Fibrozisi Üzerinde Muhtemel Roller. Doktora Tezi, İstanbul; İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.
7. Wilson MS, Wynn TA. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation. *Mucosal Immunol* 2009;2(2), 103-121.
8. Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208.7: 1339-1350.
9. Hararı S, Camınatı A. IPF: New insight on pathogenesis and treatment. *Allergy*, 2010, 65.5: 537-553.
10. Phan THG, Paliogiannis P, Nasrallah GK, et al. Emerging cellular and molecular determinants of idiopathic pulmonary fibrosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Springer Link. 2021, 78.5: 2031-2057.
11. Atış TH, Çoban T, Okyay P. COVID-19 PANDEMİSİNDE GÜNCEL DURUM VE ÖNERİLER. 2022
12. TC. Sağlık Bakanlığı Covid-19 Bilgilendirme Platformu <https://covid19.saglik.gov.tr/> [Erişim tarihi: 12.10.2022]
13. Saifi MA, Bansod S, Godugu C. COVID-19 and fibrosis: mechanisms, clinical relevance, and future perspectives. *Drug Discovery Today*. Elsevier 2022, 103345.
14. Schwensen HF, Borreschmidt LK, Storgaard M, et al. Fatal pulmonary fibrosis: a post-CO-

- VID-19 autopsy case. *Journal of clinical pathology*, 2021, 74.6: 400-402.
15. Li X, Shen C, Wang L, et al. Pulmonary fibrosis and its related factors in discharged patients with new corona virus pneumonia: a cohort study. *Respiratory research, Springer Link*. 2021, 22.1: 1-11.
  16. Luzina IG, Tood WN, Lacono AT, et al. Roles of T lymphocytes in pulmonary fibrosis. *Journal of leukocyte biology*, 2008, 83.2: 237-244.
  17. Gauldie J. Inflammatory mechanisms are a minor component of the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2002. 165.9: 1205-1206.
  18. Strieter RM. Inflammatory mechanisms are not a minor component of the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2002. 165.9: 1206-1207.
  19. King JR, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis. *The Lancet. ScienceDirect*. 2011, 378.9807: 1949-1961.
  20. Bringardner BD, Baran CP, Eubank TD, et al. The role of inflammation in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Antioxid Redox Signal* 2008;10(2), 287-302.
  21. Moretti L, Stalfort J, Barker TH, et al. The interplay of fibroblasts, the extracellular matrix, and inflammation in scar formation. *Journal of Biological Chemistry*, 2022, 298.2.
  22. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *The Journal of clinical investigation*, 2003, 112.12: 1776-1784.
  23. Lee JM, Dedhar S, Kalluri R. et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease. *The Journal of cell biology*, 2006, 172.7: 973-981.
  24. Zhang K, Phan SH. Cytokines and Pulmonary Fibrosis. *Neurosignals. Biological Signals*. 1996;5:232-239.
  25. Sıwık DA, Chang DLE, Colucci WS. Interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro. *Circulation research*. 2000, 86.12: 1259-1265
  26. Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, et al. Oxidative stress in pulmonary fibrosis: a possible role for redox modulatory therapy. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2005, 172.4: 417-422.
  27. Yılmaz R. Akciğer Hastalığı Patogenezinde Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistemin Rollerini: Akciğer ve Oksidatif Stres. *Chronicles of Precision Medical Researchers*, 2020, 1.1: 1-7.
  28. Fois AG, Paliogiannis P, Sotgia S, et al. Evaluation of oxidative stress biomarkers in idiopathic pulmonary fibrosis and therapeutic applications: a systematic review. *Respiratory research. Springer Link*. 2018, 19.1: 1-13.
  29. Moore BB, Hogaboam CM. Murine models of pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2008, 294.2: L152-L160
  30. Chua F, Gauldie J, Laurent GJ, et al. Pulmonary fibrosis: searching for model answers. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2005. 33(1), 9-13
  31. Umezawa H, Ishizuka M, Maeda K, et al. Studies on bleomycin. *Cancer*, 1967, 20.5: 891-895
  32. Adamson IY. Pulmonary toxicity of bleomycin. *Environmental health perspectives*. 1976, 16: 119-125.
  33. Claussen CA, Long EC. Nucleic acid recognition by metal complexes of bleomycin. *Chemical reviews. NIH*. 1999, 99.9: 2797-2816.
  34. Chaudhary NI, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2006, 173.7: 769-776.
  35. Moeller A, Ask K, Warburton D. et al. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis?. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2008, 40.3: 362-382.
  36. Mohammadi A, Balan I, Yadav S, et al. Post-COVID-19 Pulmonary Fibrosis. *Cureus*. 2022.14(3)

37. Al-Kuraishy HM, Batiha G, Faidah H, et al. Pirfenidone and post-Covid-19 pulmonary fibrosis: Invoked again for realistic goals. *Inflammopharmacology*. Springer Link. 2022 1-10.
38. Bois RM, Nathan SD, Richeldi L. et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: lung function is a clinically meaningful endpoint for phase III trials. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2012, 186.8: 712-715.