

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İTERSTİSYEL AKCİĞER HASTALIĞI TANISI İLE İZLENEN
HASTALARIN İMMÜNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Mina HIZAL

İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA

2024

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İTERSTİSYEL AKCİĞER HASTALIĞI TANISI İLE İZLENEN
HASTALARIN İMMÜNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Mina HIZAL

**İmmünoloji Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Feyzi İLHAN TEZCAN**

ANKARA

2024

ONAY SAYFASI

İnterstisyel Akciğer Hastalığı Tanısı ile İzlenen Hastaların İmmünolojik Özelliklerinin
Değerlendirilmesi

Öğrenci: Mina HIZAL

Danışman: Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN

Bu tez çalışması 24.04.2024 tarihinde jürimiz tarafından "İmmünoloji Programı" nda
yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Deniz Nazire ÇAĞDAŞ AYVAZ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD/İmmünoloji Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD/İmmünoloji Bilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Elmas Ebru YALÇIN
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD/Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Saliha ESENBOĞA
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD/İmmünoloji Bilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Zehra Şule HASKOLOĞLU
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD/ İmmünoloj ve Allerji Bilim Dalı

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili
maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN

Enstitü Müdürü

14 Mayıs 2024

YAYIMLAMA ve FİKTİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan **“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”** kapsamında tezimin aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- o Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren .. ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- o Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

...../...../.....

Mina HIZAL

I “Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internetten paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesi'ne göre yazıldığını beyan ederim.

Mina HIZAL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan, rehberlik eden ve akademik bilgi birikimlerini paylaşarak çalışmalarına katkı sağlayan danışmanım Prof. Dr. Fevzi İlhan Tezcan'a; tez çalışmam için gereken tüm imkanları sağlayan, bilimsel düşünceyi geliştirmemi destekleyen İmmünoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Deniz Ayvaz'a; çalışmalarımda her türlü imkanı sunan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmalarımı gerçekleştiren Doç. Dr. Sevil Oskay Halaçlı'ya; eşsiz katkıları ve destekleri için teşekkür ederim.

Beni her zaman cesaretlendiren, destek olan ve güvenen, immünoloji yüksek lisansı için bana rehberlik eden, tez çalışmam için sonsuz destek sağlayan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum ve tüm hayatım boyunca örnek alacağım Prof. Dr. Nural Kiper'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında hasta toplama sürecime olağanüstü çabası ve tezime olan desteği için Doç. Dr. Halime Nayır Büyükaşahin'e minnettarlığımı sunarım. Çalışmalarım sırasında yardımları ve katkıları için Büşra Çiftçier ve Kevser Yılmaz'e içten duygularıyla minnettarlığımı ifade ederim.

Tez çalışmalarına her türlü desteği sağlayan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Nagehan Emiralioğlu'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Histopatolojik incelemelerde bize destek ve katkı sağlayan Prof. Dr. Diclehan Orhan'a teşekkürlerimi iletmek isterim. Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Saliha Esenboğa'ya da teşekkürlerimi sunarım.

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı'nda çalıştığım süre boyunca bilgi, deneyim ve görgülerini paylaşarak akademik deneyimimi zenginleştiren Prof. Dr. Uğur Özçelik'e, Prof. Dr. Deniz Doğru Ersoz'e ve Prof. Dr. Ebru Yalçın'a da içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecimde içten destekleri ve yardımları ile tez sürecime önemli katkısı olan arkadaşım Uzm. Dr. Hacer Neslihan Bildik'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardım ve katkı sağlayan tüm Hacettepe Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları Bilim Dalı ve İmmünoloji Bilim Dalı çalışanlarına teşekkür etmek isterim.

Hayatım boyunca desteklerini ve sevgilerini yürekten hissettiğim, ailem ve özellikle tez sürecinde bana sabırla destek olan eşim Mutlu Hızal'a sonsuz teşekkürler sunarım.

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Hızal, M. İnterstisyel Akciğer Hastalığı Tanısı ile İzlenen Hastaların İmmünolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Entitüsü İmmünoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2024.

Çocukluk Çağı İnterstisyel Akciğer Hastalıkları (chILD), genellikle belirlenebilen bir etiyolojiye sahip olmayan heterojen bir hastalık grubudur. Bu hastalık grubu nadir görülen ve heterojen özellikler gösteren bir kronik solunum yolu hastalığıdır ve diffüz akciğer tutulumu göstermektedir. Bu çalışmada, chILD tanısı almış veya bu tanı ile Hacettepe Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları Ünitesi'nde takip edilen çocuk yaş grubundaki hastalarda patogeneze rol oynayabilecek bazı immünolojik bileşenleri araştırmayı hedefledik. Bu kapsamda, hastaların periferik kanlarında T regülatuar hücre analizi yapıldı ve IL-10 ile TGFB ifade düzeyleri bu hücrelerde hücre içi olarak değerlendirildi. Ayrıca, doğal lenfoid hücre karakterizasyonu (ILC1, ILC2, ILC3) ve yardımcı T hücre-17 (Th-17) analizi de yapıldı. Periferik kan mononükleer hücrelerinde vimentin ve periplakin ifadesi değerlendirildi. Toplamda 20 hasta ve 19 kontrol olmak dahil edildi. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Hastaların yaş ortalaması $14,25 \pm 4,7$ yıl olarak belirlendi ve akrabalık oranı hastaların %40'ında görüldü. Hastaların %30'unda malnutrisyon saptandı. Semptomların ortanca başlama yaşı 48 ay olarak belirlendi ve nefes darlığı, takipne ve öksürük en sık başvuru bulguları olarak görüldü. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Treg hücre yüzdesi (sırasıyla $7,58 \pm 5$ ve $6,2 \pm 3,61$), Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen TGF- β ifade eden hücre yüzdesi ($31,08 \pm 16,02$ ve $33,16 \pm 14,47$), ve IL-10 ifade eden hücre yüzdesi ($0,98 \pm 2,63$ ve $0,41 \pm 0,56$) arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($P>0,05$). Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Th17 yüzdesi (sırasıyla $21,21 \pm 11,05$ ve $19,29 \pm 8,68$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($P=0,29$). Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında intrasellüler periplakin ve vimentin ifadesi açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Bronşiolit obliterans hastaları çıkarıldıktan sonra yapılan yeni grup (diğer İAH; $n=14$) ile kontrol grubu arasında ILC2 açısından anlamlı fark bulundu (sırayla $2,58 \pm 2,24$ ve $4,5 \pm 2,59$; $P=0,037$), ancak diğer parametreler arasında fark bulunmadı. Çalışma parametreleri ve VKİ, FEV1%, FCV%, 6-dakika yürüme testi, tanı yaşı, semptom süresi, klinik bulgular ve fizik muayene bulguları arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($P>0,05$). Çalışmamız, çocukluk çağı İAH olgularında immünolojik özelliklerin değerlendirildiği bir pilot çalışmadır. Sonuçlarımızın anlamlılığının tam olarak anlaşılabilmesi için özellikle daha geniş hasta grubu ve bronkoalveoler lavaj örnekleri ile desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnterstisyel Akciğer Hastalıkları, Fibrozis, Çocuk

ABSTRACT

Hızal, M. Evaluation of Immunological Characteristics in Patients Followed with the Diagnosis of childhood Interstitial Lung Disease. Hacettepe University Graduate School of Health Sciences Immunology Program Master's Thesis, Ankara, 2024. Childhood Interstitial Lung Diseases (chILD) are a heterogeneous group of chronic respiratory diseases with usually no identifiable etiology. This disease group is rare and exhibits heterogeneous characteristics, showing diffuse pulmonary involvement. In this study, we aimed to investigate certain immunological components that could play a role in the pathogenesis of patients diagnosed with chILD and followed at Hacettepe University Pediatric Pulmonology Unit. Within this scope, regulatory T cell analysis was conducted in the peripheral blood of patients, and the expression levels of IL-10 and TGF β were evaluated intracellularly in these cells. Additionally, natural lymphoid cell characterization (ILC1, ILC2, ILC3) and helper T cell-17 (Th-17) analysis were performed. Intracellular vimentin and periplakin expression were evaluated. A total of 20 patients and 19 controls were included. There was no significant difference in terms of age and gender between patient and control groups. The mean age of the patients was determined to be 14.25 ± 4.7 years, and a consanguinity rate of 40% was observed among patients. Malnutrition was detected in 30% of the patients. The median age of symptom onset was determined to be 48 months, with dyspnea, tachypnea, and cough being the most common presenting symptoms. There was no significant difference between patient and healthy control groups in terms of Treg cell percentage (7.58 ± 5 and 6.2 ± 3.61 , respectively), percentage of TGF β expressing cells evaluated intracellularly in Treg cells (31.08 ± 16.02 and 33.16 ± 14.47 , respectively), and IL-10 expressing cell percentage (0.98 ± 2.63 and 0.41 ± 0.56 , respectively) ($P>0.05$). There was no significant difference in Th17 percentage between patient and healthy control groups (21.21 ± 11.05 and 19.29 ± 8.68 , respectively) ($P=0.29$). There was no significant difference between patient and healthy control groups in terms of intracellular periplakin and vimentin expression ($p>0.05$). After excluding bronchiolitis obliterans patients, a new group was formed (other ILD; $n=14$), and a significant difference in terms of ILC2 was found between this group and the control group (2.58 ± 2.24 and 4.5 ± 2.59 , respectively; $P=0.037$), but no difference was found in other parameters. There was no significant correlation between study parameters and BMI, FEV1%, FVC%, 6-minute walk test, age at diagnosis, symptom duration, clinical findings, and physical examination findings ($P>0.05$). Our study is a pilot study evaluating the immunological characteristics in chILD. In order to fully understand the significance of our results, especially a larger patient group and bronchoalveolar lavage samples are needed to support the findings.

Keywords: Interstitial Lung Diseases, Fibrosis, Child

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKTİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. İnterstisyel Akciğer Hastalıkları	2
2.2. Epidemiyoloji	2
2.3. Patofizyoloji	2
2.3.1. Regülatuar T lenfositler: Hastalık Gelişimindeki Rolü	6
2.3.2. Transforming Growth Factor Beta (TGF-β): Hastalık Gelişimindeki Rolü	8
2.3.3. İnterlökin 10: Hastalık Gelişiminde Rolü	11
2.3.4. Yardımcı T 17 (T helper 17; Th17) Hücreleri: Hastalık Gelişimindeki Rolü	12
2.3.5. Doğal Lenfoid Hücreler (innate lenfoid hücre, ILC): Hastalık Gelişiminde Rolü	14
2.3.6. Vimentin	19
2.3.7. Periplakin	19
2.4. Sınıflandırma	20
2.5. Klinik Bulgular ve Tanı	23
2.6. Tedavi ve İzlem	24
3. BİREYLER VE YÖNTEM	26
3.1. Hasta Bireylerde Dahil Edilme ve Dışlanma Kriterleri	26
3.2. Sağlıklı Kontroller	26

3.3. Yöntem	27
3.4. İstatistiksel Analizler	31
4. BULGULAR	32
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	60
7. KAYNAKLAR	62
8. EKLER	70
EK 1. Tez Çalışmasıyla İlgili Etik Kurul İzni	
EK 2. Orjinallik Ekran Görüntüsü	
EK 3. Dijital Makbuz	
9. ÖZGEÇMİŞ	73

SİMGELER ve KISALTMALAR

aTreg'ler	Aktif T regülatuar lenfositleri
ECM	Ekstrasellüler matris
FARSB	Fenilalil-tRNA Sentetaz Alt Birimi Beta
FEV1	Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar hacim
FOXP3	Forkhead box P3
FVC	Zorlu vital kapasite
IAH	İnterstisyel Akciğer Hastalıkları
IFN	İnterferonlar
Ig	İmmünoglobulin
IL	İnterlökin
IL10	İnterlökin 10
IL-17	İnterlökin-17
ILC1	Doğuştan lenfoid hücreler1
ILC2	Doğuştan lenfoid hücreler2
ILC3	Doğuştan lenfoid hücreler3
IPF	İdiyopatik pulmoner fibrozis
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LIP	Lenfositik interstitial pnömoni
LPS	Lipopolisakkarit
LTi	Lenfoid doku indükleyici
MAIT	Mukozaya ilişkili değişken T
NEHİ	Nöroendokrin hücre hiperplazisi
NK	Doğal öldürücü
NKT	Doğal öldürücü T
NSIP	Nonspecific interstitial pneumonia
PDGF	Trombosit derive büyüme faktörü

RPM	Round per minute
SFT	Solunum fonksiyon testleri
SFTPB	Surfaktan protein-B
SFTPC	Surfaktan protein-C
SP	Surfaktan protein
Th	Yardımcı T hücresi
Th17	T yardımcı hücreleri
TNF	Tümör nekroz faktörü
UİP	Usual interstisyel pnömoni
VKI	Vücut kitle indeksi
YÇBT	Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Akciğer fibrozisinin hücresel ve moleküler mekanizmalarının indüksiyonunu gösteren şematik mekanizma	5
2.2. Regülatör T hücrelerinin fonksiyonunun hava yolu inflamasyonundaki potansiyel rolü.	8
2.3. Transforming Growth Factor Beta 1'in IPF'deki rolü.	10
2.4. IPF de IL-17A ve IL-17F sitokinlerinin şematik rolleri	14
2.5. ILC alt grubunun ve rollerinin şematik temsili	16
2.6. Doğal lenfoid hücre gelişimi	17
4.1. İnterstisyel akciğer hastalığı tanısı ile izlenen hastaların başvuru sırasında semptomları	34
4.2. Hasta ve kontrolde Treg yüzdelerinin akım sitometrik gösterimi	36
4.3. Hasta ve kontrol örnek TGF- β ifade eden Treg hücre oranları	37
4.4. Hasta ve kontrol örnek IL-10 ifade eden Treg hücre yüzdesi şeması	38
4.5. Hasta ve kontrol örnek Th17 yüzdesi şeması	38
4.6. ILC kapılama stratejisi	39
4.7. Hasta ve kontrol örnek ILC2 yüzdesi şeması	40
4.8. Hasta gruplarına göre ILC2 düzeyi karşılaştırması	43

TABLÖLAR

Tablo	Sayfa
4.1. chILD tanılı hastaların demografik özellikleri	32
4.2. İnterstisyel akciğer hastaların hastalık alt gruplarına göre sınıflandırılması	33
4.3. İnterstisyel akciğer hastalığı tanısı ile izlenen hastaların başvuru sırasında semptomları	34
4.4. İnterstisyel akciğer hastalığı olan hastaların tanı sırasında solunum sistemi muayene bulguları	35
4.5. İnterstisyel akciğer hastalığı olan çocukların ve kontrol grubunun immünolojik parametre sonuçları	41
4.6. Diğer İAH alt grup ve kontrol hastalarının immünolojik parametre sonuçları	42

1. GİRİŞ

İnterstisyel Akciğer Hastalıkları (İAH), etiyolojisi çoğunlukla saptanamayan, heterojen bir hastalık grubudur. Çocukluk Çağı İnterstisyel Akciğer Hastalıkları (chILD) nadir görülen, heterojen özellikler gösteren kronik solunum yolu hastalığı olup, diffüz akciğer tutulumu göstermektedir. İstirahat ve egzersiz sırasında uzun süren öksürük, takipne veya dispne gibi solunum semptomları ve bulguları, krepitan raller, retraksiyonlar, çomak parmak, büyüme geriliği ve solunum yetmezliği durumlarında bu hastalık grubundan şüphelenilmelidir. Akut veya kronik seyir göstermekte olup; mortalite ve morbiditesi yüksektir. Tanıda görüntüleme teknikleri, bronkoskopi, akciğer biyopsisi ve genetik yaklaşımlar kullanılmaktadır.

Bu çalışmada chILD tanısı olan çocuk yaş grubundaki hastalarda patogeneizde sorumlu olabilecek bazı immünolojik bileşenleri araştırmayı amaçladık.

Bu kapsamda, çocukluk çağı interstisyel akciğer hastalığı tanısı almış veya bu tanı ile takip edilen hastaların periferik kanlarında akım sitometrik yöntemle T regülatuar hücre analizi yapılmış ve IL-10 ve Transforming Growth Factor- β 'nin (TGF- β) ifade düzeyleri bu hücrelerde hücre içi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, doğal lenfoid hücre karakterizasyonu (ILC1, ILC2, ILC3) ve yardımcı T hücre-17 (Th-17) analizi yapılması planlanmıştır.

Bu çalışma ile çocukluk çağı İAH olgularında immünolojik özellikler değerlendirilerek bu hastalık grubundaki durumu saptamak ve immünopatogeneze yönelik verileri araştırarak hastalığın tedavisine yönelik değerlendirilmesine katkı sağlamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnterstisyel Akciğer Hastalıkları

İnterstisyel akciğer hastalıkları (İAH), nadir görülen, genellikle altta yatan nedeni bilinmeyen ve akciğeri yaygın bir şekilde etkileyen bir grup hastalıktır(1). Çocukluk döneminde geniş bir yelpazeye sahiptir ve genellikle kronik seyirli ve akciğerin solunum fonksiyonunu etkileyen heterojen bir solunum bozuklukları grubunu ifade eden genel bir terimdir(2, 3). Hastalık sadece interstisyumu değil, aynı zamanda alveolleri, asinüsleri, küçük hava yollarını, damarları, plevra ve akciğer parankimini de etkileyebilir. Oluşan inflamasyon ve fibrozis, gaz değişimini bozar ve restriktif akciğer hastalığı belirtilerine yol açabilir(3, 4). Nadir görülen hastalıklar olduklarından, pediatrik İAH'larla ilgili bilgiler oldukça kısıtlıdır. Çocuklarda interstisyel ve diffüz akciğer hastalığının (chILD) olarak da adlandırılır ve çocuklarda hastalık genellikle 2 yaşından önce ortaya çıkar. Çocuklarda ve yetişkinlerde bazı İAH'nın nedenleri benzer olabilir ancak çocukların büyüme ve farklılaşma süreçlerinde olmaları nedeniyle patofizyolojinin daha karmaşık olduğuna inanılmaktadır. Hem akut hem de kronik seyirli olabilir ve genellikle yüksek mortalite ve morbidite oranlarına sahiptir(3, 4).

2.2. Epidemiyoloji

Çocukluk çağında interstisyel akciğer hastalıklarını gerçek sıklığı hastalığın oldukça nadir olması ve sınırlı kayıt sistemi kullanılması nedeni ile tam olarak bilinmemektedir. Ancak hastalığın yaygınlığının milyonda 1,3 ila 3,6 arasında olduğu ve insidansının ise 17 yaş altındaki her 100,000 çocuk için yılda 0,13-16,2 vaka tahmin edilmektedir. Hastalık, genellikle erkek çocuklarda kızlara kıyasla daha sık görülmektedir(3, 5).

2.3. Patofizyoloji

İnterstisyel akciğer hastalıkları genellikle interstitiyumu ve aynı zamanda alveolar yapıyı ve küçük hava yollarının etkiledikleri için daha iyi bir tanımlama sunan "diffüz parankimal akciğer hastalıkları" terimi kullanılmaktadır(6). Geniş bir hastalık grubunu kapsayan ve geniş bir yaş aralığına yayılan İAH'larının altta yatan patolojisi

henüz tam olarak aydınlatılamamıştır(4). Altta yatan mekanizmaların karmaşıklığından dolayı İAH'ların gelişimi ve progresyon mekanizmalarının anlaşılması zorlu bir süreçtir. Diffüz parankimal akciğer hastalıkları, kan ve hava arasındaki gaz difüzyonunu etkileyerek, genel olarak distal hava yollarının yapısal değişimine bağlı olarak gaz alışverişinin bozulmasına neden olan ortak bir patofizyolojiye sahiptir(4, 7, 8).

Temelde alveolar epitel hasarı, alveolar yüzey tamir mekanizmalarının bozulmasına neden olmaktadır. Bu durum, distal hava yollarının "remodeling"ine bağlı olarak gaz değişiminin bozulmasına yol açar. Bu süreçlerin hala gelişmekte olan çocuk akciğerlerinde meydana gelmesi, patofizyolojiyi daha karmaşık hale getirmektedir(9, 10).

Patolojik hasarın gelişiminde, epitelyal ve mezenkimal pulmoner elemanlar arasındaki iletişim bozukluğunun önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak, altta yatan patofizyolojik bozukluğun çok daha karmaşık olduğu bilinmektedir. Bu süreç, alveolar epitelyal hücrelerin tekrarlayan yaralanmaları ve alveollerin hasarlanmaya uygun yanıt vermede başarısızlığı ile karakterizedir. Sonuç olarak, bu durum anormal akciğer onarımına ve ilerleyen fibroza yol açabilmektedir (4, 11).

İnterstisyel akciğer hastalıkları, çeşitli inflamatuvar olayları içerebilir ve genellikle enfeksiyonlar, aşırı duyarlılık gibi faktörlerle tetiklenir. Ancak inflamasyonun fibrozis gelişiminde tek başına etkili olmadığı, aksine epitel hasarının ardından bozulmuş yeniden epitelizasyonun önemli bir katkı sağladığı düşünülmektedir. Akciğer inflamasyonu her zaman fibrozis ve remodeling ile sonuçlanmayabilir; hatta fibrozis, inflamasyon olmaksızın da gelişebilir. Alveolar epitel hücreleri, doku hasarını takiben normal bir alveolar restorasyona gidebileceği gibi, epitelyal mezenkimal geçiş (EMT) olarak bilinen bir süreçle fibrozise de ilerleyebilir. Bu karmaşık süreç, bir dizi faktörden etkilenir.(3, 4, 12, 13). Daha önce, remodelingin kalıcı inflamasyondan kaynaklandığı düşünülmekteydi. Ancak son zamanlarda, doku hasarı sonucunda gelişen anormal yara iyileşmesinin, fibrozis gelişimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir(12).

İnterstisyel akciğer hastalıklarının gelişiminde genetik ve epigenetik faktörlerin etkisi önemlidir. Ailevi İAH vakalarında genetik yatkınlığın belirleyici bir risk faktörü olduğu gözlemlenmiştir(10). Ayrıca, DNA metilasyonu, histon

modifikasyonları ve mikroRNA'lar gibi epigenetik düzenlemeler de hastalığın seyrinde rol oynadığı düşünülmektedir(14). Özellikle virüsler ve sigara gibi çevresel faktörlerin ve eşlik eden komorbiditelerin (reflü, apne, kardiovasküler hastalık) İAH gelişiminde etkili olduğu bilinmektedir(4, 15). Sonuç olarak, İAH'ların patofizyopatolojisinde, genetik ve genetik olmayan çoklu faktörün, tekrarlayan epitel hasarına karşı duyarlılığın artmasına neden olabileceği düşünülmektedir(3, 16).

Yapılan çalışmalar, Transforming Growth Factor- β 'nin (TGF- β) fibrozis gelişiminde etkili olduğunu göstermiştir. İntrinsik veya ekstrinsik epitelyal hücre hasarı, sürfaktan işlev bozukluğu, epitelyal apoptozis, doğal bağışıklığın bozulması, doku hasarına verilen yanıtta değişiklik, bozulmuş epitel-mezenkim etkileşimi gibi karmaşık yollar, farklı şekillerde remodelleme gelişimine katkıda bulunmaktadır (4, 13, 17).

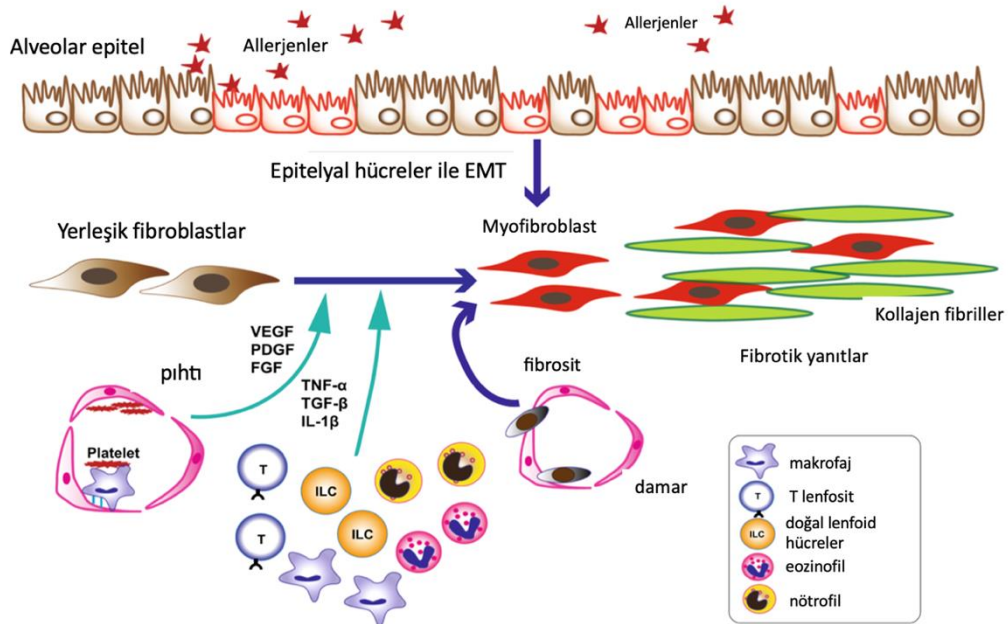
İnterstisyel akciğer hastalıklarının gelişiminde inflamasyon ve immün yanıtın rolü hakkında bilgiler oldukça sınırlıdır(4). Bu hastalıklarda, profibrotik büyüme faktörleri, özellikle de TGF- β 1'in aktivasyonu, miyofibroblast dönüşümüne ve ekstrasellüler matris (ECM) birikimine neden olabilir(18). Ayrıca regülatuar T hücreleri (Treg) lenfositlerin de fibroz oluşumunda çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir(19).Ek olarak İnterlökin-17 (IL-17) salgılayan yardımcı T hücrelerin (Th17) pro-inflamatuar süreçlerde rol oynadığı bilinmektedir. Treg/Th17 dengesi ise immün homeostazi sağlamak için gereklidir ve orantısızlığın idiyopatik pulmoner fibrozis (IPF) ile ilişkili olduğu düşünülmektedir(10). Ancak çocukluk yaş grubunda bu konuda yapılan çalışmalar çok sınırlıdır.(12)

Fare modellerinde yapılan çalışmalar fibrozisin gelişiminde, genellikle telafi edilmemiş bir Th2 tipi bağışıklık yanıtının önemli olduğunu göstermektedir(20). İdiyopatik pulmoner fibrozis hastalarında yapılan araştırmalar, bronkoalveoler lavaj (BAL) ve periferik kan örneklerinde Treg sayısının azaldığını göstermektedir. Treg'lerdeki bu azalmanın hastalık şiddetiyle ilişkilendirilmesi, Treg'lerin fibrozis sürecinde kritik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir(20, 21).Ayrıca TGF- β , TGF- β 1 ve IL-10 gibi Treg kaynaklı sitokinlerde önemli değişiklikler gözlenmektedir. TGF- β 'nin immünomodülatör etkisine rağmen, bu sitokin matriks protein sentezinde artışa ve matriks proteinaz aktivitesinde azalmaya neden olabilir(22). Ayrıca IL-10, insan yara dokusundan elde edilen fibroblastlarda tip I kollajen sentezini azaltarak

doğrudan fibrozisi önleyebilir. Deneysel fare modellerinde yapılan çalışmalar, IL-10'un akciğer fibrozisine karşı koruyucu olduğunu göstermektedir, ancak bu korumanın mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır(22-24).

Son dönem çalışmalar ise, akciğerde doğuştan lenfoid hücreler (ILC'ler) ve geleneksel olmayan T lenfositler (CD1'e sınırlı NKT, MAIT hücreleri ve $\gamma\delta$ -T hücreleri) gibi diğer belirgin bağışıklık hücrelerinin varlığını ve bunların akciğer homeostazına olan katkısını göstermektedir(25).

Şekil 2.1'de Hirahara ve ekibinin yaptığı çalışmaya dayanarak akciğer fibrozisinin hücresel ve moleküler mekanizmalarının indüksiyonunu gösteren şematik bir taslak bulunmaktadır. Myofibroblastların indüksiyonu için üç ana yol tasvir edilmiştir: (1) Akciğer epitelyal hücreler veya endotelyal hücreler, epitelyal/endotelyal mezenkimal geçiş (EMT) yoluyla myofibroblastlara dönüşür. (2) Dokuda yerleşik fibroblastlar myofibroblastlara farklılaşır. (3) Fibrositler myofibroblastlara dönüşür. Aynı zamanda, çeşitli tiplerde bağışıklık hücreleri, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin üretilmesi aracılığıyla fibrozisin patolojisini şekillendirmede katkıda bulunur.



Şekil 2.1. Akciğer fibrozisinin hücresel ve moleküler mekanizmalarının indüksiyonunu gösteren şematik mekanizma (26)

2.3.1. Regülatuar T lenfositler: Hastalık Gelişimindeki Rolü

Regülatuar T hücreleri, T hücrelerinin bir alt popülasyonu olarak, bağışıklık toleransını ve bağışıklık yanıtının homeostazisini sağlayan immün baskılayıcı etkilere sahip özelleşmiş hücrelerdir.(27). Kendi antijenlerine, patojenlere, kansere, mikrobiyotaya ve çeşitli diğer alerjenlere karşı hem doğal hem de adaptif bağışıklık yanıtlarını düzenleyen CD4⁺ lenfositlerin belirgin bir popülasyonu olarak tanımlanabilirler(28, 29). T hücrelerinin baskılayıcı işlevi, 1970'lerde Gershon ve Kondo tarafından ilk kez rapor edilmiştir(30). Daha sonra, timektomi yapılan farelerde IL-2R α (CD25) ifade eden ve otoimmüniteyi baskılayan CD4⁺ T hücre alt grubunu tanımlamıştır. Sonraki çalışmalar, Foxp3 transkripsiyon faktörünün bu hücrelerde önemli bir belirteç olduğunu göstermiştir(28, 30, 31).

Bu hücreler doğal olarak (nTreg'ler, timusta gelişir) veya periferik indüksiyon sonrasında (iTreg'ler, geleneksel T hücrelerinden periferik dolaşımda oluşur) gelişirler. CD4 ve CD25 yüzey biyobelirteçlerinin varlığı ile karakterize edilirler. Dolaşımdaki CD4⁺ lenfositlerin %1-4'ünü oluştururlar ve genellikle hücre plastisitesinin yüksek derecede olduğu, bir dizi transkripsiyon faktörünün karmaşık ağı tarafından düzenlendiği bilinmektedir. Regülatuar T hücreleri rolü hakkında birçok detay hala bilinmemesine rağmen, faaliyetleri genellikle efektör T hücre aktivitesinin modülasyonu yoluyla gerçekleşir, bu da T hücre reseptör sinyalleme sürecinin optimal işlevini sağlar(22, 32).

Hem periferik Treg hücreleri hem de timik Treg hücreleri, immün toleransın düzenlenmesinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Kendinden olan ve olmayan antijenlere karşı periferik toleransın temel araçlarıdır ve immün cevabı baskılamalarıyla kritik bir rol oynarlar. Treg hücreleri, immün yanıtı etkileyerek başka hücre türlerinin aktivitesini işlevsel olarak baskılayan bir T hücresi popülasyonu olarak tanımlanabilir. Regülatuar T hücrelerinin, doğal öldürücü hücreler, makrofajlar, lenfositler, B hücreleri, dendritik hücreler gibi çeşitli immün sistem hücrelerini düzenlediği gösterilmiştir(28, 31, 33).

Çoğu çalışma, Treg'leri tanımlamak için CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ kullanmasına rağmen, son araştırmalar, bu klasik olarak tanımlanan Treg'lerin heterojen olduğunu ve üç farklı fonksiyonel ve fenotipik alt popülasyona ayrılabilirdiğini göstermektedir: CD45RA⁺/CD25⁺⁺ dinlenen Treg'ler (rTreg'ler) ve CD45RA⁻/CD25⁺⁺⁺ aktif

Treg'ler (aTreg'ler), her ikisi de in vitroda baskılayıcıdır; ayrıca pro-enflamatuar sitokinler salgılayan CD45RA⁺/CD25⁺ T hücreleri (Fr III) bulunmaktadır(20).

Regülatör T hücrelerinin ve farklı alt popülasyonlarının akciğer hastalıklarındaki rolü geniş çapta araştırılmıştır. Bu alt popülasyonlardaki dengesizlikler, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım, sarkoidoz, pulmoner fibrozis ve akciğer kanseri gibi farklı akciğer hastalıklarında klinik sonuçlardaki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir(22, 34, 35).

Regülatör T hücreleri bağışıklık toleransı ve homeostazın sağlanmasında önemli rol oynamasına rağmen, IPF patogenezindeki rolü henüz tam olarak belirlenmemiştir. Fibrozis'de TGF- β , TGF- β 1 ve IL-10 gibi Treg kaynaklı sitokinlerde önemli değişiklikler gözlenmektedir.(22) Regülatuar T lenfositleri, hem TGF- β 1'e yanıt veren hem de onu salgılayan hücrelerdir(4). İmmün yanıtın düzenleyici hücreleri olarak kabul edilirler. Literatür verileri, Treg'lerin bağışıklık homeostazını sürdürmeye katkı sağladığını ve çeşitli solunum hastalıklarında rol alabileceğini göstermektedir. Ancak, Treg'lerin akciğer fibrojenезindeki etkileri, pulmoner fibrozisteki rolü konusunda tutarsızlık gösterme eğilimindedir(20).

Bir yandan, Treg'ler inflammatuar ve yardımcı T hücre yanıtlarının inhibisyonu yoluyla dolaylı olarak fibrozis gelişimini azaltabilir(36). Diğer taraftan, immünsüpresif Treg'lerin, profibrotik fonksiyonlara sahip olduğu düşünülen TGF- β 1 ve trombosit derive büyüme faktörü (PDGF)-B'yi salgıladığı düşünülmektedir(37). Ancak çocukluk chILD'da Treg rolünü inceleyen çok az çalışma bulunmaktadır.

Literatürde IPF hastaları üzerinde yapılan araştırmalar, BAL ve periferik kan örneklerinde Treg sayısının azalabildiğini göstermektedir. Bu azalmanın, hastalığın şiddetiyle ilişkilendirilmesi, Treg'lerin fibrozis sürecinde önemli bir rol oynayabileceği fikrini işaret etmektedir.(20, 21) Sonuç olarak, Treg'ler farklı etki mekanizmalarına sahiptir ve farklı T hücre alt gruplarının dengesini sağlamada önemli bir rol oynarlar. Düzenleyici hücre popülasyonundaki herhangi bir biyomoleküler yolun işlev bozukluğu, aşırı aktif bir bağışıklık sistemi oluşmasına yol açabilir. Farelerde ve insanlarda yapılan önde gelen Treg çalışmaları, çeşitli akciğer hastalıklarında ve fibroziste önemli rolleri olabileceğini göstermektedir. Bu dengesizlik, sonuç olarak zararsız antijenlere karşı efektör yanıtların artmasına ve akciğerlerde inflammatuar durumların gelişmesine yol açabilmektedir(22).

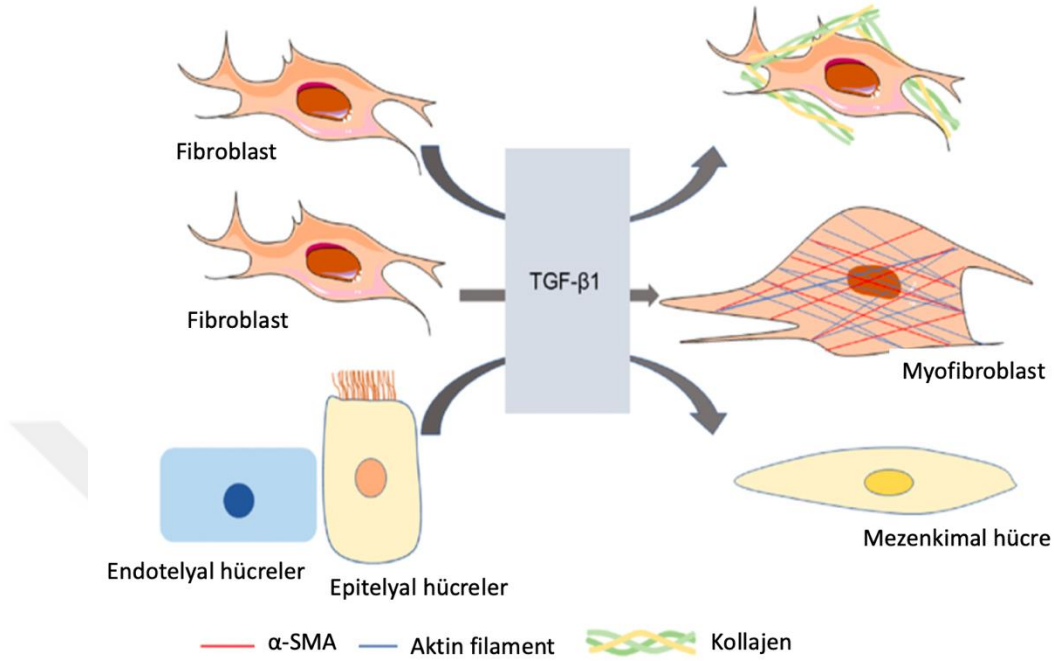
α , PDGF, IL-1 β veya IL-13 gibi bir dizi proinflatuar ve fibrojenik sitokinlerin ekspresyonunu uyarak fibrotik yanıtı neden olabilmektedir(17, 40).

Hem temel araştırmalar hem de klinik araştırmalar, TGF- β 1'in IPF'nin patogenezinde önemli ve karmaşık rol oynadığını göstermektedir. TGF- β 1'in etkisinin üç temel adımda gerçekleştiği düşünölmektedir: epitelyal-mezenkimal geçiş ve endotel-mezenkimal geçiş, miyofibroblast farklılaşması ve fibrojeniz. Bu süreçler, akciğer dokusunun skarlaşmasına ve IPF ile ilişkilendirilen akciğer fonksiyonlarının geri dönüşömsüz bir şekilde bozulmasına katkıda bulunmaktadır(38, 39).

Transforming Growth Factor Beta 1, çeşitli sinyal yolakları aracılığıyla işlev görür, bunlar arasında Smad, MAPK ve ERK yolları bulunmaktadır(36, 39). TGF- β 1, fibroblast aktivasyonunu uyarak, ekstrasellöler matriks proteinlerinin artan üretimine neden olarak akciğer dokusunun kalınlaşıp sertleşmesine yol açar. Ayrıca, TGF- β 1 epitelyal-mezankimal geçişi tetikleyerek, fibrotik sürece daha da katkıda bulunur. TGF- β 1 tarafından yönlendirilen diferansiyasyon yoluyla fibroblastlardan türeyen miyofibroblastlar ortaya çıkar. Özellikle, TGF- β 1, fibrozisi teşvik eden hedef genlerin transkripsiyonunu düzenlemek üzere Smad2 ve Smad3 proteinlerinin fosforilasyonunu etkinleştirir; bu, Smad4 ile birlikte çalışır. Bununla birlikte, Smad7 bu yoldaki inhibe edici bir düzenleyici olarak hareket eder ve fibrotik süreçlere karşı gelmeyi amaçlar. İdiyopatik pulmoner fibrozis patolojisi, bu intrasellöler sinyallerin anormal aktivasyonunu içerir ve bu da miyofibroblast aktivasyonu, artmış kollajen üretimi ve akciğer mimarisinin yeniden şekillenmesine yol açabilmektedir(39, 41).

Transforming Growth Factor Beta 1, otofaji aracılarında azalmaya yol açar ve mitokondrial homeostazı bozar, bu da fibrogenesis sırasında hücrenin hayatta kalması ve farklılaşması üzerinde etkili olur. Birçok intrasellöler sinyal yolunu aktive eder. Klasik Smad sinyalizasyonu ve MAPK ve ERK gibi kanonik olmayan yollar, TGF- β 1 tarafından aktive edilir ve bu da profibrotik genlerin transkripsiyonel düzenlemesine yol açar. Transforming Growth Factor Beta 1, Smad olmayan sinyal yolakları aracılığıyla, hücrenin hayatta kalması, proliferasyonu ve farklılaşması üzerinde etkili olabilir. Bu sitokin ayrıca oksidatif stres ve epigenetik modifikasyon süreçleriyle etkileşir ve fibrotik ilerlemeye katkıda bulunabilir. Transforming Growth Factor Beta 1, idiopatik pulmoner fibrozisi çoğu durumda arttırmasına rağmen, bazı durumlarda

inhibe edici bir rol de oynayabilir. Literatür, TGF- β 1'ün fibrozisdeki rolünün daha iyi anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır(17, 18, 39).



Şekil 2.3. Transforming Growth Factor Beta 1'in IPF'deki rolü.

Fibroblastların myofibroblasta, epitelyal hücrelerin de mezankimal hücrelere dönüşümünü teşvik eder ve kollajen, filamentöz aktin ve α -SMA üretimini artırır (39).

Pulmoner fibrozisli hastalarda, akciğer dokusunda, BAL veya kanda interlökin seviyelerinde çeşitli değişiklikler gözlemlenebilmektedir. İdiyopatik pulmoner fibrozis hastalarında, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında BAL sıvısında IL-1 β ve IL-17A, serumda ise IL-2, IL-10 ve IL-12 seviyeleri daha yüksek olabilmektedir. İnterlökin seviyeleri sadece fibrozisli ve fibrozisli olmayan bireyler arasında değil, aynı zamanda farklı fibrozis evreleri arasında da değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca, interleukin seviyeleri hastalığın şiddetini değerlendirmede ve prognozu belirlemede kullanılabilir(42, 43).

In vivo ve *in vitro* araştırmalar, interleukin seviyelerindeki değişikliklerin pulmoner fibrozisin oluşumunu ve gelişimini etkileyerek inflamasyonu, immün yanıtı, otofaji, yaşlanma, EMT gibi süreçleri düzenlediğini göstermektedir. İnterlökinlerin ana hedef hücreleri genellikle fibroblastlar, makrofajlar ve epitel hücreleridir(42). IL-

10, bleomisinle indüklenen akciğer fibrozisi olan farelerde anti-inflamatuar ve anti-fibrotik bir sitokin olarak işlev görür. IL-10, IFN- γ 'nın azalmasını ve TGF- β 1'in artmasını engelleyerek, inflamasyonu ve akciğer fibrozisinin gelişimini azaltır(42, 44). Diğer yandan IL-17A, bleomisinle indüklenen akciğer hasarında otofaji ve otofaji ile ilişkili hücre ölümünü engelleyerek fibrozisi teşvik eden bir pro-inflamatuar sitokin olarak rol oynar. İntravenöz anti-IL-17A nötralize edici antikor, bleomisinle zarar görmüş farelerde hayatta kalma süresini artırır(42, 45).

2.3.3 Interlökin 10: Hastalık Gelişiminde Rolü

İnterlökin-10 (IL-10), güçlü anti-inflamatuar özelliklere sahip bir sitokindir. Temel olarak makrofajlar, monositler, T hücreleri, B hücreleri ve keratinositler gibi immün hücreler tarafından üretilir. Bu sitokinlerin, makrofajlar ve Treg hücreleri gibi hücreler tarafından üretilen IFN, IL-2, IL3, TNF-, ve GM-CSF gibi pro-inflamatuar sitokinlerin üretimini inhibe etme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Ayrıca, IL-10 antijen sunan hücrelerin antijen sunum yeteneğini engelleme konusunda güçlü bir rol oynamaktadır.(46, 47).

İnterlökin-10, inflamasyonu kontrol etmede kritik bir rol oynar ve bağışıklık sistemi patojenlere yanıt verirken konakta zararın önlenmesine yardımcı olur. Düzenleyici etkileri, bağışıklık sisteminde dengeyi korumak ve aşırı inflamatuvar tepkilere yol açabilecek otoimmün bozuklukları veya kronik inflamatuvar hastalıkları önlemek için hayati öneme sahiptir. Bu düzenleyici rolü nedeniyle, IL-10, otoimmün hastalıklar, alerjiler ve fibroz gibi çeşitli durumlarda terapötik müdahaleler için ilgi çeken olmuştur(46, 47).

Sağlıklı akciğerlerde, alveolar makrofajlar IL-10'un ana kaynağıdır. Bu sitokin, homeostatik koşullarda sürekli olarak salgılanırken, hastalık durumlarında, özellikle lipopolisakkarit (LPS) veya TNF gibi uyarıcılarla uyarıldığında artar. T hücreleri ise inflamasyon durumunda IL-10 için ikincil ancak kritik bir kaynak oluştururlar. Yapılan çalışmalar, IL-10'un astım ve akut solunum sıkıntısı sendromu gibi akut iltihabi durumlarda yararlı bir rol oynadığını göstermiştir. Ancak, patolojik fibrozis ile karakterize olan hastalıklardaki rolü hala belirsizliğini korumaktadır(47-49).

Hem pro- hem de anti-enflamatuar bir sitokin olan TGF- β , akciğer fibrozisinde IL-10 ile birlikte önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir(50). IL-10 gibi, alveolar

makrofajlar tarafından da üretilir ve fibroblastik odaklarda görülen fibroblast proliferasyonunu, miyofibroblastlara diferansiyasyonu ve sonraki kollajen üretimini indüklediği gösterilmiştir(51). TGF- β , EMT'nin kritik bir indükleyicisi olarak bilinir ve bu süreçte endotelyal-mezenkimal geçişte (EMT) epitel veya endotelyal hücrelerin inflamatuvar süreç altında profibrotik bir mezenkimal fenotip kazanmasını sağlar(52). Aktive edilmiş akciğer fibroblastları daha sonra alveolar hücre apoptozunu indükleyebilir ve anormal aktivasyonun döngüsünü sürdürebilir. Genel olarak, literatür IL-10 ve TGF- β arasında simbiyotik veya karşılıklı bağımlı bir ilişki gösterdiğini ve T hücrelerinde birbirlerinin üretimini indükleyip modüle etme özelliğini vurgulamaktadır(47).

İnterlökin-10, akciğer fibrozisi ve diğer organlardaki fibrozis durumlarında karmaşık bir role sahiptir. Bu rol, hedef organın, hastalık tipinin ve evresinin yanı sıra üreten hücre tipine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Farklı senaryolarda, IL-10 hem fibrozisi artırabilir hem de inflamasyonu azaltarak fibrozisin ilerlemesini önleyebilir(47).

Bu karmaşık ve çift yönlü etki nedeniyle, IL-10'un akciğer özgü hastalık durumundaki rolünün ve akciğer dokusundaki diğer hücre tipleri ve sitokinlerle nasıl etkileşime girdiğinin anlaşılması, gelecekte geliştirilebilecek hedefe yönelik tedavilerin kullanımının belirlenmesi açısından oldukça önemlidir(47).

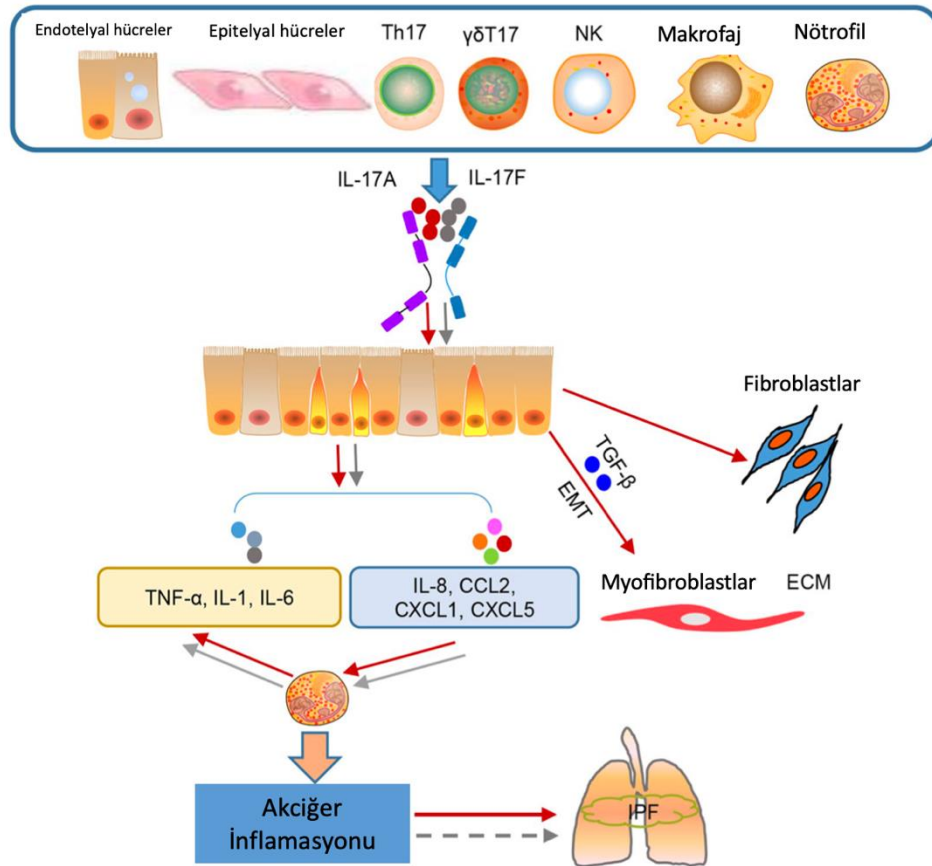
2.3.4. Yardımcı T 17 (T helper 17; Th17) Hücreleri: Hastalık Gelişimindeki Rolü

Yardımcı T 17 (Th17) hücreleri, IL-17, IL-21, IL-22 ve diğer inflamatuvar sitokinlerin üretimi ile karakterizedir ve CD4+ yardımcı T hücreleri sınıfındadır. Bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynarlar, özellikle hücre dışı patojenlere karşı inflamasyon ve savunmada kritik bir rol almaktadır. Farklılaşması ise, IL-6, TGF- β , IL-1 β , IL-21 ve IL-23 gibi çeşitli sitokinlerin varlığına bağlıdır(53).

Yardımcı T 17 hücrelerinin dengesizliği, interstisyel akciğer hastalıklarının da bulunduğu çeşitli otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Ancak çocuk hastalarda yapılan çalışmalar astım dahil çok sınırlıdır. Mukozal ve doğal bağışıklık hücrelerini birçok inflamatuvar sitokin ve kemokin üretmeye teşvik eder ve bölgesel olarak daha fazla mast hücresi, eozinofil ve bazofil çeker. Fare modellerinde,

Th17 alt popülasyonunun ve yakından ilişkili IL-17A ve IL-17F sitokinlerinin mukus üretimi, hava yolu düz kas hiperreaktivitesi ve kortikosteroidlere dirençli inflamasyonun indüksiyonunda rol aldığına dair çalışmalar bulunmaktadır(54). Ayrıca Th17 hücrelerinin diferansiyasyonunda rol alan birçok sitokin (TGF- β , IL-1 β , IL-6 ve IL-23), özellikle TGF- β , akciğer fibrozis sürecinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir(55).

Rolla ve arkadaşlarının çalışmasında, skleroderma hastalarında Th17 ile ilişkili sitokinler (IL-1- β , IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, TGF- β) soluk ve serumda değerlendirilmiş ve yaygın skleroderma tipinde IL-17 düzeyinin serumda normal seviyelerdeyken solukta anlamlı şekilde yüksek bulunduğu gözlemlenmiştir(56). Literatürde fare modelinde yaptığı çalışmalar, inflamasyonun gelişiminde fibroza neden olan IL-17A'nın gerekliliğini göstermiştir. Bu da IL-17A'nın IPF ve diğer fibrotik hastalıkların tedavisinde hedeflenmesinin potansiyel yararını öne sürmektedir(57, 58).



Şekil 2.4. IPF de IL-17A ve IL-17F sitokinlerinin şematik rolleri(59)

2.3.5. Doğal Lenfoid Hücreler (innate lenfoid hücre,ILC): Hastalık Gelişiminde Rolü

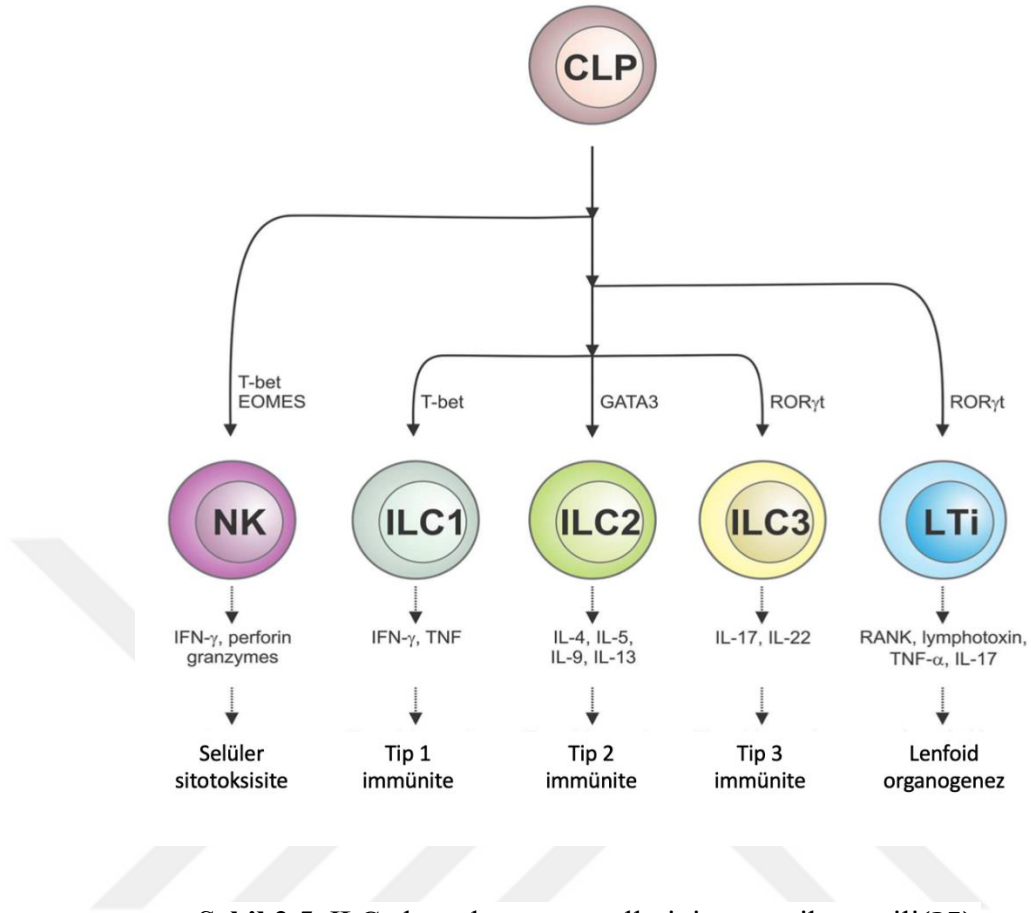
Doğal lenfoid hücreler (ILC), 2013 yılında tanımlanmış ve son yıllarda giderek artan ilgi gören, T hücrelerinin doğal immün sisteme ait olan fonksiyonel analogları olarak kabul edilmektedir. Doğal lenfoid hücreler, gelişim ve fonksiyonları açısından yardımcı T hücrelerine benzerlik gösterirler ve kendilerini düzenleyen transkripsiyon faktörleri ve ürettikleri sitokinlere göre sınıflandırılırlar (60, 61).

Doğal lenfoid hücreler genellikle dokuda yerleşiktir ve özellikle solunum, sindirim ve üreme yolları gibi mukozal bölgelerde bulunurlar. Bu bölgelerde, patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak hareket ederler, doğal bağışıklık sistemine hızlı bir yanıt verilmesine yardımcı olur ve doku onarımı ile homeostazda rol oynarlar. Doğal lenfoid hücreler gelişim ve fonksiyonlar açısından yardımcı T hücrelerine benzerlik gösterirler, ancak konvansiyonel antijen reseptörlerine sahip değildir. Doğal lenfoid hücreler ailesi beş ana alt kümeden oluşur: Grup 1 ILC hücreleri (ILC1), grup 2 ILC hücreleri (ILC2) ve grup 3 ILC hücreleri (ILC3), sitotoksik NK hücreleri ve lenfoid doku indükleyici hücreler (LTi hücreleri) olarak sınıflandırılırlar(62, 63). Virüs enfekte hücreleri ve tümör hücrelerini öldüren ve işlevleri için T-bet transkripsiyon faktörüne ihtiyaç duyan, geleneksel doğal öldürücü (NK) hücreler artık ayrı bir ILC alt grubu olarak kabul edilmektedir. İkinci bir alt grup, lenfoid doku indükleyici (LTi) hücreleri, ikincil lenfoid organogenezden sorumludur, geriye kalan üç ILC alt grubu (ILC1, ILC2, ILC3) ise yardımcı T hücrelerine benzer bir rol oynamaktadır (25).

ILC'ler üç ana gruba sınıflandırılır: grup 1 (ILC1 ve NK hücreleri), grup 2 (ILC2) ve grup 3 (ILC3 ve LTi hücreleri), sırasıyla Th1'e (NK hücreleri CD8+ sitotoksik T hücrelerine karşılık gelir), Th2 ve Th17 hücrelerine karşılık gelir (64).Geleneksel antijen reseptörlerine sahip değildir; bunun yerine, spesifik olmayan tehlike sinyallerini, mikrobiyal bileşikler ve sitokinleri tanırlar. Bununla birlikte, immünolojik bellek geliştirebilirler(65, 66). ILC'ler, geleneksel polarize T yardımcı hücre alt tipleri (Th1, Th2, Th17) ile transkripsiyonel ve işlevsel paralellikler gösterir; ancak önemli farkı, ILC'lerin klonal olarak dağılmış antijen özgül reseptörlere

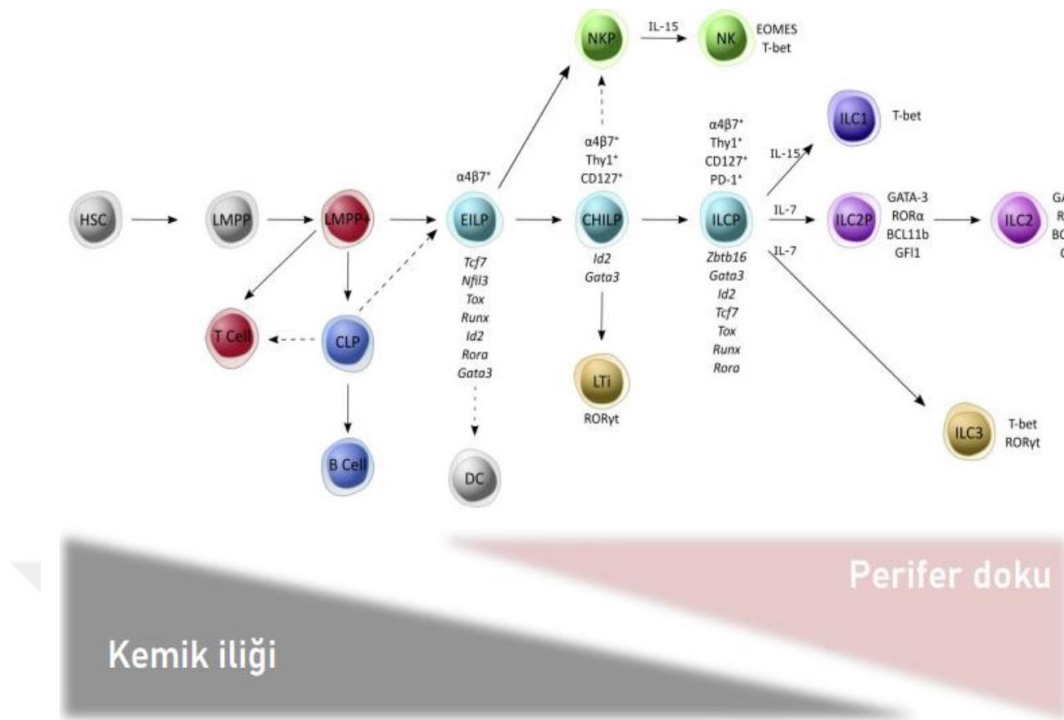
sahip olmamasıdır. Bunun yerine, ILC'ler, mukozal epitel, stroma ve miyeloid kökenli hücrelerden türeyen tehlike ve stres sinyallerine yanıt verirler. Buna karşılık, $\gamma\delta$ -T hücreleri, doğal öldürücü T (NKT) hücreleri ve mukozaya ilişkili değişken T (MAIT) hücreleri yarı değişken antijen özgül reseptörlere sahiptir ancak benzer araçlara yanıt verirler.(25).

Doğal lenfoid hücreler ortak lenfoid progenitörden türemekte ve temel olarak fetal karaciğerde veya doğumdan sonra kemik iliğinde gelişmektedirler. Doğal lenfoid hücreleri, belirli hücre yüzey antijenlerine sahip değildir, bu nedenle genellikle soy bağımlı negatif (Lineage negatif, Lin-) olarak adlandırılırlar. Bu özellik, ILC'leri tanımlamak için akım sitometrisi gibi yöntemlerde kullanılır(67, 68). ILC1, ILC2 ve ILC3 de Id2+ ortak yardımcı-benzeri doğal lenfoid öncü hücrelerden gelişir. Dokuda yerleşik ILC'ler kemik iliğinden veya lenfoid organ öncüllerinden yenilenebilirler, ancak genellikle doku sistemlerinde yerel olarak kendi kendilerini yenileyerek ve genişleyerek korunurlar(61). Doğal lenfoid hücreler alt gruplarının gelişimi için IL-2, IL-15 ve IL-7 gibi sitokinlere ihtiyaçları vardır. Bu nedenle, ILC öncülleri CD127 yüzey proteinini ifade ederler. Eğer bu sitokinler dokularda yetersiz ise, ILC hücrelerinin sayısı azalabilir(69).



Şekil 2.5. ILC alt grubunun ve rollerinin şematik temsili(25).

Doğal lenfoid hücreler ve T hücreleri örtüşen işlevlere sahipken, ILC'ler adaptif bağışıklık yanıtlarının hazırlanmasında ek roller üstlenirler. T hücre benzerleri gibi ILC'ler de kronik inflamasyon, otoimmünite ve kanserle ilişkilidir(70, 71). ILC1'lerin akciğere nasıl ulaştığına dair çok az bilgi mevcuttur, ancak ILC2'ler ve ILC3'ler doğumdan hemen sonra akciğerde ortaya çıkarlar, ILC2'lerin IL-33 üreten tip II alveolar epitel hücreleri tarafından ve ILC3'lerin alveolar fibroblastlar tarafından üretilen insülin benzeri büyüme faktörüne bağımlı olduğu gözlenmiştir. ILC'ler oldukça plastik olup, çevresel sinyallere bağlı olarak fenotip ve fonksiyonlarını değiştirebilirler ve tanımlanmaları karmaşık hale gelebilir(25, 68).



Şekil 2.6. Doğal lenfoid hücre gelişimi(72)

İnnate lenfoid hücrelerin alerjik hastalıklarla ilişkisi son yıllarda giderek daha fazla vurgulanmaya başlamıştır(73). Son çalışmalar, KOAH hastalarının periferik kanında artmış ILC1 sıklığının hastalık şiddeti ile ilişkili olduğunu ve artmış alevlenme riski ile ilişkilendirildiğini öne sürmektedir(68). Ayrıca, ağır KOAH hastalarının akciğerlerinde hem ILC1'lerin hem de ILC3'lerin arttığı bildirilmiştir(74). KOAH modelindeki farelerde, Sigara dumanının pulmoner ILC1'leri indüklediği gösterilmiştir.(75) ILC1'ler, Th1 ve CD8+ T hücreleri ile, KOAH patogenezinde rol oynayan IFN-gamma üretimine katkıda bulunurlar. Bu süreçte, alveolar makrofajlar elastolitik proteazların ve nitrik oksit üretiminin artışına yol açarlar, böylece KOAH'ın gelişimine katkı sağlarlar (68).

ILC2'ler, sigara dumanı kaynaklı KOAH modelinde nötrofil rekrutasyonunu gerçekleştirmiş ve eksiklikleri amfizemden korunmayı sağlamış, ancak IL-13 ve IL-33 seviyelerinin artması yoluyla fibrozu teşvik etmiştir. Ayrıca, ILC2'lerin, akut KOAH alevlenmeleri sırasında Th2 adaptif yanıtlarını desteklemede rol oynadığı gösterilmiştir (68).

Henüz astımdaki ILC1'lerin rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, ILC1'lerin nötrofilik astımla ilişkili olabileceği düşünülmektedir(68). Alerjik astımda, genellikle tip 2 enflamasyonla ilişkilendirilen, ILC2'lerin periferik kanında sağlıklı bireyler veya alerjik riniti olanlarla karşılaştırıldığında artışlar görülmektedir. Ayrıca, şiddetli astımlı hastalarda, akciğerde ILC2'lerin, eozinofili ile birlikte arttığı raporlanmıştır(68, 76-78). ILC1 benzeri özelliklere sahip ve IFN-gamma üretme kapasitesine sahip CCR10+ ILC2'lerin bir alt kümesi, alerjik ve alerjik olmayan şiddetli astımlı hastalarda Th2 sitokin salınımını sınırlayarak ve tip 2 yanıtları bastırarak koruyucu rol oynayabilmektedir (68, 79).

ILC2 kaynaklı IL-13 ise dendritik hücre göçünü uyararak Th2 hücre indüksiyonunu uyarabilmektedir(80). ILC2'lerin IL-4 üretimi, gıda alerjisi yanıtlarında Treg indüksiyonunu engileyebilmektedir(81). Sigara dumanına maruz kalan farelerin ILC3 ve ILC1 sayısında artış, ILC2 sayılarında azalma raporlanmıştır(82). ILC3'ler, IL-17 ve IL-22'nin erken üreticileri olup, KOAH patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir. IL-17, KOAH hastalarının periferik kanında yüksek bulunmuştur. Ayrıca, KOAH alevlenmelerinin IL-17 ve nötrofilik infiltrasyon ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir(20). Dinlenme halindeki CD45RA+ ILC2'lerin inflamatuvar CD45RO+ ILC2'lere dönüşümünün kortikosteroidler tarafından baskılandığı; ancak bir kez dönüşüm olduktan sonra ILC2'lerin steroide dirençli hale geldiği gösterilmiştir(83).

İnnate lenfoid hücrelerin ve akciğer fibrozisi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. İdiyopatik pulmoner fibrozis ile ilişkilendirilen pulmoner fibrozda, tip 2 yanıtların rol alabileceği belirtilmektedir. Dolayısıyla, ILC2 hücrelerinin önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (25, 84). Nakatsuka ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, periferik kanda ILC2'lerin ILC2s $>1500 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ olan hastaların, daha düşük sayılara sahip olan hastalardan daha kötü bir prognoza sahip olduğu gösterilmiştir(85). ILC2'leri indükleyen IL-33 ve TSLP sitokinlerinin seviyeleri, IPF hastalarının BAL sıvısında normal kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur(86). Ayrıca, IPF hastalarının BAL sıvısında IL-25 seviyelerinin arttığı ve buna bağlı olarak ILC2 hücrelerinin sayısının sağlıklı bireylere göre bir artış olduğu gösterilmiştir(87).

Doğal lenfoid hücrelerin kronik solunum yolu hastalıklarındaki rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Literatürde, kronik solunum yolu hastalıklarında bu hücrelerin işbirlikçi olabileceğine dair bulgular bulunmaktadır. Bu nedenle geleneksel tedavilerin etkisiz olduğu durumlarda, bu hücrelerin potansiyel olarak önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir(20).

2.3.6. Vimentin

Vimentin, tip III ara filament ailesinden olan ve özellikle mezenkimal kökenli hücrelerde yoğun olarak bulunan bir sitoskeletal proteindir. Bu proteinin ekspresyonu fibroblastlar, endotel hücreleri, makrofajlar, nötrofiller, lökositler, trofoblastik hücreler, renal tübüler hücreler, renal stromal hücreler ve mezenkimal hücrelerde gerçekleşir. Bu özelliği sayesinde vimentin, çeşitli biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır(88, 89).

Vimentin, hücreye esneklik kazandırarak organel yerleşimini sağlar ve kolesterol taşınmasında rol alır. Ayrıca, vimentin ile mikrotübüller arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır(88).

Vimentin, ekstraselüler matriks sentezi ve kollajen üretimi gibi süreçlere katkıda bulunan fibroblastların invazif davranışlarını destekleyerek akciğer yapısının yeniden şekillenmesine katkı sağlar. Ayrıca, yüksek düzeyde vimentin ifadesi ve organizasyonu, fibroblastların artan invazivliklerini teşvik ederek IPF gibi hastalıklarda aşırı skarlaşmaya katkıda bulunabilir. Bu nedenle vimentin, epitel-mezenkimal geçişin önemli bir belirleyicisidir. Otofaji gibi hücresel süreçlerle de ilişkilendirilen vimentin, fibrotik yaralanmaların gelişimine katkıda bulunabilir(89, 90).

Sonuç olarak, vimentin, hücreler arası iletişimi ve akciğerin yapısal bütünlüğünü koruma açısından önemli bir role sahiptir. Özellikle fibroblastların invaziv özelliklerini düzenleyerek ve skarlaşma süreçlerini etkileyerek akciğer hastalıklarının patogeneğinde önemli bir faktördür(89, 90).

2.3.7. Periplakin

Periplakin, desmozomların yapısal bileşenlerinden biridir ve güçlü hücre-hücre yapışmasını sağlamaktadır. Ayrıca, ara filament iskeletini desmozomal plağa

bağlayarak epitelial hücre katmanlarının bütünlüğünü korumaktadır. Bu, akciğer dahil olmak üzere doku katmanlarının sağlamlığını sağlar ve özellikle mekanik kuvvetlere maruz kalan dokularda önemli olmaktadır(91, 92).

Son araştırmalar, periplakinin akciğerin yanıtını ve remodelleme sürecini düzenleyen önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir. Özellikle IPF'de, periplakin akciğerde alveolar epitel bütünlüğünü korumada rol oynayabildiği belirtilmektedir. Fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, periplakin eksikliğinin anti-enflamatuar bir alveolar ortam oluşturduğunu ve akciğer fibrozunun azaldığını göstermektedir. Çalışmalar periplakinin enflamasyon, fibroz ve hücrel sinyallemeyle etkileyen düzenleyici rolleri olduğunu işaret etmektedir. Ayrıca araştırmalar, periplakin eksikliğinin fibrozis ve inflamasyonun azalmasına yardımcı olabileceğine işaret etmektedir(91, 92).

2.4. Sınıflandırma

2004 yılında ERS, çocuklarda kronik interstisyel akciğer hastalıklarıyla ilgili bir rapor yayınladı ve bu rapor, yetişkinlerdeki sınıflandırma sistemine benzer bir sınıflandırma sundu. Ardından, 2007'de patologlar ve klinisyenler, 2 yaş altı çocuklar için akciğer dokusunun histolojisine dayalı bir sınıflandırma önerdi ve bu sistem tüm pediatrik yaş gruplarına genişletildi(93). Çocukluk dönemi İAH, "chILD" olarak da adlandırılır ve birçok farklı şekilde sınıflandırılır(94). chILD ile ilişkilendirilebilecek 50'den fazla durum bulunmaktadır(93). Pediatrik İAH'nın bazı formları özellikle bebekler ve 2 yaşından küçük çocuklarda görülürken, bu durum erişkin hasta grubunda kullanılan terminolojiyle yeterince ifade edilememektedir. Belirlenen ana gruplar şunlardır: birincil parankimal bozukluğa bağlı İAH, bebeklik dönemine özgü İAH, sistemik hastalık süreçlerine bağlı İAH, maruziyet veya çevresel zararlılara bağlı İAH. İAH'nın çocuklarda ve özellikle bebeklerde sınıflandırılmasıyla ilgili bu çalışmalar, hastalıkların klinik ve histopatolojik özelliklerine ve yaşa göre farklılık gösteren sunumlarına odaklanmıştır. Bu çaba, hastalığın doğru tanımlanması ve tedavi edilmesi için önemlidir(93, 94). Ancak, yapılan sınıflamalardan hiçbirisi çocuklarda pulmoner fibrozisin belirgin olduğu bir sınıflama tanımlamamıştır. Yetişkin pulmoner fibrozisli hastalarda olduğu gibi çocuklarda pulmoner fibrozise yönelik bir tanı kriteri önerilmemiştir(12).

Çocuklarda İAH'larının sınıflandırılması:(1, 95, 96)

0-2 yaş arası sık görülen İAH'ların sınıflandırılması:

- Yaygın gelişimsel bozukluklar
 - Asiner displazi
 - Konjenital alveolar displazi
 - Pulmoner vasküler yapıların hatalı yerleşiminin eşlik ettiği alveolar kapiller displazi
- Alveolar gelişme anomalileri
 - Pulmoner hipoplazi
 - Yenidoğan kronik akciğer hastalığı
 - Kromozomal bozukluklar ile ilişkili durumlar (trizomi 21, vb)
 - Konjenital kalp hastalığı ile ilişkili durumlar
- Etiyolojisi bilinmeyen özel durumlar
 - Bebeklik döneminin nöroendokrin hücre hiperplazisi
 - Pulmoner interstisyel glikojenozis
- Sürfaktan metabolizma bozuklukları
 - SP-B, SP-C, ABCA3, NKX2.1/TTF1 mutasyonları; genetik olarak gösterilememiş sürfaktan bozukluğu ile uyumlu histolojik bulgular

Tüm yaş gruplarında görülebilen İAH'larının sınıflandırılması:

- Sistemik bozukluklar ile ilişkili hastalıklar
 - Kollajen vasküler hastalıklar (sistemik lupus eritematozus, sistemik sklerozis, polimiyozit /dermatomiyozit)
 - Depo hastalıkları
 - Sarkoidozis
 - Langerhans hücreli histiyositozis
 - Malign infiltrasyon
- İmmünkompetan kişilerde görülebilen durumlar
 - İnfeksiyöz/postinfeksiyöz durumlar
 - Çevresel ajanlar (hipersensitivite pnömonisi, toksik inhalasyon)

- Aspirasyon sendromları
 - Eozinofilik pnömoni
- İmmünkompromize kişilerde görülen durumlar
 - Fırsatçı enfeksiyonlar
 - İyatrojenik
 - Transplantasyon ile ilişkili durumlar
 - Diffüz alveolar hasar (nedeni bilinmeyen)
- İAH'nı maskeleyen hastalıklar
 - Arteriyel hipertansif vaskülopati
 - Kardiyak disfonksiyon ile ilişkili konjestif değişiklikler
 - Lenfo-oklüziv hastalıklar
 - Lenfatik hastalıklar

Histolojik özelliklerine göre İAH sınıflandırılması

- Pulmoner alveoler proteinozis
- Hücrel interstisyel pnömoni
- Bebeklik döneminin kronik pnömonisi
- Diffüz alveolar hasar/ akut interstisyel pnömoni
- Lenfositik interstisyel pnömoni (LIP), folliküler bronşiolit ve ilişkili durumlar
- Nonspesifik interstisyel pnömoni
- Organize pnömoni
- Usual interstisyel pnömoni

2.5. Klinik Bulgular ve Tanı

Çocukluk dönemi interstisyel akciğer hastalığının klinik belirtileri oldukça çeşitlidir. Bulgular, genellikle hastalığa özgü olmayıp, daha sık görülen diğer nedenlerin dışlanmasıyla teşhis edilebilir. Ayrıntılı bir öykü alınması, altta yatan hastalığın doğru bir şekilde belirlenmesi için hayati önem taşır. Benzer aile öyküsü veya çevresel maruziyet, genetik veya ailesel faktörlerin varlığını düşündürebilir. Ayrıca, sık enfeksiyonlar veya immün yetmezlik belirtileri, hastalığın olası bir göstergesi olabilir(3, 4, 97).

Normal doğum öyküsü olan çocuklarda persistan takipne, retraksiyon, ral, hipoksi ve kronik öksürük gibi belirtiler, interstisyel akciğer hastalığını akla getirmelidir. Benzer şekilde, prematürite veya diğer komorbiditelerle ilişkilendirilen kronik akciğer hastalığı bulguları, bu hastalığın varlığını düşündürebilir(4, 98, 99).

Klinik bulgular oldukça çeşitli olup, asemptomatik durumdan takipne, dispne, kuru öksürük, egzersiz intoleransı, retraksiyon ve tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonlarına kadar değişebilir. Hastalar, yenidoğan döneminde ağır solunum yetmezliği ile başvurabilirken, erişkin dönemdeki belirtiler daha gizli olabilir. Takipne hastalarda en sık rastlanan belirtilerden biridir. Öksürük genellikle kuru olup, hastaların çoğunda gözlemlenebilir. Diğer belirtiler arasında büyüme geriliği, kilo kaybı, beslenme intoleransı ve hipoksi yer alabilir. Fizik muayenede en sık ral, takipne ve retraksiyon belirtileri saptanabilirken, bazı hastalar sadece hışıltı veya normal solunum sesleriyle karşımıza çıkabilir. Anemi ve hemoptizi gibi belirtiler, pulmoner vasküler hastalık veya pulmoner hemosiderozis gibi durumların varlığını düşündürebilir. Büyüme geriliği, solunum sistemi dışındaki en belirgin belirtidir(2, 4, 97, 99).

Nedeni açıklanamayan kronik solunum bulguları ve diffüz pulmoner infiltrasyonu olan çocuklar; sık görülen hastalıklar dışlandıktan sonra (ilk adım olarak, kistik fibroz, konjenital kalp hastalıkları, primer silyer diskinezi, immün yetmezlikler, enfeksiyonlar ve tekrarlayan aspirasyon gibi), aşağıdaki 4 kriterden en az 3'ünü varlığında chILD varlığında şüphelenilebilir.

1. Hipoksemi
2. Respiratuvar semptomları (öksürük, hızlı nefes alma ya da egzersiz intoleransı)

3. Fizik muayene bulguları (istirahat halinde takipne, anormal solunum sesleri, retraksiyon, çomak parmak, büyüme geriliği ya da solunum yetmezliği)
4. Akciğer görüntülemesinde anormal akciğer bulguları(1, 93, 96)

Yenidoğan döneminde açıklanamayan solunum yetmezliği hikayesi varsa, sürfaktan metabolizma bozuklukları ve bebeklik döneminde daha sık görülen diğer chILD türleri akılda tutulmalıdır. Ailede kronik akciğer hastalığı öyküsü bulunması, hastalığın genetik formalarının varlığını düşündürmelidir.

Otoimmün hastalık, bağ dokusu hastalıkları veya immün yetmezlik geçmişi olan hastalarda, chILD altta yatan sistemik bir hastalığın ikincil olarak gelişme olasılığı mevcuttur(1, 3, 100).

İnterstisyel akciğer hastalığı şüphesi olan hastalarda genellikle öncelikle düz grafiler çekilir, ancak bu genellikle sınırlı bilgi sağlar. Bu nedenle, akciğer hasarını daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirmek için genellikle Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi (YRCT) tercih edilir. Ancak YRCT, belirli tipler dışında chILD'leri ayırt etme konusunda gerçekten çok düşük duyarlılık ve özgünlüğe sahiptir. Tanıda yardımcı olabilecek diğer testler arasında akciğer grafileri, solunum fonksiyon testleri (SFT), bronkoalveoler lavaj (BAL), ekokardiyografi ve sintigrafi, gibi yöntemler de yer almaktadır.

Genetik tanı yöntemleri, zaman içinde giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Diğer yöntemler ve genetik tanının yetersiz kaldığı durumlarda, akciğer biyopsisi tanı için kullanılmaktadır (1, 3, 97).

2.6. Tedavi ve İzlem

Çocuklarda interstisyel akciğer hastalıkları nadir görülür, heterojen yapıdadır ve altta yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamadığından tedavisi zor ve sınırlıdır. Genellikle ana tedavi destekleyici önlemlerdir ve hastaların uzmanlar tarafından tedavi edilmesi önerilir. Bu önlemler arasında yeterli enerji alımıyla beslenmenin sağlanması, sigara dumanı gibi çevresel tetikleyicilerden uzak durulması, uygun aşılama, enfeksiyonların etkin bir şekilde tedavisi ve hipoksi durumunda oksijen desteği bulunur. Tedavi genellikle hastaya özgü olarak belirlenmektedir(1, 4).

Farmakolojik tedavi, genellikle inflamasyon gelişimini baskılayarak ve fibrozis oluşumunu engellemeye yönelik olarak anti-inflamatuvar ve immünsüpresif

molekülleri içerir. Sistemik steroidler ve hidroksiklorokin, hala en çok tercih edilen tedavi seçenekleridir. Hastalığın ciddiyetine göre pulsatil metilprednizolon ile tedavi edilebilir. Bu genellikle aylık aralıklarla 3 gün boyunca 10-30 mg/kg/gün dozunda verilir. Dozaj ve tedavi süreleri, hastalığın şiddeti ve tedaviye yanıt durumuna göre belirlenir. Steroidler ve hidroksiklorokin etkisiz olduğunda, azatiyoprin, siklofosfamid, siklosporin veya metotreksat gibi diğer immünsüpresif veya sitotoksik ajanlar kullanılabilir. Son dönem akciğer hastalığı olan çocuklarda akciğer transplantasyonu da bir seçenek olarak değerlendirilebilir.



3. BİREYLER VE YÖNTEM

3.1. Hasta Bireylerde Dahil Edilme ve Dışlanma Kriterleri

Bu çalışmada, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları Ünitesi'nde Ekim 2021 ile Haziran 2023 arasında chILD tanı kriterlerini karşılayan ve tanı anında veya takipte olan 20 hasta dahil edildi. Hastalar tanımlanmış immün yetmezliği olmayan çocuklar arasından seçildi. Son 1 ayda aktif enfeksiyon bulgusu olan kişiler çalışmaya dahil edilmedi. Tüm hastalardan ve ailelerinden aydınlatılmış onam alındı.

Hastaların klinik öykülerine ve daha önce bakılan laboratuvar değerlerine, eski hastalık notlarından ve Hacettepe Üniversitesi 'nucleus' sisteminden ulaşıldı. Tanı anında olan chILD hastalarının rutin olarak alınan kan örnekleri değerlendirildi. Takipte olan ve rutin kontrol için başvuran chILD hastalarından ise rutin kontroller sırasında bakılan kan örneklerinin yanı sıra araştırılması planlanan belirteçlerin çalışması için ek kan tüpü ayrıldı (5 cc heparinize periferik kan).

Tüm hastaların başvuru sırasında olan demografik özellikleri, klinik bulguları, tanıya kadar geçen süre, akrabalık durumları, benzer şikayetleri bulunan aile bireylerinin varlığı, tanı anında fizik muayene bulguları, oksijen saturasyonları, spirometre ile SFT'de birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar hacim (FEV1%), zorlu vital kapasite (FVC%), 6 dakika yürüme testi sonuçları, eski laboratuvar sonuçları, ekokardiyografide pulmoner arter basıncı değerleri, tanı amaçlı alınan biyopsilerin histopatolojik sonuçları kaydedildi. Tüm hastaların hem tanı anında hem de başvuru sırasında muayenesindeki vücut ağırlığı ve boy ölçümleri kaydedildi.

Hastalar iki grupta incelendi.

Diğer İAH grubu: Bronşiolitis obliteras harici hastalar ile yeni bir grup oluşturuldu (n=14).

3.2. Sağlıklı Kontroller

- Sağlıklı kontroller hastalarla aynı yaş grubunda ve bilinen bir hastalığı olmayan gönüllü bireyler arasından onam alınarak seçildi.
- Son 1 ayda aktif enfeksiyon bulgusu olan kişiler çalışmaya dahil edilmedi.

3.3. Yöntem

Hasta ve kontrol örneklerinden alınan kan örneklerinden periferik kan mononükleer hücrelerinin izolasyonu yapılarak, aşağıda belirtilen protokole göre izole edilip -80 derecede saklanmıştır. Ardından, periferik kanlarında akım sitometrik yöntemle T regülatuar hücre analizi yapıldı ve IL-10 ve TGFB ifade düzeyleri bu hücrelerde hücre içi olarak değerlendirildi. Ayrıca, doğal lenfoid hücre karakterizasyonu (ILC1, ILC2, ILC3) ve yardımcı T hücre-17 (Th-17) analizi yapılması yapıldı.

Çalışma parametreleri:

T regülatör hücreler (Treg): (CD4+ CD25+CD127low/-)

Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen TGF- β ve IL-10

T helper 17 (Th17): (CD4+CCR6+IL-17A+ IL17F+)

ILC 1: CD161+, NKp44-, CRTH2-, c-kit-

ILC 2: CD161+, NKp44-, CRTH2+, c-kit+

ILC 3: CD161+, NKp44+, CRTH2-, c-kit+

İntrasellüler vimentin ve periplakin ifade düzeyi

Akciğer biyopsi örneğinde vimentin ve periplakin

Kontrol bireylerinden ve hastalardan periferik kan mononükleer hücrelerinin izolasyonu

5 cc heparinize periferik kan örneği alınır.

15 ml deney tüpü içine 2.5 ml Histopak –Ficoll eklenir.

Tüp 45 derece eğimli tutularak kan Histopak-Ficoll üzerine yayılır.

Oda ısısı 2000 rpmx30 dk santrifüj edilir (Santrifüjün Yumuşak geçişle durdurulması ayarlanmalıdır).

Histopak-Ficoll üzerinde toplanan mononükleer hücreler pipet yardımıyla toplanarak boş deney tüpüne alınacaktır. Toplama işlemi sırasında histopak-Ficoll almamaya dikkat edilir.

Toplanan hücreler üzerine 3 cc RPMI-1640 eklenip oda ısısında 2000 rpmx30 dk santrifüj edilir. Süpernatant uzaklaştırılıp, pellet homojenize edilir.

İzole edilen mononükleer hücrelerin üzerine 300 ul PBS eklenip nazikçe karıştırılır.

Hücre Dondurma Protokolü

- Kan örnekleri, 2 mikrolitre fikel üzerine özenle yayıldı.
- 1600 RPM’de 20 dakika süreyle santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında oluşan beyaz halka, dikkatlice toplandı.
- Toplanan beyaz halka, 1 mikrolitre PBS ile yıkanarak, 4 dakika 2000 RPM’de 5 dakika.
- Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant, dikkatlice dökülüp, oluşan hücre pelleti vorteksle homojenleştirildi.
- Hücre pelletine, 2 mikrolitre freezing media eklenip vorteksle karıştırıldı. (%40 IRIM % 50 FBS % 10 DMS)
- Önce -20 ye bırakılan hücreler 2 veya 3 saat sonra -80 e depolandı.

Hücre Çözme ve Hazırlama Protokolü

- -80 dereceden alınan hücreler çözüldü.
- İlk olarak tüpler hazırlandı.
- İsimleri yazılmış olarak hazırlanan her tüpün içerisine 3/2 veya 2,5 mikrolitre %10 tam medyum konuldu.
- -80 den çıkarılan ve çözülen hücreler tam medyum ile hazırlanmış tüplerin içerisine konuldu.
- Tüplerin kapakları kapatıldı.
- Santrifüjde 3 dakika süreyle 9/9 2400 RPM’de bırakıldı
- Santrifüj sonrasında oluşan süpernatant döküldü.
- Vorteksle karışım sağlandı.
- Vorteks sonrası 1,5 mikrolitre besi yeri her tüp içerisine konuldu. (RPMI)
- Besi yerine bırakılan hücreler 30 dakika dik bir şekilde etüve bırakıldı.
- Etüv sonrasında alınan hücreler vorteksle karıştırıldı.
- Tüplerin üzerinde yazan derecelendirmeye göre 6 olacak şekilde üzerine pbs eklendi

- Vorteksle karışım sağlandı.
- Vorteks sonrasında tüpler 9/9 2400 RPM 3 dakikka santrifüje bırakıldı.
- Her hasta için 3 farklı tüp hazırlandı (Treg, ILC, TH17 için).
- Santrifüj sonrasında oluşan süpernatant döküldü.
- Üstlerine 300 mikrolitre PBS eklendi.
- Vortekslendi ve tüplere 100 mikrolitre hazırlanan mixten koyuldu.

Lenfosit alt küme analizi için dört renkli akım sitometri paneli kullanıldı. Th17 hücreleri için anti-CD4, anti-CCR6 ve anti-IL17A ; Treg hücreleri için anti-CD4, anti-CD25, anti-CD127, anti-TGF β ve anti-IL10; ILC1-2-3 hücreleri için anti-CRTH2 (CD294), anti-CD161, anti-c-Kit ve anti-NKp 44, üretici talimatlarına uygun optimal konsantrasyonlarda kullanıldı (Becton Dickinson, San Jose, CA, ABD). Boyanmış hücreler FACS CANTO II akım sitometresi ile analiz edildi (Becton Dickinson, San Jose, CA, ABD). ILC'ler, CD45+CD161+ olarak kapılandı. CRTH2 ve c-Kit'in ekspresyonu ILC2 ve ILC3 popülasyonlarını tanımlamak için kullanıldı. ILC1'ler, CRTH2 ve c-Kit'in ekspresyonunun olmamasıyla tanımlandı. ILC2'ler CRTH2 ve c-Kit'in ekspresyonunun olması ile tanımlandı. ILC3'ler, doğal sitotoksik reseptör NKp 44'ün ekspresyonu ile karakterize edildi. Th17 hücreleri, CD4, CCR6 ve IL17A ekspresyonu ile tanımlandı ve Treg hücreleri, CD4+ CD25+CD127low/- hücreler olarak tanımlandı. TGF β ve IL10 ekspresyonu, Treg'lerin fonksiyonel kapasitesini tahmin etmek için de akım sitometri ile analiz edildi.

Periferik kanda Treg ve Th17 hücrelerin analizi

2 ml 1X FOXP3 Buffer A eklenip oda ısısında ve karanlık koşullarda 10 dk inkübe edilir.

- Hücreler 2 ml Stain Buffer ile yıkanır. 1200 rpm de 5 dk santrifüj edilir ve süpernatant atılır.
- 2 ml Stain Buffer eklenip 1200 rpm de 5 dk santrifüj edilir.
- 1 ml Stain buffer eklenip karıştırılır. Ardından 100 ul örnek akım sitometri tüpüne alınır.
- Treg için 20 ul CD4-APCH7, 20 ul CD25-APC antikoru eklenerek 30 dk oda ısısında inkübe

edilir. Hücreler 2 kez 2 ml stain Buffer ile yıkanır ve santrifüj edilir. 20 ul FOXP3-PE, IL-10PE-Cy7 ve TGFB-FITC antikoru eklenir. Oda ısısı ve karanlıkta inkübe edilir.

-Th17 için CD4, IL17A, IL17F antikorları eklenip 30 dk oda ısısında inkübe edilecektir. Hücreler 2 kez 2 ml stain Buffer ile yıkanır ve santrifüj edilir. 20 ul FOXP3-PE antikoru eklenir. Oda ısısı ve karanlıkta inkübe edilir.

- İnkübasyon sonunda tüplere 2 ml Stain Buffer eklenir, 1200 rpm de 5 dk santrifüj edilir ve süpernatant atılır.

- 500 ul Wash Buffer eklenir ve akım sitometri cihazında okutulur. Hücrelerin sayı ve yüzde analizleri gerçekleştirilir.

Periferik ILC hücrelerinin analizi

CD45, -CD161, -CRTH2, -NKp44, -c-kit and -CD127 yüzey antikorları ile periferik kan örnekleri oda ısısı ve karanlık koşullarda 30 dk inkübe edilir.

Ardından 1X fosfat buffer saline tampon (PBS) çözeltisi ile yıkanarak santrifüj edilir.

Süpernatant atılıp üzerine 500 ul 1X PBS eklenip akım sitometri cihazında okutulur ve hücrelerin sayı ve yüzde analizleri gerçekleştirilir.

Antikor Hazırlama Protokolü:

ILC İÇİN;

- C-kit 3/2,5 mikrolitre PE (yüzey)
- CRT 2,5 mikrolitre APC /Cy 7 (yüzey)
- NKP44 2,5 mikrolitre FITC (yüzey)
- Cd 161 2,5 mikrolitre FITC (yüzey)

Treg İÇİN;

- IL10 CL7 1,5 mikrolitre PE
- CD25 2 mikrolitre APC (yüzey)
- CD 4 1,5 mikrolitre FITC (yüzey)
- CD 127 1,5 mikrolitre percPE (yüzey)
- TCFB 2,5 mikrolitre

TH17 İÇİN;

- IL17F 1,75 mikrolitre PE
- IL17F 2 mikrolitre percPE
- CD4 FITC 1,5 mikrolitre (yüzey)
- CCR6 – CD196 2,5 mikrolitre

3.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler SPSS Windows sürüm 23.0 istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu, hem görsel olarak (histogram ve olasılık grafikleri) hem de analitik yöntemlerle (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) incelendi. Eğer sayısal değişkenler normal dağılım gösteriyorsa, ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi; normal dağılım göstermiyorsa ise ortanca (25.-75. **persentil**) değerleri kullanıldı. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde (%) olarak sunuldu. Gruplar arasında karşılaştırma yapmak için kategorik iki grup için Mann-Whitney U testi, üç grup için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Niceliksel gruplar için Ki-Kare testi uygulandı. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 20 hasta ve 19 kontrol olmak üzere toplam 39 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen chILD grubundaki 20 katılımcının 11'i (%55) kadın, 9'u (%45) erkekti. Kontrol grubundaki katılımcıların ise 11'i (%55,9) kadın ve 8'i (%42,1) erkekti. Hasta ve kontrol grubu arasında cinsiyet farkı yoktu ($p=1$). Hastaların yaş ortalaması $14,25 \pm 4,7$ (ortalama $\pm$ ss) yıld. Kontrol grubunun yaş ortalaması $12,12 \pm 4,82$ (ortalama $\pm$ ss) yıld. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş farkı yoktu ($p=0,4$). Semptomların başlama yaşı ortancası 48 ay (IQR 4-84) ve chILD tanı yaşı ortancası 84 ay (IQR 3-97) idi. Hastaların 8'i (%40) 2 yaşın altında tanı almış idi. Hastaların %60'ında (12 hasta) akrabalık bulunmazken, %40'ında (sekiz hasta) ise akrabalık tespit edildi. Hastaların hiçbirinin ailesinde tanı almış bir chILD öyküsü saptanmadı. İncelenen hastaların beşinde (%25) ek hastalıklar saptanmıştır: bu hastaların üçünde (%15) astım, birinde (%5) ailevi Akdeniz ateşi ve bir diğerinde (%5) sistemik lupus eritematozus belirlenmiştir. Sistemik lupus eritematozus (SLE) tanısının eşlik ettiği hastada bu tanı takip döneminde konulmuştur. Yirmi hastanın altısında (%30) akut ve/veya kronik malnutrisyon olduğu saptandı. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. chILD tanılı hastaların demografik özellikleri

Hasta Özellikleri	N (%) Ortalama $\pm$ SS Ortanca (IRQ)*
Hasta sayısı (n)	20
Cinsiyet (K/E)	11/9 (55/45)
Akrabalık	8 (40)
Yaş (yıl)	$14,25 \pm 4,7$
Semptomların başlama yaşı (ay)*	48 (4-84)
Tanı yaşı (ay)*	84 (3-97)
2 yaşın altında tanı alan	8 (40)
Malnutrisyon	6 (30)
Eşlik eden hastalık	5 (25)

* Ortanca (25.-75. persentil)

İnterstisyel akciğer hastalarının hastalık alt gruplarına göre sınıflandırıldığında; hastaların %30'unda (altı hasta) bronşiolitis obliterans tanısı var idi. Üç hastada hipersensitivite pnömonisi (bir hastada eşlik eden *FARSB* mutasyonu),

İki hastada sürfaktan protein C eksikliği, 2 hastada idiyopatik pulmoner hemosiderosis, iki hastada Usual interstisyel pnömoni (UİP), iki hastada *Nonspecific Interstitial Pneumonia* (NSİP), bir hastada bebeklik döneminin nöroendokrin hücre hiperplazisi (NEHİ), bir hastada lenfositik interstitial pnömoni (LİP) ve bir hastada FARSB mutasyonu ile ilişkili interstisyel akciğer hastalığı saptandı. İnterstisyel akciğer hastaların hastalık alt gruplarına göre sınıflandırılması Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. İnterstisyel akciğer hastaların hastalık alt gruplarına göre sınıflandırılması

Tanımlar	N (%)
Bronşiolitis obliterans	6 (%30)
Hipersensitivite pnömonisi ¹	3 (%15)
Sürfaktan protein C eksikliği	2 (%10)
İdiyopatik pulmoner hemosiderosis ²	2 (%10)
UİP	2 (%10)
NSİP	2 (%10)
NEHİ	1(%5)
LİP	1(%5)
FARSB mutasyonu ile ilişkili interstisyel akciğer hastalığı	1(%5)

¹ Bir hastada FARSB mutasyonu saptandı

² Bir hastada takipte SLE gelişti

UİP: Usual interstisyel pnömoni

NSİP: Non-spesifik interstisyel pnömoni

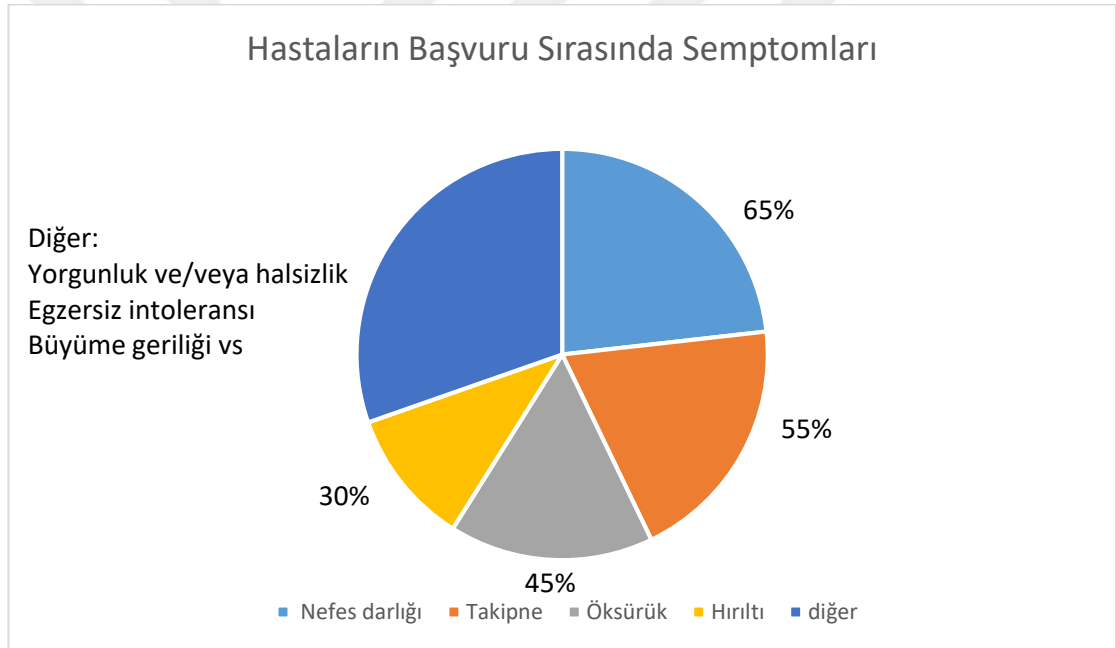
SLE: Sistemik lupus eritematozus

LİP: Lenfositik interstitial pnömoni

İnterstisyel akciğer hastalarında başvuruda en sık izlenen belirtiler arasında nefes darlığı, takipne ve öksürük bulunmaktadır. Nefes darlığı 13 hastada (%65), takipne 11 hastada (%55), öksürük 9 hastada (%45), istirahat takipnesi 8 hastada (%40), hırıltı 6 hastada (%30), yorgunluk ve/veya halsizlik 6 hastada (%30), egzersiz intoleransı ise 5 hastada (%25) saptandı. Hastaların semptomları Tablo 4.3'te özetlenmiştir.

Tablo 4.3. İnterstisyel akciğer hastalığı tanısı ile izlenen hastaların başvuru sırasında semptomları

Bulgular	N(%)
Nefes darlığı	13(65)
Takipne	11(55)
Öksürük	9(45)
Hırıltı	6(30)
Yorgunluk ve/veya halsizlik	6(30)
Egzersiz intoleransı	5(25)
Büyüme geriliği	6 (30)



Şekil 4.1. İnterstisyel akciğer hastalığı tanısı ile izlenen hastaların başvuru sırasında semptomları

Tanı anındaki fizik muayene incelemesinde, 11 hastada (%55) hipoksi, 11 hastada (%55) takipne, 9 hastada (%45) kreptan ral, 6 hastada (%30) ronküs, 4 hastada (%20) çomak parmak, 4 hastada göğüs duvarı retraksiyonu, 1 hastada (%5) göğüs kafesi deformitesi, 1 hastada (%5) hepatomegali ve 1 hastada (%5) lenfadenopati saptandı. İnterstisyel akciğer hastalığı olan hastaların tanı sırasında solunum sistemi

muayene bulguları Tablo 4.4'te özetlenmiştir. Hastaların %80'inde BCG aşısı izlendi. Hastaların 10'unda steroid kullanımı öyküsü bulunuyordu.

Tablo 4.4. İnterstisiyel akciğer hastalığı olan hastaların tanı sırasında solunum sistemi muayene bulguları

Bulgular	N (%)
Hipoksi	11(55)
Takipne	11(55)
Krepitan raller	9 (45)
Ronküs	6 (30)
Çomak parmak	4 (20)
Retraksiyonlar	4 (20)
Göğüs kafesi deformitesi	1 (5)

Hastaların klinik özellikleri değerlendirildiğinde; 8 (%40) hastada pnömoni öyküsü, 10 (%50) hastada solunum sıkıntısı öyküsü, 5 (%25) hastada tekrarlayan pnömoni öyküsü, 7 (%35) hastada yenidoğan döneminde solunum sıkıntısı nedeniyle yatış öyküsü, 6 (%30) hastanın en az bir kez solunum desteğine ihtiyaç duyduğu ve 1 hastada pulmoner hipertansiyon olduğu saptandı.

Hastaların çalışmaya dahil edildikleri zaman yapılan fizik muayene incelemesinde, 3 hastada (%15) hipoksi (oksijen saturasyonu %94'ün altındadır), 2 hastada (%10) krepitan ral, 3 hastada (%15) ronküs, 4 hastada (%20) göğüs kafesi deformitesi, 3 (%15) hastada çomak parmak saptandı. Hastaların çalışmaya alınma sırasında vücut kitle indeksi ortalamaları $19,32 \pm 5,2$ (ortalama $\pm$ ss) olarak tespit edildi.

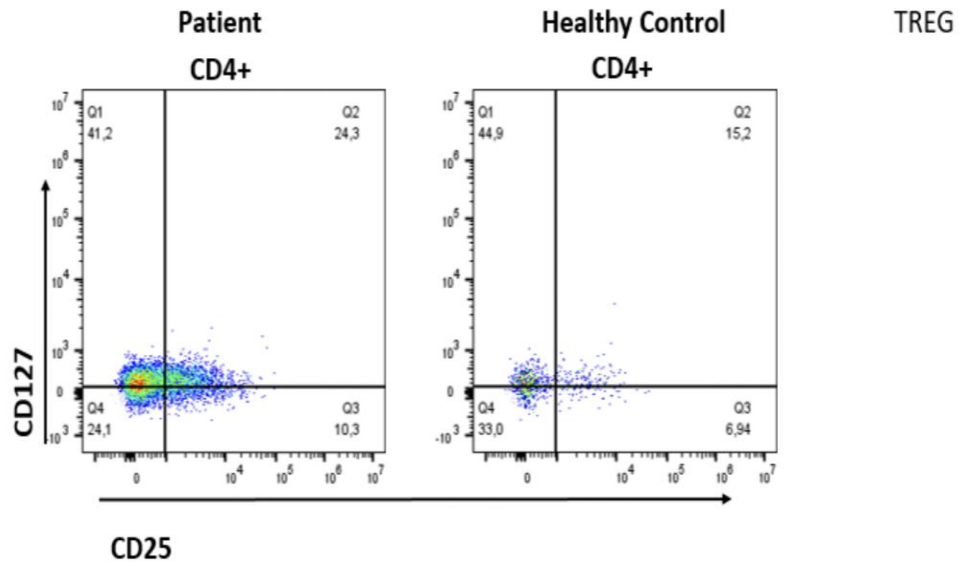
Hastaların çalışmaya dahil edilme anına veya en yakın tarihte yapılan solunum fonksiyon testlerinde yapabilen 14 hastanın ortalama FEV1% değeri $62,5 \pm 25,11$ (ortalama $\pm$ ss), FVC% değeri ise $74,42 \pm 20,37$ (ortalama $\pm$ ss) olarak belirlendi. Altı dakika yürüme testi yapılan 9 hastanın ortalama değeri $489,45 \pm 88,62$ metre (ortalama $\pm$ ss) olarak saptandı.

Hastaların çalışmaya dahil edilme esnasındaki kan sayımı değerleri incelendiğinde ortalama hemoglobin değeri $12,12 \text{ g/dL} \pm 2,5$ (ortalama $\pm$ ss), beyaz küre değeri $13,34 \times 10^9/\text{L} \pm 5,8$ (ortalama $\pm$ ss), absolüt nötrofil sayısı $7,56 \times 10^9/\text{L}$

$\pm 5,1$ (ortalama $\pm$ ss), absölüt lenfosit sayısı $4,51 \times 10^9/L \pm 3,6$ (ortalama $\pm$ ss) ve eosinofil sayısı $135,44/\mu L \pm 132,4$ (ortalama $\pm$ ss) olarak saptandı.

Çalışmamızda, 20 chILD hastası ve 19 sağlıklı kontrol bireyinden alınan periferik kanlarında akım sitometrik yöntemle T regülatuar hücre analizi yapılmış ve IL-10 ve TGFB ifade düzeyleri bu hücrelerde hücre içi olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca, doğal lenfoid hücre karakterizasyonu (ILC1, ILC2, ILC3) ve yardımcı T hücre-17 (Th-17) analizi yapılmıştır. Çalışma sürecinde BAL örneği alınan hasta bulunmadığı için BAL değerlendirmesi gerçekleştirilemedi.

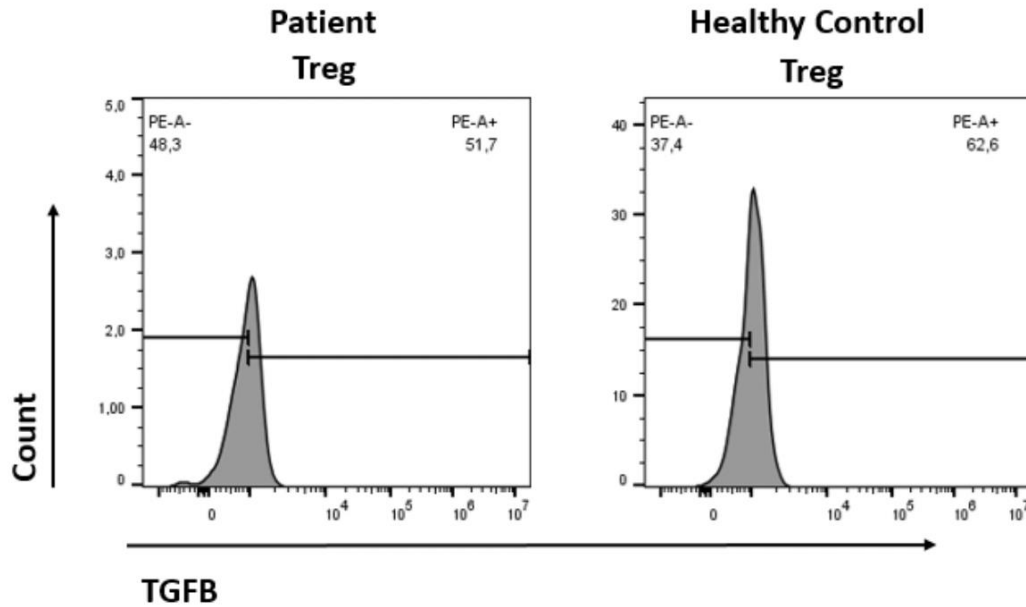
Hasta ve kontrol grubu arasında Treg hücre ($CD4^+ CD25^+ CD127^{low/-}$) yüzdeleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,23$). Treg yüzdesi hastalarda ortalama $7,58 \pm 5$ (ortalama $\pm$ ss) iken kontrol grubunda $6,2 \pm 3,61$ (ortalama $\pm$ ss) olarak saptandı. Hasta ve kontrol Treg yüzdeleri ve kapılama stratejileri şekil 4.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Hasta ve kontrolde Treg yüzdelerinin akım sitometrik gösterimi

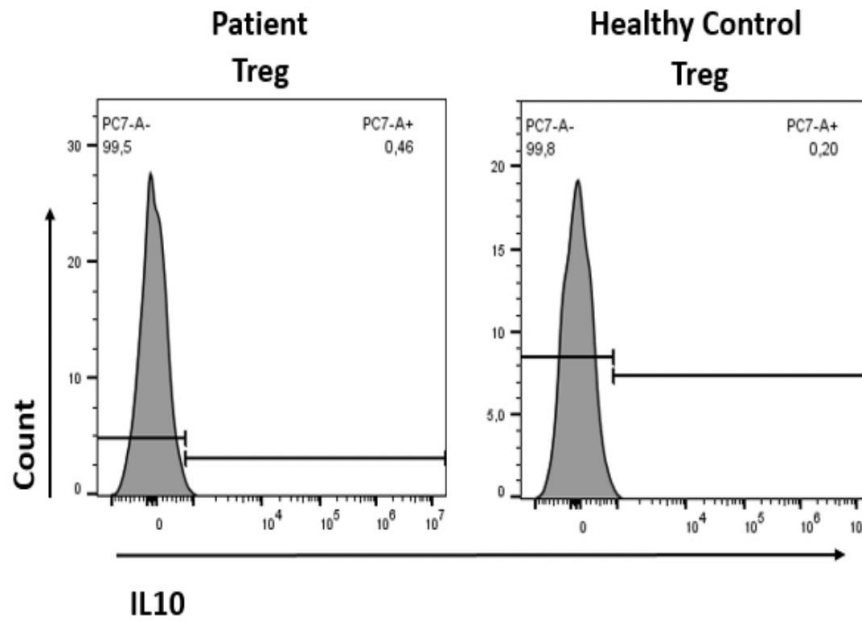
Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen TGF- β hastalarda ortalama $31,08 \pm 16,02$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $33,16 \pm 14,47$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında TGF- β ifade eden Treg hücre

yüzdesi açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0,71$). Hasta ve kontrol TGF- β ifade eden Treg hücre yüzdesi şekil 4.3.'de gösterilmiştir.



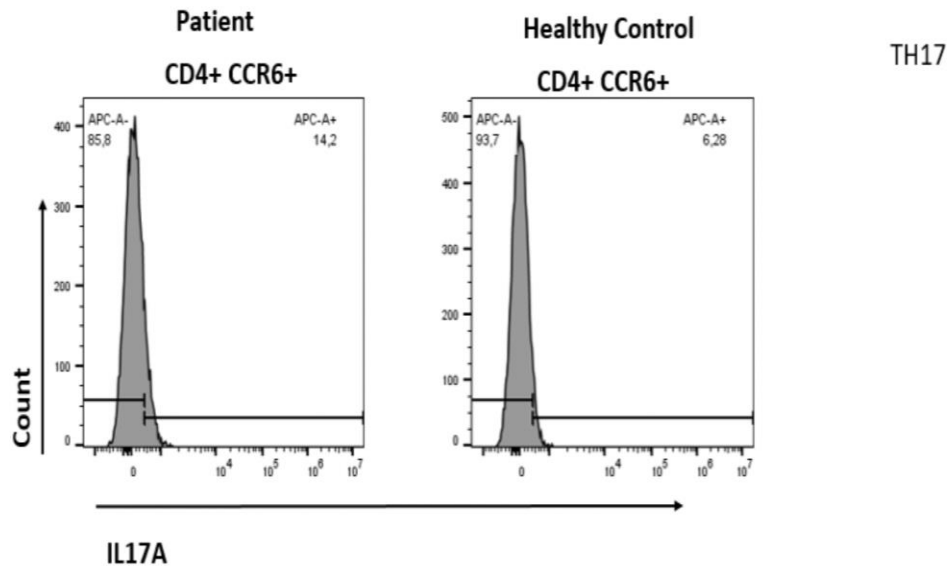
Şekil 4.3. Hasta ve kontrol örnek TGF- β ifade eden Treg hücre oranları

Periferik kanda Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen IL-10 yüzdesi hastalarda ortalama $0,98 \pm 2,63$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $0,41 \pm 0,56$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında IL-10 salgılayan Treg hücre yüzdeleri açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0,71$). Hasta ve kontrol örneklerinde IL-10 ifade eden Treg hücre yüzdesi değeri şekil 4.4.'de gösterilmiştir.



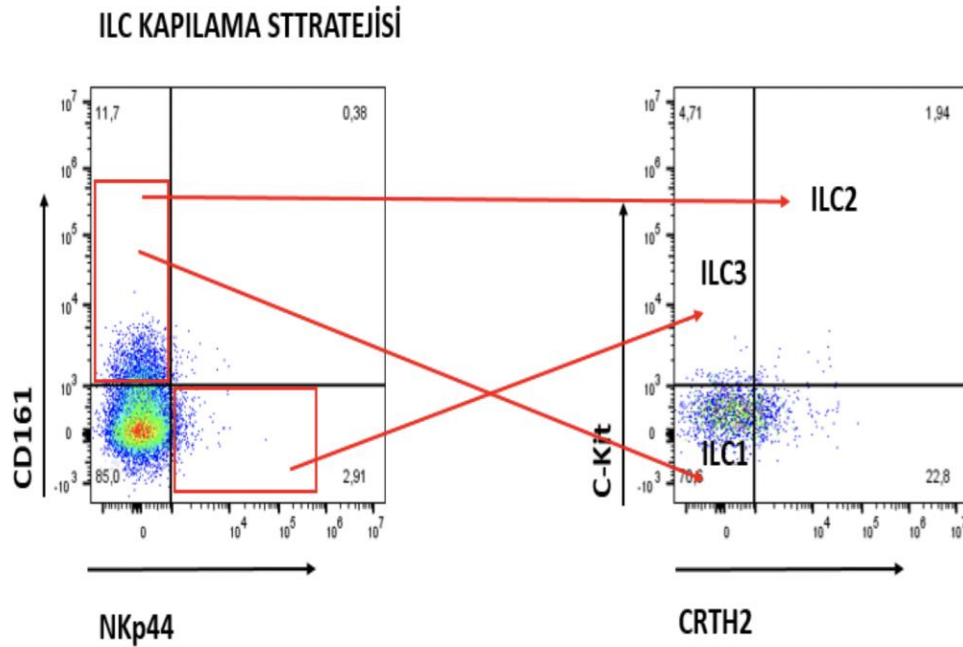
Şekil 4.4. Hasta ve kontrol örnek IL-10 ifade eden Treg hücre yüzdesi şeması

Th17 yüzdesi hastalarda ortalama $21,21 \pm 11,05$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $19,29 \pm 8,68$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında Th17 yüzdesi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,29$). Hasta ve kontrol örnek Th17 yüzdesi değeri Şekil 4.5.'de gösterilmiştir.

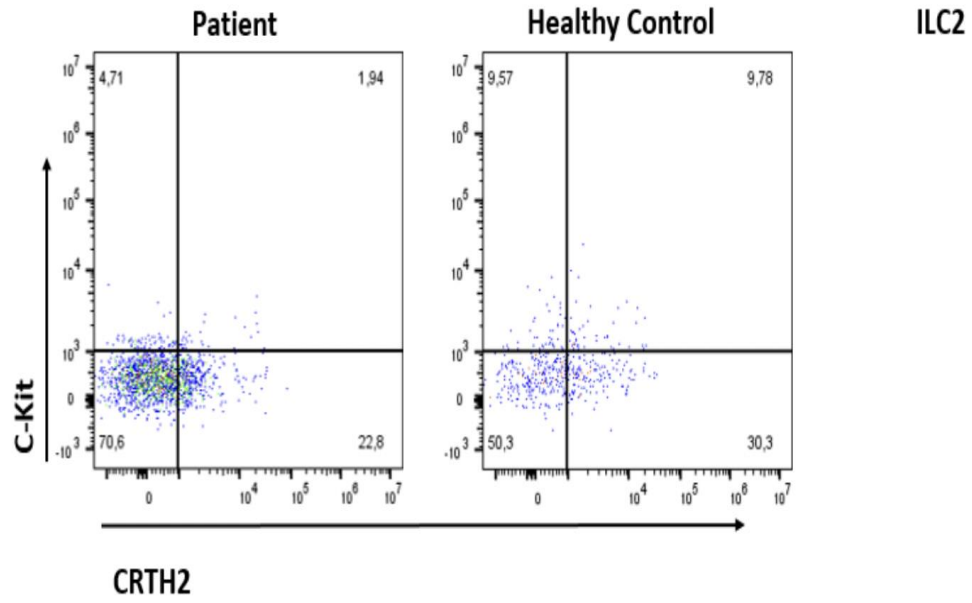


Şekil 4.5. Hasta ve kontrol örnek Th17 yüzdesi şeması

ILC1 yüzdesi hastalarda ortalama $62,22 \pm 16,55$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $57,10 \pm 12,17$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC1 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,47$). ILC2 yüzdesi hastalarda ortalama değeri $3,11 \pm 2,26$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $4,5 \pm 2,59$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC2 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,96$). ILC3 yüzdesi hastalarda ortalama $0,33 \pm 0,34$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $0,36 \pm 0,32$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC3 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,74$). ILC kapılama stratejisi şekil 4.6.'da gösterilmiştir. Hasta ve kontrol örnek ILC2 yüzdesi değeri şekil 4.7.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.6. ILC kapılama stratejisi



Şekil 4.7. Hasta ve kontrol örnek ILC2 yüzdesi şeması

Periferik kan mononükleer hücrelerinde Periplakin ifadesi hastalarda ortalama $18,12 \pm 13,26$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $16,65 \pm 10,78$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında periplakin ifade düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,97$).

Periferik kan mononükleer hücrelerinde Vimentin ifadesi hastalarda ortalama $53,31 \pm 18,16$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $49,49 \pm 19,16$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında vimentin ifade düzeyleri açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0,97$). İnterstisiyel akciğer hastalığı olan çocukların ve kontrol grubunun immünolojik parametre sonuçları Tablo 4.5.'te özetlenmiştir.

Tablo 4.5. İnterstisiyel akciğer hastalığı olan çocukların ve kontrol grubunun immünolojik parametre sonuçları

	Hasta (ortalama $\pm$ SS)	Kontrol (ortalama $\pm$ SS)	P
ILC1	62,22 $\pm$ 16,55	57,10 $\pm$ 12,17	0,47
ILC2	3,11 $\pm$ 2,26	4,5 $\pm$ 2,59	0,96
ILC3	0,33 $\pm$ 0,34	0,36 $\pm$ 0,32	0,74
Th17	21,21 $\pm$ 11,05	19,29 $\pm$ 8,68	0,29
Treg	7,58 $\pm$ 5	6,2 $\pm$ 3,61	0,23
<i>TGFB</i>	31,08 $\pm$ 16,02	33,16 $\pm$ 14,47	0,71
IL-10	0,98 $\pm$ 2,63	0,41 $\pm$ 0,56	0,71
Periplakin	18,12 $\pm$ 13,26	16,65 $\pm$ 10,78	0,97
Vimentin	53,31 $\pm$ 18,16	49,49 $\pm$ 19,16	0,97

Bronşiolit obliterans hastaları çıkarılarak, fibrozisin daha belirgin olduğu bir alt grup oluşturuldu ve bu grup diğer İnterstisyel Akciğer Hastalıkları (diğer İAH) olarak adlandırıldı (n=14). Diğer İAH hastaları ile kontrol grubunun Treg, TGF- β , IL-10, Th-17 ve ILC1, ILC2, ILC3 değerleri birbiriyle karşılaştırıldı. Diğer İAH ile ve kontrol grubunun immünolojik parametre sonuçları Tablo 4.6.'te özetlenmiştir.

Th17 hücre yüzdesi diğer İAH hastalarda ortalama değeri 19,41 $\pm$ 12,39 (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda 19,29 $\pm$ 8,68 (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında Th17 hücre yüzdeleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,82). Treg hücre yüzdesi diğer İAH hastalarda ortalama değeri 7,58 $\pm$ 5 (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda 6,2 $\pm$ 3,61 (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında Treg yüzdeleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,12). *TGFB* değeri diğer İAH hastalarda ortalama değeri 28,75 $\pm$ 17,06 (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda 33,16 $\pm$ 14,47 (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,53). IL-10 değeri diğer İAH hastalarda ortalama değeri 1,37 $\pm$ 3,1 (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda 0,41 $\pm$ 0,56 (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında IL-10 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0,37).

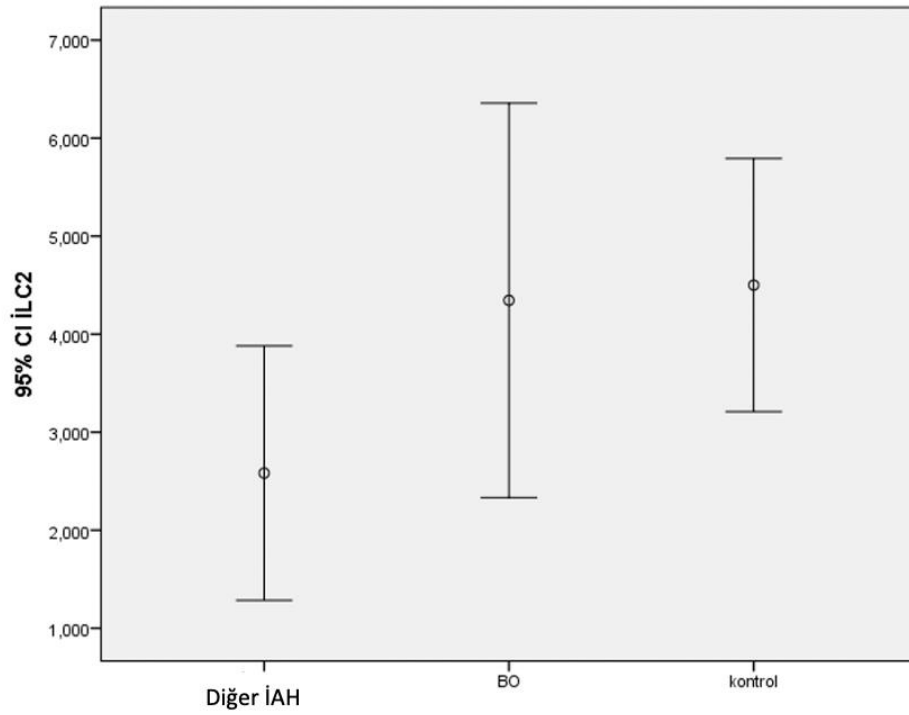
ILC1 yüzdesi diğer İAH grubunda ortalama değeri 62,22 $\pm$ 17,64 (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda 57,10 $\pm$ 12,17 (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve

kontrol grubu arasında ILC1 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,18$). ILC2 yüzdesi diğer İAH grubunda ortalama değeri $2,58 \pm 2,24$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $4,5 \pm 2,59$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC2 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ($p=0,037$). ILC3 yüzdesi hastalarda ortalama değeri $0,26 \pm 0,27$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $0,36 \pm 0,32$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC3 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,46$). Hasta gruplarına göre ILC2 düzeyi şekil 4.8’de gösterilmektedir.

Tablo 4.6. Diğer İAH alt grup ve kontrol hastalarının immünolojik parametre sonuçları

	Diğer İAH (ortalama $\pm$ SS) n=14	Kontrol (ortalama $\pm$ SS) n=19	
ILC1	$62,22 \pm 17,64$	$57,10 \pm 12,17$	0,18
ILC2	$2,58 \pm 2,24$	$4,5 \pm 2,59$	0,037
ILC3	$0,26 \pm 0,27$	$0,36 \pm 0,32$	0,46
Th17	$19,41 \pm 12,39$	$19,29 \pm 8,68$	0,82
Treg	$7,58 \pm 5$	$6,2 \pm 3,61$	0,12
TGFB	$28,75 \pm 17,06$	$33,16 \pm 14,47$	0,53
IL-10	$1,37 \pm 3,1$	$0,41 \pm 0,56$	0,37
Periplakin	$19,59 \pm 15,09$	$16,65 \pm 10,78$	0,95
Vimentin	$58,21 \pm 18,74$	$49,49 \pm 19,16$	0,52

Diğer İAH: Diğer interstisyel akciğer hastalıkları,



Şekil 4.8. Hasta gruplarına göre ILC2 düzeyi karşılaştırması

Periplakin ifade düzeyi diğer İAH hastalarında ortalama $19,59 \pm 15,09$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $16,65 \pm 10,78$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında periplakin düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,95$). Vimentin ifade düzeyi diğer İAH hastalarda ortalama $58,21 \pm 18,74$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $49,49 \pm 19,16$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında vimentin düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmadı ($p=0,52$).

Çalışmamızda, ILC2 ile Treg, Th17, IL-10, TGF- β , ILC1, ILC3 hücre yüzdelerinin korelasyonları incelendi ve bu parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ayrıca, ILC2'nin VKİ, FEV1%, FVC%, 6-dakika yürüme testi ile olan ilişkisinde de istatistiksel anlamlılık tespit edilmedi. Ek olarak ILC2 ile tanı yaşı, semptom süresi, klinik bulgular ve fizik muayene bulguları arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Çalışmamızda diğer İAH alt grupta ILC2 ve Th17 hücreleri arasında güçlü bir Pearson pozitif korelasyon gözlemlendi ($r = 0.75$, $p = 0,002$). Çalışmamızda ayrıca Treg, Th17, IL-10, TGF- β , ILC1, ILC3 ve demografik

ve klinik parametreler arasında korelasyon değerlendirildi. Yaş, semptom süresi, klinik bulgular ve fizik muayene bulguları ile VKİ, FEV1%, FVC%, 6-dakika yürüme testi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Çalışmamızda hastaların eski akciğer patoloji preparatlarının vimentin ve perioplakin ile boyanarak fibrozis açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştı. Ancak örneklerin deparafinize edildikten sonrası boyanması sonucunda aşırı zemin aktivitesi olması nedeni ile örnekler değerlendirilmeye uygun bulunmadı.



5. TARTIŞMA

Çocukluk Çağı İAH'lar etiyoloji, patoloji, prognoz ve tedavi açısından farklılık gösteren heterojen bir hastalık grubunu içermektedir(101). Bu hastalıklardan bazıları fibrozis gelişimine daha yatkın olabilir. Nadir görülmesi nedeniyle, pediatrik İAH'lar hakkında mevcut bilgiler oldukça sınırlıdır(12). Birçok merkez yılda sadece birkaç vaka değerlendirebilmektedir(100). Çalışmamızda, fibrozis gelişiminde rol oynayabilecek olası mekanizmaların az araştırılmış olması nedeniyle cHILD etiyopatogenezinde rol oynayabilecek potansiyel belirteçler incelenerek, bu heterojen hastalığın immünopatogenezine ışık tutulması ve gelecekte hedefe yönelik tedavilerin planlanması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda hastaların yaş ortalaması $14,25 \pm 4,7$ (ortalama $\pm$ SS) yıl olarak belirlendi. Türkiye Ulusal Kayıt Sistemi üzerinden Nayır-Büyükşahin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, pediatrik İAH için ortalama tanı yaşı 6,05 (1,3-11,6) olarak rapor edilmiştir(101). Çalışmamıza katılan hastaların tanı yaşlarının Türkiye'deki verilerle benzer olduğu gözlenmiştir. Nathan ve diğerleri tarafından çocukluk çağı Pediatrik İnterstisyel Akciğer Hastalıkları Ulusal Fransa Veritabanı bilgilerini kullanarak yapılan çalışmada, 205 çocuğun tanı aldığı yaşın ortanca değeri 1,5 yıl olarak bulunmuştur(102).

İnterstisyel akciğer hastalıklarının klinik belirtileri genellikle yavaş başlayan ve özgün olmayan niteliktedir. Bu durum, hastaların tanı almasında gecikmelere neden olabilir(97). Çalışmamızda hastaların semptomların başlama yaşının ortanca değeri 48 ay (IQR 4-84) iken tanı yaşının ortanca değeri 84 ay (IQR 3-97) olarak bulunmuştur. ERS çalışma grubundaki hastalarda tanıdan önceki semptom süresi ortalama olarak $6,6 \pm 0,5$ aydır(97). Nathan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise tanı gecikmesi ortalaması 1 yıl olarak belirtilmiştir(102).

Ülkemizde çocuklarda İAH tanı yaşının daha geç olduğu ve semptomdan tanıya kadar geçen sürenin daha uzun olduğu görülmektedir. Bu farklılığın altında birden çok neden bulunabilmektedir. Çocukluk çağı İAH'lerinin nadir görülmesi nedeniyle klinisyenlerin bu tanıyı akıllarına getirmemeleri, bu nedenle hastaların tanı almadan önce farklı merkezlerde farklı tanımlarla uzun süre izlenmiş olmaları ve uygun tanı konulabilecek, biyopsi yapılabilecek merkezlere geç yönlendirilmiş olmaları bu nedenlerden bazılarıdır. Ayrıca ülkemizde, özellikle bebeklik döneminde izlenen

surfaktan protein eksikliği gibi genetik tanı araçlarını gerektiren hastalıkların tanısında kullanılan genetik çalışmaların kullanımının son yıllara kadar daha sınırlı olmasına bağlanabilir. Ek olarak, semptom ile tanı arasında geçen süre hastalık alt tipinden oldukça etkilenebilmektedir. Çalışmamızda heterojen bir hasta grubunun alınması, hem tanı yaşının ileri olmasına ve hem de semptom ve tanı arasında geçen sürenin uzamasına katkı sağlamış olabilir.

Hastalarımızın yaş ortalamasının tanı yaşlarına göre daha yüksek olması, çalışmaya dahil edilen hastaların daha çok takip döneminde olan hastalar olduğunu göstermektedir. Çocukluk dönemi İAH oldukça nadir görüldüğü için, büyük referans merkezlerinde bile her yıl sınırlı sayıda hasta başvurusu olmaktadır. Bu durum, çalışmamıza daha çok takip altında olan hastaları dahil etmemizi gerektirmiştir.

Sınıflandırma sistemlerinde hastaların prezantasyon yaşı oldukça önemlidir. Çocuklarda chILD sınıflandırmasında, genellikle iki yaşın altındaki bebeklerde daha yaygın olan infantil İAH ve bebeklik dönemine özgü olmayan iki yaş üstü İAH olarak iki ana kategoriye ayrılır. Sonuçta chILD tanısının sıklıkla yaşamın ilk yıllarında konulur ve ailevi vakaların oranı %10'dan fazladır(94). Çalışmamızda, hastaların 8'i (%40) 2 yaşın altında tanı almıştır. Türkiye ulusal kayıt sistemi üzerinden yapılan bir çalışmada ise hastaların %21,8'inin infant döneminde olduğu belirtilmiştir(103). Nathan ve arkadaşlarının, Ulusal Fransız Pediatrik İnterstisyel Akciğer Hastalıkları Veritabanı'ndan elde ettikleri verilerle yapılan çalışmada chILD tanısı konmuş hastaların yarısından fazlasının 2 yaşından önce semptomlar gösterdiği belirtilmiştir (102). Literatür bulguları ve verilerimiz, çocukluk çağı İAH'ların erken yaşta başladığını ve pediatrik hastalarda hastalığa yönelik farkındalığın yüksek olması gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamız, hastalarımızın %40'ında akrabalık ilişkisi bulunduğunu göstermektedir. Bu oran, Türkiye genelindeki akraba evliliklerinin yaygınlık oranı olan %20'nin iki katına tekabül etmektedir(104). Ülkemizde çocukluk çağı İAH ulusal veri tabanına dayanarak yapılan yakın tarihli bir çalışmada, ebeveynler arası akrabalık oranının benzer şekilde %40 olduğunu raporlanmıştır.(103). Ayrıca, Deutsch ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada, chILD hastaların %34'ünde aile içi benzer hastalık varlığı rapor edilmiştir(105). Çalışmamız ve Türkiye verilerinde saptanan yüksek akrabalık oranı, ülkemizde akraba evliliklerinin yaygınlığıyla

ilişkilendirilebilir. Çalışmamızda ve literatürde akrabalık oranının yüksekliği, çocukluk çağı İAH'nın etiopatogenezinde genetik faktörlerin önemini vurgulamaktadır.

Ayrıca, çalışmamızda %40 oranında akrabalık öyküsüne paralel olarak beklenen aile öyküsü saptanmamıştır. Bu durumun, pediatrik İAH hastalarının yeterince tanınmaması ve moleküler genetik çalışmaların yeterince yapılmamasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Sonuçlarımız, pediatrik İAH'ların farkındalığını artırmak ve bu heterojen hastalık grubunun daha iyi anlaşılması için genetik araştırmaların artmasının önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda hastaların %30'unda malnütrisyon tespit edilmiştir. Alsharkawy ve arkadaşlarının bronşektazi ve çocukluk dönemi İAH'larında yaptığı çalışmada birçok antropometrik belirtecin birlikte değerlendirildiği ve malnütrisyon oranının %56'lara kadar çıkabildiği, normal popülasyona göre daha yüksek olduğu bulunmuştur(106). Hem çalışmamız hem de literatür, pediatrik İAH hastalarında malnütrisyonun önemli bir sorun olduğunu, tedavi ve takip programlarının oluşturulmasında destekleyici ve kapsamlı bir yaklaşımla ele alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda hastaların %30'unda (altı hasta) bronşiolitis obliterans tanısı konulmuştur. Üç hastada hipersensitivite pnömonisi, iki hastada surfaktan protein C eksikliği, iki hastada idiyopatik pulmoner hemosiderozis, iki hastada Usual interstisyel pnömoni (UİP), iki hastada nonspesifik interstisyel pnömoni (NSIP), bir hastada bebeklik döneminin nöroendokrin hücre hiperplazisi (NEHİ), bir hastada lenfositik interstisyel pnömoni (LİP) ve bir hastada FARSB mutasyonu ile ilişkili interstisyel akciğer hastalığı saptanmıştır.

Amerika Ulusal Kayıt Sistemi çalışmasında, hastaların %11'inin sınıflandırılmayan grupta olduğu bildirilmiştir ve en sık tanı olarak NEHİ izlendiği belirlenmiştir(107). Fransız ulusal kayıt sisteminden yapılan çalışmada ise 149 hastada (%72,7) altta yatan nedeni saptanabilmiştir; ancak hastaların %27,3'ünde altta yatan sebep tanımlanamamıştır(102). Tanısı konulabilen hastaların neredeyse yarısında surfaktan eksiklikleri, alveolar proteinozis, hemosiderozis ve sarkoidoz saptanmıştır.

İnterstisyel akciğer hastalıkları, çocukluk çağında nadiren görülen bir grup hastalıktır. Birçok merkezde yılda sadece çok az hasta değerlendirilmektedir. Tanı

süreci her zaman kolay olmayıp hastaların bir kısmının izlemde İAH olduğu anlaşılabilmektedir. Hatta belirli hasta grubunun alt tipi hiç anlaşılamamaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı kısıtlı araştırma süresi olan çalışmamız süresince belirli bir alt tip hastalığa sahip birden fazla hastayı bulmamız oldukça zorlaşmıştır. Dolayısıyla, bu kısıtlı örneklem nedeniyle, çalışmamız farklı alt gruplardaki hastaları incelemek zorunda kalmıştır. Bu çeşitlilik, chILD'nin heterojen doğasını ve hastalıkların altında yatan sebeplerin çeşitliliğini yansıtmaktadır. Bu durum, nadir hastalıkların araştırılmasındaki zorlukları ortaya koymaktadır.

İnterstisyel akciğer hastalığı olan çocuklarda klinik bulgular, hastalığı düşündüren radyolojik bulgularla birlikte değişkenlik gösterir. Bu bulgular, asemptomatik durumdan başlayarak takipne, kuru öksürük, egzersiz sırasında veya istirahatte dispne, egzersiz intoleransı, büyüme geriliği, retraksiyonlar, ral, parmakların şekil bozukluğu, siyanoz ve daha az sıklıkla göğüs duvarı deformitesi arasında değişmektedir. Büyüme geriliği, beslenme sırasında yorgunluk ve kilo kaybı, küçük çocuklarda sık görülen semptomlardır(93, 97, 108). Saddi ve arkadaşları tarafından Avustralya ve Yeni Zelanda'dan 106 pediatrik İAH verisiyle yapılan çalışmada en sık bulgu takipne, dispne, öksürük ve büyüme ve gelişme geriliği olarak bildirilmiştir(109). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak en sık görülen semptomlar nefes darlığı, takipne, öksürük, halsizlik, egzersiz toleransı ve büyüme geriliği olarak saptanmıştır. Çalışmamızda da görüldüğü gibi başlangıç bulguları genellikle sinsidir ve bu durum tanıya kadar geçen süreyi açıklayabilir.

Çocukluk çağı interstisyel akciğer hastalıklarında en sık görülen bulgular arasında raller, takipne ve retraksiyonlar yer almaktadır. Normal doğum öyküsü olan bebeklerde bu belirtilerin varlığı, pediatrik İAH'ı düşündürmelidir. İzlenebilen diğer belirtiler ise çomak parmak ve siyanozdur; bu belirtiler genellikle hastalığın ilerleyen evrelerinde ortaya çıkar. Fizik muayene ayrıca eklem ağrısı, deri döküntüleri, nörolojik anormallikler ve tekrarlayan ateş gibi solunum dışı belirtileri de içermelidir. Bu belirtiler altta yatan sistemik hastalıkları düşündürülebilir. Avustralya ve Yeni Zelanda'dan yapılan bir çalışmada en sık görülen fizik muayene bulguları ral (%58,3), siyanoz (%22,7) ve çomaklaşma (%14,3) olarak bildirilmiştir(109). Çalışmamızda en sık görülen fizik muayene bulguları literatürle benzer olarak takipne, hipoksi ve

kreptan raller olarak saptanmıştır. Diğer sık görülen fizik muayene bulguları ise ronkus, çomak parmak ve retraksiyonlardır.

T hücrelerinin idiopatik pulmoner fibrozis (IPF) patofizyolojisindeki rolü hala tartışmalıdır. Bu alandaki çoğu hayvan çalışması ve sınırlı sayıdaki insan çalışması sonuçları birbiriyle çelişki göstermektedir(110). T hücrelerinin alt bir alt grubu olan Treg'ler, bağışıklık toleransını sağlayarak ve bağışıklık yanıtının dengesini koruyarak immünsüpresif etkilere sahiptirler(20). Daha önceki çalışmalarda IPF ile bağ doku hastalığı ilişkili interstisyel pnömoni ve İPF-dışı akciğer hastalıkları olan hastalarla karşılaştırıldığında, IPF'li hastalardan alınan hem periferik kan hem de BAL örneklerinde Treg'lerin sayısı ve işlevi azalmış olduğu bulunmuştur(21). Buna karşılık, diğer bir çalışmada hızlı ilerleyen IPF'li hastalarda dolaşımdaki Treg'lerin daha yüksek olduğunu bildirmiştir(20). Çalışmalar Treg'lerin bağışıklık homeostazını sürdürmeye önemli katkı sağladığını ve çeşitli solunum hastalıklarında gelişiminde rol alabileceğini göstermektedir. Fakat, Treg hücrelerinin pulmoner fibrozis gelişimindeki katkıları konusunda literatürde tutarsızlıklar bulunmaktadır(20).

Treg hücreleri, bir yandan inflamatuvar ve yardımcı T hücre yanıtlarını inhibe ederek fibrozis gelişimini azaltabilir(36). Diğer taraftan, immünsüpresif Treg'lerin, profibrotik fonksiyonlara sahip olduğu düşünülen TGF- β 1 ve trombosit derive büyüme faktörü (PDGF)-B'yi salgılatarak fibrozis gelişimine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir(37). Çalışmamızda hastalar ile kontrol grubu arasında serum Treg yüzdelerinde anlamlı bir farklılık tespit edilmedi (sırasıyla $7,58 \pm 5$ ve $6,2 \pm 3,61$, $P=0,23$). İki grup arasındaki Treg yüzdelerinde benzerlik, çeşitli faktörlere dayanabilir.

Treg'lerin genellikle seviyesi değişmeden süpresör fonksiyonlarının azalması, birçok otoimmün hastalıkta sıkça görülen bir bulgudur. Kotsianidis ve arkadaşlarının çalışmasında, IPF'li hastalardan alınan BAL ve periferik kandaki Treg'lerin, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında, otojen poliklonal T hücrelerinin çoğalmasını bastırmada daha az etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada, Treg yoğunluğu ve mutlak sayısı ile solunum fonksiyon testleri arasında ne BAL ne de periferik kanda anlamlı bir korelasyon gözlenmezken, BAL'da azalmış Treg süpresör fonksiyonunun, FVC ve TLC ile güçlü bir korelasyon gösterdiği bulunmuştur(21).

Çalışmamızda sadece Treg düzeyleri değerlendirilmiş olup, süpresör fonksiyonlarının değerlendirilmesi yapılmamıştır. Bu nedenle, Treg seviyeleri normal olmasına rağmen hastalarda hala Treg süpresör fonksiyonlarının düşük olabileceği düşünülebilir. Bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Hou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 29 erişkin IPF ve 19 Sjögren sendromu ilişkili interstisyel pnömoni hastası ile 23 sağlıklı kontrol grubu incelenmiştir. Bu çalışmada dolaşımdaki CD4+ T hücrelerinde Foxp3 ifadesinin CD25 ifadesi ile orantılı olduğu göz önüne alınarak, CD4+CD25++ T hücreleri üç alt popülasyona ayrılmıştır: dinlenen Treg'ler (CD45RA+/CD25++, Fr I), aktive Treg'ler (CD45RA-/CD25+++, Fr II) ve sitokin salgılayan alt popülasyon (CD45RA-/CD25++, Fr III). Çalışmada, her iki hasta grubunda da azalmış dinlenen Treg fraksiyonları belirlenmiştir. Sjögren sendromu ilişkili interstisyel pnömonide dolaşımdaki aktive Treg'lerin kontrol grubu ile benzer olduğu bulunmuştur ($p = 0,952$). Önemli bir bulgu olarak, IPF'li hastalarda Sjögren sendromlu ve sağlıklı gruba göre aktive Treg fraksiyonunda bir artış gözlenmiştir (sırasıyla $p = 0,003$ ve $p = 0,028$)(20).

Çalışmamızda, yukarıdaki çalışmaya benzer bir gruplama yapılmamıştır. Periferik Treg'ler, CD4+ CD25 yüksek, CD127 düşük, Foxp3 ifadesine sahip hücreler olarak tanımlanmıştır. Hou ve arkadaşlarının çalışmasında IPF grubunda dinlenen Treg düzeylerinin azaldığı, aktive Treg düzeylerinin ise arttığı gözlenmiştir(20). Çalışmamızda anlamlı farklılık bulunmamasının bir diğer nedeni de benzer şekilde farklı gruplamaların yapılmamış olabileceğidir. İleride, örnek çalışmada olduğu gibi farklı Treg popülasyonlarıyla daha fazla hasta içeren hedefe yönelik çalışmalar planlanabilir.

Heterojen bir grup hastalık olan chILD, farklı etiyolojilere ve patojenik mekanizmalara sahiptir. Bu nedenle, Treg'lerin rolü ve seviyeleri tüm chILD tiplerinde tutarlı bir şekilde değişmeyebilir. Hou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, homojen bir hasta grubu çalışmaya dahil edilmiştir(20). Çocuklarda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Ayrıca, Treg seviyelerini ölçme yöntemi (çalışmamızda akış sitometrisi kullanıldı), Treg'lerin kesin tanımı (çalışmamızda CD4+, CD25+++, FOXP3+ CD127 düşük T hücreleri olarak belirlendi), örnek toplama zamanı ve örnek saklama şekli

sonuçları etkileyebilir. Eğer ölçüm yeterince hassas değilse veya tanım fonksiyonel Treg'leri belirtmiyorsa, çalışmalar arasında farklılık görülebilir. Çalışmamızın önemli bir kısıtlılığı, hastalığın nadir görülmesi nedeniyle örneklerinin öncelikle -80 derecede dondurularak daha sonra incelenmesiydi. Bu durum sonuçlarımızı olumsuz yönde etkileyebilir. Ayrıca, Foxp3 dışında Treg hücrelerinin ifade edilebileceğini de unutmamak önemlidir. Treg tanımındaki farklılıklar da literatür arasında çeşitli sonuçlar doğurabilir.

Ayrıca, çocukların bağışıklık sistemleri hala gelişmekte olduğundan, Treg'lerin işlevi ve düzenlenmesi yetişkinlerinkinden farklı olabilir. Bu durum, chILD hastalığında Treg'lerin davranışının, literatürde incelenmiş olan murin örneklerden ve erişkin IPF hastalarından farklı olabileceğini düşündürmektedir. Hastalığın evresi de Treg seviyelerini etkileyebilir. Erken hastalık evresinde, Treg seviyeleri kontrol grubundan belirgin şekilde farklı olmayabilir. Literatürde yapılmış olan çalışmaların çoğu erişkin hastalarda gerçekleştirilmiştir ve hastalık ilerledikçe Treg anormallikleri daha belirgin hale gelebilir.

Çalışmamızda Treg düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmemesine rağmen, hasta grubunun sayısal değerleri kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla $7,58 \pm 5$ ve $6,2 \pm 3,61$). Sonucumuz, belki de hasta sayısının yetersizliğinden dolayı anlamlılığa ulaşamamış olabilir. Sonuçlarımız, çocuk hastalarda Treg'lerin kompensatuvar olarak yükselme eğiliminde olabileceğini işaret ediyor olabilir. Bu ilişkinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda, hastalarımızın bir kısmı steroid tedavisi almış veya almaya devam etmekte idi. Bu durum, sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Ancak, Kotsianidis ve arkadaşlarının erişkin IPF hastaları üzerinde yaptığı prospektif bir çalışmada, BAL ve periferik kan Treg düzeyleri incelenmiştir. Bu çalışmada, günlük 10 mg steroid ve antioksidan tedavisi alan hastalarda steroid öncesi ve sonrasında yapılan değerlendirmelerde BAL ve serumdaki Treg düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir(21). Literatürdeki bulgulara göre, hastalarımızın steroid tedavisi alma durumu bir risk faktörü olmasına rağmen sonuçlarımızı etkilememiş olabilir. Ancak, bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

TGF- β 1, hücre büyümesi, farklılaşma, apoptoz ve hücre dışı matriks üretimi gibi birçok hücreyel süreçte önemli bir rol oynayan güçlü bir sitokindir. Geniş bir hücre çeşitliliği tarafından üretilir ve fibrotik yanıtı uyaran proinflamatuvar ve fibrojenik sitokinlerin ekspresyonunu tetikleyebilir. Aynı zamanda ekstrasellüler matriks üretimini uyararak, özellikle kollajen ve diğer matriks proteinlerinin üretimini artırır. TGF- β , miyofibroblast farklılaşmasının ana indüktörüdür ve fibrotik akciğerlerde artmış TGF- β ifadesi gözlemlenir. Alveolar makrofajlar ve metaplazik tip II alveolar epitelyal hücreler gibi hücreler tarafından üretilir. TGF- β , doku yeniden şekillenmesine katılan moleküllerin üretimini artırırken, anti-fibrotik moleküllerin üretimini bastırır(17, 39, 40, 50, 111). Pulmoner fibrozis gibi fibrozisle karakterize hastalıklarda önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir. Ancak, bazı durumlarda sitokin potansiyel inhibisyonel rolleri de olabilir(39, 111). TGF- β 1'in akciğer fibrozisindeki karmaşık rolünün daha iyi anlaşılması için daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Bununla birlikte, mevcut çalışmaların çoğu hayvan modelleri, deneysel veya erişkin hastalarda yapılmıştır.

Çalışmamızda, TGF- β düzeylerinde hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Ayrıca TGF- β ile klinik parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptanamamıştır. Deneysel akciğer fibrozisi çalışmalarında TGF- β 1 geni ve protein ifadesinin arttığı bildirilmiştir(111). Ayrıca, 2016-2017 yıllarında Zakaria ve arkadaşları tarafından erişkinlerde yürütülen bir çalışmada, 15 IPF hastası ile 15 idiopatik interstisyel pnömoni olgusu ve kontrol grubunun TGF- β 1 seviyeleri incelenmiştir. Sonuçlar, hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla TGF- β 1 düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak, IPF ve diğer idiopatik pulmoner fibrozis hastaları arasında TGF- β 1 düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca TGF- β 1 düzeyi ile 6 dakika yürüme mesafesi arasında anlamlı bir pozitif korelasyon bulunmuştur. (112). Literatür bulguları IPF'nin patofizyolojisinde TGF- β 1'nin potansiyel rolünü vurgulamaktadır(113).

Çalışmamızda bu farklılığın gösterilmemesinin altında yatan birçok neden olabilir. Çalışmamızda TGF- β 1, periferik kan örneğinden izole edilen Treg üzerinden intrasellüler olarak değerlendirilmiştir. Bunun nedeni Treg'lerin İAH'larda öneminin son yıllarda giderek fark edilmesidir. Ancak, yukarıda belirtildiği gibi, TGF- β 1 çeşitli hücreler tarafından üretilmektedir. Çalışmamızda sadece Treg hücreleri üzerinden

değerlendirilen TGF- β 1, farklı dokulardan salgılanan TGF- β 1'in rolünü ihmal etmiş olabilir, bu da hasta ve kontrol grubu arasındaki farklılığın saptanamamasında etkili olabilir.

Ayrıca, çalışmamız, hastalığın nadir doğası nedeniyle oldukça heterojen bir grupta yapılmıştır. Bu nedenle, TGF- β 'nin belki de sadece bazı chILD alt tiplerinde yükseliyor olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Zakaria ve arkadaşlarının çalışması, erişkinlerde çocuklara göre nispeten sık görülen IPF hastalarında yapılmış ve daha homojen bir grup çalışmaya alınmıştır(112). Sonuçlarımız, daha çok sayıda ve daha homojen hasta grubu ile yapılan çalışmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Çalışma sürecinde BAL yapılan hasta olmaması nedeni ile maalesef çalışmamızda sadece periferik kan örneği kullanılmıştır, ancak literatürde yapılan deneysel çalışmalarda çoğunlukla akciğer dokusu veya BAL kullanılmıştır. Kanda genel TGF- β seviyesi, akciğer dokusunda TGF- β aktivitesindeki yerel artışları yansıtmayabilir. Ek olarak, TGF- β düzeylerinin ölçüm zamanı ve yöntemi önemli olabilir. Hastalık ilerledikçe TGF- β ifadesi dalgalanabilir ve tüm aşamalarda yükselmemiş olabilir veya dolaşımdaki değişiklikleri yansıtmayabilir, bunun yerine akciğer dokusunda bölgeselleşebilir. Bu nedenle, çalışmamızın sonuçlarının anlamlılığının anlaşılabilmesi için hem BAL hem de akciğer biyopsisi ile desteklenmesi ve standart zamanlarda örneklem alınması önemlidir.

Literatürde TGF- β genellikle yetişkin pulmoner fibrozis hastalarında araştırılmıştır ve bulunan sonuçlar yaş ile ilişkili bir bulgu da olabilir ve TGF- β kronik süreçte yükseliyor olabilir. chILD'nin patogenezi yetişkinlerdekinden farklıdır ve TGF- β 'nin pediatrik vakalardaki rolü beklediğimiz gibi olmayabilir. İlaveten chILD hastalarında bulunan heterojen ve erişkinden farklı genetik alt yapı, TGF- β ile ilişkili patolojiye karşı farklı genetik duyarlılık yaratmış olabilir ve bu da farklı TGF- β 'ye yanıtlara neden olabilir. Ek olarak, örneklem yetersizliği, kullanılan TGF- β ölçüm testinin duyarlılığı veya metodolojik sorunlar sonuçlarımızı etkilemiş olabilmektedir. Bu nedenle, çocuk hastalarda bu konuda iyi tasarlanmış çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda, periferik kandaki Treg hücreleri üzerinden intraselüler olarak değerlendirilen IL-10 salgılayan hücre yüzdesi, hastalarda ortalama değeri $0,98 \pm 2,63$ (ortalama $\pm$ standart sapma) iken kontrol grubunda $0,41 \pm 0,56$ (ortalama $\pm$ standart

sapma) olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,71$), ancak hasta grubunda IL-10 salgılayan hücre yüzdesinin sayısal olarak daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bergeron ve arkadaşlarının akciğer dokusunda yaptığı çalışmada PIF hastalarında IL-10 düzeyinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, bir başka çalışmada PIF ve sağlıklı kontrol hastalarında serum IL-10 düzeyleri ELISA yöntemiyle karşılaştırıldığında, PIF grubunda IL-10 daha yüksek olduğu görülmüştür.

Literatür ve bulgularımız, İAH'da IL-10 salgılanmasının artabileceğini göstermektedir, ancak bu konuda yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır ve çoğunlukla *in vitro* çalışmalardır. İnterstisyel akciğer hastalığında IL-10 üretiminin artması, bu hastalıkla ilişkili olan inflamatuvar yanıtı azaltmaya yönelik olabilir. İnterlökin-10, akciğer fibrozisi ve diğer organlardaki fibrozis durumlarında karmaşık bir role sahiptir. Bu rol, hedef organın, hastalık tipinin ve evresinin yanı sıra üreten hücre tipine bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Farklı senaryolarda, IL-10 hem fibrozisi artırabilir hem de inflamasyonu azaltarak fibrozisin ilerlemesini önleyebilir(47). IL-10'un akciğer fibrozisindeki çok yönlü etkisi ve *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar arasındaki farklılıklar göz önüne alındığında ve ayrıca IL-10'un etkisinin TGF- β ile simbiyotik bir yol izlediği düşünüldüğünde, IL-10'un interstisyel akciğer hastalıklarındaki rolü hakkında daha fazla veriye ihtiyaç vardır. Bu konuda özellikle akciğerin lokal inflamatuvar durumunu daha iyi yansıtabilmesi için BAL ve akciğer dokusunda yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda, hastalarda Th17 yüzdesinin ortalama değeri $21,21 \pm 11,05$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $19,29 \pm 8,68$ (ortalama $\pm$ SS) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu arasında Th17 yüzdesi açısından anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte ($p=0,29$), hasta grubunda Th17 düzeyinin hafif yüksek olduğu tespit görülmektedir.

Velikova ve arkadaşlarının çalışmasında, bronşiyal astım tanılı 20 hasta, kistik fibrozis tanılı 12 hasta ve alerji öyküsü olmayan 4-17 yaş arası 10 sağlıklı çocuk karşılaştırılmıştır. Periferik kan örneklerindeki Th17 hücreleri (CD3+CD4+CD161+CCR6+) akım sitometrisi ile belirlenmiştir. Ayrıca, serum IL-17A konsantrasyonu ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Bronşiyal astım hastalarının Th17 yüzdesi ($\%12,40 \pm 1.16$), CF çocuklarına göre anlamlı derecede daha yüksek

bulunmuştur(54). Rolla ve arkadaşlarının çalışmasında, skleroderma hastalarında Th17 ile ilişkili sitokinler (IL1- β , IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, IL-23, TGF- β) soluk ve serumda değerlendirilmiş ve yaygın skleroderma tipinde IL-17 düzeyinin serumda normal seviyelerdeyken solukta anlamlı şekilde yüksek bulunduğu gözlemlenmiştir(56). Çalışmamızda serum örnekleri arasında benzer şekilde bir fark bulunmamıştır. Bu durum, Th17 ve ilişkili sitokinlerin lokal etkilerinin daha belirleyici olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda Th17 farklılığın gösterilmemesinin altında yatan birçok neden olabilir. Daha önceki tartışmalarda belirtildiği gibi, hasta heterojenitesi, alınan tedaviler, örnek türü, örnek alma zamanı ve çalışma metodolojisi gibi faktörler, potansiyel bir Th17 ilişkisini göstermemize engel olmuş olabilir. Ancak, çalışmamız ve literatür, hastalığın patogenezinde Th17 hücrelerinin potansiyel bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, bu konuda yeterli sayıda insan çalışması bulunmamaktadır ve chILD grubunda bilginiz dahilinde bir araştırma yapılmamıştır. TH17 ve IL-17'nin fibrozis üzerindeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Özellikle, akciğerin lokal inflamatuvar değişikliklerinin anlaşılması için BAL ve akciğer dokusundan yapılan çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Çalışmamızda ILC1 yüzdelерinin hastalarda ortalama değeri $62,22 \pm 16,55$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $57,10 \pm 12,17$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Her ne kadar hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmasa da ($p=0,47$), hasta grubunda ILC1 değeri hafif yüksek olma eğiliminde olduğu görülmektedir. İnate lenfoid hücrelerin alerjik hastalıklarla ilişkisi son yıllarda giderek daha fazla vurgulanmaya başlamıştır(73).

Son zamanlarda yapılan hayvan ve *in vitro* çalışmalar, ILC'lerin kronik solunum yolu hastalıklarında önemli bir rol oynadığına işaret etmektedir(25, 68).

Son çalışmalar, KOAH hastalarında periferik kanında artmış ILC1 sıklığının hastalık şiddeti ile ilişkili olduğunu ve artmış alevlenme riski ile ilişkilendirildiğini öne sürmektedir(68). Ayrıca, ağır KOAH hastalarının akciğerlerinde hem ILC1'lerin hem de ILC3'lerin arttığı bildirilmiştir(74). ILC1'ler, Th1 ve CD8+ T hücreleri ile birlikte, KOAH patogenezinde rol oynayan IFN-gamma üretimine katkıda bulunurlar. Bu süreçte, alveolar makrofajlar elastolitik proteazların ve nitrik oksit üretiminin

artışına yol açarlar, böylece KOAH'ın gelişimine katkı sağlarlar(68). Sigara dumanına maruz kalan farelerin ILC3 ve ILC1 sayısında artış, ILC2 sayıları azalma raporlanmıştır(82).

ILC'ler ve akciğer fibrozisi ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Çocukluk dönemi interstisyel akciğer hastalıkları ve ILC'lerle ilgili bilginiz dahilinde yapılmış bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle, kendi verilerimizi karşılaştırabileceğimiz önceden yapılmış bir çocuk çalışması da bulunmamaktadır. Sonuçlarımızın farklı açıklamaları olabilir. Öncelikle, hasta sayısının yetersizliği veya hastalar arasındaki heterojenlik nedeniyle sonuçlarımızın anlamlılığa ulaşamamış olabileceğini düşünüyoruz. Bir diğer olasılık ise, ILC'lerin daha fazla dokuda yerleşik olduğu için periferik kanda çocuk hastalarda yüksek seviyelerde bulunmamış olabileceğidir. Ayrıca, chILD'da gözlenen patofizyolojik farklılıkları göz önünde bulundurarak, belki de erişkin IPF hastalarına kıyasla çocuklarda ILC'lerin hastalığın patofizyolojisinde daha sınırlı bir rol oynadığı veya yaşla birlikte rolünün belirginleştiği düşünülebilir. Ayrıca, hastalığın evresine bağlı olarak ILC'lerin rolünün değişebileceğini düşünmekteyiz. Sonuçlarımızın anlamını açıklamak için özellikle akciğer ve BAL örneklerinden yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda, ILC2 değerleri hastalarda ortalama olarak $3,11 \pm 2,26$ (ortalama $\pm$ standart sapma) iken kontrol grubunda ise $4,5 \pm 2,59$ (ortalama $\pm$ SS) olarak ölçüldü. Hasta ve kontrol grupları arasında ILC2 düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,96$). Ancak BO hastaları çıkarılarak yapılan yeni analizde ($n=14$), ILC2 değerleri hastalarda ortalama olarak $2,58 \pm 2,24$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda ise $4,5 \pm 2,59$ (ortalama $\pm$ SS) olarak belirlendi. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC2 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,037$).

Astım hastaları ile karşılaştırıldığında, IPF'de ILC2'lerin rolünü ve fibrozise katkısını inceleyen çok az çalışma bulunmaktadır ve verilerin çoğu hayvan çalışmalarına dayanmaktadır. Bilginiz dahilinde ise literatürde chILD hastalarında daha önce bu konuda yapılmış çalışma bulunmamaktadır(85). ILC2'ler, sigara dumanı kaynaklı KOAH modelinde nötrofil rekrutasyonunu gerçekleştirmiş ve eksiklikleri amfizemden korunmayı sağlamış, ancak IL-13 ve IL-33 seviyelerinin artması yoluyla fibrozu teşvik etmiştir. Ayrıca, ILC2'lerin, akut KOAH alevlenmeleri sırasında Th2

adaptif yanıtlarını desteklemede rol oynadığı gösterilmiştir(68). Alerjik astımda, genellikle tip 2 inflamasyonla ilişkilendirilen, ILC2'lerin periferik kanında sağlıklı bireyler veya alerjik riniti olanlarla karşılaştırıldığında artışlar görülmektedir. Ayrıca, şiddetli astımlı hastalarda, akciğerde ILC2'lerin, eozinofili ile birlikte arttığı raporlanmıştır(68, 76-78). ILC2 kaynaklı IL-13 ise dendritik hücre göçünü uyararak Th2 hücre indüksiyonunu uyarabilmektedir(80). ILC2'lerin IL-4 üretimi, gıda alerjisi yanıtlarında Treg indüksiyonunu engelleyebilmektedir(81).

ILC2'nin literatürde genellikle fibrozis ile ilişkilendirilmesi nedeniyle, çalışmamızda ILC2 değerlerinin düşük bulunması şaşırtıcı görülmektedir. Bu sonucun steroid kullanımı ile ilişkili olabileceği düşünülerek yapılan ikinci analizde ise steroid alan hastalar analizden çıkarıldığında, hastalarda ILC2 düşüklüğünün anlamlılığının halen korunduğunu göstermektedir. Literatürde dinlenme halindeki CD45RA+ ILC2'lerin inflamatuvar CD45RO+ ILC2'lere dönüşümünün kortikosteroidler tarafından baskılandığı; ancak bir kez dönüşüm olduktan sonra ILC2'lerin steroidlere dirençli hale geldiği gösterilmiştir(83). Çalışmamızda ILC2 değerinin hastalarda düşük olması, alınan örneğin periferik tipte olmasına bağlı olabilir ve ILC2 hala akciğerde fibrozis patofizyolojisinde rol oynayabilir. Ek olarak, ILC2'nin hastalığın ileri evrelerinde rol oynayan bir faktör olabileceği ve chILD patogenezi içinde astım veya IPF kadar belirgin bir etkiye sahip olmayabileceği düşünülebilir. Bu ilişkinin aydınlatılabilmesi için özellikle eş zamanlı kan ve BAL örneklerinin incelendiği çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda ILC3 değeri hastalarda ortalama değeri $0,33 \pm 0,34$ (ortalama $\pm$ SS) iken kontrol grubunda $0,36 \pm 0,32$ (ortalama $\pm$ SS) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasında ILC3 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunamadı ($p=0,74$). ILC3'ler, IL-17 ve IL-22'nin erken üreticileri olup, KOAH patogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir. IL-17, KOAH hastalarının periferik kanında yüksek bulunmuştur. Ayrıca, KOAH alevlenmelerinin IL-17 ve nötrofilik infiltrasyon ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir(20).

Literatürde astım ve ILC3'ler ve LTİ hücreleri ile ilgili de oldukça sınırlı bilgi bulunmaktadır; ancak, ILC3 aracılığıyla üretilen IL-17'nin astım hastalarında rolü bulunabileceği düşünülmektedir(68). Çocuk hastalarda ILC3 chILD arasında ilişkiyi inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu arasında

anlamalı bir fark bulunamadı. Bu sonuçların daha net anlaşılabilmesi ve desteklenmesi için ileri çalışmalar gereklidir.

Vimentin, ekstraselüler matriks sentezi ve kollajen üretimi gibi süreçlere katkıda bulunan fibroblastların invazif davranışlarını destekleyerek akciğer yapısının yeniden şekillenmesine katkı sağlayabilmektedir. Ayrıca, yüksek düzeyde vimentin ifadesi ve organizasyonu, fibroblastların artan invazivliklerini teşvik ederek IPF gibi hastalıklarda aşırı skarlaşmaya katkıda bulunabilir. (89, 90). Son araştırmalar, periplakinin akciğerin yanıtını ve remodelleme sürecini düzenleyen önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir. Özellikle IPF’de, periplakin akciğerde alveolar epitel bütünlüğünü korumada rol oynayabildiği belirtilmektedir. Fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, periplakin eksikliğinin anti-enflamatuar bir alveolar ortam oluşturduğunu ve akciğer fibrozunun azaldığını göstermektedir. Çalışmalar periplakinin enflamasyon, fibroz ve hücrel sinyallemeyle etkileyen düzenleyici rolleri olduğunu işaret etmektedir. Ayrıca araştırmalar, periplakin eksikliğinin fibrozis ve enflamasyonun azalmasına yardımcı olabileceğine işaret etmektedir (91, 92).

Çalışmamızda hastalarda ve kontrol grubundaki periferik kan mononükleer hücrelerinde periplakin ve vimentin ifade düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,97$). Ancak daha önce yapılmış bir çocuk çalışması olmaması nedeni ile sonuçlarımızın anlamlılığının ileri çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Çalışmanızın birçok kısıtlılığı bulunmaktadır; ancak, alanında bir pilot çalışma olma özelliği taşıması nedeniyle oldukça önemlidir. Öncelikle, hastalığın nadir olması nedeniyle hasta sayısı kısıtlıdır ve hastaların çok heterojen bir grup olması, tek bir hastalığa özgü istatistiksel analizlerin yapılamamasına ve tüm hastalıkların ortak gruplar altında incelenmek zorunda kalınmasına yol açmıştır. Ayrıca, örneklerin farklı zamanlarda alınmış olması ve -80 derecede dondurulmuş olmaları, çözünerek incelenmeleri sürecinde hücre kaybına neden olabileceği için önemli bir kısıtlılıktır. Bir diğer önemli kısıtlılığı ise hastaların hastalığın ve tedavinin değişik sürelerinde çalışmaya alınmış olması ve sonuçların uygulanan tedavilerden etkilenmiş olma olasılığını yaratmaktadır.

Çalışma sürecinde BAL örneği alınamaması, çalışmanın en önemli kısıtlılıklarından biri olarak görülmektedir. Araştırma planı yapılırken, periferik hücre

ve sitokin düzeylerinin BAL düzeyleri ile karşılaştırılması öngörülmüştü; ancak uygun BAL örneği elde edilememesi büyük bir kısıtlama olarak değerlendirilebilir. Çalışmamızda ayrıca hastaların eski akciğer patoloji preparatları vimentin ve perioplakin ile boyanarak fibrozis açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştı. Ancak örneklerin deparafinize edildikten sonra boyanması sonucunda aşırı zemin aktivitesi tespit edilmiş ve örneklerin değerlendirilmeye uygun olmadığı anlaşılmıştır. Bu nedenle periferik kan örneği ve akciğer fibrozis durumu arasındaki ilişki incelenememiştir.

İnterstisyel akciğer hastalıklarında fibrozisin patogenezinin yeterince anlaşılamaması, tanı ve tedavi alanlarında yeterli ilerlemenin gerçekleşmemesine neden olmaktadır. Mevcut anti-fibrotik tedavilerin çoğu, fibrozisin ilerlemesini yavaşlatmayı hedeflemekle birlikte, bu süreci tamamen iyileştirmek yerine kontrol altına almaya odaklanmaktadır. Dolayısıyla, fibrozisin ilerlemesini değerlendirmek için yeni biyobelirteçlerin yanı sıra etkili terapötik stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu hedefe ulaşmak için, patojenik fibrotik değişikliklerin temel mekanizmalarının daha derinlemesine anlaşılması ve araştırılması gerekmektedir(26, 114, 115). Bu çalışma, chILD hastaları alanında yapılmış en kapsamlı çalışmalardan biri olma özelliğini taşımaktadır.

Pediyatrik İAH'lar heterojen bir grup hastalıktır. Bu hastalık grubunda önemli morbidite ve mortalite görülmesine rağmen, tanımların yetersizliği ve tanı koyma zorlukları tedavi sürecini aksatmaktadır. Şu anda antifibrotik ilaç denemeleri genellikle yetişkin hastalara odaklanmış durumdadır, ancak çocuklarda da fibrozis tedavilerine yönelik adımlar atılması gerekmektedir. Özellikle pediatrik ve yetişkin fenotipleri arasında fibrozis patogenezinde farklılıklar olduğu düşünülerek, çocuklarda fibrotik sürecin aydınlatılmasına yönelik araştırmalar yapılması oldukça önemlidir(96). Çalışmamız bu bağlamda pilot bir çalışma özelliği taşımakta olup, gelecekteki çalışmalar için yol gösterici niteliktedir. Çocuklardaki fibrozisin altında yatan mekanizmanın daha iyi anlaşılması ve biyobelirteçlerin belirlenmesi için merkezler ve ülkeler arası iş birliği büyük önem taşımaktadır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda görüldüğü gibi çocukluk çağı İAH'lar çok geniş bir hastalıklar grubudur.
2. Hastalarımızın ortanca semptom başlama yaşı 48 ay iken tanı yaşı 84 aydır. Literatürde çocukluk çağı İAH'larında tanı yaşı genellikle daha küçüktür ve tanı gecikmesi daha kısa sürelidir. Tanı farkındalığının az olması ve ülkemizde moleküler genetik çalışmaların tanıda daha az kullanılması, bu durumu açıklayabilir. Bu nedenle çocukluk çağı İAH'larıyla ilgili farkındalığın artırılması ve ileri tanı yöntemlerinin daha yaygın kullanılması önerilmektedir.
3. Akrabalık oranı hastaların %40'ında görülmektedir ve Türkiye ortalamasının üstündedir. Bu durum, çocukluk çağı İAH'larının etiyopatogenezinde genetik faktörlerin önemini vurgulamaktadır.
4. Hastaların %30'unda malnutrisyon bulunmaktadır. Malnutrisyon, chILD hastalarında önemli bir sorundur.
5. Tüm hastalık gruplarında en sık karşılaşılan semptomlar nefes darlığı, takipne ve öksürüktür.
6. En sık izlenen fizik muayene bulguları hipoksi, takipne ve krepitan rallerdir.
7. Pnömoni öyküsü hastaların %50'sinde bulunmaktadır ve hastaların %35'inde tekrarlayan pnömoni öyküsü mevcuttur.
8. Çalışmamız, chILD alanında olası immünolojik belirteçleri inceleyen en büyük hasta serisidir.
9. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Treg hüce yüzdesi ortalaması (sırasıyla $7,58 \pm 5$ ve $6,2 \pm 3,61$, $p=0,23$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
10. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen TGF- β ifade eden hücre yüzdesi ortalaması (sırasıyla $31,08 \pm 16,02$ ve $33,16 \pm 14,47$; $p=0,71$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
11. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Treg hücrelerinde intrasellüler olarak değerlendirilen IL-10 salgılayan hücre yüzdesi ortalaması (sırasıyla $0,98 \pm 2,63$ ve $0,41 \pm 0,56$; $p=0,71$) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.
12. Hasta ve sağlıklı kontrol grubunda Th17 yüzdesi (sırasıyla $21,21 \pm 11,05$ ve $19,29 \pm 8,68$ $p=0,29$) ortalaması arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

13. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında ILC1, ILC2 ve ILC3 yüzdesi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).
14. Hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasında intrasellüler periplakin ve vimentin ifadesi açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).
15. Bronşiolit obliterans hastaları çıkarıldıktan sonra yapılan yeni grup (diğer İAH; $n=14$) ile kontrol grubu arasında Treg, Th17, IL-10, TGF- β , ILC1 ve ILC3 açısından anlamlı fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).
16. Bronşiolit obliterans hastaları çıkarıldıktan sonra yapılan yeni grup (diğer İAH; $n=14$) ile kontrol grubu arasında ILC2 açısından anlamlı fark bulunmaktadır (sırayla $2,58 \pm 2,24$ ve $4,5 \pm 2,59$; $p=0,037$).
17. ILC2 ile Treg, Th17, IL-10, TGF- β , ILC1 ve ILC3 hücre yüzdeleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamaktadır ($p>0,05$).
18. Diğer İAH alt grupta ILC2 ve Th17 arasında güçlü bir Pearson korelasyonu saptandı ($r = 0.75$, $p = 0,002$).
19. Treg, TGF- β , IL-10, TH-17, ILC1, ILC2, ILC3 ve VKİ, FEV1%, FCV%, 6-dakika yürüme testi, tanı yaşı, semptom süresi, klinik bulgular ve fizik muayene bulguları arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p>0,05$).
20. Çalışmamızda hastaların eski akciğer patoloji preparatları vimentin ve periplakin ile boyanarak fibrozis açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştı. Ancak örneklerin deparafinize edildikten sonrası boyanması sonucunda aşırı zemin aktivitesi olması nedeni ile değerlendirilmeye uygun bulunmadı.

7. KAYNAKLAR

1. Ferraro VA, Zanconato S, Zamunaro A, Carraro S. Children's Interstitial and Diffuse Lung Diseases (ChILD) in 2020. *Children (Basel)*. 2020;7(12).
2. Laenger FP, Schwerk N, Dingemann J, Welte T, Auber B, Verleden S, et al. Interstitial lung disease in infancy and early childhood: a clinicopathological primer. *Eur Respir Rev*. 2022;31(163).
3. Clement A, Nathan N, Epaul R, Fauroux B, Corvol H. Interstitial lung diseases in children. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5:22.
4. Nathan N, Berdah L, Delestrain C, Sileo C, Clement A. Interstitial lung diseases in children. *Presse Med*. 2020;49(2):103909.
5. Griese M, Irnstetter A, Hengst M, Burmester H, Nagel F, Ripper J, et al. Categorizing diffuse parenchymal lung disease in children. *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10:122.
6. Nogee LM. Interstitial lung disease in newborns. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2017;22(4):227-33.
7. Kurland G, Deterding RR, Hagood JS, Young LR, Brody AS, Castile RG, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(3):376-94.
8. Rice A, Tran-Dang MA, Bush A, Nicholson AG. Diffuse lung disease in infancy and childhood: expanding the chILD classification. *Histopathology*. 2013;63(6):743-55.
9. Steele MP, Schwartz DA. Molecular mechanisms in progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Annu Rev Med*. 2013;64:265-76.
10. Ahluwalia N, Shea BS, Tager AM. New therapeutic targets in idiopathic pulmonary fibrosis. Aiming to rein in runaway wound-healing responses. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(8):867-78.
11. Camelo A, Dunmore R, Sleeman MA, Clarke DL. The epithelium in idiopathic pulmonary fibrosis: breaking the barrier. *Front Pharmacol*. 2014;4:173.
12. Nathan N, Sileo C, Thouvenin G, Berdah L, Delestrain C, Manali E, et al. Pulmonary Fibrosis in Children. *J Clin Med*. 2019;8(9).
13. Sunman B, Kiper N. Fibrotic lung diseases in children. *Pediatr Pulmonol*. 2024.
14. Helling BA, Yang IV. Epigenetics in lung fibrosis: from pathobiology to treatment perspective. *Curr Opin Pulm Med*. 2015;21(5):454-62.
15. Moore BB, Moore TA. Viruses in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Etiology and Exacerbation. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12 Suppl 2(Suppl 2):S186-92.
16. Nathan N, Corvol H, Amselem S, Clement A. Biomarkers in Interstitial lung diseases. *Paediatr Respir Rev*. 2015;16(4):219-24.
17. Fernandez IE, Eickelberg O. The impact of TGF-beta on lung fibrosis: from targeting to biomarkers. *Proc Am Thorac Soc*. 2012;9(3):111-6.

18. Sosulski ML, Gongora R, Danchuk S, Dong C, Luo F, Sanchez CG. Deregulation of selective autophagy during aging and pulmonary fibrosis: the role of TGFbeta1. *Aging Cell*. 2015;14(5):774-83.
19. Galati D, De Martino M, Trotta A, Rea G, Bruzzese D, Cicchitto G, et al. Peripheral depletion of NK cells and imbalance of the Treg/Th17 axis in idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Cytokine*. 2014;66(2):119-26.
20. Hou Z, Ye Q, Qiu M, Hao Y, Han J, Zeng H. Increased activated regulatory T cells proportion correlate with the severity of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 2017;18(1):170.
21. Kotsianidis I, Nakou E, Bouchliou I, Tzouvelekis A, Spanoudakis E, Steiropoulos P, et al. Global impairment of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(12):1121-30.
22. Singh R, Alape D, de Lima A, Ascanio J, Majid A, Gangadharan SP. Regulatory T Cells in Respiratory Health and Diseases. *Pulm Med*. 2019;2019:1907807.
23. Bonora M, Wieckowski MR, Chinopoulos C, Kepp O, Kroemer G, Galluzzi L, Pinton P. Molecular mechanisms of cell death: central implication of ATP synthase in mitochondrial permeability transition. *Oncogene*. 2015;34(12):1608.
24. Wangoo A, Laban C, Cook HT, Glenville B, Shaw RJ. Interleukin-10- and corticosteroid-induced reduction in type I procollagen in a human ex vivo scar culture. *Int J Exp Pathol*. 1997;78(1):33-41.
25. Borger JG, Lau M, Hibbs ML. The Influence of Innate Lymphoid Cells and Unconventional T Cells in Chronic Inflammatory Lung Disease. *Front Immunol*. 2019;10:1597.
26. Hirahara K, Aoki A, Morimoto Y, Kiuchi M, Okano M, Nakayama T. The immunopathology of lung fibrosis: amphiregulin-producing pathogenic memory T helper-2 cells control the airway fibrotic responses by inducing eosinophils to secrete osteopontin. *Semin Immunopathol*. 2019;41(3):339-48.
27. Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory t cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:531-62.
28. Grover P, Goel PN, Greene MI. Regulatory T Cells: Regulation of Identity and Function. *Front Immunol*. 2021;12:750542.
29. Okeke EB, Uzonna JE. The Pivotal Role of Regulatory T Cells in the Regulation of Innate Immune Cells. *Front Immunol*. 2019;10:680.
30. Gershon RK, Kondo K. Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology*. 1970;18(5):723-37.
31. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*. 1995;155(3):1151-64.

32. Sakaguchi S, Vignali DA, Rudensky AY, Niec RE, Waldmann H. The plasticity and stability of regulatory T cells. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(6):461-7.
33. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:531-64.
34. Jiang H, Wu X, Zhu H, Xie Y, Tang S, Jiang Y. FOXP3(+)Treg/Th17 cell imbalance in lung tissues of mice with asthma. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(3):4158-63.
35. Yang X, Huo B, Zhong X, Su W, Liu W, Li Y, et al. Imbalance between Subpopulations of Regulatory T Cells in Patients with Acute Exacerbation of COPD. *COPD*. 2017;14(6):618-25.
36. Wilson MS, Wynn TA. Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation. *Mucosal Immunol*. 2009;2(2):103-21.
37. Lo Re S, Lecocq M, Uwambayinema F, Yakoub Y, Delos M, Demoulin JB, et al. Platelet-derived growth factor-producing CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T lymphocytes promote lung fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(11):1270-81.
38. Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF-beta1 Signaling and Tissue Fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(4).
39. Ye Z, Hu Y. TGF-beta1: Gentlemanly orchestrator in idiopathic pulmonary fibrosis (Review). *Int J Mol Med*. 2021;48(1).
40. Tatler AL, Jenkins G. TGF-beta activation and lung fibrosis. *Proc Am Thorac Soc*. 2012;9(3):130-6.
41. Evans RA, Tian YC, Steadman R, Phillips AO. TGF-beta1-mediated fibroblast-myofibroblast terminal differentiation-the role of Smad proteins. *Exp Cell Res*. 2003;282(2):90-100.
42. Xu Y, Lan P, Wang T. The Role of Immune Cells in the Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Medicina*. 2023;59(11):1984.
43. Tsoutsou PG, Gourgoulisanis KI, Petinaki E, Germanis A, Tsoutsou AG, Mpaka M, et al. Cytokine levels in the sera of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med*. 2006;100(5):938-45.
44. Kurosaki F, Uchibori R, Sehara Y, Saga Y, Urabe M, Mizukami H, et al. AAV6-Mediated IL-10 Expression in the Lung Ameliorates Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice. *Hum Gene Ther*. 2018;29(11):1242-51.
45. Mi S, Li Z, Yang HZ, Liu H, Wang JP, Ma YG, et al. Blocking IL-17A promotes the resolution of pulmonary inflammation and fibrosis via TGF-beta1-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol*. 2011;187(6):3003-14.
46. Hodes GE, Menard C, Russo SJ. Integrating Interleukin-6 into depression diagnosis and treatment. *Neurobiol Stress*. 2016;4:15-22.
47. Steen EH, Wang X, Balaji S, Butte MJ, Bollyky PL, Keswani SG. The Role of the Anti-Inflammatory Cytokine Interleukin-10 in Tissue Fibrosis. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2020;9(4):184-98.

48. Groth A, Vrugt B, Brock M, Speich R, Ulrich S, Huber LC. Inflammatory cytokines in pulmonary hypertension. *Respir Res.* 2014;15(1):47.
49. Martinez JA, King TE, Jr., Brown K, Jennings CA, Borish L, Mortenson RL, et al. Increased expression of the interleukin-10 gene by alveolar macrophages in interstitial lung disease. *Am J Physiol.* 1997;273(3 Pt 1):L676-83.
50. Broekelmann TJ, Limper AH, Colby TV, McDonald JA. Transforming growth factor beta 1 is present at sites of extracellular matrix gene expression in human pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(15):6642-6.
51. Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease. *Chest.* 2004;125(2):754-65.
52. Liu Z, Zhang B, Liu K, Ding Z, Hu X. Schisandrin B attenuates cancer invasion and metastasis via inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One.* 2012;7(7):e40480.
53. Asadzadeh Z, Mohammadi H, Safarzadeh E, Hemmatzadeh M, Mahdian-Shakib A, Jadidi-Niaragh F, et al. The paradox of Th17 cell functions in tumor immunity. *Cell Immunol.* 2017;322:15-25.
54. Velikova T, Lazova S, Perenovska P, Tumangelova-Yuzeir K, Miteva D, Velikov P, et al. Th17 cells in Bulgarian children with chronic obstructive lung diseases. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2019;47(3):227-33.
55. Aschner Y, Khalifah AP, Briones N, Yamashita C, Dolgonos L, Young SK, et al. Protein tyrosine phosphatase alpha mediates profibrotic signaling in lung fibroblasts through TGF-beta responsiveness. *Am J Pathol.* 2014;184(5):1489-502.
56. Rolla G, Fusaro E, Nicola S, Bucca C, Peroni C, Parisi S, et al. Th-17 cytokines and interstitial lung involvement in systemic sclerosis. *J Breath Res.* 2016;10(4):046013.
57. Wilson MS, Madala SK, Ramalingam TR, Gochuico BR, Rosas IO, Cheever AW, Wynn TA. Bleomycin and IL-1beta-mediated pulmonary fibrosis is IL-17A dependent. *J Exp Med.* 2010;207(3):535-52.
58. Gasse P, Riteau N, Vacher R, Michel ML, Fautrel A, di Padova F, et al. IL-1 and IL-23 mediate early IL-17A production in pulmonary inflammation leading to late fibrosis. *PLoS One.* 2011;6(8):e23185.
59. Nie YJ, Wu SH, Xuan YH, Yan G. Role of IL-17 family cytokines in the progression of IPF from inflammation to fibrosis. *Mil Med Res.* 2022;9(1):21.
60. Fuchs A, Vermi W, Lee JS, Lonardi S, Gilfillan S, Newberry RD, et al. Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN-gamma-producing cells. *Immunity.* 2013;38(4):769-81.
61. Gasteiger G, Fan X, Dikiy S, Lee SY, Rudensky AY. Tissue residency of innate lymphoid cells in lymphoid and nonlymphoid organs. *Science.* 2015;350(6263):981-5.
62. Vivier E, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell.* 2018;174(5):1054-66.

63. Klose CSN, Artis D. Innate lymphoid cells control signaling circuits to regulate tissue-specific immunity. *Cell Res.* 2020;30(6):475-91.
64. Adam WR, Koretsky AP, Weiner MW. Potassium adaptation: ³⁹K-NMR evidence for intracellular compartmentalization of K⁺. *Am J Physiol.* 1988;254(3 Pt 2):F401-6.
65. Eberl G, Colonna M, Di Santo JP, McKenzie AN. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science.* 2015;348(6237):aaa6566.
66. Wang X, Peng H, Tian Z. Innate lymphoid cell memory. *Cell Mol Immunol.* 2019;16(5):423-9.
67. Constantinides MG, McDonald BD, Verhoef PA, Bendelac A. A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature.* 2014;508(7496):397-401.
68. Hsu AT, Gottschalk TA, Tsantikos E, Hibbs ML. The Role of Innate Lymphoid Cells in Chronic Respiratory Diseases. *Front Immunol.* 2021;12:733324.
69. Vonarbourg C, Diefenbach A. Multifaceted roles of interleukin-7 signaling for the development and function of innate lymphoid cells. *Semin Immunol.* 2012;24(3):165-74.
70. Sonnenberg GF, Hepworth MR. Functional interactions between innate lymphoid cells and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(10):599-613.
71. Bernink JH, Peters CP, Munneke M, te Velde AA, Meijer SL, Weijer K, et al. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol.* 2013;14(3):221-9.
72. Ghaedi M, Takei F. Innate lymphoid cell development. *J Allergy Clin Immunol.* 2021;147(5):1549-60.
73. Otaki N, Motomura Y, Terooatea T, Thomas Kelly S, Mochizuki M, Takeno N, et al. Activation of ILC2s through constitutive IFN γ signaling reduction leads to spontaneous pulmonary fibrosis. *Nat Commun.* 2023;14(1):8120.
74. Bal SM, Bernink JH, Nagasawa M, Groot J, Shikhagaie MM, Golebski K, et al. IL-1 β , IL-4 and IL-12 control the fate of group 2 innate lymphoid cells in human airway inflammation in the lungs. *Nat Immunol.* 2016;17(6):636-45.
75. Zhang K, Xu X, Pasha MA, Siebel CW, Costello A, Haczku A, et al. Cutting Edge: Notch Signaling Promotes the Plasticity of Group-2 Innate Lymphoid Cells. *J Immunol.* 2017;198(5):1798-803.
76. Winkler C, Hochdorfer T, Israelsson E, Hasselberg A, Cavallin A, Thorn K, et al. Activation of group 2 innate lymphoid cells after allergen challenge in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;144(1):61-9 e7.
77. Hosseini B, Berthon BS, Starkey MR, Collison A, McLoughlin RF, Williams EJ, et al. Children With Asthma Have Impaired Innate Immunity and Increased Numbers of Type 2 Innate Lymphoid Cells Compared With Healthy Controls. *Front Immunol.* 2021;12:664668.

78. Smith SG, Chen R, Kjarsgaard M, Huang C, Oliveria JP, O'Byrne PM, et al. Increased numbers of activated group 2 innate lymphoid cells in the airways of patients with severe asthma and persistent airway eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):75-86 e8.
79. Beuraud C, Lombardi V, Luce S, Horiot S, Naline E, Neukirch C, et al. CCR10(+) ILC2s with ILC1-like properties exhibit a protective function in severe allergic asthma. *Allergy*. 2019;74(5):933-43.
80. Halim TY, Steer CA, Matha L, Gold MJ, Martinez-Gonzalez I, McNagny KM, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. *Immunity*. 2014;40(3):425-35.
81. Noval Rivas M, Burton OT, Oettgen HC, Chatila T. IL-4 production by group 2 innate lymphoid cells promotes food allergy by blocking regulatory T-cell function. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(3):801-11 e9.
82. Donovan C, Starkey MR, Kim RY, Rana BMJ, Barlow JL, Jones B, et al. Roles for T/B lymphocytes and ILC2s in experimental chronic obstructive pulmonary disease. *J Leukoc Biol*. 2019;105(1):143-50.
83. van der Ploeg EK, Golebski K, van Nimwegen M, Fergusson JR, Heesters BA, Martinez-Gonzalez I, et al. Steroid-resistant human inflammatory ILC2s are marked by CD45RO and elevated in type 2 respiratory diseases. *Sci Immunol*. 2021;6(55).
84. Wynn TA. Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis. *J Exp Med*. 2011;208(7):1339-50.
85. Nakatsuka Y, Yaku A, Handa T, Vandenbon A, Hikichi Y, Motomura Y, et al. Profibrotic function of pulmonary group 2 innate lymphoid cells is controlled by regnase-1. *Eur Respir J*. 2021;57(3).
86. Lee JU, Chang HS, Lee HJ, Jung CA, Bae DJ, Song HJ, et al. Upregulation of interleukin-33 and thymic stromal lymphopoietin levels in the lungs of idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulm Med*. 2017;17(1):39.
87. Hams E, Armstrong ME, Barlow JL, Saunders SP, Schwartz C, Cooke G, et al. IL-25 and type 2 innate lymphoid cells induce pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014;111(1):367-72.
88. Ekshyyan O, Aw TY. Apoptosis: a key in neurodegenerative disorders. *Curr Neurovasc Res*. 2004;1(4):355-71.
89. Surolia R, Li FJ, Wang Z, Li H, Dsouza K, Thomas V, et al. Vimentin intermediate filament assembly regulates fibroblast invasion in fibrogenic lung injury. *JCI Insight*. 2019;4(7).
90. Li FJ, Surolia R, Li H, Wang Z, Kulkarni T, Liu G, et al. Autoimmunity to Vimentin Is Associated with Outcomes of Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *J Immunol*. 2017;199(5):1596-605.
91. Taille C, Grootenboer-Mignot S, Boursier C, Michel L, Debray MP, Fagart J, et al. Identification of periplakin as a new target for autoreactivity in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;183(6):759-66.

92. Besnard V, Dagher R, Madjer T, Joannes A, Jaillet M, Kolb M, et al. Identification of periplakin as a major regulator of lung injury and repair in mice. *JCI Insight*. 2018;3(5).
93. Nathan N, Griesse M, Michel K, Carlens J, Gilbert C, Emiralioglu N, et al. Diagnostic workup of childhood interstitial lung disease. *Eur Respir Rev*. 2023;32(167).
94. Ionescu MD, Popescu NA, Stanescu D, Enculescu A, Balgradean M, Capitanescu GM, Bumbacea D. The Challenging Diagnosis of Interstitial Lung Disease in Children-One Case Report and Literature Review. *J Clin Med*. 2022;11(22).
95. Dishop MK. Paediatric interstitial lung disease: classification and definitions. *Paediatr Respir Rev*. 2011;12(4):230-7.
96. Deterding RR, DeBoer EM, Cidon MJ, Robinson TE, Warburton D, Deutsch GH, Young LR. Approaching Clinical Trials in Childhood Interstitial Lung Disease and Pediatric Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(10):1219-27.
97. Clement A, Force ERST. Task force on chronic interstitial lung disease in immunocompetent children. *Eur Respir J*. 2004;24(4):686-97.
98. Kuo CS, Young LR. Interstitial lung disease in children. *Curr Opin Pediatr*. 2014;26(3):320-7.
99. Deterding R. Evaluating infants and children with interstitial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med*. 2007;28(3):333-41.
100. Bush A, Cunningham S, de Blic J, Barbato A, Clement A, Epaud R, et al. European protocols for the diagnosis and initial treatment of interstitial lung disease in children. *Thorax*. 2015;70(11):1078-84.
101. Hime NJ, Zurynski Y, Fitzgerald D, Selvadurai H, Phu A, Deverell M, et al. Childhood interstitial lung disease: A systematic review. *Pediatr Pulmonol*. 2015;50(12):1383-92.
102. Nathan N, Taam RA, Epaud R, Delacourt C, Deschildre A, Reix P, et al. A national internet-linked based database for pediatric interstitial lung diseases: the French network. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:40.
103. Nayir-Buyuksahin H, Emiralioglu N, Kilinc AA, Girit S, Yalcin E, Sismanlar Eyuboglu T, et al. Childhood interstitial lung disease in Turkey: first data from the national registry. *Eur J Pediatr*. 2024;183(1):295-304.
104. Hizal M, Eryilmaz Polat S, Ramasli Gursoy T, Ozsezen B, Ademhan Tural D, Karakaya J, et al. Risk factors for recurrent pulmonary exacerbation in idiopathic pulmonary hemosiderosis. *Pediatr Pulmonol*. 2021;56(5):1060-8.
105. Deutsch GH, Young LR, Deterding RR, Fan LL, Dell SD, Bean JA, et al. Diffuse lung disease in young children: application of a novel classification scheme. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(11):1120-8.
106. Asmaa Alsharkawy EF, Asmaa Mujahed and Yasmin Elgendy. Nutritional assessment and rehabilitation

- in children with bronchiectasis and childhood interstitial lung diseases: effects on pulmonary functions and clinical severity. *Egyptian Pediatric Association Gazette*. 2021;69(42).
107. Nevel RJ, Deutsch GH, Craven D, Deterding R, Fishman MP, Wambach JA, et al. The US national registry for childhood interstitial and diffuse lung disease: Report of study design and initial enrollment cohort. *Pediatr Pulmonol*. 2023.
 108. Clement A, de Blic J, Epaud R, Galeron L, Nathan N, Hadchouel A, et al. Management of children with interstitial lung diseases: the difficult issue of acute exacerbations. *Eur Respir J*. 2016;48(6):1559-63.
 109. Saddi V, Beggs S, Bennetts B, Harrison J, Hime N, Kapur N, et al. Childhood interstitial lung diseases in immunocompetent children in Australia and New Zealand: a decade's experience. *Orphanet J Rare Dis*. 2017;12(1):133.
 110. Luzina IG, Todd NW, Iacono AT, Atamas SP. Roles of T lymphocytes in pulmonary fibrosis. *J Leukoc Biol*. 2008;83(2):237-44.
 111. Coker RK, Laurent GJ, Jeffery PK, du Bois RM, Black CM, McAnulty RJ. Localisation of transforming growth factor beta1 and beta3 mRNA transcripts in normal and fibrotic human lung. *Thorax*. 2001;56(7):549-56.
 112. Zakaria MW, El-Korashy, R.I., Selim, . Serum level of transforming growth factor-beta1 in major idiopathic interstitial pneumonia. *Egypt J Bronchol*. 2020;14(22).
 113. Saito A, Horie M, Nagase T. TGF-beta Signaling in Lung Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8).
 114. Richeldi L, Kolb M, Jouneau S, Wuyts WA, Schinzel B, Stowasser S, et al. Efficacy and safety of nintedanib in patients with advanced idiopathic pulmonary fibrosis. *BMC Pulm Med*. 2020;20(1):3.
 115. Fisher M, Nathan SD, Hill C, Marshall J, Dejonckheere F, Thuresson PO, Maher TM. Predicting Life Expectancy for Pirfenidone in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *J Manag Care Spec Pharm*. 2017;23(3-b Suppl):S17-S24.

8. EKLER

EK 1. Tez Çalışmasıyla İlgili Etik Kurul İzni



T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 - 252

Konu :

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 18 OCAK 2022 SALI
Toplantı No : 2022/02
Proje No : GO 21/1155 (Değerlendirme Tarihi: 02.11.2021)
Karar No : 2022/02-32

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Feyzi İlhan TEZCAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Nural KİPER, Prof. Dr. Diclehan ORHAN, Prof. Dr. Ebru YALÇIN, Prof. Dr. Deniz Çağdaş AYVAZ, Doç. Dr. Nagehan EMİRALIOĞLU, Öğr. Gör. Dr. Sevil Oskay HALAÇLI, Arş. Gör. Dr. Halime Nayır BÜYÜKŞAHİN ile birlikte çalışacakları ve Uzm. Dr. Mina HIZAL'ın yüksek lisans tezi olan, GO 21/1155 kayıt numaralı "*İnterstisyel Akciğer Hastalığı Tanısı ile İzlenen Hastaların İmmünolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi*" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 19 Ocak 2022 – 19 Ocak 2023 tarihleri arasında geçerli olmak üzere etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. G. Burça AYDIA	(Başkan)	8. Doç. Dr. Hande Güney DENİZ	(Üye)
2. Prof. Dr. M. Özgür UYANIK	(Üye)	9. Doç. Dr. Tolga YILDIRIM	(Üye)
3. Prof. Dr. Ayşe Kin İŞLER	(Üye)	10. Doç. Dr. Merve BATUK	(Üye)
		İZİNLİ	
4. Prof. Dr. Sibel PEHLİVAN	(Üye)	11. Doç. Dr. Gülten KOÇ	(Üye)
5. Doç. Dr. H. Tuna Çak ESEN	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR	(Üye)
6. Doç. Dr. Nüket Paksoy ERBAYDAR	(Üye)	13. Av. Buket ÇINAR	(Üye)
7. Doç. Dr. Betül Çelebi SALTİK	(Üye)		

EK 2. Orjinallik Ekran Görüntüsü

İTERSTİSYEL AKCİĞER HASTALIĞI TANISI İLE İZLENEN HASTALARIN İMMÜNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% **18**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **17**

İTERNET KAYNAKLARI

% **11**

YAYINLAR

% **7**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

% **3**

2

www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080

İnternet Kaynağı

% **2**

3

openaccess.hacettepe.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

4

www.wjgnet.com

İnternet Kaynağı

% **1**

5

acikerisim.erbakan.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

6

lab.hacettepe.edu.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

7

Gürkan Genç, Gönül Çaltepe, Ozan Özkaya, Hülya Nalçacıoğlu, Murat Hökelek, Ayhan Gazi Kalaycı. "Kronik Böbrek Yetmezliği Nedeni ile Diyaliz Yapılan Çocuklarda Helikobakter Piloni Enfeksiyonu", Haseki Tıp Bülteni, 2013

% **1**

EK 3. Dijital Makbuz



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Mina Gharibzadeh Hizal
 Ödev başlığı: İNTERSTİSYEL AKCİĞER HASTALIĞI TANISI İLE İZLENEN HAST...
 Gönderi Başlığı: İNTERSTİSYEL AKCİĞER HASTALIĞI TANISI İLE İZLENEN HAST...
 Dosya adı: Mina_HIZAL_tez-_edit_3_May_s_1.docx
 Dosya boyutu: 8.24M
 Sayfa sayısı: 93
 Kelime sayısı: 21,060
 Karakter sayısı: 140,871
 Gönderim Tarihi: 14-May-2024 11:06ÖÖ (UTC+0300)
 Gönderim Numarası: 2379017516



9. ÖZGEÇMİŞ

