
Pulmoner Alveoler Proteinozisli Olgularda Kanda Fagositik Hücre Fonksiyonlarının Değerlendirilmesi#

Fusun ÖNER EYÜBOĞLU*, Paul LANKEN***, Alan D. SCHREIBER**, Milton D. ROSSMAN**

* Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı, ANKARA

** Pennsylvania Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bölümü,

*** Pennsylvania Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Bölümü, PHILADELPHIA

ÖZET

Pulmoner alveoler proteinozis (PAP), etyolojisi bilinmeyen, alveol boşluklarında "Periodic Acid-Schiff (PAS)" pozitif lipoprotein materyal birikimi ile karakterize, akciğerin ender görülen bir hastalıdır. Akciğerlerde sınırlı kalan, progresif hipoksemi ve tekrar eden akciğer infeksiyonlarıyla karakterize bu hastalıkta, tip II pnömositler ve alveoler makrofajlara ait fonksiyon bozukluğu patogenezele sorumlu tutulmaktadır. Granülosit makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF) geni basılanan farelerin akciğerlerinde PAP gelişimini bildiren çalışmalarından esinlenerek, insanda da PAP patogenezinde sistemik bir inflamatuvar hücre disfonksiyonunun neden olabileceğini öne sürdük. On aktif, 5 inaktif PAP'lı, 10 sağlıklı bireyin kan örneklerinde inflamatuvar hücre gruplarının dağılımı (granülosit, monosit, T ve B lenfositler, Naturel Killer (NK) hücreler) ve bunların fagositik fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla yüzelelerindeki fagositozdan sorumlu reseptörler (Fcy reseptör I-III) iki renkli floresan monoklonal antikorlarla boyandı ve flowsitometrik yöntemle incelendi. Sonuçta: 1. Aktif ve remisyon dönem PAP'lı hastalarda sağlıklı gruba göre B lenfosit düzeylerinde anlamlı azalma ($p < 0.05$). 2. Aktif dönem PAP'lı hastalarda kontrol ve remisyon grubuna göre NK hücre düzeylerinde anlamlı artış ($p < 0.05$). 3. Monositlerde aktif grupta FcyRIII reseptör düzeylerinde anlamlı artış ($p < 0.01$). 4. Monositlerde aktif ve inaktif grupta FcyRI reseptör düzeylerinde anlamlı azalma saptanmıştır ($p < 0.01$). Bu sonuçlar fagositik hücre fonksiyonlarını etkileyen, bir sistemik inflamatuvar hücre defektinin PAP patogenezinde etkin olabileceği konusundaki hipotezimizi desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Pulmoner alveoler proteinozis, fagositik hücre fonksiyonları, Fcy reseptörleri.

SUMMARY

Evaluation of Blood Phagocytic Cell Functions in Pulmonary Alveolar Proteinosis Patients

Pulmonary alveolar proteinosis (PAP) is a rare disease characterized by accumulation of PAS (+) lipoproteinaceous material within the alveoli due to unknown etiologies. Dysfunction of type II pneumocytes and alveolar macrophages are suggested to be responsible from the pathogenesis of this lung restricted disease which is characterized by progressive hypoxemia and recurrent pulmonary infections. Development of PAP has been reported in a Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) gene deficient mice. Depending on this animal model, we suggested that, a systemic dysfunction of inflammatory cells may also have a role in human PAP. White blood cells of 10 active, 5 inactive PAP patients and 10 healthy volunteers has been studied to determine inflammatory cell subpopulations and phagocytic receptors intensity on their surface. Cells has been stained with two colored monoclonal antibodies against B cell, NK cell, T cell subset, (CD3,

CD8, CD4) surface receptors and phagocytic receptors on neutrophils and monocytes (FcγRI, FcγRII, FcγRIII). All the samples run through flowcytometric analysis. Following results was obtained from the PAP patients: 1. When compared to healthy group; decreased percent of B cells in both active and inactive PAP patients ($p < 0.05$). 2. Increased percent of NK cells in active PAP patients ($p < 0.05$) while no change in remission PAP patients and control group. 3. Increased percent of monocytes expressing FcγRIII receptors ($p < 0.01$) in active PAP patients while no change in remission patients. 4. Decreased percent of monocytes expressing FcγRI receptors in active and inactive PAP patients ($p < 0.01$). These results account for our hypothesis in the pathogenesis of human PAP, regarding the presence of a systemic inflammatory cell defect which effect phagocytic cell function.

Key Words: Pulmonary alveolar proteinosis, phagocytic cell function, Fcγ receptors.

Bu çalışma ERS Yıllık Kongresi (Eylül 1997)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Pulmoner alveoler proteinozis (PAP) etyolojisi bilinmeyen bir nedenle alveol boşlukları ve bronşiyollerde "Periodic Acid-Schiff (PAS)" pozitif boyanan amorf, lipoproteinöz materyal birikimi ile karakterize, genç erişkinler ve erkekleri daha sık tutan ender bir hastalıktır (1,2). İlk kez 1958 yılında Rosen ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu hastalığa çok ender rastlanması nedeniyle bugün etyoloji ve patogeneze dair halen pekçok soru yanıtlanamamıştır. PAP'lı olguların bir kısmında inorganik toza maruziyet saptanması nedeniyle, etyolojide bu faktörün önemli yeri olabileceği düşünülmüştür (2). Bunun yanı sıra PAP'ın immün yetmezlik, hematolojik maligniteler ile birlikte görüldüğü olgular da bildirilmektedir (3). Patogenezi net olarak bilinmeyen ve akciğerlerde sınırlı olan bu hastalıkta; anormal surfaktan yapımı ya da yıkımındaki bozukluk, tip II alveol hücrelerinin defektli olması ve alveoler makrofajların fagositoz fonksiyonunun bozulması olası mekanizmalar olarak öne sürülmektedir (4).

Drannoff ve arkadaşları 1994 yılında yaptıkları çalışmada, PAP'ın akciğerde lokalize bir patoloji sonucu değil, aksine sistemik bir sitokin defekti sonucu geliştiğini gözlemişlerdir (6). Granülosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) geni bloke edilen farelerin tümünde PAP geliştiğini saptayan araştırmacılar, insanda da PAP'ın GM-CSF sitokinindeki yokluk, yetersizlik ya da fonksiyon bozukluğuna bağlı gelişebileceğini ileri sürmüşlerdir. Son yıllarda PAP'lı olgularda sistemik GM-CSF uygulaması sonucu alınan yüz güldürücü sonuçlar da bu hipotezi desteklemektedir.

Drannoff ve arkadaşlarının sonuçlarından esinlenerek, PAP'ın patogenezi ve PAP'a eşlik eden pulmoner infeksiyonların gelişiminde sistemik bir defekt varlığını araştırmak amacıyla bu çalışma planlandı. Sistemik bir defekt halinde, bunun öncelikle dolaşımdaki inflamatuvar hücrelere (özellikle fagositik hücreler) yansımaları bekleninceğinden, PAP'lı olgularda kanda flow sitometrik yöntem ile fagositik hücrelerin yüzeylerinde bulunan ve fagositozda önemli rolü olan Fcγ reseptör düzeylerinin incelenmesi amaçlandı. Bunun yanı sıra, kanda yine immün yanıtta önemli rol alan lenfosit subpopülasyonlarının dağılımındaki değişiklikler değerlendirildi.

MATERYAL ve METOD

Çalışma Gruplarına Ait Özellikler

Eylül 1994-Mayıs 1996 tarihleri arasında Pennsylvania Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Bölümü'ne başvuran 10 erkek, 5 kadın PAP'lı hasta ve 10 adet sağlıklı gönüllü birey çalışma kapsamına alındı. Progresif efor dispnesi ve eşlik eden hipoksemi varlığı, posteroanterior akciğer grafisinde santralden periferine doğru yayılan asiner ve interstisiyel patern ile uyumlu infiltrasyon ile görünümü olması "aktif PAP" olarak değerlendirildi. Önceden PAP tanısı almış ve terapatik lavaj yapılmış ancak semptomsuz olan, kan gazlarının normal sınırlarda olduğu ve radyolojik olarak normal görünümüne sahip olgularda "inaktif PAP" olarak kabul edildi. Çalışmaya alınan 10 hastada aktif, 5 hastada ise remisyon döneminde PAP saptandı. Hiçbir yakınma ve hastalığı olmayan sağlıklı 10 kişi ise kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışma planlandıktan sonra Pennsylvania Üniversitesi Etik Kurul onayı ve bunu takiben çalışmaya dahil edilen tüm olgulardan gönüllü olduklarına dair yazılı onay alındı. Hastaların yaşları 26 ile 56 arasında değişiyordu (Ortalama yaş: 32.2 ± 3.3). Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin yaşları ise 20 ile 34 arasında değişiyordu (Ortalama yaş: 25 ± 1.6). PAP tanısı, bronkoalveoler lavaj materyalinin ve bronkoskopik biyopsilerin sitolojik ve patolojik değerlendirilmesi ile kondu. Kontrol grubu ise sağlıklı, herhangi bir ilaç kullanmayan bireylerden oluşuyordu.

Deneyin Hazırlanışı

Tedavi ve kontrol amaçlı hastaneye başvuran hastalardan ve sağlıklı gruptan 5 cc venöz kan örneği heparinli vacutainer tüplere alındı. Lenfosit subpopülasyonları ve Fcγ reseptörlerine spesifik olarak bağlanabilen floresan boya ile işaretlenmiş monoklonal antikorlar önerilen konsantrasyonlarda "Phosphate Buffered Saline (PBS)" ile seyreltildi. Çalışmada kullanılan monoklonal antikorlar Tablo 1'de özetlenmiştir. Hazırlanan antikor solüsyonlarının üzerine 100 µl hasta kanı eklenip iyice karıştırıldıktan sonra, işaretlenmiş antikorların hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilmeleri için 20 dakika oda ısısında bekletildi. Daha sonra da 12 dakika, 4°C'de, 1200 rpm hızla santrifüj edildi. Hücrelere bağlanmayan, ortamdaki serbest antikorların temiz-

lenmesi amacıyla yıkama ve santrifüj işlemi üç kez daha tekrarlandı. Daha sonra değerlendirilmeye hazır hale gelen hücreler, "FACScan flow" sitometri cihazında iki renkli olarak çalışıldı.

Monoklonal antikorlarla boyanan hücre subgrupları toplam beyaz küre popülasyona oranlandı ve bu değer yüzde (%) cinsinden değerlendirildi. Ayrıca her subpopülasyonda birim hücreye düşen ortalama floresan madde yoğunluğu "Mean Fluorescence Intensity (MFI)" olarak saptandı. MFI değeri yüzey antijenlerine bağlanan floresan antikor yoğunluğu olup, gerçekte hücrenin yüzeyinde sahip olduğu reseptör yoğunluğunun yansımasıdır. PAP hastaları ile kontrol grubunda bu iki parametreye ait (% , MFI) elde edilen sonuçları Student's t-testi ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma gruplarımızda elde ettiğimiz lenfosit subpopülasyonu ve fagositik hücrelerdeki Fcγ reseptör dağılımı sonuçları Tablo 2'de özetlenmiştir.

Lenfosit Subpopülasyon Dağılımı

Kandaki B lenfositlerin tüm lenfositlere oranına bakıldığında; aktif PAP ve remisyon grubundaki hastalarda, kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı (p < 0.05). T lenfosit popülasyonunda ise aktif ve remisyon PAP olguları ile kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tablo 1. Lökosit subpopülasyonlarının Fcγ reseptörlerin işaretlenmesinde kullanılan monoklonal antikorlar.

Hücre tipi	FITC + ab	PE + ab
Lenfositler		
B lenfositler	AntiCD3	AntiCD19
T lenfositler	AntiCD3	AntiCD19
T helper	AntiCD3	AntiCD4
T süpresör	AntiCD3	AntiCD8
NK hücreler	AntiCD3	AntiCD16 + CD56
Monosit (M), nötrofiller (N)	AntiCD45	AntiCD14
+ kontrol	IgG2b	AntiCD14
FcγRI	AntiCD64	AntiCD14
FcγRII	AntiCD32	AntiCD14
FcγRIII	AntiCD16	AntiCD14

Tablo 2. PAP'lı olgularda kanda lenfosit subpopülasyonu ve fagositik hücrelerdeki Fcγ reseptör dağılımı.

Lenfosit tipleri	Kontrol (%)	Aktif PAP (%)	Remisyon PAP (%)
B lenfosit	16.0 ± 6.2	6.5 ± 2.9 (p< 0.05)	9.3 ± 1.4 (p< 0.05)
T lenfosit	68.2 ± 10.6	61.7 ± 5.7	67.1 ± 4.9
T helper	42.7 ± 12.9	41.1 ± 12.9	41.1 ± 1.5
T süpresör	27.7 ± 5.8	20.1 ± 6.6 (p< 0.05)	25.7 ± 3.6
T hel/sup	1.7 ± 0.8	2.1 ± 0.8 (p< 0.05)	1.6 ± 0.6
NK hücre	5.6 ± 4.0	14.9 ± 5.7 (p< 0.05)	6.2 ± 2.1
Monosit			
FcγRI	8.0 ± 4.6	3.4 ± 2.3 (p< 0.01)	2.5 ± 1.1 (p< 0.01)
FcγRII	28.2 ± 15.3	23.4 ± 12.4	10.2 ± 2.3
FcγRIII	0.4 ± 0.1	3.4 ± 0.4 (p< 0.01)	1.2 ± 0.2
Nötrofil			
FcγRI	0.6 ± 0.4	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1
FcγRII	14.3 ± 1.6	14.3 ± 4.2	8.0 ± 2.6
FcγRIII	30.2 ± 19	28.4 ± 2.2	23.3 ± 2.6

CD4+T helper lenfosit değerleri açısından PAP gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gözlenmezken, CD8+T süpresör lenfosit popülasyonunda aktif PAP'lı olgularda kontrol grubuna göre anlamlı düşüş saptandı (p< 0.05). Remisyon PAP'lılarda ise CD8+T lenfosit oranı kontrol grubu değerlerine çok yakındı.

CD4/CD8 T lenfositlerin oranı aktif PAP'lı olgularda CD8+T lenfosit düzeylerindeki rölatif azalmaya bağlı olarak anlamlı artış gösterirken (p< 0.05), remisyon grubunda bu oran kontrol grubu değerlerine çok yakındı.

NK hücre oranı aktif PAP'lı olgularda belirgin olarak artarken (p< 0.05), remisyon grubunun değerleri kontrol grubuna çok yakındı. Lenfosit subpopülasyonuna ait değerler Şekil 1'de özetlenmiştir.

Fcγ Reseptörü Taşıyan Fagositik Hücrelere Ait Bulgular

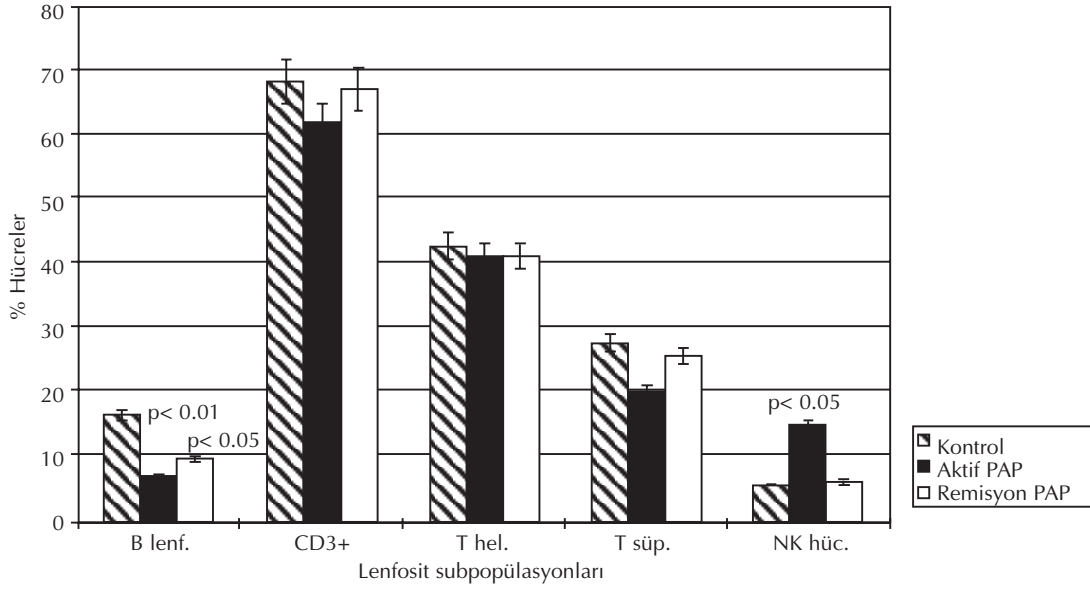
Nötrofil ve monositlerin fagositik yeteneklerinin yüzeylerindeki Fcγ reseptör yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu bilindiğinden, birim hücrede Fcγ reseptör düzeyi ortalama floresans yoğunluğu MFI birimi ile hesaplandı. Normal koşullarda monositlerin yüzeyinde yoğun olarak bulunan FcγRI reseptör düzeyleri kontrol grubu değerle-

riyle karşılaştırıldığında, aktif PAP'lılarda bu değerlerin anlamlı düştüğü, remisyon dönem olgularda ise bu düşüşün devam ettiği gözlemlendi. Her iki hasta grubunda da monositlerin FcγRI reseptör oranındaki düşüş, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p< 0.001).

FcγRII reseptörleri normalde nötrofil ve monositlerin yüzeyinde eşit oranda ve yoğun olarak bulunurlar. Bizim çalışmamızda da kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, her iki hasta grubunun sonuçları arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi.

FcγRIII reseptörler monositlerin yüzeyinde normalde düşük oranda bulunurlar. Çalışmamızda FcγRIII reseptör düzeyleri karşılaştırıldığında; remisyon ve kontrol grubu değerleri birbirine çok yakın bulunurken, aktif PAP'lı olgularda FcγRIII reseptör düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı (p< 0.001).

Sağlıklı bireylerde nötrofillerde çok düşük yoğunlukta bulunan FcγRI reseptörü, MFI değerleri baz alındığında, çalışma gruplarımızda da literatürle uyumlu olarak düşük düzeylerde bulundu. Normal koşullarda nötrofiller üzerinde yoğun olarak bulunan FcγRII reseptör düzeyleri ise çalışmamızdaki her üç grupta birbirine yakın değerlerdeydi. Nötrofillerin FcγRIII antikoru ile bo-



Şekil 1. Aktif PAP (n= 10), remisyon PAP (n= 5), sağlıklı kontrol (n= 10) gruplarında lenfosit subpopülasyonlarında ortalama dağılım değerleri.

yanmasını incelediğimizde ise, FcγRII reseptöründe olduğu gibi, PAP'lı gruplarla kontrol grubu değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi.

Monosit ve nötrofillerin Fcγ reseptör düzeylerine ait sonuçlar ve Şekil 1,2'de özetlenmiştir.

TARTIŞMA

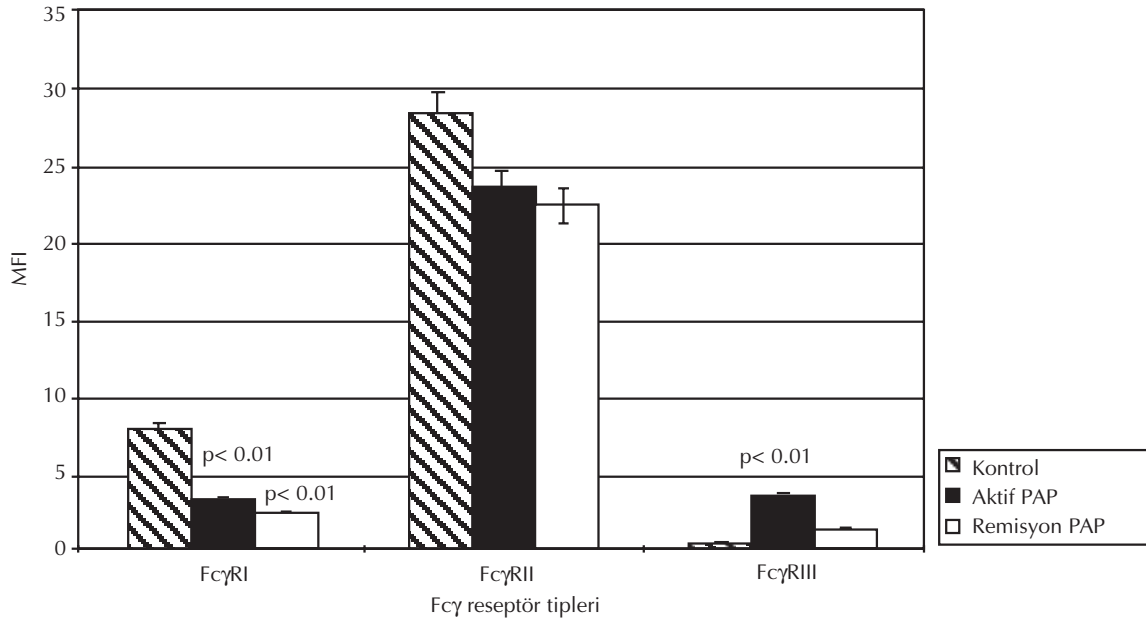
PAP etyolojisi bilinmeyen alveol boşluğunda lipoproteinöz materyal birikimi ile karakterize, akciğerde sınırlı ender görülen bir hastalıktır (1,2,7). Hastaların BAL materyalinde dejenere olmuş tip II alveol hücreleri ve sürfaktan içeren lamellöz yapının saptanması nedeniyle, patogeneze tip II alveol hücreleri tarafından aşırı sürfaktan yapımı ya da dejenere tip II hücrelerde emilim defekti sorumlu tutulmaktadır (1,2,7). Bunun yanı sıra, PAP'lı olgularda alveol boşluğunda biriken materyalin sindirilmesi sonucu, boyutları 5-10 kat büyüyen makrofajların fagositik fonksiyonlarında defekt geliştiği bildirilmiştir (4).

1994 yılında Drannoff ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farelerde PAP'ın sistemik bir defekt sonucu geliştiği saptanmıştır. GM-CSF'in organizmadaki etkilerini değerlendirmek amacıyla GM-CSF geni bloke edilen farelerin tümünde 2 ay içinde akciğerlerinde amorf asellüler eozino-

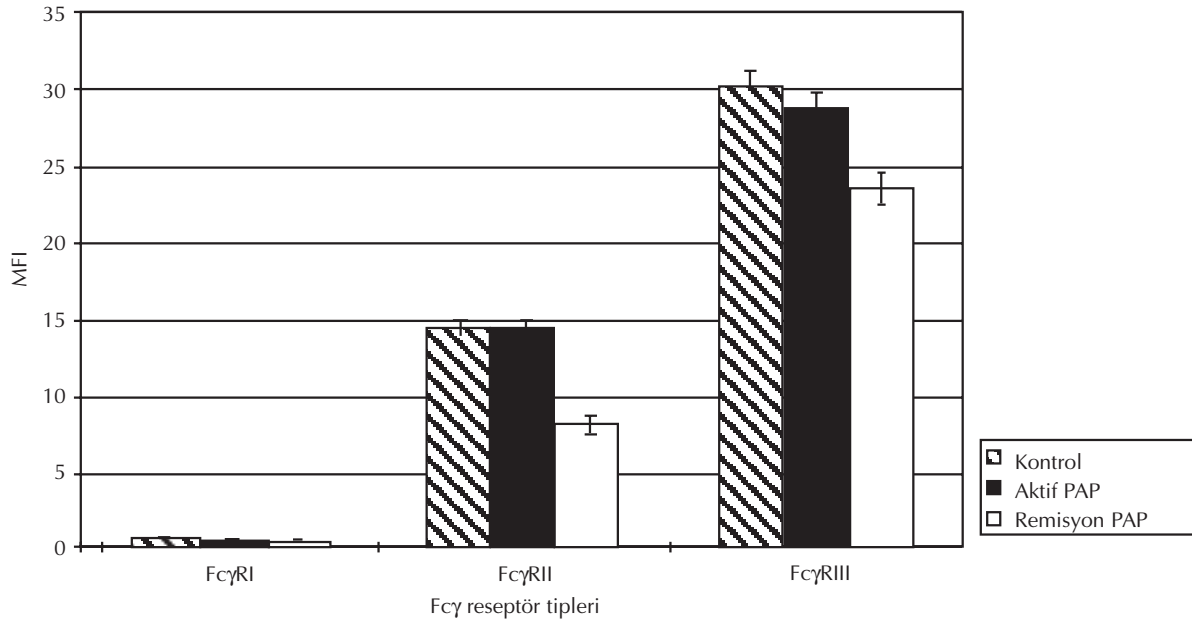
filik materyal birikimi saptanmış ve bu birikimin zaman içinde giderek arttığı gözlenmiştir. Farelerin akciğerlerinin histopatolojik incelemesinde, biriken materyalin insanda tanımlanmış olan PAP'ın histopatolojik bulgularıyla aynı özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (6).

Hematopoetik bir sitokin olan GM-CSF'in, fagositik hücre yapımını indükleyici etkisinin yanı sıra makrofajların yüzeylerindeki Fcγ reseptör düzeylerini artırarak antikor aracılıklı fagositozu uyardığına inanılmaktadır (5,8-11). Öte yandan PAP'lı olguların büyük çoğunluğunda bakteriyel, viral ve mantarlara bağlı akciğer infeksiyonlarına sıkça rastlanmaktadır (1,2,7). Drannoff ve arkadaşlarının çalışmasından yola çıkarak çalışmamızda, yalnız PAP'ın değil, PAP'da gelişen infeksiyonların da sistemik bir defekt sonucu gelişebileceği varsayıldı ve bunu aydınlatmak amacıyla, PAP'lı ve sağlıklı bireylerde sistemik dolaşımdaki fagositik hücrelerin fagositoz yeteneklerini incelemeye yönelik Fcγ reseptör varlığı ve T lenfosit subpopülasyon dağılımına bakıldı.

Çalışmamızda monositler için özgün olan ve yüzeylerinde çok fazla bulunan FcγRI reseptör düzeylerinin, aktif ve remisyon grubu PAP'lı olgularda sağlıklı bireylere göre anlamlı düzeyde azaldığı görüldü ($p < 0.01$). Antikor ile kaplı mik-



Şekil 2. Aktif PAP (n= 10), remisyon PAP (n= 5), sağlıklı kontrol (n= 10) gruplarında monositlerde Fcγ reseptörlerinin ortalama dağılım değerleri.



Şekil 3. Aktif PAP (n= 10), remisyon PAP (n= 5), sağlıklı kontrol (n= 10) gruplarında nötrofillerde Fcγ reseptörlerinin ortalama dağılım değerleri.

roorganizmanın fagositozu monosit ve makrofajlar tarafından, özellikle FcγRI daha az oranda da FcγRII reseptörleri kanalıyla gerçekleşmektedir. Ayrıca FcγRI reseptör düzeyindeki azalmanın özellikle viral ve mantar infeksiyonlarına yatkınlığa neden olduğu bildirilmiştir (8,12). Dolaşım-

daki monositlerin akciğere göç ettiklerinde alveoler makrofaj formuna dönüşerek fonksiyonlarına devam ettiği bilinmektedir (13). FcγRI reseptör düzeyi düşük olan monositler akciğerlerde alveoler makrofaj halini aldıklarında, reseptör düzeylerindeki düşüklüğe bağlı olarak, akciğer-

lerde viral ve mantar infeksiyonlarının gelişme riskinin yükseleceği düşünülebilir.

İnsanda ve farede γ IFN, GM-CSF, TNF- α sitokinleri varlığında monosit ve makrofajlar üzerindeki Fc γ RI reseptör sayısının ve bu reseptörlerin IgG'ye affinitesinin arttığı bilinmektedir (9,13). GM-CSF'in yetersizliğinde, klinikteki en önemli ve tipik göstergenin nötropeni gelişimi olduğundan ve bizim hasta grubumuzdaki olguların hiçbirisinde nötropeni gözlenmediğinden (beyaz küre: 1800-5500/mm³), GM-CSF ile ilgili bir defektin monositlerdeki Fc γ RI reseptör düzeylerindeki azalmanın nedeni olacağını düşünmedik. Ancak, Fc γ RI reseptörlerinin monositler üzerindeki varlığını etkileyen sözkonusu sitokinlerden GM-CSF dışında birinin baskın olarak rol oynadığı inancındayız. Bu varsayımları aydınlatmak amacıyla; PAP'lı hastalarda Fc γ reseptör düzeylerinin ölçümü ile eş zamanlı olarak γ IFN, GM-CSF, TNF- α sitokin düzeylerine bakılması ileriye dönük olarak planlanmıştır.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bir diğer anlamlı sonuç ise aktif PAP'lı olgularda sağlıklı bireylere göre monositlerde anlamlı artış gösteren Fc γ RIII reseptör varlığı idi. Remisyon hastalarında ise Fc γ RIII reseptör pozitifliği açısından sağlıklı gruba göre herhangi bir değişiklik saptanmadı. Bu iki grupta monositlerin hücre duvarlarında çok düşük oranda Fc γ RIII reseptörü bulunurken, sadece aktif PAP'lılarda artış görmemiz, bize hastalığın aktif dönemine özgün gelişen sistemik bir patolojinin varlığını düşündürmektedir. Bu patolojinin de anormal sitokin düzeylerine bağlı olarak geliştiği inancındayız.

Sadece aktif PAP'lı olgularda saptadığımız bir diğer bulgu da sağlıklı ve remisyon grup hastalarına oranla NK hücre düzeylerindeki artışı. NK hücreler sitotoksik aktiviteden sorumludurlar ve yüzeylerinde yüksek oranda Fc γ RIII reseptörü taşırlar (8,9). Ayrıca aktive olduklarında, kendileri γ IFN salgılayarak fagositik hücrelerde Fc γ RII reseptör oranını artırmak yoluyla sitolitik fonksiyonları uyarırlar (14,15). Dolayısıyla aktif PAP'lılarda NK hücre popülasyonunda saptadığımız bu anlamlı artışın, PAP'da kilit rol oynayabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda aktif ve remisyon dönem hasta gruplarında sağlıklı bireylere göre B lenfosit popülasyonunda saptadığımız anlamlı düşüş fagositozu farklı şekillerde etkileyebilir: B lenfositlerin sayısal olarak yetersiz olması Ig yapımında da yetersizliği beraberinde getirir (8,9). Böyle bir sistemik defekt, fagositozda rol alan IgG tipi antikorlarda da düşüşe yol açacağından, PAP'lı olgularda antikor aracılıklı fagositoz yeteneğinde düşüş beklenir. Bu olasılık da PAP'lı olguların infeksiyona yatkınlığını açıklayıcı nedenlerden biri olarak kabul edilebilir. Kandaki fagositik hücrelerde saptanan bu anormal sonuçlara dayanarak PAP'ın lokalize bir hastalık olmadığı ve sistemik bir patoloji sonucu geliştiği görüşünü desteklemektedir. Drannoff ve arkadaşlarının savunduğu gibi olayın özünde hem bir sitokin defekti hem de antikor aracılıklı fagositozu engelleyecek makrofaj defekti yatıyor olabilir. Bu patoloji ile de PAP'da sekonder pulmoner infeksiyonların sıklığındaki artışın nedeni açıklanabilir.

PAP'lı olgularda sıkça görülen *Mycobacterium* ve *Nocardiosis* infeksiyonları antikordan bağımsız olarak, doğrudan fagositozla gerçekleşmektedir (5,16). Dolayısıyla, PAP'da makrofajların antikor bağımlı ve/veya bağımsız fagositoz fonksiyonunu etkileyen sistemik bir defektin sözkonusu olabileceği de düşünülebilir. İleride bu fonksiyonların da değerlendirmesine yönelik çalışmalar planlanmaktadır.

PAP'lı olgularda yapılan sınırlı çalışmaların çoğunda GM-CSF geninde beta kolunda bir mutasyonu saptamıştır (17,18). Buna karşın PAP'lı bir olguda bronş lavajında GM-CSF genine ait defekt olmadığı, ancak lavaj hücrelerinin GM-CSF yapamadıkları gözlenmiştir (19). Günümüzde GM-CSF geni verilerek tedavi edilen PAP'lı olgular gözönüne alındığında GM-CSF'in genetik defektinden çok sitokinin moleküler yapısındaki ya da salınımındaki bir defektin sürfaktan birikimine neden olabileceği inancındayız (19).

Çalışmaya başladığımızda amacımız, PAP'lı olgularda kanda ve BAL'da hücre dağılım ve fonksiyonlarını ve sitokin profilini incelemektir. Ancak PAP'lı olgulara oldukça ender rastlanması çalışmayı sınırlayan bir faktördü. Bunun yanı sıra, PAP'lı olgulardan elde edilen BAL'da akciğer hücrelerinin lipoproteinöz materyalden izolasyonu yapılamadığından alveoler makrofajlarla ilgili

li çalışılmalar planlanamadı. BAL'dan alveoler makrofajlar izole edilebildiğinde yüzey Fcγ reseptörleri ve lenfosit subpopülasyonları incelenebilecektir. Bunun yanısıra kanda ve BAL'da fagositozda etkin olan sitokin düzeylerinin eş zamanlı olarak ölçülebilmesi ve hücrelerdeki anti-kor bağımsız fagositozun da değerlendirilebilmesi halinde çalışmamızın daha da anlamlılık kazana-çağı inancındayız.

Sonuç olarak; PAP'ın sadece akciğerde lokalize bir patoloji değil, sistemik bir immünolojik bozukluğun sonucu gelişebileceğini bizim çalışmamız da desteklemektedir. Olası sistemik defekte ikincil olarak akciğer enfeksiyonlarına yatkınlığın da yüksek olması beklenen bir bulgudur. Makro-faj ve fagositoz immünolojisine yönelik ileri çalışmaların patogenezi bilinmeyen bu hastalığa ışık tutacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Claypool WD. Pulmonary alveolar proteinosis. In: Fishman AP (ed). Pulmonary diseases and disorders. New York: McGraw-Hill 1988; 57: 893-901.
2. Wasserman K, Mason G. Pulmonary alveolar proteinosis chapter. In: RM Murray (ed). Clinics in Chest Diseases 1995; 64: 1933-45.
3. Cordonnier C, Fleury-Feith J, Escudier E, et al. Secondary alveolar proteinosis is a reversible cause of respiratory failure in leucemic patients. Am J Respir Crit Care Med 1994; 149: 788-94.
4. Golde DW, Territo M, Finley TN, Cline MJ. Defective lung macrophages in pulmonary alveolar proteinosis. Ann Int Med 1976; 85: 3994-9.
5. Wittig LA, Tapson VF, Piantadosi CA. Isolation of mycobacteria in patients with pulmonary alveolar proteinosis. Medicine 1994; 73: 103-9.
6. Drannoff G, Crawford AD, Sadelain M, et al. Development of pulmonary alveolar proteinosis in granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor deficient mice science 1994; 264: 713-6.
7. Larson RK, Gordinier R. Pulmonary alveolar proteinosis: Report of 6 cases. Review of the literature and formulation of a new theory. Ann Intern Med 1965; 62: 292-312.
8. Janeway CA, Travers P. The humoral immun response. In: Immunobiology. New York: Garland Publishing Inc 1996: 8.1-8.50.
9. Silverstein SC, Greenberg S, Di Virgilio F, Steinberg TH. Phagocytosis. In: Paul WE (ed). Fundamental of Immunology. New York: Raven Press 1989: 703-20.
10. Schreiber AD, Rossman MD, Levinson AI. The immunobiology of human Fcγ receptors. Clinical Immunology and Immunopathology 1992; 62: 66.
11. Collins H, Brancroft G. The role of GM-CSF on phagocytic cells. Eur J Immunol 1992; 22: 1447-53.
12. Indik ZK, Park YJ, Hunter S, Schreiber AD. The molecular dissection of Fcγ receptor mediated phagocytosis. Blood 1995; 86: 4389-99.
13. Rossman MD, Douglas SD. The Alveolar macrophage: Receptors and effector cell function. In: Daniele RP (ed). Immunology and Immunologic Diseases of the Lung. Cambridge: Blackwell Scientific Publications 1988: 166-83.
14. Colon AR, Lawrence RD, Mills SD, O'Connell EJ. Childhood pulmonary alveolar proteinosis. Am J Dis Child 1971; 121: 481-5.
15. Parto K, Maki J, Pelliniemi LJ, Simell O. Pediatric patients with lysinuric protein intolerance are predisposed to develop alveolar hemorrhage and pulmonary alveolar proteinosis. Arch Path Lab Med 1994; 118: 536-41.
16. Janeway CA, Travers P. The immun system in health and disease. In: Immunobiology. New York: Garland Publishing Inc 1996: 2.28-2.29.
17. Dirksen U, Nishinakamura R, Groneck P, et al. Human pulmonary alveolar proteinosis associated with a defect in GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta chain expression. J Clin Invest 1997; 100: 2211-7.
18. Tchou Wong KM, Harkin TJ, Chi C, et al. GM-CSF gene expression is normal but protein release is absent in a patient with pulmonary alveolar proteinosis. Am J Respir Crit Care Med 1997 156: 1999-2002.
19. Seymour JF, Begley CG, Dirksen U, et al. Attenuated hematopoietic response to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with acquired pulmonary alveolar proteinosis. Blood 1998; 92: 2657-67.

Yazışma Adresi:

Dr. Füsün ÖNER EYÜBOĞLU
Fevzi Çakmak Cad. 10. Sok. No: 45
06490, Bahçelievler, ANKARA