

---

# Akciğerde sigaraya bağlı patolojik değişimler, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının değerlendirilmesi

Ferah KARAYEL<sup>1</sup>, Işıl PAKIŞ<sup>1</sup>, Arzu AKÇAY TURAN<sup>1</sup>, Büge ÖZ<sup>2</sup>, Safa ÇELİK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesi,

<sup>2</sup> İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,

<sup>3</sup> İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, İstanbul.

## ÖZET

*Akciğerde sigaraya bağlı patolojik değişimler, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarının değerlendirilmesi*

Sigaranın akciğerlerde solunum fonksiyonlarının belirleyici bölgesi olan periferik hava yollarına etkisi olduğu bilinmektedir. Çalışmaya, ölümü kardiyopulmoner nedenlere bağlı olmayan ve sigara içme öyküsü olan otopsi olguları ile, sigara içtiği bilinen, akciğer rezeksiyonu yapılmış 52 olgu alındı. Sigara içme öyküsü olmayan ve sistemik hastalığı bulunmayan 10 olgu da histopatolojik değerlendirmede kontrol grubu olarak kullanıldı. Olgulara ait akciğerlerden santral ve periferik hava yolları (1., 2., 3. divizyon) ve her lobdan bir parankim örneği olmak üzere doku örnekleri alındı. Ayrıca yaş, cinsiyet, sigara içme miktarı ve süresi (paket-yıl) ve akciğerde saptanan histopatolojik değişimler ışık mikroskobu ile değerlendirildi, tüm parametrelerin birbirleriyle ilişkileri araştırıldı, kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Distal, küçük çaplı hava yollarında 14 (%26.9) olguda respiratuar bronşiyolit, 16 (%30.7) olguda interstisyel akciğer hastalıklarına eşlik eden respiratuar bronşiyolit saptandı. İki (%3.8) olgu deskuamatif interstisyel pnömoni olarak değerlendirildi. Akciğer doku örneklerine akciğerde sigaraya bağlı obstrüktif hastalıkların gelişimi ve onarımında rolleri bilinen matriks metalloproteinazlarından MMP-9 ve matriks metalloproteinaz inhibitörü olan TIMP-1'in immünohistokimyasal yöntemle ekspresyonları araştırıldı. Tüm olguların MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları mevcut patolojik bulgular ve kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. MMP-9, TIMP-1'in alveoler makrofaj, endotel ve epitelial hücrelerden eksprese oldukları görüldü. Respiratuar bronşiyolit, interstisyel akciğer hastalıklarına eşlik eden respiratuar bronşiyolit, deskuamatif interstisyel pnömoni olgu grupları arasında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 yoğunlukları açısından istatistiksel anlamlı farklılık elde edilemedi. Ancak, deskuamatif interstisyel pnömoni olgularında alveoler makrofajlarda MMP-9 ekspresyonu belirgin olmasına karşın TIMP-1 ekspresyonu saptanmadı. Alveoler makrofajlarda, MMP-9 ile kontrol grubuna göre daha yoğun ve yaygın pozitif reaksiyon görüldü. Sonuç olarak; sigara alışkanlığının derecesi ve sigara içim süresi ile MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları arasında an-

---

## Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Ferah KARAYEL, Havacı Muzaffer Sokak Anık Apartmanı No: 7/2 Yeşilköy

İSTANBUL - TURKEY

e-mail: ferahkarayel@mynet.com

lamli ilişki bulunmamasına karşın, sigaraya bağlı akciğer hasarında alveoler makrofajların ön planda olduğu ve MMP-9'un bu hücrelerden kontrol grubuna göre daha yoğun eksprese oldukları görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Akciğer, sigara, interstisyel akciğer hastalıkları, MMP-9, TIMP-1.

## SUMMARY

### Assessment of smoking related pathologic changes and MMP-9, TIMP-1 expressions of the lung

Ferah KARAYEL<sup>1</sup>, Işıl PAKIŞ<sup>1</sup>, Arzu AKÇAY TURAN<sup>1</sup>, Büge ÖZ<sup>2</sup>, Safa ÇELİK<sup>3</sup>

<sup>1</sup> National Forensic Institute of Ministry of Justice, Cerrahpasa, Istanbul, 34098, Turkey

<sup>2</sup> Department of Pathology, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey,

<sup>3</sup> Department of Forensic Medicine, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Istanbul University, Istanbul, Turkey.

The impact of smoking on the peripheral airways, the determining field of respiratory functions in the lungs, is well known. Fifty two cases were included in the study; autopsy cases of non-cardiopulmonary related deaths with a smoking history, and cases with lung resection, known as smokers. Ten cases without a smoking history and a systemic disease were used as a control group at the histopathological examination. Parenchymal samples were taken from the central and peripheral airways (1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> division) and from each lob. In addition, age, gender, amount and duration of smoking (package/year) were considered and histopathological changes of the lung are evaluated under the light microscope. The relations of all parameters to each other are evaluated and compared with the control group. On the distal airways with small diameter, Respiratory Bronchiolitis (RB) was determined in 14 (26.9%) cases, and Respiratory Bronchiolitis-associated interstitial lung disease (RB-ILD) in 16 (30.7%) cases. Two (3.8%) cases were diagnosed as Desquamative Interstitial Pneumonia (DIP). MMP-9, a matrix metalloproteinase known for its role in the development and repair of obstructive diseases of the lung related to smoking, and TIMP-1, an inhibitor, were used on the lung samples by means of immunohistochemical method. MMP-9 and TIMP-1 expressions of all cases were compared statistically with the existing pathological findings and the control group. MMP-9, TIMP-1 were expressed from the alveolar macrophages, endothelial and epithelial cells. Considering the MMP-9 and TIMP-1 density of alveolar macrophages, no statistically significant differences were found among the RB, RB-ILD and DIP case groups. However; despite of the significant MMP-9 expression of the DIP cases, TIMP-1 expression could not be determined. Compared to the control group, a more intensive and widespread positive reaction on MMP-9 was found in the alveolar macrophages. In conclusion, although there was no significant relation between the level and duration of smoking and the MMP-9 and TIMP-1 expressions, alveolar macrophages were found to be more important in lung damage related to smoking and the MMP-9 expression from these cells to be more intensive than the control group.

**Key Words:** Lung, smoking, interstitial lung diseases, MMP-9, TIMP-1.

Normal akciğer dokusunun en önemli fagositik hücresi alveoler makrofajlardır. Sigara hava yollarında inflamasyon oluşturup alveoler makrofaj sayısını da artırarak amfizem gelişimine zemin hazırlamaktadır (1,2). Sigara ile ilişkili akciğer patolojilerinde hedef periferik iletili hava yollarından solunumsal fonksiyonun en belirleyici bölgesi olan terminal ve/veya respiratuar bronşiyollerdir (3).

Farklı çalışmalarda sigaraya bağlı gelişen interstisyel akciğer hastalıklarından en sık rastlanılanların deskuamatif interstisyel pnömoni (DİP), in-

terstisyel akciğer hastalıklarına eşlik eden respiratuar bronşiyolit (RB-İAH), pulmoner Langerhans histiyositozu ve idiyopatik pulmoner fibrozis (İPF) olduğu bildirilmektedir (4,5). RB-İAH interstisyel akciğer hastalıklarının hafif formu olup, respiratuar bronşiyol ve bitişik alveollerde pigment yüklü makrofajların birikimi ile karakterize kronik bronşiyolittir (6,7).

Akciğer patolojilerinin gelişiminde hasar ve onarım sürecinde rolleri bilinen nötral proteazlar ailesinden çinko bağımlı enzimler olan matriks

metalloproteinazlarından MMP-9 ve metalloproteinaz inhibitörü olan TIMP-1'in sigara ile ilişkili ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'nın karakteristik bulgusu olan hava yolu obstrüksiyonunda rol oynadıkları bilinmektedir (8). MMP'ler kollajen, elastin gibi yapısal proteinleri parçalayarak etkilerini gösterir. MMP'lerin etkileri bir serum proteini olan  $\alpha 2$  makroglobulin ve TIMP'ler tarafından inhibe edilir (8). MMP'lerin artmış ekspresyonu ve MMP/TIMP arasındaki dengesizlik hava yolu obstrüksiyonunun en önemli nedeni olarak bildirilmektedir (9). MMP-9/TIMP-1 oranı ile sigara içim yoğunluğu arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır (10).

Çalışmada amacımız, sigara içim öyküsü olan otopsi ve akciğer rezeksiyon materyallerinde santral, periferik ve parankimal akciğer örneklerinde patolojik değişimleri tanımlamak, bulgularını sigara içmeyen kontrol grubuyla karşılaştırmak, MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonlarını değerlendirmektir.

#### MATERYAL ve METOD

İstanbul Adli Tıp Kurumu Morg İhtisas Dairesinde otopsileri yapılan, travma sonucu öldüğü bilinen, ölümü kardiyopulmoner nedenlere bağlı olmayan ve sigara içme öyküsü olan otopsi olguları ile, Yedikule Göğüs Hastalıkları Hastanesinde akciğer rezeksiyonu yapılmış sigara içtiği bilinen 52 olgu çalışmaya alındı. Sigara içme öyküsü olmayan ve sistemik hastalığı bulunmayan 10 otopsi olgusu da histopatolojik değerlendirmede kontrol grubu olarak kullanıldı.

Olgulara ait akciğerlerden santral ve periferik hava yolları (1., 2., 3. divizyon) ve her lobdan bir parankim örneği olmak üzere doku örnekleri alınan 5  $\mu$ 'luk kesitler Hematoksilen-Eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Ayrıca, tüm olgularda yaş, cinsiyet, sigara içme miktarı ve süresi (paket-yıl) belirlendi. Mikroskopik değerlendirmede, rastlantısal seçilen alanlarda santral ve periferik hava yollarında duvar kalınlığı, bazal membran kalınlaşması, epitel değişiklikleri, seromukoz gland kalınlığının artışı, bronş konstrüksiyonu, lümende hemosiderin yüklü makrofajlar, bronş ve alveollerde iltihabi hücre infiltrasyonunun varlığı değerlendirildi. Ayrıca, çevre alveol lümenlerinde hemosiderin yüklü makrofajlar, in-

terstisyel fibrozis, pnömonik infiltrasyon, farklı alanlarda bronkovasküler yapı ve visseral plevrada karbon partiküllerinin varlığı, ayrıca amfizemin derecesi ve yaygınlığı araştırıldı.

Elli iki olgu arasından seçilen 30 olguya immünohistokimyasal yöntemle MMP-9 ve TIMP-1 uygulandı. Rastgele seçilen 5 olgu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

İmmünohistokimyasal tekniğin uygulanmasında, 56°C'lik etüvde bir gece bekleyen kesitlere deparafinizasyon ve dehidratasyon işlemleri uygulandıktan sonra Anti-Polivalent kit kullanılarak Streptavidin yöntemiyle immünohistokimya uygulandı. Alveoler makrofaj, bronş epitel hücresi, damar endoteli, polimorfonükleer lökositlerin MMP-9 ve TIMP-1 primer antikoruna ile sitoplazmik kahverengi boyanmaları yaygınlık ve yoğunlukları boyanma yok, fokal ve zayıf boyanmalar, yoğun ve yaygın boyanmalar şeklinde derecelendirildi. Sonuçlar içilen sigara miktarı ve süreleriyle, ayrıca histopatolojik parametrelerle karşılaştırıldı. Çalışmada değerlendirilen parametrelerin birbirleriyle ve kontrol grubu arasındaki ilişkileri istatistiksel olarak ki-kare testi ve Spearman korelasyon testi ile araştırıldı.

#### BULGULAR

Olguların 45 (%86.5)'i erkek, 7 (%13.5)'si kadındı. Yaşları 28-70 arasında değişmekte olup, median yaş 48.7  $\pm$  10.0, sigara içme süresi 10-60 paket-yıl arasında değişmekteydi. On iki (%23) olguda sigara içme süresi ve miktarı hakkında bilgiye ulaşılamadı.

#### Histopatolojik Bulgular

Proksimal bronş değişiklikleri değerlendirildiğinde, toplam 17 (%32.6) olguda kronik bronşit saptanmış olup, bu olguların 10 (%58.8)'unda kronik bronşit RB-İAH ile birliktelik göstermekteydi. Üç (%5.7) olguda bronkopnömoni, 1 (%1.9) olguda DİP'e eşlik eden akut bronşit saptandı. Ayrıca, 6 (%11.5) olguda bronş konstrüksiyonu, 10 (%19.2) olguda bronş epitelinde skuamöz metaplazi, 9 (%17.3) olguda peribronşiyal pigment artışı görüldü.

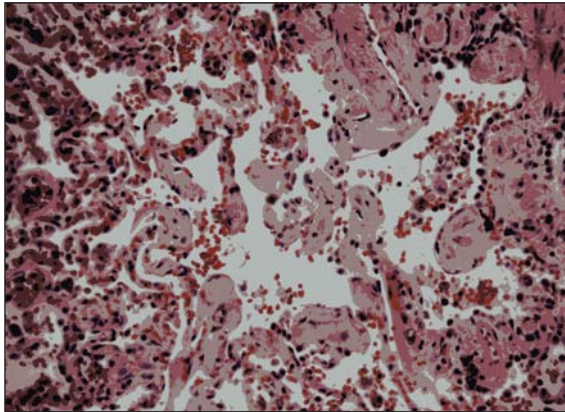
Distal, küçük çaplı hava yollarında 14 (%26.9) olguda RB, 16 (%30.7) olguda RB-İAH saptandı

(Resim 1). İki (%3.8) olgu DİP olarak değerlendirildi (Resim 2). Toplam 16 (%30.7) olguda amfizem saptanmış olup, 12 (%75) olguda amfizem RB ve RB-İAH olgularına eşlik etmekteydi.

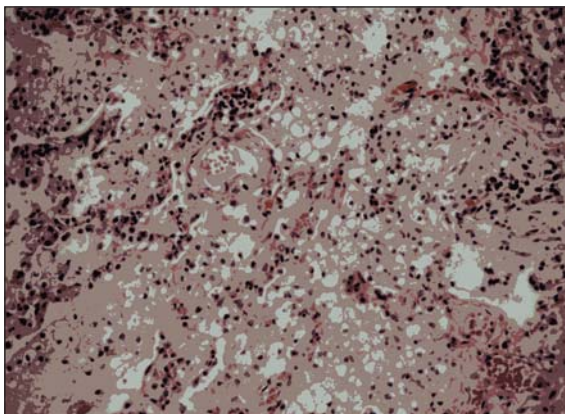
Kontrol grubunda 10 olgunun 9 (%90)'unda hafif-orta yoğunlukta hemosiderin yüklü makrofaj grupları, 1 (%10) olguda ise aktif kronik bronşit saptandı.

### İmmünohistokimyasal Bulgular

Çalışmada yer alan olgu gruplarında alveoler makrofaj, bronş epitel hücresi, damar endoteli, polimorfonükleer lökositlerin ve seromuköz gland epitelinde MMP-9 ve TIMP-1 primer antikoları ile boyanma özellikleri Tablo 1'de verilmektedir.



Resim 1. İnterstiyel akciğer hastalıklarına eşlik eden respiratuar bronşiyolit olgusunda peribronşiyal interstisyel fibrozis, komşu alveol lümenlerinde hemosiderin yüklü makrofajlar (HE, x400).



Resim 2. Deskuamatif interstisyel pnömoni olgusunda alveol lümenlerinde yaygın hemosiderin yüklü makrofajlar (HE, x400).

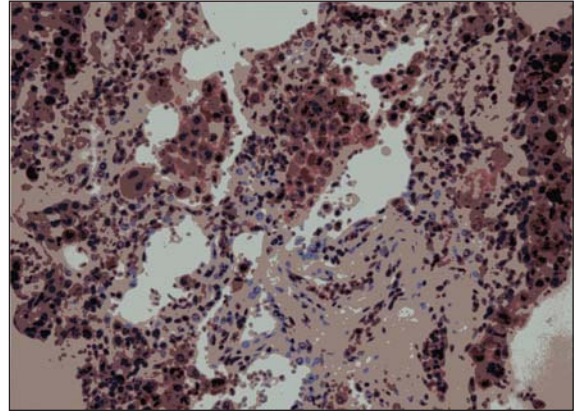
### MMP-9 Boyanma Sonuçları

RB, RB-İAH ve DİP olgularının tümünde alveoler makrofajlarda MMP-9 primer antikoru ile pozitif boyanma saptandı (Resim 3,4).

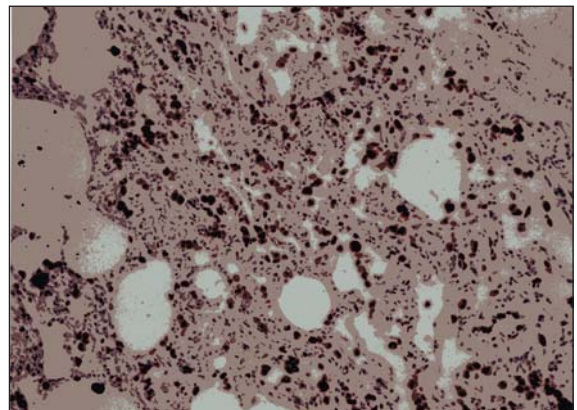
RB, RB-İAH ve DİP olgularında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 ile boyanma yoğunlukları Tablo 2'de görülmektedir.

Kontrol grubunda yer alan 5 olguda ise, alveoler makrofajlarda fokal, zayıf boyanmalar şeklinde MMP-9 pozitifliği görüldü.

MMP-9'un sigaraya bağlı akciğer hasarında alveoler makrofajlar, endotel ve epitel hücreleri tarafından salgılandığı saptandı.



Resim 3. İnterstiyel akciğer hastalıklarına eşlik eden respiratuar bronşiyolit olgusunda alveol lümenlerinde görülen alveoler makrofajlarda MMP-9 ile yaygın ve yoğun pozitiflik (anti-MMP-9, x400).



Resim 4. Deskuamatif interstisyel pnömoni olgusunda alveol lümenlerinde görülen alveoler makrofajlarda MMP-9 pozitifliği (anti-MMP-9, x200).

**Tablo 1. RB, RB-İAH, DİP olgularında alveoler makrofaja MMP-9, TIMP-1 ile boyanma özellikleri**

	(MMP-9) Alveoler makrofaj			(TIMP-1) Alveoler makrofaj		
	0	+	++	0	+	++
RB (n= 6)	0	1 (%16.6)	5 (83.3)	2 (%33.3)	2 (%33.3)	2 (%33.3)
RB-İAH (n= 9)	0	2 (%22)	7 (%77.7)	2 (%22)	2 (%22)	5 (%55.5)
DİP (n= 2)	0	0	2 (%100)	1 (%50)	1 (%50)	0
Kontrol (n= 5)	0	5 (%100)	0	0	2 (%40)	0

0: Boyama yok, +: Fokal, zayıf boyanma, ++: Yoğun, yaygın boyanma.

RB: Respiratuar bronşiyolit, RB-İAH: Respiratuar bronşiyolit interstisyel akciğer hastalığı, DİP: Deskuamatif interstisyel pnömoni.

**Tablo 2. Olguların MMP-9, TIMP-1 ile boyanma özellikleri.**

	(MMP-9)				(TIMP-1)				
	AM	BE	DE	N	AM	BE	DE	N	S
RB (n= 6)	6 (%100)	5 (%83.3)	3 (%50)	3 (%50)	4 (%66.6)	2 (%33.3)	0	0	1 (%11.6)
RB-İAH (n= 9)	9 (%100)	8 (%88.8)	4 (%44.4)	3 (%33.3)	7 (%77.7)	1 (%11)	2 (%22)	0	3 (%33.3)
DİP (n= 2)	2 (%100)	2 (%100)	1 (%50)	2 (%100)	0	0	0	0	0
Kr. Bronşit (n= 4)	4 (%100)	1 (%25)	3 (%75)	1 (%25)	4 (%100)	0	0	0	0
Amfizem (n= 4)	4 (%100)	4 (%100)	4 (%100)	2 (%50)	2 (%50)	0	0	0	1 (%25)
Kontrol (n= 5)	5 (%100)	3 (%60)	2 (%40)	0	2 (%40)	0	0	0	0

AM: Alveoler makrofaj, BE: Bronş epitel, DE: Damar endoteli, N: Nötrofil, S: Serömüköz.

RB: Respiratuar bronşiyolit, RB-İAH: Respiratuar bronşiyolit interstisyel akciğer hastalığı, DİP: Deskuamatif interstisyel pnömoni.

### TIMP-1 Boyanma Sonuçları

RB, RB-İAH grubunda TIMP-1 ile en yoğun ve yaygın boyanmalar 11 (%44) olgu ile alveoler makrofajlarda, 3 (%12) olgu ile bronş epitelinde elde edildi.

DİP olgularında TIMP-1 ile pozitif reaksiyon saptanmadı.

Kontrol grubunda sadece 2 (%40) olguda alveoler makrofajlarda TIMP-1 ile fokal, zayıf pozitiflik görüldü.

Kontrol grubu ile diğer olgu grupları karşılaştırıldığında alveoler makrofajların MMP-9, TIMP-1 pozitifliği açısından istatistiksel anlamlılık saptanmamasına karşın ( $p= 0.43$ ), alveoler makrofajlarda MMP-9 ile kontrol grubuna göre daha yoğun ve yaygın pozitif reaksiyon saptandı.

RB, RB-İAH, DİP olgu grupları arasında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 yoğunlukları

açısından istatistiksel anlamlı farklılık elde edilemedi ( $p= 0.57$ ). Ancak, DİP olgularında MMP-9 ekspresyonu belirgin olmasına karşın TIMP-1 ekspresyonu saptanmadı.

Özellikle RB-İAH olgularında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 reaksiyonları birbirleriyle uyumluydu ( $p= 0.01$ ).

Sigara alışkanlığının derecesi ve sigara içim süresi ile MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki saptanamadı.

### TARTIŞMA

Son yıllarda birçok araştırmanın konusu olan sigaraya bağlı RB ilk kez Niewoehner ve arkadaşları tarafından genç sigara içicilerde tanımlanmış bir klinik antitedir, çoğunlukla otopsi olgularında rastlantısal olarak saptanır (3). RB'de küçük ve peribronşiyal hava yollarında pigment yüklü makrofajlar birikir (3). RB-İAH olarak tanımlanan

klonikopatolojik sendrom ise, genellikle ağır sigara içicilerinde görülür, bu tanımlama RB'nin klinik olarak semptomatik hale geldiği olgular için kullanılır. RB-İAH'de tutulum peribronşiyoler parankimle sınırlı olup, respiratuar bronşiyol ve alveollerde pigment makrofajlar ve hafif interstisyel inflamatuvar yanıt ile karakterizedir (4). Asemptomatik içicilerde hava yollarında biriken makrofaj miktarı ile bronşiyoler inflamasyon derecesinin RB-İAH'de RB'den daha yüksek olduğu saptanmıştır (4). RB-İAH'nin gerçek insidansı ve prevalansı tam bilinmemektedir. Nedeni ve patogenezi de tam anlaşılamamıştır (5). DİP'de ise, inflamatuvar süreç daha yaygın ve yoğundur (7). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda, önceden DİP olarak değerlendirilen bazı olguların artık RB-İAH olarak tanımlanmaya başlandığı görülmektedir (7). Çoğu kaynakta, RB, RB-İAH ve DİP'in aynı histopatolojik spektrumun farklı uçları olduğu bildirilmektedir (5,7). DİP'in gerçek nedeni bilinmemesine karşın sigaranın önemli bir etken olduğu bildirilmektedir (7). Çalışmamızda yer alan 52 olgunun 30'unda RB, RB-İAH saptanmış, 2 olgu DİP olarak değerlendirilmiştir.

Literatürde alveoler makrofaj sayısının küçük hava yollarında sigara ile ilişkili parankim hasarında direkt rolü olduğu bildirilmektedir (1). Alveoler makrofajlar, KOAH patogenezinde de kritik rol oynayan hücrelerdir (2). Çalışmamızda 12 olguda RB-İAH'ye eşlik eden amfizem saptanmıştır. Niewoehner'in orijinal makalesinde respiratuar bronşiyollerde makrofajların birikimi alveoler yapının sentrilobüler yıkımından sorumlu tutulmuştur (3). Aynı çalışmada genç içicilerin akciğerlerini içici olmayan kontrol grubuyla karşılaştırmışlar, pigment yüklü makrofajların kontrol grubunda görülmediğini saptamışlardır (3). Çalışmamızda ise, kontrol grubu olarak alınan 10 olgunun 9 (%90)'unda hafif-orta yoğunlukta hemosiderin yüklü makrofaj grupları görüldü. Bu durum, birçok kişinin yaşadığı çevrede pasif içici durumunda olması ve hava kirliliğinin etkileri ile açıklanabilir. Bilindiği gibi sigara ile hava kirliliğinin pek çok etkileri benzer özellikler taşımaktadır.

MMP'ler ekstraselüler matriksin tüm komponentlerini yıkma yeteneğine sahip enzimlerdir (11). MMP grubu enzimler içerisinde majör elastolitik etkiye sahip olan ve farklı dokularda ve

kan sıvılarında patofizyolojik şartlarda saptanan MMP-9 öncelikle makrofajlar tarafından üretilir, ancak nötrofil granüllerinde de bulunur (11). Elastolitik etkisi oldukça belirgin olan MMP-9'un in vivo aktivasyon süreci farklı mekanizmalarla gerçekleşir (9). Sigara içimi MMP-9 üreten nötrofil, alveoler makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin toplanmasına yol açmaktadır. Sigara akciğerde özellikle nötrofil ve makrofajların ön planda olduğu kronik inflamasyonu başlatır, inflamatuvar sitokin düzeyini artırır. Kronik inflamasyon ve reaktif O<sub>2</sub> metabolitleri oksidan/antioksidan dengesini bozarak akciğeri daha duyarlı hale getirir (12). Sigaraya bağlı oksidatif stresin artması MMP aktivasyonunu uyarmaktadır (13). Russell ve arkadaşları çalışmalarında KOAH'lı sigara içicilerde, hastaliksız içicilerde ve sigara içmeyen grupta alveoler makrofajlardan MMP-9 ve TIMP salınımı araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre, KOAH'lı grupta alveoler makrofajlardan MMP-9 salınımı daha yüksek bulunmuştur (8). Ayrıca, sigara içmeyen olgularda da alveoler makrofajlardan TIMP-1 salınımı yüksektir. MMP-9'un artması rölaf olarak spesifik endojen inhibitör olan TIMP-1'in azalmasına neden olmaktadır (8). Çalışmamızda, RB-İAH ve DİP olgularının MMP ve TIMP ekspresyonları karşılaştırıldığına RB, RB-İAH, DİP olgu grupları arasında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 yoğunlukları açısından istatistiksel anlamlı farklılık elde edilemedi. Ancak, DİP olgularında MMP-9 ekspresyonu belirgin olmasına karşın TIMP-1 ekspresyonu saptanmadı. Bu bulgu DİP'te doku hasarının daha belirgin olduğu şeklinde yorumlanabilir. Serimizde sigara içen grupta alveoler makrofajlarda MMP-9 ile kontrol grubuna göre daha yaygın ve yoğun pozitif reaksiyon saptandı. Yine, özellikle RB-İAH olgularında alveoler makrofajların MMP-9 ve TIMP-1 reaksiyonları birbirleriyle paralellik göstermekteydi. Çalışmamızda, RB-İAH, DİP ve kontrol grubu olgularında MMP-9 ve TIMP'nin aktif ve birbirleriyle korele biçimde eksprese oldukları görüldü.

Literatürde, yapılan birçok çalışmada MMP ve inhibitörleri bronkoalveoler lavaj sıvılarında değerlendirilmiştir. Ancak doku düzeyinde immünohistokimyasal yöntemle ekspresyonların değerlendirildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (14). Çalışmamız hücre düzeyinde

ekspresyonların saptanmasına dayalı ilk çalışmalardan biridir.

Astım ve kronik bronşitli olgularda, ekstraselüler matriks dengesinde değişimler MMP ve inhibitör oranlarının değişimiyle hava yollarının duvarında kollajen birikimine yol açar, bu da hava yolu obstrüksiyonuna neden olur (15). MMP-9 sigara ile ilişkili olan ve KOAH'ın karakteristik bulgusu olan hava yolu tıkanıklığının patogeneğinde önem taşımaktadır. KOAH'lı kişilerde alveoler makrofajlardan MMP-9 salınımı yüksektir (11). Çalışmamızda amfizemin belirgin olduğu akciğer alanlarında MMP ve inhibitör ekspresyonları açısından diğer bölgelere göre anlamlı farklılık bulunmamıştır. Yapılan çalışmalarda MMP-9 konsantrasyonu FEV<sub>1</sub> değeri ile ters ilişkili bulunmuştur (11). Sigara içiminin yoğunluğu ile MMP-9 konsantrasyonu ve MMP-9/TIMP-1 oranı arasında pozitif korelasyon vardır (10). Çalışmamızda, sigara içim miktarı ve süresi ile MMP-9 ve TIMP-1 ekspresyonları arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bu durum kontrol grubunda alınan olguların sayıca sınırlı oluşu, ayrıca birçok kişinin yaşadığı çevrede pasif içici durumunda olması ya da hava kirliliğinin etkileri ile açıklanabilir.

MMP'ler sentez edildikten sonra ekstraselüler alana bırakılmaları nedeniyle immünhistokimyasal olarak dokuda saptanabilmektedir. İmmünhistokimyasal yöntemlerle MMP-9'un hücresel kaynağı araştırıldığında, normal akciğer dokusunda bronşiyal epitel hücreleri, clara hücreleri, alveoler tip 2 hücreler, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücrelerden salındığı gösterilmiştir. Bunun dışında makrofajlar, eozinofiller, mast hücreleri, lenfositler ve dendritik hücreler MMP-9 eksprese ederler (9,14). Çalışmamızda MMP-9'un sigaraya bağlı akciğer hasarı sürecinde aktif hücreler olan alveoler makrofajlar, endotel ve epitel hücreler tarafından salgılandığı görüldü.

Sonuç olarak, sigaraya bağlı akciğer patolojilerinde MMP ve inhibitör ekspresyonlarına ilişkin elde edilen sonuçların daha önceden çalışılmış bronkoalveoler lavajlardan elde edilen MMP ve TIMP sonuçlarının dokuda hücre düzeyindeki ekspresyonlarını ispatladığı, ayrıca, gelişen akciğer hasarı sürecinde metalloproteinaz ekspresyonlarının önemli rol oynadığını düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Wesselius LJ, Nelson ME, Skikne BS. Increased release of ferritin and iron by iron-loaded alveolar macrophages in cigarette smokers. *J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 690-5.
2. Woodruff PG, Koth LL, Yang YH, et al. A distinctive alveolar macrophage activation state induced by cigarette smoking. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 15: 1383-92.
3. Niewoehner DE, Kleinerman J, Rice DB. Pathologic changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Engl J Med* 1974; 291: 755-8.
4. Ryu JH, Colby TV, Hartman TE. Smoking-related interstitial lung diseases: A concise review. *Eur Res J* 2001; 17: 122-32.
5. Selman M. The spectrum of smoking related interstitial lung disorders. *Chest* 2003; 124: 1185-7.
6. Moon J, du Bois R, Colby TV. Clinical significance of respiratory bronchiolitis on open lung biopsy and its relationship to smoking related interstitial lung disease. *Thorax* 1999; 54: 1009-14.
7. Craig PJ, Wells AU, Doffman S, et al. Desquamative interstitial pneumonia, respiratory bronchiolitis and their relationship to smoking. *Histopathology* 2004; 45: 275-82.
8. Russell RE, Culpitt SV, DeMatos C, et al. Release and activity of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 26: 602-9.
9. Tetley TD. Proteinase imbalance: Its role in lung disease. *Thorax* 1993; 48: 560-5.
10. Lim S, Roche N, Oliver BG, et al. Balance of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 from alveolar macrophages in cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1355-60.
11. Jong Kang M, Oh Yeon-Mok, Lee Myung Jae, et al. Lung matrix metalloproteinase-9 correlates with cigarette smoking and obstruction of airflow. *J Korean Med Sci* 2003; 18: 821-7.
12. Arcavi L, Benowitz NL. Cigarette smoking and infection. *Arch Intern Med* 2004; 164: 2206-16.
13. Nakamura T, Ebihara I, Shimada N, et al. Effect of cigarette smoking on plasma metalloproteinase-9 concentration. *Clinica Chimica Acta* 1998; 276: 173-7.
14. Fukuda Y, Ishizaki M, Kudoh S, et al. Localization of matrix metalloproteinases-1, 2, and -9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in interstitial lung diseases. *Lab Invest* 1998; 78: 687-98.
15. Lagente V, Manoury B, Nenan S, et al. Role of matrix metalloproteinases in the development of airway inflammation and remodeling. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 1521-30.