



**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİP HASTALIKLARINDA TNF- $\alpha$  İNHİBİTÖRLERİNİN  
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. ALİ TOKA**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI:**

**Doç. Dr. CEREN GÜNEL**

**AYDIN 2016**

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
KULAK BURUN BOĞAZ ANABİLİM DALI**

**NAZAL POLİP HASTALIKLARINDA TNF- $\alpha$  İNHİBİTÖRLERİNİN  
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. ALİ TOKA**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. CEREN GÜNEL**

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF03LTP14 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

**AYDIN 2016**

## TEŞEKKÜR

Eğitimimde büyük emekleri olan, hiç bir konuda bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen , tez danışmanlığımı da yürüten değerli hocam; Doç. Dr. Ceren Günel'e

Uzmanlık eğitimim süresince yanında çalışmaktan onur ve keyif duyduğum, üstün bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, çok sevdiğim ve saydığım, hoşgörülü değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. H.Sema Başak ve sayın Prof. Dr. A.Onur Odabaşı'na

Eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi artırmamda büyük destek, ilgi ve yardımlarını gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Aylin Eryılmaz ,Yrd. Doç.Dr.Yeşim Başal, Yrd. Doç.Dr. Mahmur Demirtaş, Yrd. Doç. Dr. Can Özbay ,Yrd. Doç. Dr. Murat Doğan ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa Şahin'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde bizlere kapılarını açan ve çalışmamızı kendi çalışması gibi benimseyerek bizimle çalışan Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Bölümü'nden Doç. Dr. Petek Ballar Kırmızıbayrak'a ve değerli yüksek lisans asistanı Dr. Yalçın Erzurumlu'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bana her konuda destek olan ve hiçbir zaman yardımını esirgemeyen, eğitim ve öğretimimde hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan sevgili anneme, babama , kardeşime ve bu zorlu asistanlık periyodunu birlikte göğüslediğim biricik nişanlıma teşekkür ederim.

Asistanlığımın boyunca benimle birlikte çalışan çok kıymetli asistan ark.m Op.Dr. Özkan Doğan , Op. Dr. Barış Ermişler ve Dr.Fatih Ağdaş'a; uzmanlığımı almış üzerimizde emekleri olan değerli Uzman büyüklerimize, bunun yanında hem servis hem de polikliniklerde beraber çalıştığım tüm hemşirelerimize, odyometristlerimize ,personelimize ve sekreterlerimize teşekkür ederim.

Dr. Ali Toka

## İÇİNDEKİLER

TABLolar LİSTESİ.....	5
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	6
KISALTMALAR.....	7
ÖZET .....	8
ABSTRACT.....	10
1. GİRİŞ.....	11
2. GENEL BİLGİLER.....	14
3. MATERYEL ve METOD.....	29
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA .....	37
6.KAYNAKLAR.....	43

## TABLULAR LİSTESİ

**Tablo 1.** VCAM-1, RANTES ve Eotaksin ELİSA ile protein salınım düzeyleri gösterilmektedir (ortalama değerler ve standart sapmalar ile)

**Tablo 2.** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde VCAM-1'in ELISA ile protein salınım düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması

**Tablo 3.** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde Eotaksin'in ELISA ile protein salınım düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması

**Tablo 4.** VCAM-1, RANTES, Eotaksin mRNA gen ekspresyon düzeyleri.

**Tablo 5.** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde VCAM-1 gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.

**Tablo 6.** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde RANTES gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.

**Tablo 7.** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde Eotaksin gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.

## ŞEKİLLER LİSTESİ

**Şekil 1.** Nazal polip makroskopik görüntüsü

**Şekil 2.** Nazal polip rijit endoskopik bakıda makroskopik görünümü

**Şekil 3.** Normal sinonazal mukoza histolojik kesiti

**Şekil 4.** Ödematöz/ eozinofilik nazal polip histolojik kesiti

**Şekil 5.** Kronik enflamatuvar / nötrofilik nazal polip histolojik kesiti

**Şekil 6.** Anti TNF- $\alpha$  ilaçların özellikleri



## **KISALTMALAR**

**NP :** Nazal Polip

**FESC:** Fonksiyonel Endoskopik Sinüs Cerrahisi

**M.Ö:** Milattan Önce

**IL:** İnterlökin

**TNF:** Tümör nekroz faktör

**RANTES:** Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted

**VCAM:** Vascular cell adhesion protein

**Th:** T hepler

**CSS:** Churg-Strauss Sendromu

**Dx :** Deksatemetazon

**KF :** Kistik fibrozis

## 1. GİRİŞ

Nazal polipozis, paranazal sinüsleri ve nazal mukozayı etkileyen benign bir hastalıktır. Toplumda görülme sıklığı yaklaşık %1-4 'tür[1]. Dörtbin yıldır bilinen bu hastalık, belki de hasta ve doktor adının bilindiği(Hasta:Kral Sahura, Doktor:Ni-Ankh Sekhmet) en eski hastalıklardan biridir[2][3].

Tıbbın kurucularından olan Hipokrat (M.Ö. 460-370) nazal polip hastalığını gözlemlemiş ve dokümanete etmiştir. Hipokrat kaynaklarında bu hastalıktan çıkıntılarında dolayı, Yunanca bir kelime olan, çok ayaklı anlamına gelen “polypus” olarak bahsedilmiş ve bu isim günümüze kadar korunmuştur[4].

1843 yılında Frerichs ve Billroth polipleri kaplayan epitelyum ile sinus mukozasını kaplayan mukozanın benzer olduğunu ve poliplerin normal sinus mukozasının hipertrofisi sonucu oluştuğunu öne sürmüşlerdir[4, 5].

20. yüzyılda nazal polip ile ilgili etiyolojiye yönelik yapılan pek çok çalışmada alerji ve nazal polipler arasındaki bağlantı araştırılmıştır. Sonuç olarak alerjik rinitin primer sebeplerden biri olmayabileceği düşünülmüştür. Günümüze kadar nazal polip etiyolojisini araştıran pek çok çalışmada; bakteriyel enfeksiyon, bakteriyel süperantijene bağlı oluşan mukozal ödem, fungal enflamasyon, genetik faktörler ve aspirin hipersensivitesi gibi etiyolojiye yönelik pek çok teori araştırılmıştır[6-8].

Nazal polip, burun lateral duvar mukozasında (uncinat proçes veya etmoid bulla mukozası) oluşan kronik inflamasyon ile meydana gelmektedir. Histopatolojik olarak nazal polip burun lateral duvar mukozasında basit bir mukozal ödem değil, bunun yanında epitelde bazal hücre hiperplazisi, goblet hücre hiperplazisi gibi metaplazi; lamina propria tabakasında eozinofili, lenfositözün görülebildiği kronik bir tablodur.

Nazal polipozis patogeneğinde birçok farklı etiyolojik faktör mevcut olmakla birlikte genellikle eozinofil hakimiyetinde Th2 aracılı bir inflamasyonun domine ettiği nazal dokuda proenflamatuvar sitokin proliferasyonu ve salınımı ile karakterize bir hastalıktır. Yapılan genetik çalışmaları ile, nazal poliplerden alınan dokularda, TNF- $\alpha$  lokasyonunda a allelinde oluşan tek nükleotid polimorfizmi olduğu saptanmış ve nazal polip olmayan kontrol grubuna göre nazal polip olanlarda polimorfizm oranları anlamlı olarak farklılık gösterdiği bildirilmiştir. Sonuç olarak, birçok enflamatuvar hastalığın patogeneğinde proinflatuar



sitokin olarak görev alan, inflamasyonun temel mediatörü olan TNF- $\alpha$ 'nın özellikle masif nazal polipozis ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir[5].

Günümüzde nazal polipozis tedavisinde kullanılan en etkin ilaç kortikosteroidlerdir. Nazal polipozis tedavisinde kortikosteroidler intravenöz, oral, topikal preparat olarak değişik formlarda kullanılabilir[9]. Kortikosteroidler, intrasitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak protein sentezi üzerinde yaptığı değişikliklerle, mast hücresi ve eozinofillere direk ve indirek etkileri ile, T hücreleri sayısını azaltarak ve proenflamatuvar sitokinlerin hücrelerde sentezlenmesini inhibe ederek etki gösterirler[10]. Ancak kortikosteroidlerin sistemik yan etkileri uzun dönem kullanımını kısıtlamakla beraber küratif değildir.

Polipozis tedavisinde cerrahi tedavi de dahil olmak üzere küratif bir tedavi mümkün olmayıp, tedavideki temel amaç; poliplerin temizlenmesi, nazal hava açıklığının ve sinüs ventilasyonunun yeniden sağlanması ve nüksün önlenmesi şeklinde sınıflandırılabilir[11, 12]. Medikal tedaviye rağmen şikayetleri gerilemeyen veya tekrar eden hastalara cerrahi tedavi seçeneği sunulmaktadır.

Yapılan çalışmalar ile NP etyopatogenezi ve moleküler biyolojisi ile ilgili daha çok ilerleme kaydedilmekte ve bununla beraber kalıcı iyileşme veya nüksün önlenmesine yönelik yeni, daha etkin tedavi seçenekleri araştırılmaktadır. Nazal polipozisin moleküler temeli ortaya kondukça bu kronik inflamatuvar sürecin önüne geçmeye yönelik daha spesifik tedaviler oluşturulabilecektir.

Günümüzde biyolojik ajanlar pek çok kronik inflamatuvar hastalığın tedavisinde kullanılmakta, pek çoğunun da tedavisine yönelik in vivo ve in vitro çalışmaları sürmektedir. Bu biyolojik ajanların en çok deneyime sahip olunan gruplarından biri TNF- $\alpha$  inhibitörleridir. Etanercept , İnfliximab ve Adalimumab TNF- $\alpha$ 'yı bloke ederek etkinlik gösteren ajanlardır. Bu ajanlar günümüzde romatoid artrit, ankolizan spondilit, psöratik artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda başarı ile kullanılmaktadır. Ancak bunun yanında tüberküloz hastalarında enfeksiyonu alevlendirmesi, malignite riskini arttırması ile ilgili şüpheler ve diğer yan etkileri göz ardı edilmemesi gereken konulardır[13].

Özellikle hava yolu hastalıklarında fibroblastların izole edilip hücre kültürlerinde üretilmesi bu tarz hastalıkların anlaşılmasında bu güne kadar çok katkı sağlamıştır. Nazal polipte eozinofiller proenflamatuvar süreçte temel görevi üstlenmekte olsa da fibroblastların

da nazal polip gelişiminde önemli katkısı mevcuttur[14]. Fibroblastlar çeşitli büyüme faktörleri ve sitokin üretimi ile inflamasyonun düzenlenmesinde katkı yapmaktadır. In vitro hücre kültürleri yeni veya standart tedavilerin etkinliğini değerlendirmede değerli bilgiler veren önemli araçlardır.

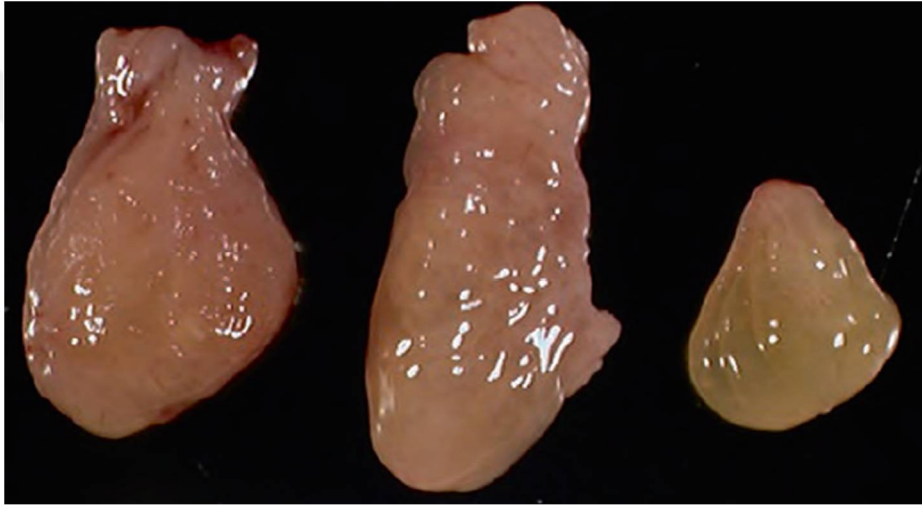
Biz çalışmamızda, primer hücre kültürlerinde ürettiğimiz nazal polip fibroblastları üzerine TNF- $\alpha$  inhibitörlerinin etkinliğini değerlendirmeyi; ikincil olarak da proenflamatuvar sitokinlerin salımı ve proliferasyonu üzerine etkinliğini kortikosteroidler ile karşılaştırmayı amaçladık.



## 2. GENEL BİLGİLER

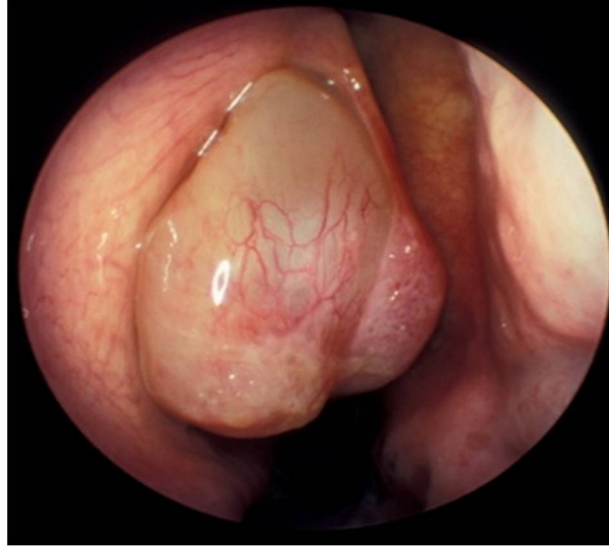
### 2.1. NAZAL POLİPLER

Nazal polipler, paranasal sinüsleri ve nazal mukozayı etkileyen benign mukozal protrüzyonlardır. Nazal polip, burun lateral duvar mukozasında (uncinat proçes veya etmoid bulla mukozası) oluşan inflamasyonun kronik bir süreç ile ilerlemesi sonucu tüm sinonazal mukozaya yayılabilir.



Şekil 1. Nazal polip makroskopik görüntüsü

Çoğunlukla Th-2 aracılı eozinofilik cevabın rol aldığı bu kronik süreç sonunda diffüz sinonazal polipler meydana gelir. Tamamen benign karakterde olan ve malignite riski taşımayan bu nazal kitleler hastalarda, yaşam kalitesini belirgin etkileyen, iş gücü kaybına yol açan; yoğun nazal konjesyon, nazal akıntı, nazone konuşma, tekrarlayan sinüzit gibi bulgularla karşımıza çıkar.



**Şekil 2.** Nazal polip rijit endoskopik bakıda makroskobik görünümü

Nazal poliposis, Billroth tarafından 1855'te mukozanın adenomatosisi, Hopmann tarafından 1885'te fibromatosisi, Mackenzie tarafından 1884'te miksomatöz dejenerasyonu , Zuckerkandl tarafından 1882'de enflamatuvar hiperplazisi olarak tanımlanmıştır. Woakes ise 1885'te etmoidal septal nekroz ve miksomatöz reaksiyonu sorumlu tutarken, Hajek 1896'da polip formasyonunun nedenini submukozal ödem ve mukozal glandüler oluşumdaki artma olduğunu ileri sürmüştür. Yonge ise 1907 yılında NP etyopatogenezini glandüler kanallardaki kistik dejenerasyon, nazal mukozadaki kan damarlarının obstrüksiyonu ve sonuçta oluşan ödem ile açıklamaya çalışmıştır. Cauna 1972 yılında poliplerin damarsal yapılarındaki sinirsel yapıların yokluğunda ortaya çıkan vasküler permeabilededeki artışı ve sonuçta oluşan ödemi etyopatogenezde ileri sürmüştür. Toss ve Mogensen ise 1977 yılında nazal polip etyolojisindeki asıl faktörün alerjik ya da kronik infeksiyonlu hastalarda burun üst kısmına giden hava akımındaki azalma olduğunu ileri sürmüştür[15].

## **2.2. NAZAL POLİP EPİDEMİYOLOJİSİ**

Nazal poliplerin toplumda görülme sıklığı yaklaşık %1-4 'tür[16]. İsveç'te toplum bazlı yapılan bir çalışmada Johansson ve ark.[17] tüm populasyonda nazal polip prevalansını %2.7 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada erkeklerde nazal polip sıklığı ( 2.2 /1 ) daha fazla saptanmıştır.

Finlandiya'da yapılan bir çalışmada ise Hedman ve ark. erişkin populasyonunda bu oranı % 4.3olarak bulmuştur[18].

Atopi, alerjik rinit, astım gibi çeşitli komorbid durumlar, yaş ve cinsiyet gibi demografik faktörler, herediter ve etnik durumlar NP prevalansını etkileyen faktör olarak suçlanmıştır[6-8].

Pediyatrik yaş grubunda çok nadir görülen NP sıklığı [16], yaş ile birlikte artış göstermekte olup [19-21], kadınlara göre erkeklerde daha sık görülmektedir[18, 22]. Lildholdt ve ark. yaptığı çalışmada NP en sık 40-60 yaş aralığında gözlenmiştir[16].

Atopi ve alerjik rinit uzun süre NP etiyopatogeneizde suçlanmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda atopi/alerjik rinit olan kişilerdeki nazal polip oranlarının(%1.5),normal popülasyonla benzer olduğu saptanmıştır[23]. Bu sebeple alerji ve NP arasındaki ilişki zayıf olarak kabul görmüştür.

Astım üzerine yapılan çalışmalarda ise astım ve NP arasında güçlü bir ilişki olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir. Hatta Settipane nonalerjik astımda NP in alerjik astıma göre daha sık görüldüğünü (sırasıyla %13 ve %5,  $p < 0.01$ ) rapor etmiştir[24].

Aspirin veya nonsteroid antiinflamatuvar ilaç duyarlılığı olan kişilerde NP sıklığı artmıştır. İlaç alımından sonra 30-90 dakika içinde başlayan bronşiyal astma , rinore ve burun tıkanıklığı ile karakterize bir durumdur[25]. Aspirin duyarlılığı olan hastaların yarısından fazlasında NP gözlenmiştir. Ancak bronşiyal astma olmaksızın sadece ürtiker ile seyreden duyarlılık durumu NP ile ilişkili değildir[24].

Alerjik fungal rinosinüzit (AFRS) fungal elementlere karşı oluşan tip 1 hipersensivite reaksiyonu olup NP ile ilişkilidir. Kesin olmamakla birlikte, NP'li kronik rinosinüzitin yaklaşık %5-10'undan AFRS'nin neden olduğu düşünülmektedir[26].

Kistik Fibrozis, Primer silier diskinezi (Kartagener Sendromu ), Young Sendromu gibi genetik bozukluklar sonucu ortaya çıkan hastalıklarda NP sıklığı artmıştır. Kistik fibrozis hastalarının %20'sinde NP görülmektedir[24]. Bunun dışında Churg-Strauss Sendromu bir sistemik vaskülit olup NP, hastalığın erken bulgularındandır. Kesin mekanizması bilinmemekle beraber, eozinofil aktivasyonu major rol oynar[27]. CSS hastalarında %60'a kadar varan oranlarda NP bildirilmiştir[28].

Genetik faktörler NP etiyolojisinde yer aldığı da düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda NP olan hastaların ailelerinde %14'ünde NP öyküsü saptanmıştır[29]. Başka bir kohort çalışmada NP hastalarının %25'inde birinci derece akrabasında NP varlığı

saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada Sampter triadı( aspirin intoleransı , astım ,NP) pozitif olan hastaların %36'sında birinci derece akrabada NP saptanmıştır[30].

### 2.3. NAZAL POLİP SINIFLAMASI

Nazal polipler çoğunlukla iki taraflı olup, çeşitli özelliklerine göre farklı sınıflamalar yapılabilmektedir. Pratik açıdan nazal polipler endoskopik ve muayene kriterlerine göre, tedavi yanıtlarına göre, diğer hastalıklarla birlikteliklerine göre ve mikroskopik özelliklerine göre sınıflandırılabilir.

Stamberger[31]'in sınıflamasına göre;

- I. Antrakoanal polip
- II. Koanal/diğer izole büyük polipler, Kronik rinosinüzit ile birlikte görülen polipler
- III. Reaktif havayolu hastalığı ve polip dokusunda eozinofil yoğunluğu yok
- IV. Eozinofillerin yoğun olduğu kronik rinosinüzit ile birlikte görülen polipler
- V. Kistik fibrozis, alerjik fungal sinüzit, ASA triadı gibi spesifik hastalıklarla görülen polipler

Settipane[32] tarafından geliştirilen sınıflamada ise;

- I. Tek taraflı
  - a) Eozinofil hakimiyeti
  - b) Nötrofil ve Lenfosit hakimiyeti
- II. İki taraflı
  - a) Eozinofil hakimiyeti;
    - i. İki veya daha fazla polip tetradı (aspirin intoleransı, astım, sinüzit)
    - ii. Alerjik rinit
    - iii. Alerjik fungal sinüzit
    - iv. Churg Strauss sendromu
  - b) Lenfosit, nötrofil hakimiyeti;
    - i. Kistik fibrozis
    - ii. Kartagener sendromu

iii. Young sendromu

## 2.4. NAZAL POLİP SEMPTOM VE BULGULARI

Nazal polipozis semptomları hastalığı evresine göre değişir. Görülen başlıca semptomlar; burun tıkanıklığı, geniz akıntısı, burun akıntısı, yüz ve baş ağrısı, koku alma bozukluğu, horlama, burun kanamasıdır. En sık burun tıkanıklığı görülmektedir. Hastaların yarısında geniz akıntısı, baş ağrısı, koku alma bozukluğu gibi semptomlar eşlik eder.

Bu semptomları ve muayene bulgularını objektif olarak değerlendirmek için pek çok skorlama sistemi geliştirilmiştir. Bunlardan en sık kullanılanı, Lund-Kennedy Skorlaması[33] olup polip, akıntı, ödem, kabuklanma ve skar/adezyon yönünden değerlendirme gerektirir.

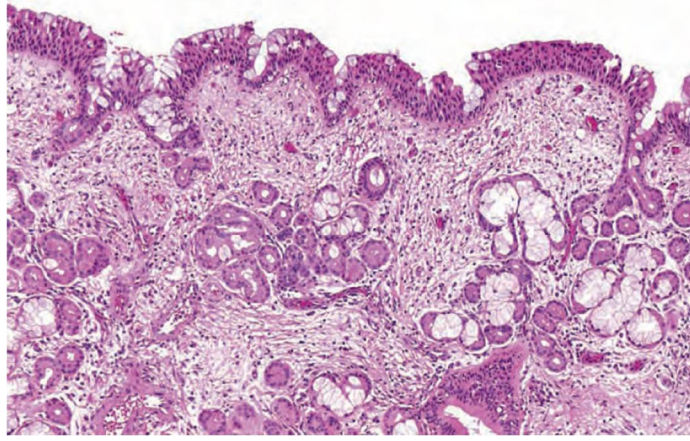
Fizik muayene ve endoskopik bakıya göre ,Lund- Kennedy Skorlamasında[33];

- I. Polip (yok:0 puan orta meada:1 puan orta meayı geçmiş: 2 puan )
- II. Akıntı (yok:0 puan temiz,ince:1 puan kalın pürülan: 2 puan )
- III. Ödem ( yok:0 puan orta:1 puan ciddi : 2 puan )
- IV. Kabuklanma ( yok:0 puan orta:1 puan ciddi : 2 puan )
- V. Skar/adezyon ( yok:0 puan orta:1 puan ciddi : 2 puan ) 'dır.

Astım, aspirin intoleransı, kistik fibrozis ve silier disfonksiyon gibi solunum sisteminin hastalıkları ile beraber nazal polip görülme sıklığı artmaktadır. Aslında bu olay nazal polipozisin lokal bir hastalıktan çok, sistemik enflamatuvar bir hastalığın lokal basamağı olduğunun bir göstergesidir.

## 2.5. NAZAL POLİP HİSTOPATOLOJİSİ

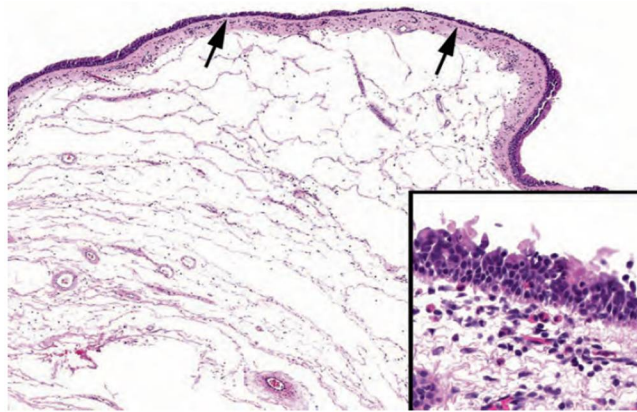
Normal sinonazal mukoza, pseudo stratifiye silyalı kolumnar epitelyum, lamina propia, bazal membran, submukozal tabaka ve lenfoid ve myeloid hücreleri içeren kısımdan oluşur. Bazı bölgelerde epitelyum üzerinde squamöz metaplazi alanları yer alabilir. Bazal membran genellikle incedir. Bazal membranın hemen altında submukoza yer alır. Gevşek fibrovasküler bir bağ doku içerir.Bununla beraber seromusunöz ve minör saliver glandlar , kan damarları , sinirler , lenfoid ve myeloid hücreler bulunur.



**Şekil 3.** Normal sinonazal mukoza histolojik kesiti

Normal nazal mukoza ile karşılaştırıldığında, NP’te epitelyum ve submukoza tabakadaki yapısal değişiklikler ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu görülür. Astım, eozinofilik mukus CRS(AFRS), aspirin duyarlılığı, CSS, KF gibi altta yatan etiyolojik faktöre ve buna bağlı baskın olan enflamatuvar hücre tipine göre NP histolojik olarak farklılık gösterir.

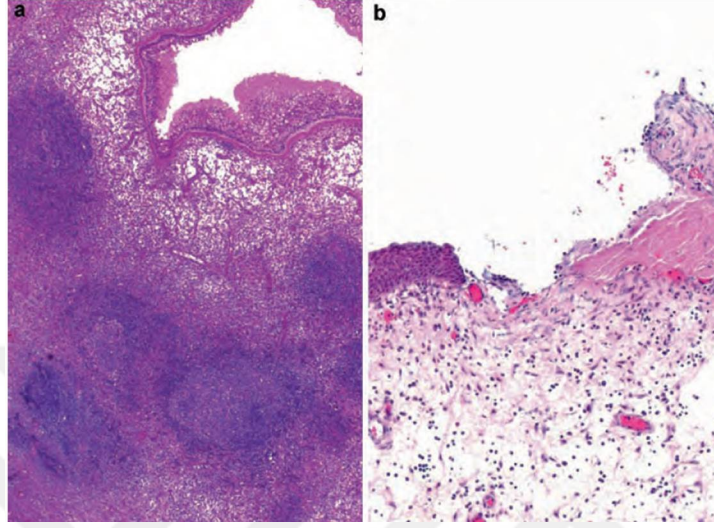
Mikroskopik olarak üç temel tiplendirme mevcuttur. Bunlar (1)ödematöz/eozinofilik veya ‘alerjik tip, (2)kronik enflamatuvar tip ve (3)seromüsinöz/glandular tiptir. En sık olarak ödematöz/ eozinofilik polip tipi görülür. Respiratuvar epitelyum ile kaplı olan bu tipte sıklıkla bazal membran kalınlaşmıştır ve submukoza ödemi mevcuttur. Squamoz metaplazi ve goblet hücre hiperplazisi yanında yoğun eozinofil hücre infiltrasyonu, plazma hücreleri ve yer yer lenfositler mevcuttur[5].



**Şekil 4.** Ödematöz/ eozinofilik nazal polip histolojik kesiti



Daha az olarak kronik enflamatuvar polipler görülür. Özellikle kistik fibroziste, kalınlaşmış bazal membran yerine daha zayıf bir membran mevcuttur. Stromada eozinofil hücreleri daha az görülmekte, nötrofil hücre hakimiyeti bunun yerini almaktadır[34].



**Şekil 5.** Kronik enflamatuvar / nötrofilik nazal polip histolojik kesiti

## 2.6.NAZAL POLİP OLUŞUM TEORİLERİ

Nazal polipozis patogenezi için pek çok teori ortaya atılmıştır. Bu teoriler daha çok mukozal ödem, tübüloalveolar glandlarda artış ve mukoz glandların kistleşmesinden yola çıkmışlardır. Birçok teorinin (Adenom ve fibrom teorisi, nekrotizan etmoidit teorisi, glandular kist teorisi gibi) artık günümüzde geçerliliği bulunmamaktadır.

### **Bernoulli Fenomeni :**

NP patogenezi enflamasyon bütün nazal mukozada ve paranasal sinüslerde olmasına rağmen , NP'lerin osteomeatal kompleks, etomid hücreler ve maksiler sinüste olduğu Bernoulli Fenomeni ile açıklanmaktadır. Bu fenomen, darlık sonrası basıncın azalması ve mukozanın az basınçlı tarafa emilmesidir. Burun boşluğundaki basınçlar ekspiryum ve inspiryumda değişmesi de bu duruma katkı yapar. Nazal polipoziste ilk belirti genel olarak topikal mukoza ödemi ve kalınlaşmadır. Etyolojik faktör sürerse küresel mukoza ödemi alanı oluşur. Bu alanın yerçekimi etkisiyle içerdiği sıvı aşağı süzülür, alt serbest kısım

genişler ve polip şeklini alır. Bunlar genellikle etmoidlerin dar kanallarında oluşur ve en az dirençli tarafa ilerler, basınçtan kurtulan alt kısım genişler. Tek bir polip geliştikten sonra etmoid ve meatuslar tıkanır ve yeni poliplerin oluşması için uygun bir ortam oluşur, diğer yarıklar ve sinüslerin de etkileneceği bir kısır döngü ortaya çıkar[35].

### **Mükoz Bezlerde Değişiklik :**

Bir araştırmada nazal polipleri başlatan etkenin mükoz bezlerdeki dilatasyon ve kistik değişikliklere bağlı olarak epitelin zedelenmesi sonucu submukozanın herniyasyonu olduğu ileri sürülmüştür[36].

### **Otonom Sinir Sisteminde Bozukluk :**

Nazal polip gelişenlerin bir kısmında önceden belirgin bir allerjen olmadan vazomotor dengesizliğin sonucu rinit semptomları ile giden prodromal dönem vardır. Bu nedenle nazal poliplerin gelişmesinde vazomotor dengesizliğin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür[36].

### **Diğer Teoriler**

Bernstein teorisi, polisakkarit molekül değişikliği, vazomotor imbalans teorisi, epitelyal rüptür teorisi gibi pek çok farklı teori öne sürülmüş ancak teorilerin hiçbiri kapsayıcı olmayı veya tedaviyi etkin şekilde etkilemeyi başaramamıştır.

## **2.7.NAZAL POLİPTE GENETİK VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ**

Nazal polip kronik bir enflamasyonun son basamağı olarak ortaya çıkmaktadır. NP gelişimine kadar olan moleküler biyolojik olaylar hala tam olarak aydınlatılamamıştır[37]. Bunun yanında son yıllarda yeni yapılan moleküler biyolojik çalışmalarla yeni bilgilere ulaşılmış, nazal polipli kronik hiperplastik sinüzit oluşumunda genetik predispozisyon ile ilgili bilgiler edinilmiştir.

NP inflamasyonun esas hücresi olan eozinofil göçü çeşitli adhezyon molekülleri ve kemokinler aracılığı ile olmaktadır. TNF- $\alpha$  kemokinler aracılığı ile eozinofilleri uyararak polip fibroblastlarında Eotaksin sentezini ve RANTES ekspresyonunu artırır[14]. Böylece RANTES, VCAM-1 ve eotaxin eozinofil ve lenfosit adhezyonunda ve migrasyonunda rol

oyunar. Sinyal uyarım yolu ile ilgili yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın endotelial hücreleri stimule ettiği ve bu yoldan NF-kB aktivasyonu sağladığı, NF-kB aracılığı ile VCAM-1 mRNA promotor aktivasyonu sağladığı gösterilmiştir[40]. Böylece NP dokusuna eozinofil ve makrofaj göçü ile enflamatuvar sürecin ilerleyişini sağlamaktadır.

Eozinofil, Th-2 aracılı bu kronik enflamasyonun temel hücresidir. Hem NP dokusundaki eozinofiller hem de migrasyon ile dokuya göç eden eozinofiller, birçok mediatör, interlökin, kemokin, lökötien, serbest oksijen radikalleri ve eozinofil spesifik molekülleri ile dokudaki inflamasyonu artırır. Major basic protein (MBP) yoluyla hücrelere sodyum absorpsyonu artar. Su sodyumu izleyerek hücre içine geçer[41]. Nazal polip patolojisinin ana unsurlarından biri olan lamina propriada ödem meydana gelmesinden eozinofiller sorumlu tutulmaktadır[42].

TNF- $\alpha$ , temel olarak makrofajlardan ve T hücreleri tarafından üretilen proenflamatuvar etkilere sahip bir sitokindir[43]. İnflamasyonun uyarımında , sekonder lenfoid organların gelişiminde ve intraselüler patojenlerin eliminasyonunda önemli bir rolü vardır. Romatoid artrit , ankolizan spondilit , psöriyazis gibi kronik enflamatuvar hastalıkların pek çoğunun patofizyolojisinde temel suçlanan moleküldür. TNF- $\alpha$  6. kromozomun kısa kolundan kodlanır. Bu bölgeden HLA-A,B ve C gibi immun yanıt genleri kodlanmaktadır. NP genetik analizi ile ilgili yapılan çalışmalardaTNF- $\alpha$  nın kodlandığı HLA kolunda oluşan genetik polimorfizmin nazal polipozis için önemli bir predispozan faktör olabileceği düşünülmüştür[5].

Yapılan güncel bir çalışmada nazal polipli kronik rinosinüzit olan hastalar(18.6%) nazal polip olmayan kronik rinosinüzit hastalardan(11.5%) anlamlı farklı olarak 6. kromozomun TNF- $\alpha$ 'yı kodlayan geninde A allelinde tek nükleotid polimorfizmi göstermiştir. Başka bir çalışmada da nazal polipli kronik rinosinüzit hastaları ,sağlıklı bireylerle karşılaştırılmış ve 6. Kromozomda -308 lokalizasyonda TNF- $\alpha$ 'yı kodlayan gende sırasıyla %18.6 ve %6.3 ile TNF- $\alpha$ 'yı kodlayan genin promotor bölgesinde A alellerin en az bir tanesinde tek nükleotid polimorfizmi saptanmış ve iki grup arasında anlamlı farklılık(p= 0.016) gözlenmiştir. Bu durumun masif nazal polipozis gelişimi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür[44].

VCAM-1 üretimi TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-4 ve IL-13 gibi birçok stimülatör faktör ile artabilir. Ancak nazal fibroblastlarda VCAM-1 stimülasyonunun sadece TNF- $\alpha$  aracılı NF-

kB yolağı ile gerekleŖtiđi gsterilmiŖtir[45]. eŖitli alıŖmalar ile NP fibroblastlarında NF-kB'nin yalnız TNF- $\alpha$  stimülasyonu ile aktive olduğu da saptanmıŖtır [46].

Sonuçta TNF- $\alpha$ , hem NP dokusundaki eozinofil ve lenfositleri sitokin aracılı stimüle ederek; hem de yüzey epitelinde migrasyon ile eozinofil ve makrofaj göçünü sağlayarak inflamasyona sebep olabilir. G eden eozinofiller otokrin bir etki ile TNF- $\alpha$  sentezini arttırdığı ve kronik sürecin devamlılığını sağladığı dŖnlmektedir.

## 2.8.NAZAL POLİP TEDAVİSİ

NP toplumda yaygın bir hastalıktır. Ancak nazal polipozisin tedavisinde bir grŖ birliği yoktur. Uygulanan tedaviler medikal tedavi, cerrahi tedavi ve bunların kombinasyonudur. Tek baŖına medikal tedavi ve cerrahi tedaviler ile relaps ve rekürrens sıklıkla görülmektedir. Medikal ve cerrahi tedavilerin kombine uygulanması ile rekürrens oranları azalmakta ve süresi uzamaktadır . Tedavide amaç;

- Nazal poliplerin temizlenmesi veya küçültülmesi
- Nazal pasajın ve solunumun yeniden sağlanması
- Koku almanın sağlanması
- Nksn nlenmesi
- Sinüs drenajının ve ventilasyonunun yeniden sağlanması, Ŗeklinde zetlenebilir.

NP'in astım, ASA intoleransı, nonalerjik rinit, alerjik fungal sinüzitis, kistik fibrozis gibi hastalıklarla genelde birlikte bulunması tedavide göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak günümüzde kullanılan tedaviler hastalığı ortadan kaldırmayı değil semptomatik iyileŖmeyi amaçlamaktadır.

Cerrahi sonrası rekürrens oranları farklı oranlarda(%13-%75) bildirilmiŖtir. Uzun dönemli bir takip alıŖmasında basit polipektomi sonrası hastaların 3%'ünde büyük polipler, %30'unda orta boyutta polipler, %42'sinde küçük polipler saptandı. Hastaların %25'inde polip görülmedi. Yapılan baŖka bir alıŖmada ise cerrahi seçeneğe göre rekürrens oranları deđerlendirilmiŖ, radikal etmoidektomi yapılanlarda 5 yıllık izlemlerde %22, fonksiyonel etmoidektomi yapılanlarda %58 oranında rekürrens saptanmıŖtır[47].

Rekürrens sebeplerine bakıldığında pek çok farklı etkenin rekürrenslerden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Nazal polip oluşum teorilerinden biri olan mikrobiyal ajanlardan özellikle staf. aureus enterotoksini ile veya dirençli bakteriyel kolonizasyon ve biyofilm tabakasının antibiyotik direnci sayesinde inflamasyonun baskılanmasını engelleyebileceği öne sürülmektedir [48].

Aspirin duyarlılığı olanlar, astım hastaları ve Sampter triadı olanlarda tedavi başarısının daha düşük olduğu ve rekürrens oranlarının yüksek olduğu bildirilmiştir. Sampter triadı olan hastalarda rekürrens oranları %36 ile %96 arasında bildirilmiştir[49]. Ayrıca sistemik komorbid hastalıklarda da rekürrens oranları daha yüksek bulunmuştur. Bu hastalıklar arasında kistik fibrozis, Wegener hastalığı ,Churg-Strauss sendromu , silier diskinezi hastalıkları sayılabilir[50].

### **2.8.1.Kortikosteroidler**

Kortikosteroidler anti-enflamatuvar, antialerjik, immüsupresif ve hemen her organ üzerindeki etkileri nedeniyle sık kullanılan bir ilaç grubudur. Kortikosteroidlerin bütün sistemler üzerine bilinen ve ispatlanmış birçok etkisi bulunmaktadır[51]. Sistemik kortikosteroidler maksimum kan düzeyine 2-8 saatte ulaşırlar. Plazmada yarılanma ömürleri 90-180 dakikadır. Karaciğerde metabolize edilir ve böbrekten atılırlar. Rifampin ve fenobarbital gibi karaciğerde mikrozomal enzimleri indükleyen ilaçlarla inaktivasyonları artmakta ve etkinlikleri azalmaktadır[10]. Kortikosteroidler, intrasitoplazmik glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak DNA sekansları ile etkileşir. Enzim ve proteinleri kodlayan mRNA üretimi ve protein sentezi üzerinde yaptığı değişikliklerle, mast hücresi ve eozinofillere direk ve indirek etkileri ile, T hücreleri sayısını azaltarak ve proenflamatuvar sitokinlerin hücrelerde sentezlenmesini inhibe ederek etki gösterirler[10].

Akut faz reaktanları, komplemanlar ve sitokinlerin (IL-1, IL-2, IL- 3, IL-6, INF- $\gamma$ , GM-CSF, TNF- $\alpha$ ) sentezini engellerler. Makrofaj migrasyon inhibitörü yoluyla makrofajların yangı alanında birikmesini önlerler. Lipokortin-1 aracılığıyla trombosit aktive edici faktörün sentez ve etkisini engellerler. Yangı hücrelerinin, yangı alanına gelebilmelerini sağlayan fibrinolizi azaltırlar ve lizozom zarlarını sabitletler. Fosfolipaz A2 enzimini engelleyerek eikozonoid oluşumunu azaltmaktadırlar. Bu sayede anti-enflamatuvar etkileri ortaya çıkar[52].

NP’te kortikosteroidler , topikal nazal damlalar , topikal nazal spreyler, oral veya parenteral enjeksiyonlar şeklinde tercih edilebilir. Topikal formların sistemik etkileri yok denecek kadar azdır. Bu sebeple uzun süreli hatta süresiz kullanımı önerilebilir. Topikal kortikosteroidler eozinofil infiltrasyonundaki Th-2 aracılı inflamasyonu; vazoaaktif mediatörlerin salınımını inhibe ederek buna bağlı vasodilatasyonu ve sıvı geçişini engelleyerek , eozinofil infiltrasyonunu ve aktivasyonunu engelleyerek, ekstraselüler matriks protein ve fibroblast üretimini azaltarak, IL-5, IL-13, Eotaksin gibi birçok sitokin ve kemokini azaltarak, histamin prostoglandin, lokotrien gibi mediatörlerin salınımını ve yeni üretimini engelleyerek etkinlik gösterirler.

Topikal tedavi, hafif ve orta şiddetli hastalarda tek başına veya sistemik steroid tedavisinden sonra idame tedavisi olarak kullanılabileceği halde, masif polipozisli hastalarda ancak başlangıç tedavisi olarak kullanılmaktadır. Kullanılan topikal steroidli ajanlar nazal polipli hastalarda burun tıkanıklığını, kaşıntısını, rinit semptomlarını azaltır, nazal solunumu düzeltir ve kısmen de olsa nüksü engellerler. Uzun süreli kullanımında burun kanaması en sık karşılaşılan yan etkidir.

Sistemik olarak en sık metil prednizolon veya deksametazon kullanılmaktadır. Oral, intramusküler veya intravenöz yolla uygulanabilmektedir. Sistemik kortikosteroidler masif polipoziste eğer kontrendikasyon yoksa uygulanacak ilk tedavidir. Kısa süreli yüksek doz steroid tedavi protokollerinin temelini oluşturmakla birlikte kesin bir tedavi protokolü yoktur. Genel tedavi yaklaşımında 7-14 gün süren 1mg/kg/gün sistemik steroid tedavisi uygulanmaktadır. Steroidler granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GMCSF) salınımını azaltarak, eozinofillerin apoptozisini arttırarak eozinofiliyi azaltmaktadır [53]. Ayrıca, steroidler stromal hücre proliferasyonunu, mast hücrelerini, T lenfositlerin aktivasyonunu ve sitokin salınımını inhibe ederek etkinlik göstermektedir[54].

Sistemik steroid tedavisinin, NP hastalarında, hem polip dokusunu küçültmede hem de alerjik semptomların giderilmesindeki etkisi bilinmektedir. Ayrıca, koku duyusunun düzelmesindeki ve sinüzit semptomlarının giderilmesindeki etkisi de belirgindir. Cerrahi gereken vakalarda operasyon öncesi steroid kullanımının polipleri küçülterek, inflamasyonu azalttığı ve böylece operasyonu kolaylaştırdığı da saptanmıştır.

Sistemik steroidlerin uzun süreli ve sık kullanımını mevcut yan etkileri engellemektedir. Osteoporoz ,osteonekroz, iyatrojenik Cushing sendromu, immun baskılanma

peptik ülser, diyabet, katarakt, hipokalemi, hiperkalsüri gibi uzun süreli kullanımında ortaya çıkabilecek ciddi yan etkiler sebebiyle uzun süreli kullanımları mümkün değildir[10].

## 2.9. TNF- $\alpha$ İNHİBİTÖRLERİ

Günümüzde klinik kullanımda olan beş tane anti-TNF- $\alpha$  ilaç bulunmaktadır. İnfliksımab, etanersept, adalimumab, golimumab ve sertolizumab pegol. İnfliksımab, insan immünglobülin (Ig) G1 Fc bölgesi ve fare kökenli değişken bölge içeren, kimerik yapıda bir monoklonal antikordur. Etanersept, rekombinant TNF- $\alpha$  reseptör (TNFR) füzyon proteinidir ve insan IgG1'in Fc parçasına bağlı insan TNFR2'nin iki ekstrasellüler parçasından oluşur. Adalimumab ve golimumab ise insan sabit ve değişken bölgelerini içeren humanize monoklonal anti-TNF antikordur. Sertolizumab pegol, humanize monoklonal anti-TNF Fab fragmanıdır[55]

Anti-TNF- $\alpha$  ilaçların özellikleri Şekil 6. 'da gösterilmiştir.

	İnfliksımab	Etanersept	Adalimumab	Sertolizumab	Golimumab
Sınıf	Monoklonal antikor	Fc füzyon proteini	Monoklonal antikor	Monoklonal antikor fragmanı	Monoklonal antikor
Yapı	Fare/insan kimerik IgG1 $\kappa$	İnsan sTNFR2-Fc	İnsan IgG1 $\kappa$	PEG-İnsan IgG1 $\kappa$ Fab	İnsan IgG1 $\kappa$
Moleküler ağırlık (kDa)	150	120	150	~95	150
Spesifite	TNF	TNF/LT $\alpha$	TNF	TNF	TNF
TNF ligantı	sTNF, tmTNF	sTNF, tmTNF	sTNF, tmTNF	sTNF, tmTNF	sTNF, tmTNF
LT ligantı	-	LT $\alpha$ 3, LT $\alpha$ 2 $\beta$ 1	-	-	-
Nötralizan etki					
sTNF	Orta	Güçlü	Orta	Veri yok	Veri yok
tmTNF	Güçlü	Orta	Güçlü	Güçlü	Veri yok

LT: Lenfotoksin; PEG: Polietilenglikol; tmTNF: Transmembran TNF; TNF: Tümör nekrozis faktör; TNFR: TNF reseptörü

Şekil 6. Anti TNF- $\alpha$  ilaçların özellikleri

Bu ajanların farmakolojileri, özellikle monoklonal antikordur ve etanersept, birbirlerinden farklılıklar gösterir. Etanersept sadece trimerik solubl (s)TNF'yi bağlarken, infliksımab ve adalimumab hem monomerik, hem trimerik sTNF'yi bağlar[55]. Etanersept, sTNF'ye monoklonal antikorduraktan daha yüksek afiniteyle bağlanır; fakat afinitesi düşüktür.

Monoklonal antikorlar TNF- $\alpha$ 'nın hem TNFR1 hem de TNFR2 reseptörüne bağlanmasını önlerken, etanercept ise sadece TNFR2'ye bağlanmayı önleyebilir. Diğer bir fark da, Etanercept'in TNF- $\alpha$ 'nın yanı sıra makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan lenfotoksin- $\alpha$ 'yı (LT- $\alpha$ ) da bağlamasıdır. Oysa monoklonal antikorlar LT- $\alpha$ 'yı bağlayamaz [56]. Anti-TNF- $\alpha$  ilaçlar arasındaki, yapısal farklılıklar ve moleküler düzeydeki etki mekanizmalarındaki farklılıklar, bu ilaçların farklı hastalıklar üzerinde olumlu/olumsuz etkileri ve yan etki profillerindeki farklarını da açıklar niteliktedir.

Birçok romatoid artritli hastada TNF- $\alpha$ 'yı bloke eden ajanlar, genellikle metotreksat, sulfasalazin, leflunomide gibi ilaçlardan birisiyle beraber kullanılmaktadır. Psöriatik artrit, TNF- $\alpha$ 'yı bloke eden ajanların, semptom ve bulguları kontrol altına aldıkları, fonksiyonları olumlu yönde etkiledikleri, eklemlerdeki hasarı baskıladıkları bildirilmektedir[57]. Adalimumab, Golimumab, Etanercept ve Infliksimab, geleneksel tedavilerin yetersiz kaldığı hastalarda etkili olarak kullanılmaktadır. Psöriatik artrit tedavisinde biyolojik ajanların birbirine üstün etkinlikleri saptanmamıştır. Golimumab, bir insan monoklonal antikorudur. Kanada'da yapılan bir çalışmada, bu ilaçla psöriatik artritli hastalarda eklem, deri, tırnak, entezit ve daktilit bulgularında, yaşam kalitelerinde düzelme olduğu gösterilmiştir[58].

Adalimumab, Golimumab, Etanercept ve Infliksimab, klasik tedavilere dirençli, aktif ankilozan spondilit hastalarında yaygın olarak uygulanmaktadırlar. Klinik deneyler, bu ilaçların monoterapi yada metotreksat, sulfasalazin gibi ikinci basamak ajanlarla beraber kullanılmalarının semptom ve bulguları düzelttiğini desteklemektedir. Aksiyel tutulumlu spondilartritli hastalarda, plasebo kontrollü çalışmalarla biyolojik ajanların etkili oldukları gösterilmiştir. Üveit gelişen spondilartritlerde anti-TNF- $\alpha$  ilaçlar ile tedavi üveiti de baskılar.

Etanercept ve Adalimumab'ın, poliartiküler seyirli juvenil idiyopatik artritte kullanımı kabul edilmiştir(FDA; Etanercept için  $\geq 2$  yıl, Adalimumab için  $\geq 4$  yıl süreyle kabul etmiştir). Infliksimab da 6 mg/kg dozda juvenil idiyopatik artritte etkili olmaktadır.

Bunun yanında tedavi sırasında erişkinlerde de çocuk hastalarda da Antifosfolipid ve lupusa benzer sendrom gelişebilir. TNF inhibitörü ile tedavi uygulananlarda, miliyer tüberküloz, ekstrapulmoner tüberküloz gibi atipik seyirli tüberkülozun gelişebileceği görülmüştür. Infliksimab ve Adalimumab kullananlarda Etanercept alanlara göre biraz daha fazla sayıda latent tüberkülozun aktive olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, anti-TNF tedavi başlanacak hastaların latent tüberküloz açısından dikkatli araştırılmaları ve gerektiğinde



tüberküloz profilaksisi uygulanması gerekmektedir. TNF inhibitörü kullanan hastalarda, deri, yumuşak doku, eklemler, solunum sisteminde bakteriyel enfeksiyonlar sıklıkla gelişebilmektedir.

TNF inhibitörlerinin malignitelere yol açma olasılığı sürekli tartışılmaktadır. Kronik enflamatuvar bir hastalık olan RA'da hastalık aktivitesiyle ilişkili olarak lenfoma (özellikle non-Hodgkin) riski sağlıklı toplumlara göre 2-5 kat artmıştır. TNF inhibitörü uygulanan RA'lı hastalarda da benzer risk saptanmıştır. İnfliksımab ve Adalimumab ile ilişkili 2 metaanaliz sonuçları deriyi de kapsayan solid tümör riskinde artışa neden olduğunu desteklemektedir. Melanoma dışı deri kanserlerinin gelişmesi ile TNF inhibitörü ile tedavi arasındaki ilişki tartışılmaktadır[59]. Günümüzde hala TNF inhibitörlerinin maligniteyle ilişkisini araştıran metaanalizler sürmektedir.

### 3. MATERYEL VE METOD

2015 Ocak -2016 Mart tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Kulak Burun Boğaz servisinde masif polipozis sebebiyle endoskopik sinüs cerrahisi yapılan hastalardan operasyon sırasında etmoid hücrelerden yeterli miktarda NP spesmenleri alınarak hücre kültürü için ayrıldı. Hastalara çalışma hakkında genel bilgiler verilerek gerekli izin alındı. Son 6 ay içinde topikal/sistemik steroid tedavisi almış olan veya daha önce endoskopik sinüs cerrahisi olan hastaların spesmenleri hücre kültürü için çalışma dışı bırakıldı.

Operasyon kararı verilen toplam altı masif polipozis hastasının FESC sırasında etmoid hücrelerdeki nazal polip spesmenleri hücre kültürü için ayrıldı. Hastaların rutin nazal polipozis cerrahisi planlaması için yapılmış paranazal sinüs BT'leri mevcuttu ve klinik öyküleri kayıt altına alınmıştı. Tüm hastaların BT görüntüleri masif polipozis ile uyumlu ve muayenelerinde en az polipler alt konka alt sınırına kadar uzanmaktaydı. Hastaların iki tanesi sampter triadı tarif etmekteydi. Hastaların hiçbirinde silier diskinezi, Kartagener sendromu, Young sendromu, kistik fibrozis gibi bir predispozan ek faktör saptanmamıştı.

#### 3.1.Hücre kültürü

Etmoid hücre içinden toplanan polip spesmenleri aseptik olarak muhafaza edildi. Nazal polip fibroblastları izole edildi ve hücre kültürü oluşturuldu. İlk olarak polip spesmenleri laminar flow kabini içerisinde mukus tabakasından arındırılarak fragmente edilerek, kültür aşamasında kullanılan DMEM-F12 ortamı ile temizleme işlemi gerçekleştirildi. Hazırlanan polip fragmanları 100mm'lik hücre kültür kabına yerleştirilerek kültür kabının yüzeyine tutunmalarına izin verildi. Sonrasında %1 Penisilin-Streptomisin ve %10 fetal sığır serumu içeren DMEM-F12 ortamı ilave edilerek 10 gün boyunca konvansiyonel kültür şartlarını sağlayan %5 CO<sub>2</sub> bulunduran 37<sup>0</sup>C deki hücre kültür inkübatöründe hücrelerin çoğalmasına izin verildi. 2' şer günlük aralıklarla besi ortamı tazelendi. Kültürdeki hücreler %90 oranında bir yoğunluğa ulaştığında pasajlama işlemi gerçekleştirilerek alt kültürler oluşturuldu ve çalışmalarda kullanılmak üzere hücrelerin stoklama işlemi gerçekleştirildi. İzole edilen fibroblastlarda epitel/lökosit kontaminasyonu olmadığı doğrulandı.

Hücrelerin pasajlama işleminde sırasıyla, kültür kabından besi ortamının uzaklaştırılması, hücrelere %0.05 'lik tripsin muamelesi ve uzaklaştırılması, hücrelerin taze besi ortamı ile süspansiyon edilerek santrifüjlenmesi, sıvı fazın uzaklaştırılarak pellet haline

gelen hücrelerin tekrar taze besi ortamı ile süspanse edilerek alt kültürlerin oluşturulması ve sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere stoklanması gerçekleştirildi.

Deneysel çalışmalarda hasta örneklerinden izole edilen fibroblastların pasaj sayısı dördü geçtikten sonra kullanıldı.

### **3.2.Hücre Kültürü Stimülasyonu ve Tedavi grupları**

Nazal poliplerden izole edilen fibroblastlar 60mm'lik hücre kültür kaplarına  $1 \times 10^6$  olacak şekilde ekilerek 24 saat süre ile hücrelerin kültür yüzeyine tutunmalarına izin verildi. Sonrasında mikroskop altına kontrol edilen kültürler deneysel çalışmaları gerçekleştirildi.

Çalışmalarda 6 farklı hastadan alınan nazal poliplerden izole edilen fibroblastlardan 6 şarlı deneysel gruplar oluşturuldu. Her bir grupta tedavi gruplarına ilave negatif ve pozitif kontrol grupları yer aldı. Negatif kontrol gruplarına çalışmada kullanılan ilaçların çözgeni olan etanol uygulandı. Pozitif kontrol gruplarına 72 saat süre ile 1ng/ml İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) stimülasyonu gerçekleştirildi. Tüm tedavi gruplarına ilaç uygulamalarından 1'er saat önce(ön muamele) 1ng/ml IL-1 $\beta$  ile stimülasyonları gerçekleştirildi. İlk tedavi grubuna  $10^{-8}$ M Dekametazon, ikinci tedavi grubuna 3 $\mu$ g/ml Etanercept ve üçüncü tedavi grubuna ise sinerjistik etkinin değerlendirilmesi amacıyla  $10^{-8}$ M Dekametazon ve 3 $\mu$ g/ml Etanercept eş zamanlı olarak uygulandı. Deneysel süreç tüm 6' şarlı gruplar için 72 saat sürdü.

72 saatlik sürenin tamamlanması ile hücrelerin besi ortamı ELISA çalışmalarında kullanılmak üzere endorflar içine aktarılarak  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanırken, hücreler endorflarda pellet haline getirilerek gene ekspresyon çalışmalarında kullanılmak üzere yine  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanarak muhafaza edildi.

### **3.3.Elisa**

Kültür ortamına izole edilen fibroblastlardan salınan VCAM-1 (Thermo Fisher), RANTES (Life Technologies, Invitrogen) ve Eotaxin (Life Technologies, Invitrogen) protein konsantrasyonları 6'şarlı deney gruplarında da üretici firmanın talimatlarına uyularak ELISA methodu kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü. Her bir örnek iki şer tekrarlı olarak çalışıldı.

### **3.4.Real time PCR**

6'şarlı deney gruplarında yer alan pellet haline getirilen hücrelerden Invitrogen High Pure RNA izolasyon kiti (Life Science, Roche) kullanılarak mRNA izolasyonları gerçekleştirildi. Sonrasında izole edilen mRNA'ların konsantrasyonları belirlenip eşitlenerek, komplementer DNA'lar cDNA sentez kiti (Life Science, Roche) kullanılarak gerçekleştirildi. VCAM-1, RANTES ve Eotaksin için dizayn edilen spesifik primer setleri kullanılarak Roche Light Cycler 480 Real time cihazı kullanılarak, Real time PCR işlemi gerçekleştirildi.

VCAM-1 , RANTES ve Eotaxin gen ekspresyon düzeyleri her bir 6'şarlı grup için belirlendi. Herbir örnek 3'er tekrarlı olarak çalışıldı.

### **3.5.İstatistiksel analiz**

Elde edilen tüm veriler Student t-test ile analiz edilerek karşılaştırıldı.  $p < 0.05$  olanlar anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama değer (medyan) ve standart sapmaları ile birlikte verildi.

#### 4. BULGULAR

Fibroblast kültürleri ilaç uygulamasından 1 saat önce 1 ng/ml IL-1 $\beta$  ile stimüle edildi. IL-1 $\beta$  ile stimülasyondan 72 saat sonra yapılan ölçümlerde pozitif kontrol grubu protein salınımları negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VCAM-1 düzeyinde anlamlı artış gözlenirken(p=0.018), Eotaksin düzeyinde anlamlı artış görülmedi(p=0.08).(Tablo 1)

ELISA incelemesinde Deksmetazon tedavisinin 72 saat sonunda VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımlarında pozitif kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde azalmaya neden olduğu saptandı(p=0,002, p=0,0004, sırasıyla). Bu azalmanın 72 saat sonunda negatif kontrol grubundan anlamlı derece düşük olduğu görüldü(VCAM-1: p=0.009, Eotaksin : p=0.012).

Fibroblast kültürlerine stimülasyondan sonra Etanercept uygulanan grup, VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımı yönünden pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir azalma gözlenmedi(p=0.22, p=0.1, sırasıyla). Etanercept uygulanan grup negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da benzer şekilde VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımı açısından anlamlı fark görülmedi(p>0.05).

Deksmetazon ile Etanercept grupları VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımı salınımları açısından karşılaştırıldığında Deksmetazon'un Etanercept'e göre belirgin olarak üstün olduğu saptandı.

Deksmetazon ve Etanercept'in birlikte verildiği grup pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımları açısından anlamlı olarak azalma saptandı(p=0.0001, p=0.04, sırasıyla). Ayrıca Deksmetazon verilen grup ile karşılaştırıldığında VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımı üzerine etkileri benzer olarak saptandı.

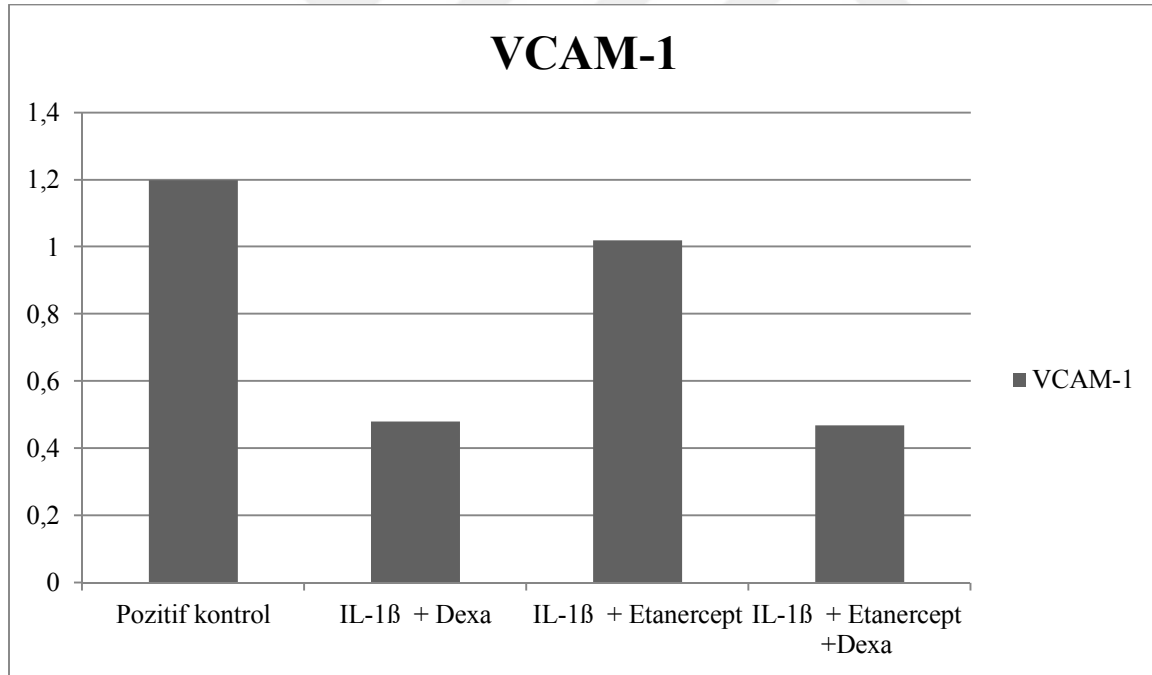
Saptanan RANTES protein salınım düzeyi ölçüm kitleri aralığından daha düşük seviyelerde bulunduğu için sonuç elde edilemedi. Tüm grupların protein salınım düzeyleri Tablo 1-3' de gösterilmiştir.

**Tablo.1** VCAM-1, RANTES ve Eotaksin ELİSA ile protein salınım düzeyleri gösterilmektedir (ortalama değerler ve standart sapmalar ile)

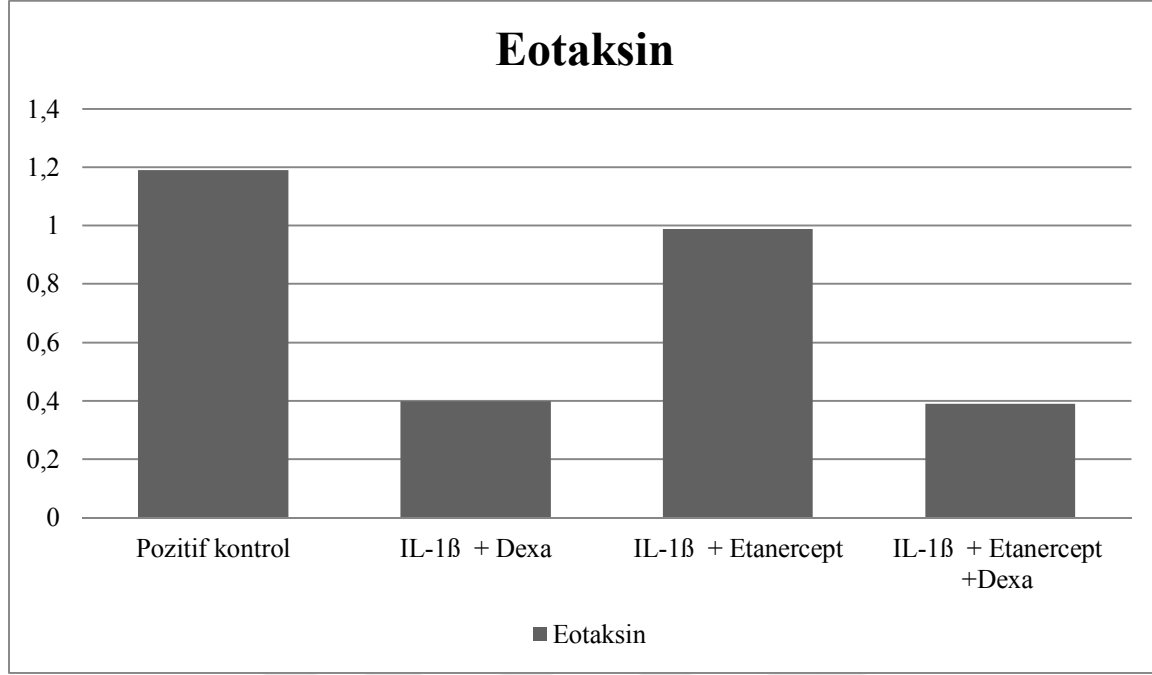
Stimulasyon	VCAM-1	RANTES	Eotaksin
Kontrol(- kontrol)	31,2	-	221,9
IL-1 $\beta$ (+ kontrol)	37,5( $\pm$ 4,68)*	-	266,3( $\pm$ 66,3)*
IL-1 $\beta$ + Dexa	14,9( $\pm$ 6,24)*	-	115,3( $\pm$ 66,4)*
IL-1 $\beta$ + Etanercept	31,8( $\pm$ 11,5)	-	241,8( $\pm$ 88,5)
IL-1 $\beta$ + Etanercept +Dexa	14,6( $\pm$ 4,36)*	-	113,1( $\pm$ 68,7)*

\*p<0.05

**Tablo.2** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde VCAM-1'in ELİSA ile protein salınım düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması



**Tablo.3** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde Eotaksin'in ELİSA ile protein salınım düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.



PCR analizinde, IL-1 $\beta$  ile stimüle edilen grup(pozitif grup) VCAM-1, RANTES ve Eotaksin gen ekspresyon düzeyleri negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanmadı(p>0.05). Tüm grupların mRNA gen ekspresyon düzeyleri Tablo4. de gösterilmiştir.

**Tablo.4** VCAM-1, RANTES, Eotaksin mRNA gen ekspresyon düzeyleri.

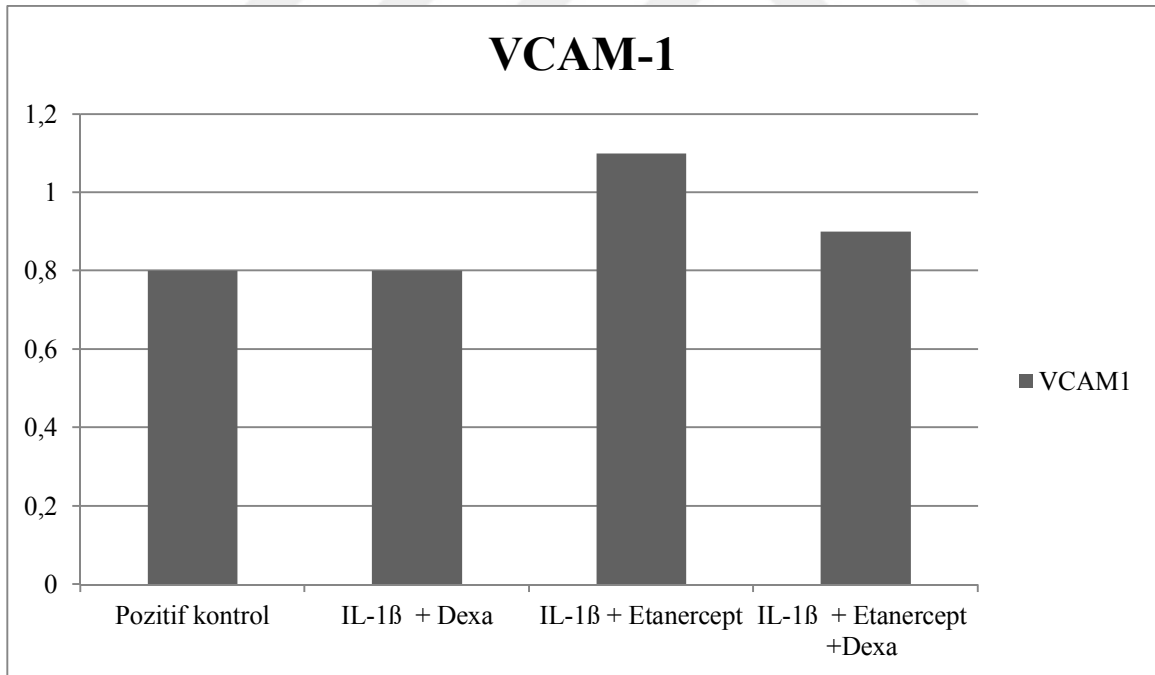
Stimulasyon	VCAM	RANTES	Eotaksin
IL-1 $\beta$ (+ kontrol)	0.8	0.8	2.1
IL-1 $\beta$ + Dexa	0.8	0.8	14
IL-1 $\beta$ + Etanercept	1.1	1.2	9
IL-1 $\beta$ + Etanercept +Dexa	0.9	0.9	14

Deksametazon grubu 72 saat sonunda pozitif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VCAM-1, RANTES ve Eotaksin gen ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu( $p>0.05$ )

Etanercept uygulanan grup 72 saat sonunda pozitif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında VCAM-1, RANTES ve Eotaksin gen ekspresyon düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu( $p>0.05$ )

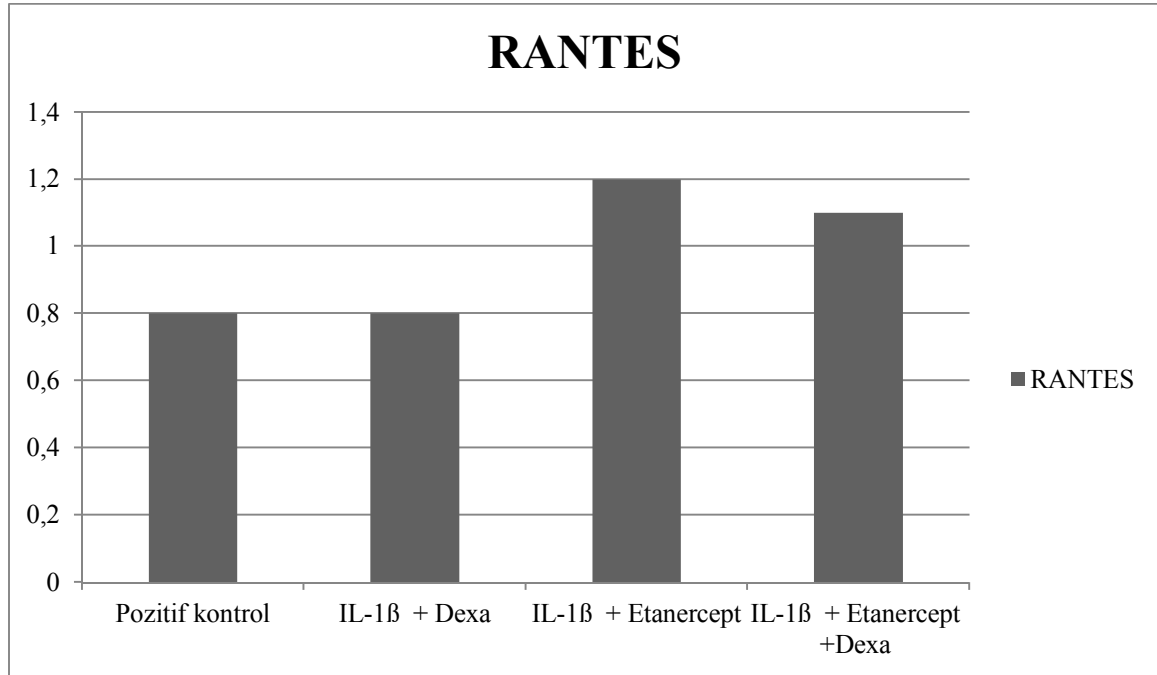
Deksametazon ve Etanercept'in birlikte verildiği grup pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VCAM-1, RANTES ve Eotaksin gen ekspresyonları düzeyinde anlamlı olarak azalma görülmedi( $p>0.05$ ). Gruplar arası PCR sonuçları Tablo5-7'de şematize edilmiştir.

**Tablo.5** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde VCAM-1 gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.

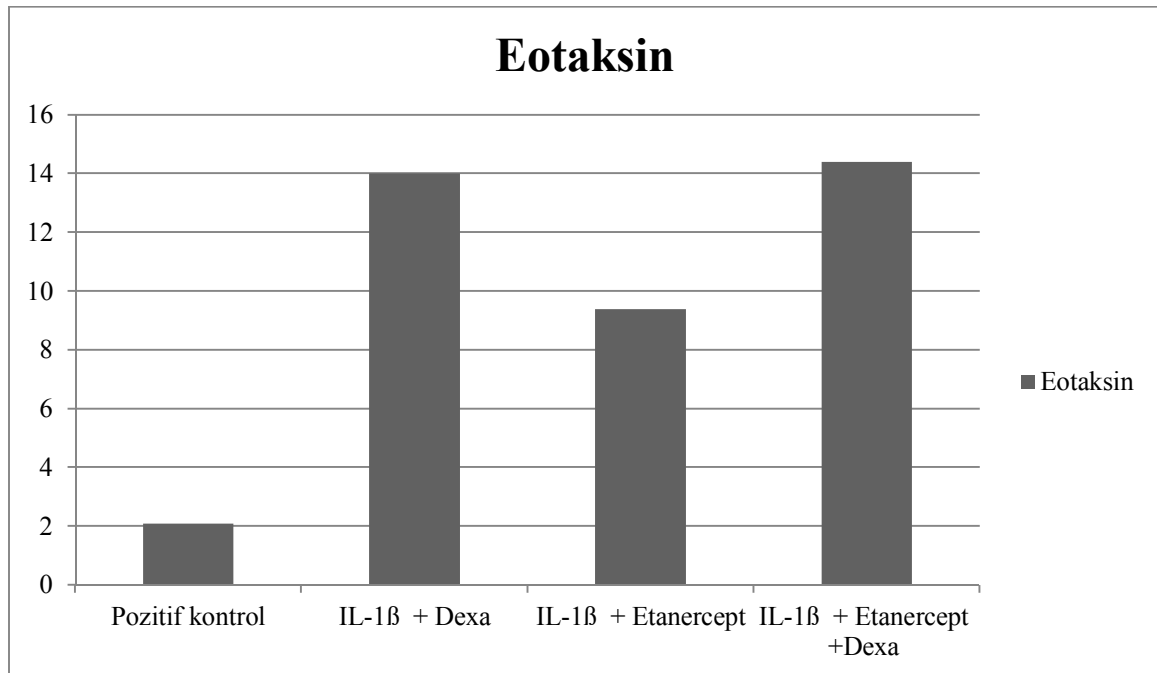




**Tablo.6** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde RANTES gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.



**Tablo.7** Negatif kontrol 1 kabul edildiğinde Eotaksin gen ekspresyon düzeyinin gruplar arası karşılaştırılması.



## 5. TARTIŞMA

Kronik enflamatuvar bir süreç olan NP patogenezi ve altta yatan moleküler ve genetik sebepleri halen aydınlatılmayı beklemektedir. Bizim çalışmamızda da primer olarak hücre kültürlerinde ürettiğimiz nazal polip fibroblastları üzerine bir TNF- $\alpha$  inhibitörü olan Etanercept uygulandı. Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışma nazal polip fibroblastları üzerinde in vitro olarak TNF- $\alpha$  inhibitörlerinin denendiği ilk çalışmadır.

Toplumda %1-4 oranında görülen[39] NP'in, medikal tedavisinde kortikosteroidlerin etkin ilaçlardır. Bugüne kadar medikal tedavi, cerrahi tedavi veya kombinasyon tedavileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Ancak hiçbir tedavinin bugüne kadar uzun dönemde kalıcı iyileşme sağlamadığı aşıkardır. Bonfils ve ark yaptıkları çalışmada, topikal ve sistemik steroid tedavi verdikleri nazal polipli 100 hastada 3 yıllık takip sonunda, %15 oranında cerrahi tedavi gerektiğini belirtmişlerdir[60]. Tuncer ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise hem topikal hem de sistemik steroid tedavisi kullanılan hastalarda %12 oranında poliplerin tamamen regrese olduğunu, %76 oranında belirgin gerileme olduğunu, % 12 oranında tedaviye cevapsızlık olduğunu belirtmişlerdir[61].

Van Camp ve Clement'in yaptığı başka bir çalışmada , nazal polipli 25 hastaya 16 gün süreyle prednisolon (60 mg dozundan başlayıp günde 5 mg azaltarak) kullanmış, bütün semptomlarda belirgin bir azalma saptamışlardır. Tedavi sonunda, 25 hastanın 10'unda anterior rinoskopide polip görünmez hale gelmiş ve paranasal sinüs BT'de hastaların yarısında iyileşme saptanmıştır. Bu iyileşme topikal steroid ile uzun dönemde sağlanamamış ve 1'i dışında tüm hastalar 9 ay içinde cerrahiye ihtiyaç duymuşlardır[62].

Karakuş M. ve ark. yaptığı bir çalışmada başlangıçta oral steroid kullanılan hastaların sadece 2'sinde (%5.7) semptomatik ve radyolojik olarak uzun dönemde tam iyileşme görülmüş, bu iki hasta topikal steroid ile takip edilmişler ve 6 ve 12. aylardaki kontrollerinde de bu hastalarda nüks saptanmamıştır. Geri kalan 33 (%94.3) hastada ise tedavi sonrası 6. ayda rekürrens ortaya çıkmış ve bunlara cerrahi tedavi uygulanmıştır. Sadece cerrahi tedavi uygulanan 35 hastanın 6. aydaki kontrollerinde ise anterior rinoskopide 5 hastada (%11.4), 12. aydaki kontrollerinde ise 12 hastada (%34.3) rekürrens saptanmıştır. Steroid+cerrahi tedavi uygulanan 33 hastada ise 6. ayda 3 hastada (%9.1), 12. ayda 9 hastada (%27.3) rekürrens saptanmıştır. Sadece cerrahi tedavi uygulanan hastalarda steroid grubuna göre, steroid +cerrahi uygulanan hastalarda da sadece cerrahi grubuna göre daha az rekürrens ile karşılaşmıştır[63].

Gereklilik halinde seçilecek cerrahi tipi rekürrens oranlarını etkileyebilir. Cerrahi sonrası rekürrens oranları farklı oranlarda(%13-%75) bildirilmiştir[5]. Uzun dönemli bir takip çalışmasında basit polipektomi sonrası uzun dönem takiplerde hastaların %3'ünde büyük polipler, %30'unda orta boyutta polipler, %42'sinde küçük polipler saptanmıştır. Hastaların %25'inde polip görülmemiştir[64]. Yapılan başka bir çalışmada ise cerrahi seçeneğe göre rekürrens oranları değerlendirilmiş radikal etmoidektomi yapılanlarda 5 yıllık izlemlerde %22 rekürrens görülürken, fonksiyonel etmoidektomi yapılanlarda %58 rekürrens saptanmıştır[47].

Mauz PS ve ark. yaptığı bir çalışmada ise steroid tedavisine rağmen cerrahi gereksinimi olan 194 hastalık bir seri çalışmasında rekürrens oranı %18 olarak saptanmıştır. Ortalama rekürrens süresi 422 gün olarak tespit edilmiştir. 9 hastada cerrahi sonrası komplikasyon gelişmiş olup bunlardan 8 tanesi orbito-okuler komplikasyonlar olup 1 tanesi bos fistülüdür[65].

Günümüzde nazal polipozisin tedavisindeki temel yaklaşım rekürrensların en az ve en uzun sürede olmasını sağlamaktır. Birçok çalışma ile postoperatif topikal steroid kullanımının rekürrenslari azaltmada etkinliği gösterilmiştir. 109 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada FESC sonrası 6. haftada flutikazon sprey tedavisi başlanan grupta plasebo gruba göre 5 yıllık takiplerde prednizolon tedavi ihtiyacı anlamlı olarak düşük bulunmuştur[66].

Mevcut veriler ışığında günümüzde kortikosteroid tedavisi ve endoskopik sinüs cerrahisi ile medikal ve cerrahi polipektomi yapmak mümkün olsa da, hastalığa uzun dönemde kalıcı iyileşme sağlayamaması, rekürrens oranları, tekrarlayan cerrahiler ve sistemik steroid tedavisi ihtiyacı sebebiyle yeni tedavilerin araştırılması bir ihtiyaç durumundadır.

Yapılan farklı çalışmalarda nazal polipozis tedavisinde çeşitli ajanlar denenmiştir. Bu ilaçlar arasında özellikle makrolidlerin başını çektiği antibiyotikler, antifungallar, antihistaminikler, lökotrien antagonistleri, furosemid, amilorid gibi diüretikler bulunmaktadır. Makrolidler üzerine yapılan bir çalışmada makrolidlerin bakteriyel kolonizasyon virülansını azalttığı gibi anti-enflamatuvar etkileri ile polip boyutunu küçülttüğü ve lokal olarak IL-8 düzeyini baskıladığı gösterilmiştir[67, 68]. Bunlar dışında NP'te fibroblast proliferasyonunu azalttığı ve HLA ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır[69, 70]. Yapılan klinik bir çalışmada Roksitromisin 8 hafta boyunca 20 nazal polipli kronik rinosinüzit hastasına uygulanmış olup, hastaların %52'sinde iyileşme saptanmıştır. Başka bir gruba ise Roksitromisin ve Azalastin

kombine olarak uygulanmış ve iyileşme oranları %68 olarak saptanmıştır[71]. Ancak NP tedavisinde makrolidlerin oynayacağı rolü belirlemek için daha geniş ölçekli ve plasebo kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Antihistaminikler ile ilgili yapılan birçok çalışmada nazal polip üzerine belirgin etkileri olmadığı ancak alerji semptomları olan nazal polipli hastalarda kullanımları önerilmiştir[72]. Lökotrien antagonistleri üzerine de birçok klinik çalışma yapılmış olup nazal polip tedavinde kullanımı önerilmemektedir[73, 74].

Furosemid daha çok inhaler olarak akut astım tedavisinde kullanılmaktadır. Etkinliğini prostoglandin salınımını sağlaması ,enflamatuvar hücrelerden mediatörlerin salınımı bloke etmesi , respirituar epitelde iyon geçişini düzenlemesi ile sağlamaktadır[75]. NP olan 40 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, endoksojik sinüs cerrahisi sonrası 6 yıllık takipte nazal spey olarak furosemid verilen grupta 4 hastada ,tedavi almayan kontrol grubunda ise 12 hastada rekürrens saptanmıştır[76]. 2003 yılında Passali ve ark.nın 170 nazal polipli kronik rinosinüzit hastasında yaptığı çalışmada uzun dönem topikal furosemid tedavisi tedavi almayan grupla karşılaştırılmış ve furosemid alanların %17.5'inde, kontrol grubunun ise %30'unda rekürrens saptanmıştır. Genel olarak tüm çalışmalar göz önüne alındığında uzun dönemli furosemid tedavileri günümüzde önerilmemektedir[77].

Moleküler araştırmaların ilerlemesi ile nazal polipoziste eozinofil hakimiyetinde Th2 aracılı bir inflamasyonun olduğu saptanmıştır. Pawankar ve ark. yaptığı çalışmada nazal polipte hücre popülasyonununun %60'tan fazlasını eozinofillerin oluşturduğu saptanmış ve eozinofillerin NP inflamasyonunda anahtar rol oynadığı düşünülmüştür[78]. Bernstein ve ark.nın yaptığı çalışmada TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , VCAM-1, RANTES ve eotaxin sitokinlerinin nazal poliplerde varlığı gösterilmiştir[79]. Junichiro ve ark. nazal poliplerdeki eozinofil artışına neden olan sitokinleri ve özellikle bu yolla VCAM-1'in etkinliği olup olmadığını araştırdıkları çalışmada nazal polip fibroblastlarında VCAM-1 mRNA artışını ve protein üretimini saptamışlardır. Ayrıca VCAM-1 üretiminin TNF- $\alpha$  stimülasyonu ile olduğunu ve TNF- $\alpha$ 'nın da NF-Kb yolağı üzerinden etkisini gösterdiğini göstermişlerdir[80]. Fusako ve ark.nın yaptığı, nazal polip fibroblastlarında RANTES ekspresyonunun ölçüldüğü çalışmada, TNF- $\alpha$  veya IL-1 $\beta$  ile nazal polip fibroblastları stimüle edilmiş ve RT-PCR uygulanarak RANTES gen ekspresyon düzeyi değerlendirilmiştir. Çalışmada stimüle edilmeyen hücrelerde RANTES gen ekspresyonu gözlemlenmemiş, stimülasyondan sonra 1. saatten başlayarak 72. saatte maksimum düzeye çıkan RANTES gen ekspresyonu gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara

dayanarak RANTES'in nazal polipte dokudaki eozinofil hakimiyetini sağlayan önemli bir sitokin olabileceği ve fibroblastların nazal polipte RANTES üretimini sağlayarak önemli bir etkinliğinin olabileceği düşünölmüştür. Noso ve ark. yaptığı dermal fibroblastlarla ilgili başka bir çalışmada TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ile stimölasyondan sonra RANTES düzeylerindeki artışın epitelyum hücrelerinden veya endotelial hücrelere kıyasla fibroblastlarda çok daha fazla olduğu saptanmıştır[14].

NP fibroblastları üzerine yapılan bir çok hücre kültürü çalışmasında, fibroblastların proenflamatuvar süreçte önemli bir görevi olabileceği gösterilmiştir. TNF- $\alpha$  veya IL-1 $\beta$  ile stimölasyonlardan sonra bir çok sitokinin fibroblast hücrelerinde üretiminin arttığı ve buna bağlı proenflamatuvar proteinlerin artışı gösterilmiştir. Yoshifuku ve ark. yaptığı çalışmada NP fibroblastlarında TNF- $\alpha$  stimölasyonundan 24 saat sonra RANTES ve VCAM-1 üretimi ELISA ile gösterilmiştir[81].

Çalışmamızda, IL-1 $\beta$  stimölasyonundan 72 saat sonra yapılan ELISA ölçümlerinde nazal polip fibroblastlarından sekrete edilen VCAM-1 protein miktarlarında anlamlı düzeyde artış saptadık. 1999 yılında Nonoka ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ilk defa nazal polip fibroblastlarında Eotaksin üretimi gösterilmiştir. Bununla beraber lipopolisakkarit, IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ile stimöl edilen nazal polip fibroblastlarında Eotaksin gen ekspresyon ve protein üretim artışı saptanmıştır. Ancak bizim çalışmamız bu verilerle uyumlu olmayıp fibroblast kültürlerine IL-1 $\beta$  ile stümilasyonla Eotaksin protein salınımında artış sağlansa da bu oran istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durum bize daha kesin sonuçlar elde etmek için çalışmanın farklı dozlarda ve farklı sürelerde geliştirilmesi gerektiğini göstermiştir. Bunun yanında aynı doz ve stimölasyon süresinde VCAM-1'in protein düzeylerinin anlamlı derecede artarken, Eotaksin protein düzeylerinde anlamlı artışın görölmemesi VCAM-1 sitokininin Eotaksin'e kıyasla bu enflamatuvar süreçte daha önemli bir rol oynayabileceğini düşöndürmüştür. Yine 2000 yılında Saji ve ark. çalışmasında[14] TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ile stimöl edilen NP fibroblastlarında RANTES üretiminin arttığı gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda RANTES protein düzeyi ölçüm kit değerlerinin altında kaldığı için veri elde edilememiştir. Verilerimiz ışığında, nazal polipteki, eozinofil göçünde önemli görevlere sahip olan özellikle VCAM-1 kemotaktik sitokininin, nazal polip fibroblastlarında yüksek saptanması, nazal polip dokusundaki eozinofiliden sorumlu olabileceğini desteklemiştir. Ayrıca nazal polip fibroblastlarında saptanan bu sitokin cevabı , fibroblastların bu kronik süreçte sitokin üretiminde destek rolü olduğu yönündeki görüşü destekler.

NP tedavisinde kullanılan topikal ve sistemik steroidlerin etki mekanizmaları henüz tam olarak ortaya çıkarılamamıştır. Nazal polip fibroblastlarında tedavi etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada Silvestri ve ark. flutikazonun, TNF- $\alpha$  tarafından üretimi artmış olan protein sekresyonu ve gen ekspresyonunun azaltıldığını saptamıştır[82]. Meyer ve ark. da betametazon ve hidrokortizon gibi farklı glukokortikoidleri değerlendirmiş ve bu ilaçların NP fibroblastlarında RANTES ekspresyonunu inhibe ettiğini göstermiştir[83]. Valera ve ark.nın yaptığı çalışmada flutikazonun çok düşük dozlarda bile anlamlı oranda NF- $\kappa$ B nükleer translokasyonunu güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir[84].

Bertolín ve ark. yaptığı hücre kültürü çalışmasında ise nazal polip fibroblastlarında VEGF , IL-6, IL-8 gibi bir çok sitokin yüksek değerlerde ölçülmüştür. Bunun yanında Deksmetazon tedavisi ile hem nazal mukoza hücrelerinde hem de nazal polip fibroblastlarında IL-6 ve IL-8'in doza bağımlı olarak inhibe olduğu saptanmıştır[85].

Biz de çalışmamızda nazal polip fibroblastlarında TNF- $\alpha$  inhibitörünün etkinliğini karşılaştırmak için, NP tedavisinde klinik olarak etkinliği saptanmış, hücresel düzeyde sitokinleri baskılayıcı etkisi ortaya konmuş olan Deksmetazon'u kullandık. Stimülasyondan 1 saat sonra hücre kültürlerine eklenen  $10^{-8}$ M Deksmetazon'un 72 saat sonunda anlamlı düzeyde VCAM-1 ve Eotaksin ekspresyonunu ve üretimini azalttığını saptadık. Tüm hastalarda iki sitokini de aşırı biçimde inhibe eden Deksmetazon, klinik olarak etkinliği bilinen bir ilaç olmanın yanında in vitro olarak etkinlik yollarından birinin kemotaktik sitokinlerin inhibisyonu ile olabileceğini bu çalışma güçlü bir şekilde göstermiştir. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla in vitro olarak nazal polip fibroblastlarında Deksmetazon'un VCAM-1, RANTES ve Eotaksin üzerinde etkisinin incelendiği ilk çalışmadır.

TNF- $\alpha$  inflamasyonun temel sitokinlerindedir. Romatoid artrit, ankolizan spondilit, Crohn hastalığı gibi birçok kronik sistemik hastalığın patogeneğinde ana unsur olduğu saptanmıştır. Nazal polipoziste de TNF- $\alpha$ 'nın inflamasyonda önemli görevler üstlendiği ve hücrelerdeki sitokin uyarımından sorumlu olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir genetik çalışmada nazal polipli hastalardan alınan örneklerde TNF- $\alpha$ 'nın kodlandığı alan olan 6. kromozom kısa kolunda -308 lokalizasyonda tek gen polimorfizmi saptanmış ve bunun nazal polipozis oluşumunda predispozan bir faktör olabileceği öne sürülmüştür[5]. TNF- $\alpha$  inhibitörleri günümüzde klinik kullanıma girmiş olup pek çok kronik enflamatuvar hastalığın tedavisinde etkili sonuçlar vermektedir. Biz de çalışmamızda bu verileri göz önünde bulundurarak bir TNF- $\alpha$  inhibitörleri olan Etanercept'in nazal polip fibroblastları üzerine

etkilerini araştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, in vitro olarak NP fibroblastlarında Etanercept'in Eotaksin'in protein düzeyinde düşmeye yol açtığı görüldü. VCAM-1 protein salınımında ise belirgin azalma yapmadığı saptandı. Etanercept ile karşılaştırıldığında Dekametazon'un sitokinleri 72 saat sonunda protein sekestrasyonları yönünden daha etkin olduğunu saptadık. Bu verilerden yola çıkararak nazal polipozisin temel hyesi olan ve Th2 aracılı inflamasyonda en kritik rolü üstlenen eozinofillerin moleküler düzeyde dokuya gn engellemede Etanercept'in görev alabileceği dşnlmekle birlikte, alışmamızda Dekametazon'un daha güçlü bir sitokin inhibisyonu yaratması, daha geniş serilerde ve farklı sitokinlerle ve farklı dozlarda Etanercept'e yönelik yeni çalışmaların gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda ayrıca sinerjistik etkinliği olup olmadığını araştırmak için oluşturulan, hem Etanercept hem de Dekametazon'un beraber verildiği grubun VCAM-1 ve Eotaksin protein inhibisyonu açısından pozitif ve negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında etkin olduğu görüldü. Ancak sadece Dekametazon verilen grupla karşılaştırıldığında, inhibisyon açısından benzer sonuçlar edilmesi sebebiyle sinejistik etkinlik hipotezinin çok güçlü olmadığı dşnld.

Bu alışma nazal polipli kronik sinüzit hastalarında TNF- $\alpha$  inhibitörlerinin yeni bir tedavi modalitesi olarak kullanımına moleküler bir temel sağlamaktadır. Farklı dozlar ile tekrarlanarak ideal dozun saptanması ve klinik deneyler ile tedavi etkinliğinin gösterilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Nazal polipozis, paranasal sinüsleri ve nazal mukozayı etkileyen, multifaktöryel etkenler ile kronik infalamatuvar bir süreç sonucunda oluşan, benign bir hastalıktır. Nazal polipozis patogenezinde birçok farklı etiyolojik faktör mevcut olmakla birlikte genellikle eozinofil hakimiyetinde Th2 aracılı bir inflamasyon görülür. Yapılan genetik çalışmaları ile, nazal poliplerden alınan dokularda, TNF- $\alpha$  lokasyonunda  $\alpha$  allelinde oluşan tek nükleotid polimorfizmi olduğu saptanmıştır. Biz çalışmamızda, primer hücre kültürlerinde ürettiğimiz nazal polip fibroblastları üzerine TNF- $\alpha$  inhibitörlerinin etkinliğini değerlendirmeyi; ikincil olarak da proenflamatuvar sitokinlerin salımı ve proliferasyonu üzerine etkinliğini kortikosteroidler ile karşılaştırmayı amaçladık.

**Materyal :** 2015 Ocak -2016 Mart tarihleri arasında Adnan Menderes Üniversitesi Kulak Burun Boğaz servisinde masif polipozis sebebiyle endoskopik sinüs cerrahisi yapılan 6 masif polipozis hastasının etmoid hücrelerdeki nazal polip spesmenleri hücre kültürü için ayrıldı. Primer hücre kültüründe üretilen nazal polip fibroblastları tedavilerden 1 saat önce (pretreatment) 1ng/ml IL-1 $\beta$  stimüle edildi. Tedavi olarak 10<sup>-8</sup>M Dekametazon ve 3  $\mu$ g/ml Etanercept ve kombine olarak her iki ilaç verildi. Negatif kontrol(stimülasyon yapılmayan grup), pozitif kontrol(IL-1 $\beta$  stimülasyonu yapılan grup), Dekametazon tedavisi alan grup, Etanercept tedavisi alan grup ve kombine (Dekametazon + Etanercept) tedavi alan grup olmak üzere 5 grup oluşturuldu. 72 saat inkübasyon sonunda VCAM-1, RANTES ve Eotaksin sitokinleri ELISA ve PCR ile değerlendirildi. İstatistiksel analiz yapıldı. Ortalama değer ve standart sapmalar hesaplandı.

**Bulgular :** Pozitif kontrol grubu protein salınımları negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında VCAM-1(p=0.018), düzeyinde anlamlı artış gözlenirken, Eotaksin düzeyinde anlamlı artış görülmedi(p=0.08). Dekametazon 72 saat sonunda tüm yapılan kültürlerdeki VCAM-1 ve Eotaksin protein salınımlarında pozitif kontrolle karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde azalmaya neden oldu(p=0.002, p=0.0004, sırasıyla). Etanercept uygulanan grup, Eotaksin ve VCAM-1 protein salınımı yönünden pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin azalma gözlenmedi(p=0.1, p=0.22, sırasıyla). Dekametazon'un, VCAM-1 ve Eotaksin salınımını inhibasyonunda Etanercept'e göre belirgin olarak üstün olduğu izlendi. Dekametazon ve Etanercept kombinasyonunun ise sadece Dekametazon tedavisine göre, VCAM-1 ve Eotaksin salınımı üzerine bir üstünlüğü saptanmadı. RANTES protein salınımı ölçüm kitleri aralığından daha düşük seviyelerde bulunduğu için sonuç elde



edilemedi. Yapılan VCAM-1, Eotaksin ve RANTES mRNA düzeylerinde her beş grup için de anlamlı bir sonuç elde edilemedi( $p>0.05$ ).

**Tartışma:** Günümüzde NP medikal ve cerrahi tedavilere rağmen sıklıkla nüks etmektedir. Bu sebeple yeni tedavilerin araştırılması bir ihtiyaç durumundadır. Bu durum yeni tedavi seçeneklerinin araştırılmasının önünü açmaktadır. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla nazal polip fibroblastları üzerinde in vitro olarak TNF- $\alpha$  inhibitörlerinin denendiği ilk çalışmadır. Verilerimiz bize, Etanercept'in Eotaksin sitokinini baskılamada etkinliğinin olduğunu ancak bu etkinliğin deksametazondan daha düşük düzeyde olduğunu düşündürdü. Ayrıca kombine verilen Etanercept ve deksametazonun, sadece deksametazon verilen gruba sitokin baskılamada bir üstünlük sağlamadığı saptandı. Bu çalışma nazal polipli kronik sinüzit hastalarında TNF-a inhibitörlerinin yeni bir tedavi modalitesi olarak kullanımına moleküler bir temel sağlamaktadır. Farklı dozlar ile tekrarlanarak ideal dozun saptanması ve klinik deneyler ile tedavi etkinliğinin gösterilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

## ABSTRACT

**Aim:** Nasal polyposis is a benign disease which has a chronic inflammatory pathway. Eosinophilic and Th2 related inflammatory is the most common type. Genetic studies determined that genetic polymorphism at TNF- $\alpha$  gene localization may cause this inflammatory. We aimed to determine the effect of TNF- $\alpha$  inhibitors at nasal polyp fibroblasts which we produced at cell culture. Secondly we purposed to compare the effects of TNF- $\alpha$  inhibitors with steroids.

**Method:** 6 patient's nasal polyp specimens collected during endoscopic surgery. Nasal polyp fibroblasts were cultured and stimulated with IL-1 $\beta$ . Cells were submitted to Dexamethasone, Etanercept and combination of them. Inflammatory response was detected with VCAM-1, RANTES and Eotaxin protein levels (ELISA) and expression (PCR).

**Results:** Dexamethasone inhibited VCAM-1 and Eotaxin protein levels significantly. Etanercept effected Eotaxin protein levels but compared with Dexamethasone, Dexamethasone was more intense than Etanercept. Combination of Etanercept and Dexamethasone therapy had same protein levels as Dexamethasone therapy.

**Discussion:** TNF- $\alpha$  inhibitors may be efficient in NP therapy. This study determined anti-inflammatory effects of Etanercept at nasal polyp fibroblasts but it wasn't powerful as Dexamethasone. We couldn't detect synergistic effects of Dexamethasone and Etanercept. This study provides the molecular bases for NP with a TNF- $\alpha$  inhibitor. Future primer culture studies are needed to determine ideal concentrations and time intervals of Etanercept for NP.

## 6. KAYNAKLAR

1. O Ç, ed. 2002. *Kulak Burun Boğaz Hastalıkları ve BaşBoyun Cerrahisi*. İstanbul: Turgut Yayıncılık. 377-410 pp.
2. Brain DJ. 1997. Historical background. In *Nazal Polyps: Epidemiology, Pathogenesis and Treatment*, pp. 7-15: OceanSide Publications, Inc
3. Settipane GA. 1987. Nazal polyps: epidemiology, pathology, immunology, and treatment. *American Journal of Rhinology* 1: 119-26
4. Yonge ES. 1906. *Polypus of the nose*: Sherratt and Hughes
5. Önerci M. 2010. Nazal polyposis. In *Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, pp. 27-8: Springer
6. Blomqvist EH, Lundblad L, Anggard A, Haraldsson PO, Stjerne P. 2001. A randomized controlled study evaluating medical treatment versus surgical treatment in addition to medical treatment of nazal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 107: 224-8
7. Chambers DW, Davis WE, Cook PR, Nishioka GJ, Rudman DT. 1997. Long-term outcome analysis of functional endoscopic sinus surgery: correlation of symptoms with endoscopic examination findings and potential prognostic variables. *Laryngoscope* 107: 504-10
8. Cohen NA, Kennedy DW. 2006. Revision endoscopic sinus surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 39: 417-35, vii
9. Johansson L, Holmberg K, Melen I, Stierna P, Bende M. 2002. Sensitivity of a new grading system for studying nazal polyps with the potential to detect early changes in polyp size after treatment with a topical corticosteroid (budesonide). *Acta Otolaryngol* 122: 49-53
10. Kayaalp S. 2000. Glukokortikoidler. *Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık, sf2*: 1301-16
11. Larson DL. 1999. Essential Otolaryngology. *Plastic and Reconstructive Surgery* 104
12. Önerci M. 1996. *Endoskopik sinüs cerrahisi*: Metin Önerci
13. Bongartz T, Warren FC, Mines D, Matteson EL, Abrams KR, Sutton AJ. 2009. Etanercept therapy in rheumatoid arthritis and the risk of malignancies: a systematic review and individual patient data meta-analysis of randomised controlled trials. *Annals of the rheumatic diseases* 68: 1177-83
14. Saji F, Nonaka M, Pawankar R. 2000. Expression of RANTES by IL-1 beta and TNF-alpha stimulated nazal polyp fibroblasts. *Auris Nasus Larynx* 27: 247-52
15. Gosepath J, Brieger J, Lehr HA, Mann WJ. 2005. Expression, localization, and significance of vascular permeability/vascular endothelial growth factor in nazal polyps. *American journal of rhinology* 19: 7-13
16. Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. 1997. Glucocorticoid treatment for nazal polyps. The use of topical budesonide powder, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 123: 595-600
17. Johansson L, Åkerlund A, Melén I, Holmberg K, Bende M. 2003. Prevalence of nazal polyps in adults: the Skovde population-based study. *Annals of Otolaryngology & Rhinology* 112: 625-9
18. Hedman J, Kaprio J, Poussa T, Nieminen MM. 1999. Prevalence of asthma, aspirin intolerance, nazal polyposis and chronic obstructive pulmonary disease in a population-based study. *Int J Epidemiol* 28: 717-22
19. Drake-Lee AB, Lowe D, Swanston A, Grace A. 1984. Clinical profile and recurrence of nazal polyps. *J Laryngol Otol* 98: 783-93
20. Moloney JR. 1977. Nazal polyps, nazal polypectomy, asthma, and aspirin sensitivity. Their association in 445 cases of nazal polyps. *J Laryngol Otol* 91: 837-46
21. Larsen K, Tos M. 1994. Clinical course of patients with primary nazal polyps. *Acta Otolaryngol* 114: 556-9
22. Frenkiel S, Small P, Rochon L, Cohen C, Darragh D, Black M. 1982. Nazal polyposis--a multidisciplinary study. *J Otolaryngol* 11: 275-8
23. Sil A, Mackay I, Rowe-Jones J. 2007. Assessment of predictive prognostic factors for functional endoscopic sinus surgery in a 5-year prospective outcome study. *Am J Rhinol* 21: 289-96
24. Shekelle PG, Woolf SH, Eccles M, Grimshaw J. 1999. Clinical guidelines: developing guidelines. *BMJ* 318: 593-6
25. Piccirillo JF, Edwards D, Haiduk A, Yonan C, Thawley SE. 1995. Psychometric and clinimetric validity of the 31-item rhinosinusitis outcome measure (RSOM-31). *American journal of rhinology* 9: 297-306
26. Deal RT, Kountakis SE. 2004. Significance of nazal polyps in chronic rhinosinusitis: symptoms and surgical outcomes. *Laryngoscope* 114: 1932-5
27. Fokkens W, Lund V, Mullol J, European Position Paper on R, Nazal Polyps g. 2007. European position paper on rhinosinusitis and nazal polyps 2007. *Rhinol Suppl*: 1-136

28. Dalziel K, Stein K, Round A, Garside R, Royle P. 2003. Systematic review of endoscopic sinus surgery for nasal polyps. *Health Technol Assess* 7: iii, 1-159
29. Amar YG, Frenkiel S, Sobol SE. 2000. Outcome analysis of endoscopic sinus surgery for chronic sinusitis in patients having Samter's triad. *J Otolaryngol* 29: 7-12
30. Batra PS, Kern RC, Tripathi A, Conley DB, Ditto AM, Haines GK, 3rd, Yarnold PR, Grammar L. 2003. Outcome analysis of endoscopic sinus surgery in patients with nasal polyps and asthma. *Laryngoscope* 113: 1703-6
31. Stammberger H. 1999. Surgical treatment of nasal polyps: past, present, and future. *Allergy* 54 Suppl 53: 7-11
32. Settipane GA. 1996. Epidemiology of nasal polyps. *Allergy Asthma Proc* 17: 231-6
33. Lund VJ, Kennedy DW. 1995. Quantification for staging sinusitis. The Staging and Therapy Group. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 167: 17-21
34. Drake-Lee A. 1989. Nasal polyps. *Rhinitis: mechanisms and management*. London: Royal Society of Medicine: 141-52
35. Ünal ÖF, Önerci M. 1994. Nazal Polip. *Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi* 2: 260-1
36. Settipane GA, Lund VJ, Tos M. 1997. *Nasal polyps: epidemiology, pathogenesis and treatment*. Oceanside Publications
37. Alobid I, Benitez P, Bernal-Sprekelsen M, Roca J, Alonso J, Picado C, Mullol J. 2005. Nasal polyposis and its impact on quality of life: comparison between the effects of medical and surgical treatments. *Allergy* 60: 452-8
38. Denburg J. 1997. Cytokines and inflammatory cells. *Nasal polyposis: an inflammatory disease and its treatment*. Munksgaard, Copenhagen: 78-88
39. Lildholdt T, Mygind N. 1997. *Nasal Polyposis: an inflammatory disease and its treatment*. Munksgaard
40. Iademarco MF, McQuillan JJ, Rosen GD, Dean DC. 1992. Characterization of the promoter for vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1). *J Biol Chem* 267: 16323-9
41. Bernstein JM, Yankaskas JR. 1994. Increased ion transport in cultured nasal polyp epithelial cells. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 120: 993-6
42. Steinke JW, Bradley D, Arango P, Crouse CD, Frierson H, Kountakis SE, Kraft M, Borish L. 2003. Cysteinyl leukotriene expression in chronic hyperplastic sinusitis-nasal polyposis: importance to eosinophilia and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 111: 342-9
43. Hajeer AH, Hutchinson IV. 2001. Influence of TNF $\alpha$  gene polymorphisms on TNF $\alpha$  production and disease. *Human immunology* 62: 1191-9
44. Batikhan H, Gokcan MK, Beder E, Akar N, Ozturk A, Gerceker M. 2010. Association of the tumor necrosis factor- $\alpha$ -308 G/A polymorphism with nasal polyposis. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 267: 903-8
45. Sawa Y, Sugimoto Y, Ueki T, Ishikawa H, Sato A, Nagato T, Yoshida S. 2007. Effects of TNF- $\alpha$  on leukocyte adhesion molecule expressions in cultured human lymphatic endothelium. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 55: 721-33
46. Gallois C, Habib A, Tao J, Moulin S, Maclouf J, Mallat A, Lotersztajn S. 1998. Role of NF- $\kappa$ B in the Antiproliferative Effect of Endothelin-1 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  in Human Hepatic Stellate Cells INVOLVEMENT OF CYCLOOXYGENASE-2. *Journal of Biological Chemistry* 273: 23183-90
47. Jankowski R, Pigret D, Decroocq F, Blum A, Gillet P. 2006. Comparison of radical (nasalisation) and functional ethmoidectomy in patients with severe sinonasal polyposis. A retrospective study. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 127: 131-40
48. Bendouah Z, Barbeau J, Hamad WA, Desrosiers M. 2006. Biofilm formation by Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa is associated with an unfavorable evolution after surgery for chronic sinusitis and nasal polyposis. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery* 134: 991-6
49. Rizk H. 2011. Role of aspirin desensitization in the management of chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 19: 210-7
50. Bacciu A, Bacciu S, Mercante G, Ingegnoli F, Grasselli C, Vaglio A, Pasanisi E, Vincenti V, Garini G, Ronda N, Ferri T, Corradi D, Buzio C. 2006. Ear, nose and throat manifestations of Churg-Strauss syndrome. *Acta Otolaryngol* 126: 503-9
51. Samancı N, Balcı N. 2001. Kortikosteroidler Ve Klinikte Kullanımları. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 21: 131-40
52. Rang H, Dale M, Ritter J, Moore P. 2003. Pharmacology (5th edn). *Edinburgh: Churchill Livingstone*: 410-20
53. Delbrouck C, Gabius HJ, Vandenhoven G, Kiss R, Hassid S. 2004. Budesonide-dependent modulation of expression of macrophage migration inhibitory factor in a polyposis model: evidence for differential regulation in surface and glandular epithelia. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113: 544-51

54. Watanabe K, Shirasaki H, Kanaizumi E, Himi T. 2004. Effects of glucocorticoids on infiltrating cells and epithelial cells of nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 113: 465-73
55. Wallis RS. 2008. Tumour necrosis factor antagonists: structure, function, and tuberculosis risks. *Lancet Infect Dis* 8: 601-11
56. Dinarello CA. 2005. Differences between anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  monoclonal antibodies and soluble TNF receptors in host defense impairment. *The Journal of Rheumatology* 74: 40-7
57. Ma X, Xu S. 2013. TNF inhibitor therapy for rheumatoid arthritis (Review). *Biomedical reports* 1: 177-84
58. Kavanaugh A, McInnes I, Mease P, Krueger GG, Gladman D, Gomez-Reino J, Papp K, Zrubeck J, Mudivarthi S, Mack M. 2009. Golimumab, a new human tumor necrosis factor  $\alpha$  antibody, administered every four weeks as a subcutaneous injection in psoriatic arthritis: Twenty-four-week efficacy and safety results of a randomized, placebo-controlled study. *Arthritis & Rheumatism* 60: 976-86
59. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. 2006. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA* 295: 2275-85
60. Bonfils P, Nores JM, Halimi P, Avan P. 2003. Corticosteroid treatment in nasal polyposis with a three-year follow-up period. *Laryngoscope* 113: 683-7
61. Tuncer U, Soylu L, Aydogan B, Karakus F, Akcali C. 2003. The effectiveness of steroid treatment in nasal polyposis. *Auris Nasus Larynx* 30: 263-8
62. Van Camp C, Clement P. 1994. Results of oral steroid treatment in nasal polyposis. *Rhinology* 32: 5-9
63. Karakus MF, Ozcan KM, Ozcan M, Yuksel Y, Titiz A, Unal A. 2008. Changes in indications for endoscopic sinonasal surgery over 14 years. *B-ENT* 4: 221-5
64. Larsen K, Tos M. 1997. A long-term follow-up study of nasal polyp patients after simple polypectomies. *European Archives of Oto-rhino-laryngology* 254: S85-S8
65. Mauz P, GENSCH J, Brosch S. 2007. Chronisch polypöse Rhinosinusitis: Genese, Klinik, Therapie und Rezidivrate-eine retrospektive Studie. *HNO, Hals-, Nasen-, Ohrenärzte* 55: 551-6
66. Rowe-Jones JM, Medcalf M, Durham SR, Richards DH, Mackay IS. 2005. Functional endoscopic sinus surgery: 5 year follow up and results of a prospective, randomised, stratified, double-blind, placebo controlled study of postoperative fluticasone propionate aqueous nasal spray. *Rhinology* 43: 2-10
67. Cervin A. 2001. The anti-inflammatory effect of erythromycin and its derivatives, with special reference to nasal polyposis and chronic sinusitis. *Acta Otolaryngol* 121: 83-92
68. Yamada T, Fujieda S, Mori S, Yamamoto H, Saito H. 2000. Macrolide treatment decreased the size of nasal polyps and IL-8 levels in nasal lavage. *Am J Rhinol* 14: 143-8
69. Nonaka M, Pawankar R, Tomiyama S, Yagi T. 1999. A macrolide antibiotic, roxithromycin, inhibits the growth of nasal polyp fibroblasts. *Am J Rhinol* 13: 267-72
70. Iino Y, Sasaki Y, Kojima C, Miyazawa T. 2001. Effect of macrolides on the expression of HLA-DR and costimulatory molecules on antigen-presenting cells in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 110: 457-63
71. Ichimura K, Shimazaki Y-I, Ishibashi T, Higo R. 1996. Effect of new macrolide roxithromycin upon nasal polyps associated with chronic sinusitis. *Auris Nasus Larynx* 23: 48-56
72. Haye R, Aanesen JP, Burtin B, Donnelly F, Duby C. 1998. The effect of cetirizine on symptoms and signs of nasal polyposis. *J Laryngol Otol* 112: 1042-6
73. Kieff DA, Busaba NY. 2005. Efficacy of montelukast in the treatment of nasal polyposis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 114: 941-5
74. Parnes SM, Chuma AV. 2000. Acute effects of antileukotrienes on sinonasal polyposis and sinusitis. *Ear Nose Throat J* 79: 18-20, 4-5
75. Cavaliere F, Masieri S. 2002. Furosemide protective effect against airway obstruction. *Curr Drug Targets* 3: 197-201
76. Passali D, Mezzedimi C, Passali GC, Bellussi L. 2000. Efficacy of inhalation form of furosemide to prevent postsurgical relapses of rhinosinusal polyposis. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 62: 307-10
77. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, Cohen N, Cervin A, Douglas R, Gevaert P. 2012. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. *Rhinology Supplement*: 184
78. Pawankar R. 2003. Nasal polyposis: an update: editorial review. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 3: 1-6
79. Bernstein JM. 2001. The molecular biology of nasal polyposis. *Curr Allergy Asthma Rep* 1: 262-7
80. Ohori J, Ushikai M, Sun D, Nishimoto K, Sagara Y, Fukuiwa T, Matsune S, Kurono Y. 2007. TNF- $\alpha$  upregulates VCAM-1 and NF- $\kappa$ B in fibroblasts from nasal polyps. *Auris Nasus Larynx* 34: 177-83

81. Yoshifuku K, Matsune S, Ohori J, Sagara Y, Fukuiwa T, Kurono Y. 2007. IL-4 and TNF-alpha increased the secretion of eotaxin from cultured fibroblasts of nasal polyps with eosinophil infiltration. *Rhinology* 45: 235-41
82. Silvestri M, Sabatini F, Scarso L, Cordone A, Dasic G, Rossi GA. 2002. Fluticasone propionate downregulates nasal fibroblast functions involved in airway inflammation and remodeling. *Int Arch Allergy Immunol* 128: 51-8
83. Meyer JE, Berner I, Teran LM, Bartels J, Sticherling M, Schröder J-M, Maune S. 1998. RANTES Production by Cytokine-Stimulated Nasal Fibroblasts: Its Inhibition by Glucocorticoids. *International archives of allergy and immunology* 117: 60-7
84. Valera FC, Umezawa K, Brassesco MS, Castro-Gamero AM, Queiroz RG, Scrideli CA, Tone LG, Anselmo-Lima WT. 2012. Suppression of inflammatory cytokine secretion by an NF-kB inhibitor DHMEQ in nasal polyps fibroblasts. *Cell Physiol Biochem* 30: 13-22
85. Fernandez-Bertolin L, Mullol J, Alobid I, Roca-Ferrer J, Picado C, Pujols L. 2011. Impact of cell culture methods on the outcomes of the in vitro inflammatory response in nasal polyps. *Rhinology* 49: 562-9

