



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Κωνσταντίνος Ι.

ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

**«Έκφραση της Σιρτουίνης 1 (SIRT1) στο πλάσμα και τα μονοκύτταρα
του περιφερικού αίματος και προσδιορισμός του TGF-β στο πλάσμα στην
Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση »**

υπό

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑΣ Β. ΔΕΣΚΑΤΑ

Πνευμονολόγος – Εντατικολόγος

Επιμελήτρια ΄Β ΜΕΘ ΠΓΝΛάρισας

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2025

© 2025 Κωνσταντίνα Δεσκάτα

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής (13^η/05-07-2017
Συνέλευση του Τμήματος):**

- | | |
|---|---|
| 1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπουσα) | Ζωή Δανιήλ
Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας |
| 2^{ος} Εξεταστής | Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης
Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας |
| 3^{ος} Εξεταστής | Σωτήριος Ζαρογιάννης
Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας |
| 4^{ος} Εξεταστής | Δημοσθένης Μακρής
Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας |
| 5^{ος} Εξεταστής | Φωτεινή Μάλλη
Καθηγήτρια Πνευμονολογίας - Φροντίδας Καρδιοαναπνευστικού
Ασθενή, Τμήμα Νοσηλευτικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |
| 6^{ος} Εξεταστής | Ιωάννης Πανταζόπουλος
Αναπληρωτής Καθηγητής Επείγουσας Ιατρικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |
| 7^{ος} Εξεταστής | Ουρανία Κώτσιου
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παθολογικής Φυσιολογίας του
Ανθρώπου, Τμήμα Νοσηλευτικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας |

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το υλικό της μελέτης αποτέλεσαν ασθενείς οι οποίοι παρακολουθούνταν στα Εξωτερικά Ιατρεία Διαμέσων Πνευμονοπαθειών της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, καθώς και υγιείς εθελοντές αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Το πρωτόκολλο της μελέτης έλαβε υποτροφία από την Ελληνική Πνευμονολογική Εταιρεία το 2016.

Ολοκληρώνοντας τη διδακτορική μου διατριβή, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στα μέλη της Τριμελούς Επιτροπής: τον Καθηγητή Πνευμονολογίας κ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για την ευκαιρία που μου έδωσε και για τη στήριξή του, τον Καθηγητή Φυσιολογίας κ. Σωτήριο Ζαρογιάννη για την άψογη συνεργασία και βοήθειά του σε όλα τα στάδια της διατριβής, και ιδιαίτερα, την επιβλέπουσα Καθηγήτρια Πνευμονολογίας κ. Ζωή Δανιήλ για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος, την υποστήριξη και την προσωπική συμβολή της σε όλα τα στάδια της διδακτορικής μου διατριβής. Ακόμη, ευχαριστώ θερμά τον κ. Rajesh M. Jagirdar, Διδάκτορα Φυσιολογίας, για τις ατελείωτες ώρες συνεργασίας μας, χωρίς τον οποίο δε θα ήταν εφικτή η διενέργεια των πειραμάτων. Η βοήθεια και η υποστήριξή του ήταν καθοριστική, σε όλα τα στάδια της διατριβής μου σε επιστημονικό και ψυχολογικό επίπεδο. Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την κ. Φωτεινή Μάλλη, Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Υπεύθυνη για τη Φροντίδα του Καρδιοαναπνευστικού Ασθενή και Επιστημονική Υπεύθυνη του Ιατρείου Πνευμονικής Εμβολής του ΠΓΝΛάρισας για την ουσιαστική βοήθεια, υποστήριξη και καθοδήγηση σε όλα τα στάδια της διατριβής μου,

από τη σύνταξη του ερευνητικού πρωτοκόλλου μέχρι και τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων.

Ακόμη ευχαριστώ θερμά τη γραμματέα της Πνευμονολογικής Κλινικής κ. Άννα Τουτουδάκη, η οργανωτικότητα της οποίας διευκόλυνε ουσιαστικά τις προσπάθειες μου και τη γραμματέα κ. Ελένη Σουλούκου, οι οδηγίες και οι ενέργειες της οποίας ήταν καθοριστικές για την ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς την οικογένειά μου που στάθηκε ο πιο θερμός υποστηρικτής μου όλα αυτά τα χρόνια προκειμένου να ολοκληρώσω τη διατριβή.

Κωνσταντίνα Δεσκάτα

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ :

Όνοματεπώνυμο: Δεσκάτα Κωνσταντίνα

Πατρώνυμο: Βασίλειος

Ημερομηνία Γέννησης:

Τόπος Γέννησης: Λάρισα

Εθνικότητα: Ελληνική

Αφαίρεση προσωπικών δεδομένων (Υπηρεσία
Βιβλιοθήκης & Πληροφόρησης Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας)

Διεύθυνση:

Τηλέφωνο:

Email:

Πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και Υποψήφια Διδάκτωρ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έχω συμμετάσχει στο πρόγραμμα LLP-Erasmus μέσω του οποίου φοίτησα στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Κολωνίας της Γερμανίας για 4 μήνες στο 6^ο έτος των σπουδών μου.

Εργάζομαι ως Επιμελήτρια Β στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και είμαι ειδικευμένη Πνευμονολόγος- Φυματιολόγος. Έχω ολοκληρώσει την Εξειδίκευση στην Εντατικολογία και έχω εργασθεί στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας σε θέση παρατασιακού ειδικευόμενου.

Τα ενδιαφέροντά μου εστιάζονται στην εντατική θεραπεία (λοιμώξεις του αναπνευστικού, αναπνευστική ανεπάρκεια) και στην πνευμονολογία (επεμβατική πνευμονολογία και διάμεσες πνευμονοπάθειες).

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Σεπτέμβριος 2004 –Ιούλιος 2010: **ΠΤΥΧΙΟ ΙΑΤΡΟΥ, ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ, ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**, Βαθμός Πτυχίου: ΑΡΙΣΤΑ- ΕΝΝΕΑ
- Υποτροφία ΙΚΥ για άριστη επίδοση το έτος 2005-2006 (βαθμολογικά πρώτη για το 2^ο έτος σπουδών)
- Μάρτιος 2010- Ιούνιος 2010: Φοίτηση στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Κολωνίας της Γερμανίας (Συμμετοχή στο πρόγραμμα LLP- Erasmus)
- 1999- 2004: 4ο Ενιαίο Γυμνάσιο και Λύκειο Λάρισας (Αριστεία και Διακρίσεις Προόδου σε όλες τις τάξεις), Βαθμός Απολυτηρίου 19,7

Ξένες Γλώσσες

- Αγγλικά : Certificate of Proficiency in English(University of Michigan)
First Certificate in English(University of Cambridge)
- Γαλλικά : Delf 1er Degre (ενότητες Α1,Α2,Α3,Α4)
- Γερμανικά: GOETHE- ZERTIFIKAT B2

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

ΕΝΤΑΤΙΚΟΛΟΓΙΑ

- **Μετεκπαίδευση:** Εντατικολογία εκπαίδευση στον Pole D de Médecine Intensive Réanimation, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Saad Nseir Centre Universitaire Hospitalière, Lille, Γαλλία, Μάιος-Αύγουστος 2022
- **Εξειδίκευση:** Εντατικολογία στην Κλινική Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας 2019-2021
- **Ειδικότητα:** Εντατικολογία στα πλαίσια ειδίκευσης στην Πνευμονολογία στην Κλινική Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας Σεπτέμβριος 2018-Φεβρουάριος 2019

ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΑ

- **Διδακτορική Διατριβή:** Έγκριση εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής ΤΙ ΠΘ κατά την 13η/05-07-2017 συνεδρίαση της Συνέλευσης του Τμήματος Ιατρικής με θέμα<< Έκφραση της Σιρτουίνης 1 (SIRT1) στο πλάσμα και τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος και προσδιορισμός του TGF-β στο πλάσμα στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση >> Καθηγήτρια Δανιήλ Ζωή
- **Ειδίκευση: Πνευμονολογία- Φυματιολογία** -απόκτηση τίτλου 25/07/2019 (Α.Π 447)
 - ✓ Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική ΠΓΝΛάρισας, Καθ. Κ.Ι. Γουργουλιάνης (2017-2019)
 - ✓ 5^η Πνευμονολογική Κλινική του ΓΝΝΘΑθηνών << Η ΣΩΤΗΡΙΑ>>, Διευθ. Αικ. Δημάκου (2015-2016)
 - ✓ Α Παθολογική Κλινική ΓΝΤρικών, Διευθ. Α. Ζορμπάς, (2012-2014)

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΑ ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ- ΣΥΝΕΔΡΙΑ

(παρακολούθηση- συμμετοχή)

- Νοέμβριος 2020: Completion of the C19_ SPACE Self- Learning Programme, EACCME and EBAC Medicine Completion of the C19_ SPACE Local Training Programme, EBAC Medicine
- Μάιος 2017: The 3rd European Spring School on the Science and Practice of Venous Thromboembolism, EBAC, Χαλκιδική
- Φεβρουάριος 2014: Εκπαίδευση για τη Βασική Διαχείριση Αεραγωγού (**BLS**), ERC, Τρίκαλα
- Μάρτιος 2017: Απόκτηση τίτλου **ALS Provider**, ERC, Θεσσαλονίκη

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ- ΚΛΙΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 16/11/2021- ΣΗΜΕΡΑ: Επιμελήτρια 'Β Πνευμονολογίας- Φυματιολογίας στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού ΓΝΛάρισας (κέντρο αναφοράς COVID-19)
- 11/11/2019- 10/11/2021: **Εξειδίκευση στην Εντατικολογία** στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακού ΓΝΛάρισας (κέντρο αναφοράς COVID-19)
- 12/04/2019- 10/11/2019: Πνευμονολόγος- Φυματιολόγος σε θέση Ειδικευόμενης Ιατρού σε παράταση στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού ΓΝΛάρισας
- 28/02/2017- 11/04/2019: **Ειδικευόμενη Ιατρός Πνευμονολογίας- Φυματιολογίας** στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού ΓΝΛάρισας
- 11/02/2015- 27/06/2016: **Ειδικευόμενη Ιατρός Πνευμονολογίας- Φυματιολογίας** στην 5^η Πνευμονολογική Κλινική του ΓΝΝΘΑ << Η ΣΩΤΗΡΙΑ >>

- 12/03/2012- 04/03/2014: **Ειδικευόμενη Ιατρός Παθολογίας** στην Α Παθολογική Κλινική του Γ.Ν. Τρικάλων (συμπεριλαμβανομένης και άσκησης στη ΜΕΘ του Νοσοκομείου για ένα μήνα)
- 28/03/2014-10/07/2014: **Ολοκλήρωση της δωδεκάμηνης υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου** στο Π.Ι. Γερακαρίου του Κέντρου Υγείας Καλαμπάκας
- 24/06/2011- 11/03/2012: **Εκπλήρωση της δωδεκάμηνης υποχρεωτικής υπηρεσίας υπαίθρου** στο Π.Ι.Συκεώνας του Κέντρου Υγείας Παλαμά

ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

- ✓ Διαδερμική τραχειοστομία
- ✓ Διασωλήνωση αεραγωγού
- ✓ Καθετηριασμός αρτηριών, εν τω βάθει φλεβών με και χωρίς τη χρήση υπερήχων
- ✓ Υπερηχογραφία πνεύμονα και καρδιάς
- ✓ Παρακέντηση υπεζωκοτικής συλλογής
- ✓ Τοποθέτηση θωρακοσωλήνα
- ✓ Βρογχοσκόπηση με εύκαμπτο και άκαμπτο βρογχοσκόπιο
- ✓ Λειτουργικές δοκιμασίες αναπνευστικού

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- 2024: Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα του επιλεγόμενου μαθήματος Μηχανικός Αερισμός της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

- 2020-ΣΗΜΕΡΑ: Συμμετοχή στο εκπαιδευτικό πρόγραμμα του μαθήματος Εντατικολογίας του Τμήματος Νοσηλευτικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (θεωρητικά και κλινικά μαθήματα)
- 2006- 2007: Βοηθός στο μάθημα της Ανατομίας ΙΙΙ (παρασκευάστρια)

ΙΑΤΡΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- Σεπτέμβριος 2024: Σεμινάριο Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής (σχολιασμός), Βόλος
- Δεκέμβριος 2023: 4^η Διημερίδα Σύγχρονες απόψεις στη Νευροεντατική (1εισήγηση), Θεσσαλονίκη
- Μάρτιος 2023: 42nd International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM), Βρυξέλλες
- Σεπτέμβριος 2022: Σεμινάριο Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής (σχολιασμός), Βόλος
- Φεβρουάριος 2022: Critical Care - Infectious Diseases Network 2022 Inaugural Virtual Symposium
- Δεκέμβριος 2021: 30^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο (1 ανακοίνωση)
- Νοέμβριος 2021: ATHENA 2021 International Conference Approaching The Severely Infected Patient and the Patient in the Emergency Department, Αθήνα
- Σεπτέμβριος 2021: Σεμινάριο Εντατικής Θεραπείας και Επείγουσας Ιατρικής (1εισήγηση), Βόλος
- Δεκέμβριος 2019: Winter Meeting της British Thoracic Society, Λονδίνο
- Οκτώβριος 2019: Ετήσιο Πανελλήνιο Συνέδριο Ημέρες Πνευμονολογίας και Εντατικής Θεραπείας, Βόλος
- Δεκέμβριος 2018: 27^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο (2 ανακοινώσεις)

- Σεπτέμβριος 2018: ERS International Congress, Παρίσι
- Ιούνιος 2018: International Conference on Sarcoidosis and Interstitial Lung Diseases- WASOG, Ηράκλειο (1 ανακοίνωση)
- Μάιος 2018: Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο (1 εισήγηση), Αθήνα
- Απρίλιος 2018: Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ημέρες Πνευμονολογίας (1 εισήγηση), Βόλος
- Μάρτιος 2018: 16^ο ERS Lung Science Conference 2018 "Cell-matrix interactions in lung disease and regeneration", Εστορίλ
- Ιούνιος 2016: 25^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο (1 εισήγηση), Αθήνα
- Μάρτιος 2013: 5^ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας (2 ανακοινώσεις), Λάρισα

ΒΡΑΒΕΥΘΕΙΣΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

- Έπαινος Καλύτερης Εργασίας που υποβλήθηκε στο 25^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο (Ιούνιος 2016) για το γνωστικό αντικείμενο <<Λοιμώξεις Αναπνευστικού Συστήματος>> για την εργασία με τίτλο<< ΝΕΟΤΕΡΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ ΣΤΙΣ ΒΡΟΓΧΕΚΤΑΣΙΕΣ: Η ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΩΝ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ(ΤΟΜΠΡΑΜΥΚΙΝΗΣ ΚΑΙ ΚΟΛΙΣΤΙΝΗΣ) ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑ ΣΤΑ ΠΤΥΕΛΑ>>
- Έπαινος Καλύτερης Εργασίας που υποβλήθηκε στο 24^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο (Νοέμβριος 2015) για το γνωστικό αντικείμενο <<Λοιμώξεις Αναπνευστικού Συστήματος>> για την εργασία με τίτλο << ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ ΤΗΣ ΚΟΙΝΟΤΗΤΑΣ>>

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Υποψήφια Διδάκτωρ Διδακτορική Διατριβή: Έγκριση εκπόνησης Διδακτορικής Διατριβής
ΤΙ ΠΘ με θέμα<< Έκφραση της Σιρτουίνης 1 (SIRT1) στο πλάσμα και τα μονοκύτταρα
του περιφερικού αίματος και προσδιορισμός του TGF-β στο πλάσμα στην Ιδιοπαθή
Πνευμονική Ίνωση >> Ιούλιος 2017, Καθηγήτρια Δανιήλ Ζωή
- ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ
 - ✓ Avgeri K, Mantzaris K, Gerovasileiou E, **Deskata K**, Chatzi M, Fotakopoulos G, Sgantzios M, Tsolaki V, Zakynthinos E, Makris D. Quality of Life, Family Support, Spirometry, and 6-Minute Walking Distance Differences between COVID-19 and Non-COVID-19 Intensive Care Unit Patients in One Year Following Hospital Discharge. *Healthcare*. 2024;12(10):996. <https://doi.org/10.3390/healthcare12100996>
 - ✓ Stamatiou R, Vasilaki A, Tzini D, **Deskata K**, Zacharouli K, Ioannou M, Sgantzios M, Zakynthinos E, Makris D. Colistin Effects on Emphysematous Lung in an LPS-Sepsis Model. *Antibiotics*. 2023; 12(12):1731. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12121731>.
 - ✓ Zakynthinos GE, Mpaggeas A, **Deskata K**, Doudakmanis C, Makris D. Flexible Bronchoscopy Combined With an Airway Maneuver for Foreign Material Removal Under Invasive Mechanical Ventilation. *Cureus*. 2023 Aug 28;15(8):e44239. doi: 10.7759/cureus.44239. PMID: 37772228; PMCID: PMC10523186.
 - ✓ **Deskata K**, Malli F, Jagirdar R, Vavougiotis GD, Zarogiannis S, Gourgoulidis KI, Daniil Z. Evaluation of Sirtuin 1 Levels in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Patients With

Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Cureus. 2022 Oct 30;14(10):e30862. doi:
10.7759/cureus.30862. PMID: 36457607; PMCID: PMC9706278.

- ✓ Mantzaris K, **Deskata K**, Papaspyrou D, Leontopoulou V, Tsolaki V, Zakynthinos E, Makris D. Incidence and Risk Factors for Blood Stream Infection in Mechanically Ventilated COVID-19 Patients. Antibiotics. 2022; 11(8):1053.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11081053>.
- ✓ Tsolaki VS, Zakynthinos GE, Mantzaris KD, **Deskata KV**, Papadonta ME, Gerovasileiou ES, Manoulakas EE, Zakynthinos E, Pantazopoulos IN, Makris DA. Driving Pressure in COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome Is Associated with Respiratory Distress Duration before__Intubation. Am J Respir Crit Care Med. 2021 Aug 15;204(4):478-481.doi:10.1164/rccm.202101-0234LE. PMID: 34129450; PMCID: PMC8480247.
- ✓ Vasiliki S. Tsolaki, George E. Zakynthinos, Konstantinos D. Mantzaris, **Konstantina V. Deskata**, Maria-Eirini E. Papadonta, Efrosini S. Gerovasileiou, Efstratios E. Manoulakas, Epaminondas Zakynthinos, Ioannis N. Pantazopoulos, Demosthenes A. Makris. Driving Pressure in COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome Is Associated with Respiratory Distress Duration before Intubation. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Volume 204 Number 4 | August 15 2021.
<https://doi.org/10.1164/rccm.202101-0234LE>.
- ✓ Tsolaki V, Makris D, Zoumpounelli S, Mpagka D, Mantzaris K, **Deskata K**, Zakynthinos E. A Middle-Aged Woman With Viral ARDS and Acute Establishment of Shock on Invasive

Mechanical Ventilation. Chest. 2021 Jun;159(6):e441-e445. doi:
10.1016/j.chest.2020.07.103. PMID: 34099167.

- ✓ Stafyla E, Kotsiou OS, **Deskata K**, Gourgoulialis KI. Missed diagnosis and overtreatment of COPD among smoking primary care population in Central Greece: old problems persist. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2018 Feb 5;13:487-498. doi: 10.2147/COPD.S147628. PMID: 29440886; PMCID: PMC5804734.
- ✓ M Kaponi, S Chrysikos, G Drivas, **K Deskata**, K Marosis, K Dimakou. Hyper IgE Syndrome: a rare cause of bronchiectasis. Pneumologie 2016; 70 - A56. doi: 10.1055/s-0036-1592283
- ✓ Adamadia Liapikou, Sotiria Makrodimitri, **Konstantina Deskata**, Matthew Katsaras, Christina Triantafyllidou, Katerina Dimakou, Ioannis Dimitroulis, Michael Toubis. The impact of smoking on community acquired pneumonia course and outcomes. European Respiratory Journal 2016 48(suppl 60): PA596; doi:
<https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2016.PA596>.

- ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΜΕΛΕΤΕΣ

- ✓ Sub-investigator στη μελέτη coVAPgate. Ignacio Martin-Loeches, Pedro Pova, Antoni Torres, Demosthenes Makris, Fabien Lambiotte, Christophe Vinsonneau, Benoit Misset, Anahita Rouze, Luis Maia Morais, **Konstantina Deskata**, Flavia Galli, Antoine Gaillet, Pascale Labedade, Elsa Moncomble, coVAPgate study group; Guideline-compliant empirical antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia during the pandemic: a European multicenter retrospective study. Nicolas Dognon et al. Intensive Care Med. 2025
- ✓ Sub-investigator στη μελέτη INDULGE IPF. Demosthenes Bouros, Zoe Daniil, Despoina Papakosta, Katerina M. Antoniou, Katerina Markopoulou, Likurgos Kolilekas, George Konstantopoulos, Spyros Papiris, on behalf of the INDULGE IPF Study Group; Design, Rationale, Methodology, and Aims of a Greek Prospective Idiopathic Pulmonary Fibrosis Registry: Investigating Idiopathic Pulmonary Fibrosis in Greece (INDULGE IPF). Respiration 26 July 2018; 96 (1): 41–47. <https://doi.org/10.1159/000487244>

- ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ

- ✓ Συμμετοχή στη συγγραφική ομάδα του κεφαλαίου με τίτλο << Εκτίμηση μηχανικών ιδιοτήτων του αναπνευστικού συστήματος σε πλήρως ελεγχόμενο μηχανικό αερισμό>> του ηλεκτρονικού βιβλίου με τίτλο «Αναπνευστική ανεπάρκεια & μηχανικός αερισμός» στα πλαίσια του προγράμματος «Kallipos +» των Εθνικών Ηλεκτρονικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών» και του Εθνικού Μετσόβειου Πολυτεχνείου (υπό δημοσίευση)

- ✓ Μακρής, Δ., Ζακυνθινός, Γ., Μανουλάκας, Σ., Μαντζαρλής, Κ., Τσολάκη, Β., Δεσκάτα, Κ., & Παπαδόνη, Μ. (2023). Μηχανικός Αερισμός [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. <https://dx.doi.org/10.57713/kallipos-124>
- ✓ Μακρής, Δ., Ζακυνθινός, Γ., Μανουλάκας, Σ., Μαντζαρλής, Κ., Τσολάκη, Β., Δεσκάτα, Κ., & Παπαδόνη, Μ. (2022). Αρχές Εντατικής Θεραπείας [Προπτυχιακό εγχειρίδιο]. Κάλλιπος, Ανοικτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. <https://dx.doi.org/10.57713/kallipos-91>
- ✓ Συμμετοχή στη συγγραφική ομάδα του κεφαλαίου με τίτλο <<Άσκηση και Χρόνιες Πνευμονοπάθειες>> του βιβλίου <<Άσκηση για την Υγεία: Πρόληψη και Αποκατάσταση>> (Επιμελητές- Υπ. Έκδοσης: Γεροδήμος Β., Καρατράντου Κ.)<<Ιατρικές Εκδόσεις Κωνσταντάρα>>

ΣΥΜΒΑΣΕΙΣ ΜΕ ΔΗΜΟΣΙΟΥΣ - ΙΔΙΩΤΙΚΟΥΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΥΣ ΦΟΡΕΙΣ

- Συμμετοχή στο ερευνητικό πρόγραμμα με κωδικό 5455 και τίτλο: << Πολυκεντρική, μη παρεμβατική μελέτη παρατήρησης μετά από την κυκλοφορία του προϊόντος που πραγματοποιείται για την αξιολόγηση της ποιότητας ζωής σε ασθενείς στην Ελλάδα με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση υπό θεραπεία με Πιρφενιδόνη- Μελέτη Πνεύμων- ML39259>>, επιστημονικός υπεύθυνος Δανιήλ Ζωή

ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

- Αύγουστος 2008: Εθελοντική εργασία στο Κέντρο Υγείας Θήρας και παρακολούθηση των Εργασιών στο τμήμα επειγόντων περιστατικών καθώς και στα τακτικά εξωτερικά ιατρεία (μέσω του προγράμματος της Επιστημονικής Εταιρείας Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας- ΕΕΦΙΕ <<Απόβαση στα ελληνικά νησιά>>)

**«Έκφραση της Σιρτουίνης 1 (SIRT1) στο πλάσμα και τα μονοκύτταρα
του περιφερικού αίματος και προσδιορισμός του TGF-β στο πλάσμα στην
Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση »**

Κωνσταντίνα Δεσκάτα

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2024

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Δρ. Ζωή Α. Δανιήλ**, Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας - (Επιβλέπων-ουσα)
2. **Δρ. Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης**, Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
3. **Δρ. Σωτήριος Ζαρογιάννης**, Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Έκφραση της Σιρτουίνης 1 (SIRT1) στο πλάσμα και τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος και προσδιορισμός του TGF-β στο πλάσμα στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση

Κωνσταντίνα Δεσκάτα

Πνευμονολογική Κλινική

Τμήμα Ιατρικής – Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

(Διευθυντής: Καθ. Κ.Ι.Γουργουλιάνης)

ΣΚΟΠΟΣ: Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (ΠΠ) είναι μια καταστροφική πνευμονική πάθηση που χαρακτηρίζεται από επιθετική και ανώμαλη διαδικασία επούλωσης. Η ΠΠ είναι κυρίως νόσος των ηλικιωμένων και επομένως είναι πιθανό να μοιράζεται κοινούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς με άλλες σχετιζόμενες με την ηλικία ασθένειες. Τα βιβλιογραφικά δεδομένα έχουν συνδέσει τη διαταραχή της έκφρασης και της δραστηριότητας της σιρτουίνης-1 (SIRT1) με τη γήρανση και με ασθένειες που προσβάλλουν άτομα μεγαλύτερης ηλικίας. Στην παρούσα μελέτη, στοχεύσαμε να αξιολογήσουμε την έκφραση της SIRT1 στα μονοπύρηννα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) ασθενών με ΠΠ δεδομένης της έλλειψης μελετών στη βιβλιογραφία.

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ: 34 ασθενείς με ΠΠ και 22 υγιείς εθελοντές (αντίστοιχης ηλικίας και φύλου) συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Και στις δύο ομάδες, τα επίπεδα της SIRT1 αξιολογήθηκαν στο πλάσμα, τα προϊόντα λύσης των PBMCs και το υπερκείμενο από την

καλλιέργεια των PBMCs με και χωρίς την προσθήκη 10% ανθρώπινου ορού. Μετρήθηκε επίσης η συγκέντρωση του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) στο πλάσμα από τους ασθενείς με ΙΠΙ και την ομάδα ελέγχου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Η μέση ($\pm$ SD) ηλικία (έτη) των υγιών εθελοντών ήταν $68,57 \pm 6,97$ και των ασθενών με ΙΠΙ ήταν $71,28 \pm 5,39$ έτη ($p > 0,05$). Η μέση συγκέντρωση της SIRT1 βρέθηκε σημαντικά μειωμένη στο υπερκείμενο της καλλιέργειας PBMCs (χωρίς την προσθήκη ορού) σε άτομα με ΙΠΙ έναντι των υγιών μαρτύρων ($1,97 \pm 0,59$ ng/ml έναντι $2,40 \pm 0,74$ ng/ml, αντίστοιχα, $p = 0,047$). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων στη συγκέντρωση της SIRT1 σε όλα τα υπόλοιπα υλικά. Η συγκέντρωση του TGF $\beta 1$ των συμμετεχόντων με ΙΠΙ βρέθηκε σημαντικά αυξημένη σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($1281,38 \pm 2742,74$ έναντι $131,11 \pm 156,06$ pg/ml, αντίστοιχα, $p = 0,032$). Τα μειωμένα επίπεδα SIRT1 στο υπερκείμενο χωρίς ορό ήταν προγνωστικά της ΙΠΙ στο δείγμα μας, μετά από προσαρμογή για την ηλικία και το φύλο ($p = 0,014$, OR = 0,124 [95%CI: 0,023-0,653]).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ: Τα ευρήματα της μειωμένης συγκέντρωσης της SIRT1 στο υπερκείμενο υγρό μετά από καλλιέργεια των PBMCs χωρίς την προσθήκη ορού και της αυξημένης συγκέντρωσης του TGF $\beta 1$ στο πλάσμα σε ασθενείς με ΙΠΙ έναντι των υγιών μαρτύρων παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για το ρόλο της SIRT1 στην ΙΠΙ και θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν ως βιοδείκτες για τη διάγνωση και την πρόγνωση ασθενών με ΙΠΙ.

ABSTRACT

Expression of Sirtuin 1 levels in plasma and peripheral blood mononuclear cells and evaluation of TGF- β 1 in plasma of patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis

Konstantina Deskata

Respiratory Medicine Department

School of Medicine – University of Thessaly

(Director: Prof. K.I.Gourgoulisanis)

AIM: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a devastating lung disorder that is characterized by aggressive and dysbalanced wound healing. IPF is mainly a disease of the elderly and thus is likely to share common pathophysiologic mechanisms with other more age-related diseases. Emerging evidence has linked disturbance of sirtuin-1 (SIRT1) expression and activity with aging and diseases of the elderly. In the present study, we aimed to evaluate SIRT1 expression in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of patients with IPF given the lack of studies in the literature.

METHODS: We enrolled 34 IPF patients and 22 healthy volunteers (age and sex-matched). In both groups, SIRT1 levels were assessed in plasma, cell pellets of PBMCs, and supernatant from PBMCs' culture with and without the addition of 10% human serum. We also measured transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) concentration in plasma from IPF patients and controls.

RESULTS: The mean (SD) age (years) of the healthy volunteers was 68.57 ± 6.97 and of the IPF patients was 71.28 ± 5.39 years ($p > 0.05$). The mean SIRT1 concentration was found

significantly decreased in the supernatant of PBMCs culture (without the addition of serum) in IPF subjects versus controls (1.97 ± 0.59 ng/ml versus 2.40 ± 0.74 ng/ml, respectively, $p=0.047$). No significant differences were observed between the two groups in the SIRT1 concentration of all the other materials. TGF β 1 concentration of IPF subjects was significantly increased when compared to controls (1281.38 ± 2742.74 versus 131.11 ± 156.06 pg/ml, respectively, $p=0.032$). Decreased SIRT1 levels in no-serum supernatant were predictive of IPF, after adjustment for age and sex ($p=0.014$, OR=0.124 [95%CI: 0.023-0.653]).

CONCLUSION: The findings of decreased concentration of SIRT1 in PBMCs supernatant and increased concentration of TGF β 1 in plasma in IPF patients versus controls provide important insights into the role of SIRT1 in IPF and could serve as a biomarker for the diagnosis and prognosis of patients with IPF.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη.....	Σελ 7
Abstract.....	Σελ 9
Συντομογραφίες.....	Σελ 13

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή.....	Σελ 17
1.1 Επιδημιολογία Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.....	Σελ 18
1.2 Κλινική Εικόνα Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.....	Σελ 20
1.3 Διάγνωση Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.....	Σελ 21
1.4 Θεραπεία Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.....	Σελ 27
1.5 Παθογένεια Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.....	Σελ 31
1.5.1 Γενετική.....	Σελ 32
1.5.2 Περιβαλλοντικοί Παράγοντες.....	Σελ 37
1.5.3 Επιθηλιακά Κύτταρα.....	Σελ 41
1.5.4 Γήρανση.....	Σελ 44
1.5.5 Το ενδοθήλιο και ο καταρράκτης της πήξης.....	Σελ 49
1.5.6 Μεσεγχυματικά κύτταρα, Ινοβλάστες, Μυοϊνοβλάστες και Εξωκυττάρια Θεμέλια Ουσία.....	Σελ 53
1.5.7 Το ανοσοποιητικό σύστημα.....	Σελ 57

Κεφάλαιο 2

2.1 Σιρτουίνες.....	Σελ 64
2.1.1 Ρόλος των SIRTs γενικά.....	Σελ 64
2.1.2 SIRTs και Ιδιοπαθής Πνευμονική Ύψωση-Πιθανοί Μοριακοί Μηχανισμοί.....	Σελ 74
2.2 TGFβ.....	Σελ 79
2.2.1 Ρόλος του TGF-β γενικά.....	Σελ 79
2.2.2 Ρόλος του TGF-β στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση.....	Σελ 82

Κεφάλαιο 3

3. Σκοπός της παρούσας μελέτης.....	Σελ 84
-------------------------------------	--------

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ασθενείς και Ομάδα Ελέγχου.....	Σελ 86
2. Υλικά.....	Σελ 87
2.1 2.1 Αντιδραστήρια και Αναλώσιμα Υλικά.....	Σελ 87
3. Μέθοδοι.....	Σελ 89
3.1 Επεξεργασία ολικού περιφερικού αίματος και απομόνωση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος (PBMCs).....	Σελ 89
3.2 Καλλιέργεια των PBMCs.....	Σελ 91
3.3 Μέτρηση επιπέδων SIRT-1 και TGF-β1 με την τεχνική της ELISA.....	Σελ 91
3.4 Στατιστική Ανάλυση.....	Σελ 94
4. Αποτελέσματα.....	Σελ 95
5. Συζήτηση.....	Σελ 101
Βιβλιογραφία.....	Σελ 106

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

IPI	Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση
ΧΑΠ	Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια
AEC2s-Alveolar Epithelial Cells type 2	Κυψελιδικά Επιθηλιακά Κύτταρα τύπου 2
ALI-Acute Lung Injury	Οξεία Πνευμονική Βλάβη
ANA-Antinuclear Antibodies	Αντιτυρηνικά Αντισώματα
α SMA- α -smooth muscle actin	α -Ακτίνη των λείων μυϊκών ινών
BAFF-B-cell-Activating Factor	Παράγοντας Ενεργοποίησης Β-κυττάρων
BAL-Bronchoalveolar Lavage	Βρογχοκυψελιδικό Έκπλυμα
BLM-Bleomycin	Μπλεομυκίνη
BMPs-Bone Morphogenic Proteins	Μορφογενείς Πρωτεΐνες των Οστών
CCL18-CC-Chemokine Ligand 18	Συνδέτης Χημειοκινών 18
CMV-Cytomegalovirus	Κυτταρομεγαλοϊός
CTD-Connective Tissue Disorders	Νοσήματα Συνδετικού Ιστού
DAMPs-Damage-Associated Molecular Patterns	Μόρια Σχετιζόμενα με Βλάβη
DCs-Dendritic Cells	Δενδριτικά Κύτταρα
DLCO-Diffusing capacity of the Lungs for Carbon Monoxide	Διαχυτική Ικανότητα των Πνευμόνων για το Μονοξείδιο του Άνθρακα
DSP-Desmoplakin	Δεσμοπλακίνη
EBV- Epstein-Barr Virus	Ιός Epstein-Barr
ECM- Extracellular Matrix Material	Εξωκυττάρια Θεμέλια Ουσία
EMT- Epithelial Mesenchymal Transition	Επιθηλιακή- Μεσεγχυματική Μετατροπή
EPCs-Endothelial Progenitor Cells	Ενδοθηλιακά Προγονικά Κύτταρα
ER-Endoplasmic Reticulum	Ενδοπλασματικό Δίκτυο
FPF-Familial Pulmonary Fibrosis	Οικογενής Πνευμονική Ίνωση
FVC-Forced Vital Capacity	Δυναμική Ζωτική Χωρητικότητα
GERD-Gastroesophageal Reflux Disease	Νόσος της Γαστροοισοφαγικής Παλινδρόμησης
GMCS-Granulocyte-Macrophage Colony-	Παράγοντας Διέγερσης Αποικιών

Stimulating Factor	Κοκκιοκυττάρων-Μακροφάγων
GWAS-Genome-wide Association Studies	Μελέτες Συσχέτισης σε Επίπεδο Γονιδιώματος
HHV-Human Herpes Virus	Ανθρώπινος Ερπητοϊός
HRCT-High Resolution Computed Tomography	Αξονική Τομογραφία Θώρακος Υψηλής Ευκρίνειας
IFN-γ-Interferon-γ	Ιντερφερόνη-γ
IGF-1-Insulin-like growth factor 1	Προσομοιάζων με Ινσουλίνη Αυξητικός Παράγοντας 1
IL-1β	Ιντερλευκίνη-1β
MCTD-Mixed Connective Tissue Disease	Μικτή Νόσος του Συνδετικού Ιστού
MDD-Multidisciplinary Discussion	Διεπιστημονική Συζήτηση
MMP7-Matrix Metalloproteinase 7	Μεταλλοπρωτεΐνάση 7 του στρώματος
mtROS-mitochondrial Reactive Oxygen Species	Μιτοχονδριακές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου
NAD-Nicotinamide Adenine Dinucleotide	Νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο
NC-Nitrocellulose membrane	Μεμβράνη Νιτροκυτταρίνης
NF-κB-nuclear factor-κB	Πυρηνικός Παράγοντας-κΒ
NK-Natural Killers	Κύτταρα Φυσικοί Φονείς
PAI-Plasminogen Activation Inhibitors	Αναστολείς Ενεργοποίησης Πλασμινογόνου
PBMCs-Peripheral Blood Mononuclear Cells	Τα μονοπύρηννα κύτταρα του περιφερικού αίματος
PVDF-Polyvinylidene fluoride	Μεμβράνη φθοριούχου πολυβινυλιδενίου
RA-Rheumatoid Arthritis	Ρευματοειδής Αρθρίτιδα
RF-Rheumatoid Factor	Ρευματοειδής Παράγοντας
scRNASeq-single-cell RNA sequencing	Τεχνικές αλληλούχισης του RNA ενός κυττάρου
SIRT- Silent Information Regulator Type	Σιρτουΐνη
SLE-Systemic Lupus Erythematosus	Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος
SS-Sjogren Syndrome	Σύνδρομο Sjogren
SSc-Systemic Sclerosis	Συστηματική Σκλήρυνση

TGF-β1- Transforming Growth Factor β1	Μετασχηματιστικός Αυξητικός Παράγοντας β1
Th-T-helper Lymphocytes	Βοηθητικά T-Λεμφοκύτταρα
TLOs-Tertiary Lymphoid Organs	Τριτογενή Λεμφοειδή Όργανα
TNF-α- Tumor Necrosis Factor	Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων-α
TLRs-Toll-like Receptors	Υποδοχείς Toll
Tregs-Regulatory T cells	Ρυθμιστικά T κύτταρα
UIP- Usual Interstitial Pneumonia	Συνήθης Διάμεση Πνευμονία
UPR-Unfolded Protein Response	Απάντηση στη συσσώρευση ανώμαλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών
VEGF-Vascular Endothelial Growth Factor	Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση - ΙΠΙ (Idiopathic Pulmonary Fibrosis - IPF) είναι μια χρόνια και προοδευτικά επιδεινούμενη διάμεση πνευμονοπάθεια που χαρακτηρίζεται από τη μη αναστρέψιμη αντικατάσταση του πνευμονικού ιστού από ουλώδη ιστό [1] και συνοδεύεται από υψηλή θνητότητα . Η χορήγηση των αντιινωτικών φαρμάκων πιρφενιδόνης και νιντεδανίμπης έχει αλλάξει την πορεία της νόσου και προσωρινά οι παραπάνω φαρμακευτικές ουσίες αποτελούν τη μοναδική θεραπευτική παρέμβαση στη νόσο. Οι μη αναστρέψιμες αλλαγές της αρχιτεκτονικής του πνεύμονα καταλήγουν προοδευτικά σε πνευμονική δυσλειτουργία και συνήθως έχουν θανατηφόρα έκβαση. Κλινικά, παρατηρείται βήχας [2] και δύσπνοια [1], [3] ενώ παράλληλα η νόσος έχει επιζήμια επίδραση στην ποιότητα ζωής ενός ασθενούς (Quality of Life - QoL) καθώς και στο προσδόκιμο ζωής, με διάμεση επιβίωση τα δύο με τρία έτη αν αφεθεί χωρίς θεραπεία [4], [5],[6].

Η απώλεια της πνευμονικής λειτουργίας αποδίδεται κυρίως στην εξεσημασμένη αναδιαμόρφωση του πνευμονικού ιστού, τη δημιουργία ουλών και την ίνωση. Η αναδιαμόρφωση χαρακτηρίζεται από την ενεργοποίηση (μυο)ινοβλαστών και τη δυσανάλογη συσσώρευση εξωκυττάριας ουσίας (extracellular matrix material - ECM) [7]. Οι μυοϊνοβλάστες διευκολύνουν τη διαδικασία επούλωσης, ωστόσο, η συνεχής και ανεξέλεγκτη ενεργοποίησή τους οδηγεί σε υπερβολική συσσώρευση ECM και συμβάλλει στην ανάπτυξη ινωτικών περιοχών [8], [9], [10]. Σε μεταγενέστερα στάδια πνευμονικής βλάβης, μια ποικιλία προφλεγμονωδών και προϊνωτικών μεσολαβητών, συμπεριλαμβανομένου του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα β1 (transforming growth factor β1 - TGF-β1), αλληλεπιδρούν για να διατηρήσουν την ίνωση [11].

Λόγω του απαραίτητου ρόλου τους στην κυτταρική μακροζωία μέσω της συντήρησης των τελομερών και της επιδιόρθωσης του DNA, οι σιρτουίνες αναφέρονται ειδικά ως αντιγηραντικές πρωτεΐνες. Αρκετοί ερευνητές έχουν αναφέρει ότι οι SIRT1, SIRT3, SIRT6 και SIRT7 αποτρέπουν σημαντικά την ανάπτυξη και εξέλιξη της πνευμονικής ίνωσης διαφορετικής αιτιολογίας [12]. Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί μελέτες που εξηγούν πιθανές οδούς μέσω των οποίων η SIRT1 (μία από τις πιο μελετημένες σιρτουίνες) επιδεικνύει προστατευτικό ρόλο έναντι της πνευμονικής ίνωσης. Μια *in vivo* μελέτη έδειξε ότι ένας ενεργοποιητής της SIRT1 παίζει ανασταλτικό ρόλο στην επαγόμενη από τη μπλεομυκίνη (BLM) πνευμονική ίνωση σε επίμυς, μειώνοντας την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετατροπή (EMT) [13]. Με βάση τις τελευταίες παρατηρήσεις, υποθέτουμε ότι οι ασθενείς με ΙΠΠ μπορεί να παρουσιάσουν μη φυσιολογικά επίπεδα SIRT1 και έκφραση σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό και επιδιώξαμε να αξιολογήσουμε τα επίπεδα της SIRT1 στο πλάσμα, τα μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMCs) και το υπερκείμενο υγρό που προκύπτει από καλλιέργεια των PBMCs σε ασθενείς με ΙΠΠ και υγιείς εθελοντές. Επιπλέον, στοχεύσαμε να εξετάσουμε και τα επίπεδα του γνωστού μεσολαβητή της πνευμονικής ίνωσης (TGF- β 1) στο πλάσμα των συμμετεχόντων στη μελέτη.

1.1 Επιδημιολογία Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ίνωσης

Από τις ιδιοπαθείς διάμεσες πνευμονοπάθειες η ΙΠΠ είναι η πιο συχνή και παρουσιάζει χαρακτηριστικά προοδευτικά επιδεινούμενης ίνωσης [14]. Η ΙΠΠ είναι μία εξαρτώμενη από την ηλικία νόσος η οποία χαρακτηρίζεται από επιθετική και παθολογική διαδικασία επούλωσης. Τα 2/3 των ασθενών με ΙΠΠ είναι άνω των 60 ετών κατά την πρώτη επίσκεψη στον ιατρό με μέση ηλικία διάγνωσης τα 66έτη [12]. Η συχνότητα εμφάνισης της ΙΠΠ

αυξάνεται με την ηλικία, με πρώτη εκδήλωση συνήθως την ύπουλη έναρξη δύσπνοιας στην έκτη και έβδομη δεκαετία ζωής [15], [16]. Σπάνια, οι ασθενείς με ΙΠΠ μπορεί να παρουσιάσουν οξεία παρόξυνση ως αρχική εκδήλωση της νόσου (π.χ, ανεξήγητη επιδείνωση της δύσπνοιας σε διάστημα μερικών εβδομάδων) [17]. Οι περισσότεροι ασθενείς παρουσιάζουν προοδευτική μείωση της πνευμονικής λειτουργίας έως ότου εγκαταστήσουν αναπνευστική ανεπάρκεια ενώ το 10-15% των ασθενών με ΙΠΠ έχει ασυνήθιστα ταχεία επιδείνωση μέσα σε μήνες [18]. Σπάνια η ΙΠΠ εμφανίζεται σε ασθενείς ηλικίας κάτω των 50 ετών. Τέτοιοι ασθενείς μπορεί στη συνέχεια να εκδηλώσουν χαρακτηριστικά υποκείμενης νόσου συνδεδετικού ιστού που ήταν υποκλινική κατά τη στιγμή της διάγνωσης της ΙΠΠ [19] ή μπορεί να έχουν οικογενή πνευμονική ίνωση [20]. Ο προσδιορισμός της ακριβούς επίπτωσης και του επιπολασμού της ΙΠΠ είναι δύσκολος λόγω των διαγνωστικών προκλήσεων και της έλλειψης ομοιομορφίας στη διαγνωστική κωδικοποίηση μεταξύ των παρόχων υγείας. Τα επιδημιολογικά στοιχεία για την ΙΠΠ από μελέτες σε Βόρεια Αμερική και Ευρώπη δείχνουν ότι ο παγκόσμιος επιπολασμός της εκτιμάται ότι υπερβαίνει τα 3 εκατομμύρια άτομα, με ετήσιο ποσοστό επίπτωσης μεταξύ 2 και 9 ανά 100,000 άτομα και κλιμακούμενη τάση [21]. Σε σύγκριση με άλλες χώρες που μελετήθηκαν, οι Ηνωμένες Πολιτείες, η Νότια Κορέα και ο Καναδάς έχουν την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης [22], [23]. Συγκεκριμένα, οι Maher et al εκτίμησαν την επίπτωση της ΙΠΠ (ανά 10.000 του πληθυσμού) ότι κυμαίνεται από 0,35 έως 1,30 στις χώρες Ασίας-Ειρηνικού, 0,09 έως 0,49 στην Ευρώπη και 0,75 έως 0,93 στη Βόρεια Αμερική [23]. Επιπλέον, ο επιπολασμός εκτιμήθηκε ότι κυμαίνεται από 0,57 έως 4,51 στις χώρες Ασίας-Ειρηνικού, 0,33 έως 2,51 στην Ευρώπη και 2,40 έως 2,98 στη Βόρεια Αμερική [23]. Μια από τις μελέτες που αφορά σε ασθενείς που λαμβάνουν ιατρική φροντίδα στις Ηνωμένες Πολιτείες και είναι ηλικίας άνω των 65 ετών έδειξε αύξηση της

επίπτωσης, από 202 σε 495 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα, από το 2001 έως το 2011 [16].

Οι πιο σημαντικοί μη τροποποιήσιμοι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της ΙΠΠ είναι το ανδρικό φύλο και η ηλικία [24], [25], [15]. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η διάμεση ηλικία των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών είναι τα 62 έτη και το 54% αυτών είναι άνδρες [26]. Περισσότεροι άνδρες έχουν αναφερθεί με ΙΠΠ από ό, τι γυναίκες και στην πλειονότητα των ασθενών αναφέρεται ιστορικό καπνιστικής συνήθειας [27]. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης μετά τη διάγνωση είναι μόλις 3-5 έτη [28].

Μια μελέτη στις Ηνωμένες Πολιτείες έδειξε μείωση της συνολικής θνητότητας από το 2004 έως το 2017, η οποία μπορεί να σχετίζεται με μειωμένο επιπολασμό του καπνίσματος, μείωση της χρήσης ανοσοκατασταλτικών και εισαγωγή των αντιιωτικών φαρμάκων [29]. Το συμπέρασμα αυτό υποστηρίζεται από βάσεις δεδομένων από μελέτες που αφορούν στη βελτίωση της επιβίωσης και της πνευμονικής λειτουργίας των ασθενών που λαμβάνουν αντιιωτική αγωγή [30], [31].

1.2 Κλινική Εικόνα Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ίνωσης

Η ΙΠΠ είναι μια ειδική μορφή χρόνιας, προοδευτικά επιδεινούμενης, διάμεσης πνευμονοπάθειας αγνώστου αιτιολογίας. Εμφανίζεται κυρίως σε ενήλικες μεγαλύτερης ηλικίας, περιορίζεται στους πνεύμονες και ορίζεται από το ιστοπαθολογικό ή / και ακτινολογικό πρότυπο της συνήθους διάμεσης πνευμονίας (Usual Interstitial Pneumonia – UIP). Θα πρέπει να τίθεται η υπόνοια σε όλους τους ενήλικες με ανεξήγητη χρόνια δύσπνοια άσκησης, βήχα, πληκτροδακτυλία και με τρίζοντες σε αμφοτέρες τις βάσεις των πνευμόνων κατά την ακρόασή τους που εμφανίζονται χωρίς άλλα συμπτώματα που να υποδηλώνουν πολυσυστηματική νόσο [32]. Καθώς λοιπόν οι ασθενείς παρουσιάζουν τα

μη ειδικά συμπτώματα της δύσπνοιας με την κόπωση με ή χωρίς ξηρό βήχα, αυτή η κλινική εικόνα μπορεί να αποδοθεί στην προχωρημένη ηλικία ή στις συννοσηρότητες. Να σημειωθεί ότι πολλοί ασθενείς με ΙΠΠ έχουν και άλλες συννοσηρότητες που περιλαμβάνουν εμφύσημα (συνδυασμένη πνευμονική ίνωση και εμφύσημα), καρκίνο του πνεύμονα, πνευμονική υπέρταση, άπνοια ύπνου και στεφανιαία νόσο [33]. Ως εκ τούτου, απαιτείται από τους Ιατρούς πρωτοβάθμιας περίθαλψης αυξημένη κλινική υποψία προκειμένου να αποφευχθούν διαγνωστικές καθυστερήσεις. Περιστασιακά, οι ασθενείς θα παρουσιάσουν οξεία συμπτωματολογία, με ημέρες έως εβδομάδες αναπνευστικής επιδείνωσης, συχνά συνοδευόμενης από πυρετό και συμπτώματα γρίπης. Αυτές οι οξείες παροξύνσεις απαιτούν προσεκτική διαγνωστική διάκριση από άλλες μορφές οξείας διάμεσης πνευμονοπάθειας.

Κατά τη φυσική εξέταση, συνήθως ακούγονται λεπτοί, τελοεισπνευστικοί ρόγχοι – τρίζοντες τύπου Velcro σε αμφότερες τις πνευμονικές βάσεις ενώ η πληκτροδακτυλία είναι παρούσα σε περίπου 30% των ασθενών [24]. Η προσεκτική αναζήτηση σημείων νόσου του συνδετικού ιστού είναι απαραίτητη για τον αποκλεισμό σχετικών ασθενειών. Σε εγκατεστημένη νόσο, οι δοκιμασίες πνευμονικής λειτουργίας αποκαλύπτουν περιοριστική νόσο (μειωμένη ολική πνευμονική χωρητικότητα) και παθολογική ανταλλαγή αερίων (μειωμένη ικανότητα διάχυσης μονοξειδίου του άνθρακα) [34]. Πρώιμη νόσος ή νόσος που συνυπάρχει με εμφύσημα που <<ψευδοκανονικοποιεί>> τους πνευμονικούς όγκους, μπορεί να επιδείξει φυσιολογική σπυρομέτρηση και πληθυσμογραφία, με μοναδικό παθολογικό σημείο τη μειωμένη διαχυτική ικανότητα [35].

1.3 Διάγνωση της Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης

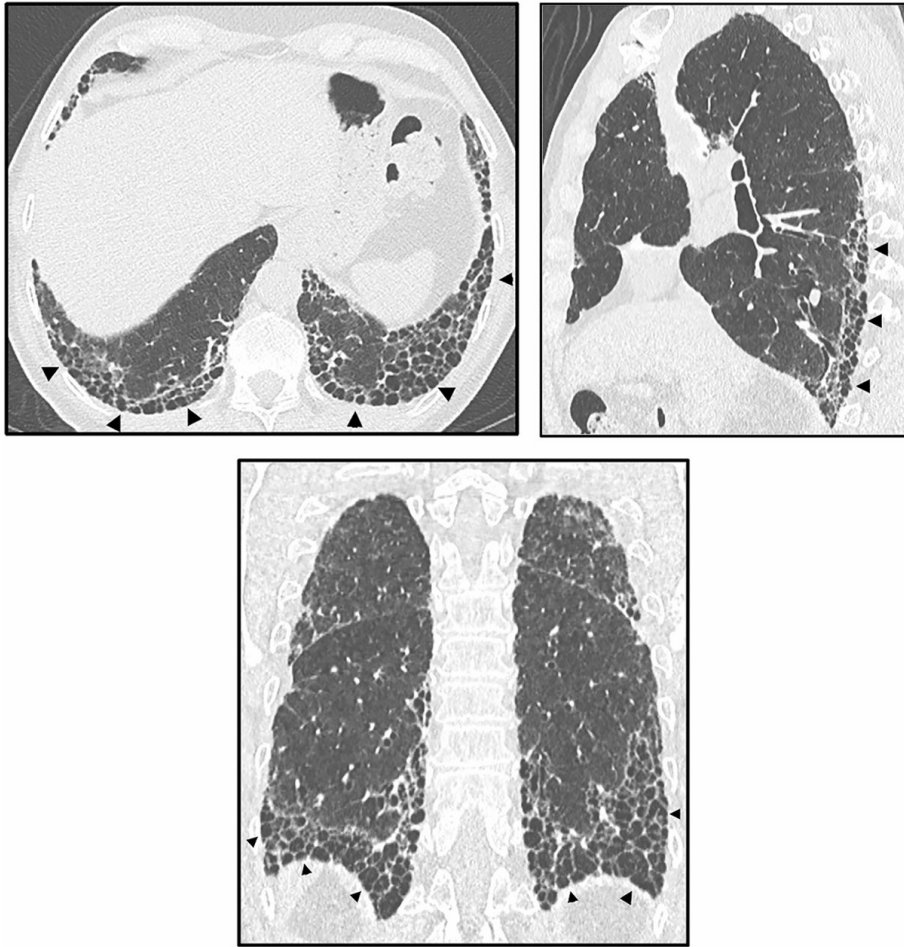
Συνεχώς δημοσιεύονται αναθεωρημένες συστάσεις όσον αφορά στη διάγνωση και τις θεραπευτικές επιλογές των ασθενών με ΙΠΠ. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει την πολυπλοκότητα αυτής της νόσου αλλά και την ανάγκη για συνεχή έρευνα σε μια προσπάθεια να βελτιωθεί το προσδόκιμο ζωής των ασθενών καθώς και η ποιότητα ζωής τους. Τα παθολογικά χαρακτηριστικά της μελικυρήθρας, των βρογχεκτασιών εξ έλξεως και των ινοβλαστικών εστιών παρατηρούνται συχνά στην ΙΠΠ και αντιπροσωπεύουν αναδιαμόρφωση της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής των πνευμόνων. Μόλις η υποκείμενη παθολογία εκδηλωθεί κλινικά και ακτινολογικά, η πρόγνωση για τον ασθενή είναι κακή [34]. Έτσι, η ανίχνευση της ΙΠΠ σε πρώιμα στάδια είναι ένας σημαντικός τομέας της έρευνας. Η καθυστέρηση στη διάγνωση της ΙΠΠ είναι δυστυχώς συχνή, δεδομένου ότι αναφέρεται σε μελέτες ένα διάμεσο χρονικό διάστημα μεταξύ 0,6 και 2,3 ετών από την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι την τελική διάγνωση [36], [37], [38], [39]. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι διαγνωστική καθυστέρηση άνω του έτους επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση χωρίς πρόοδο νόσου, την ποιότητα ζωής και τα ποσοστά νοσηλείας σε ασθενείς με ΙΠΠ, υπογραμμίζοντας τη σημασία της έγκαιρης διάγνωσης για τη σωστή διαχείριση της νόσου [40].

Όταν υπάρχει υποψία διάμεσης πνευμονοπάθειας σε έναν ασθενή, θα πρέπει να λαμβάνεται στοχευμένο ιατρικό ιστορικό και να πραγματοποιείται ενδελεχής φυσική εξέταση η οποία μπορεί να αποκαλύψει διαταραχές που μπορεί να παρουσιαστούν και σε άλλα νοσήματα πλην της ΙΠΠ, όπως η χρόνια πνευμονίτιδα εξ υπερευαισθησίας ή οι διάμεσες πνευμονοπάθειες στο πλαίσιο νοσημάτων του συνδετικού ιστού (Connective Tissue Disorders – CTD). Οι ασθενείς θα πρέπει να ερωτώνται σχολαστικά σχετικά με την έκθεση σε βλαπτικούς παράγοντες στο σπίτι και την εργασία, τη χρήση φαρμάκων ή

άλλων ουσιών, καθώς και το προηγούμενο ιατρικό και οικογενειακό ιστορικό. Η φυσική εξέταση μπορεί να αποκαλύψει σημεία CTD, πρόωρης γήρανσης, πληκτροδακτυλία και τρίζοντες κατά την ακρόαση των πνευμόνων. Οι κατευθυντήριες οδηγίες συνιστούν επίσης τη διενέργεια ορολογικών εξετάσεων για τον αποκλεισμό CTDs. Είναι γενικά αποδεκτό να περιλαμβάνει τουλάχιστον έλεγχο για την ύπαρξη αντιπυρηνικών αντισωμάτων (Antinuclear Antibodies – ANA), ρευματοειδούς παράγοντα (Rheumatoid Factor – RF), αντισώματα υπέρ της διάγνωσης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας όπως τα anti-CCP, αντισώματα υπέρ της διάγνωσης της συστηματικής σκλήρυνσης όπως τα anti-Scl-70 και άλλα αντισώματα όπως αυτά έναντι των SS-A και Jo-1. Σε επιλεγμένες περιπτώσεις, θα πρέπει να εξεταστεί το ενδεχόμενο μιας πιο εκτεταμένης ομάδας αντισωμάτων αντισυνθετάσης, συστηματικής σκλήρυνσης και μυοσίτιδας σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές [32]. Η συμβολή ενός Ρευματολόγου και του εργαστηρίου Ανοσολογίας θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν το ιστορικό, η φυσική εξέταση ή ο ορολογικός έλεγχος υποδηλώνει αυτοάνοση ασθένεια.

Η αξονική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας (High Resolution Computed Tomography – HRCT) είναι απαραίτητη για τη διαγνωστική προσέγγιση της ΙΠΙ αλλά και άλλων διάμεσων πνευμονοπαθειών [1]. Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες του 2022 για τη διάγνωση της ΙΠΙ, αυτή μπορεί να επιβεβαιωθεί με την παρουσία του ακτινολογικού προτύπου της συνήθους διάμεσης πνευμονίας UIP στη HRCT (Εικ. 1.3.1) ή με συγκεκριμένους συνδυασμούς ακτινολογικών και ιστοπαθολογικών προτύπων σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργική βιοψία πνεύμονα ή σε διαβρογχική λήψη κρυοβιοψίας[1]. Συγκεκριμένα, τέσσερις κατηγορίες HRCT προτύπων καθορίστηκαν στις κατευθυντήριες γραμμές του 2018 για τη διάγνωση της ΙΠΙ: πρότυπο UIP (UIP Pattern), πιθανό πρότυπο UIP (Probable UIP Pattern), απροσδιόριστο πρότυπο UIP (Indeterminate

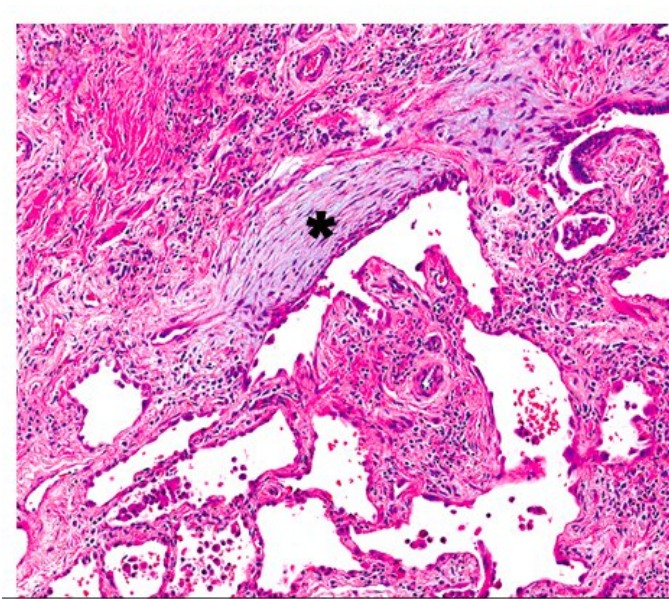
for UIP) και εναλλακτική διάγνωση (CT Findings Suggestive of an Alternative Diagnosis) [32]. Δικτυωτό πρότυπο με βρογχεκτασίες ή/και βρογχολεκτασίες εξ έλξεως και εικόνα μελικυρήθρας με υπουπεζωκοτική κατανομή, στα βασικά τμήματα των πνευμόνων αμφοτερόπλευρα είναι τυπικά του ακτινολογικού προτύπου της UIP, ενώ αν απουσιάζει η εικόνα μελικυρήθρας αλλά είναι παρόντα όλα τα υπόλοιπα ευρήματα τότε είναι πιθανό το πρότυπο της Probable UIP. Και στα 2 αυτά ακτινολογικά πρότυπα δεν υπάρχει ανάγκη να προβεί ένας ασθενής ηλικίας >60ετών με συμβατό ιστορικό είτε σε χειρουργική βιοψία είτε σε διαβρογχική λήψη κρυοβιοψίας μετά από διεπιστημονική συζήτηση (multidisciplinary discussion – MDD) εκτός και εάν υπάρχει κλινική υποψία εναλλακτικής διάγνωσης [1], [41]. Αντίθετα, το μωσαϊκό πρότυπο, οι βλάβες τύπου θολής υάλου και το οζιδιακό πρότυπο συνήθως είναι ενδεικτικά άλλης διάγνωσης. Σε αυτές τις περιπτώσεις που τα ευρήματα της HRCT είναι μη διαγνωστικά είναι απαραίτητη η ιστοπαθολογική επιβεβαίωση με τη λήψη βιοψίας πνεύμονα είτε χειρουργικά είτε ως διαβρογχική κρυοβιοψία [1] αλλά και η λήψη και εξέταση βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (BAL). Συγκεκριμένα, κατά την εξέταση του BAL ο αυξημένος αριθμός πολυμορφοπύρηνων ουδετερόφιλων και/ή η απουσία λεμφοκυττάρων είναι συνηγορητική της διάγνωσης της ΙΠΙ [1].



Εικόνα 1.3.1 Αλλοιώσεις τύπου μελικυρήθρας (*honeycomb pattern*) σε ασθενή με ΙΠΙ. UIP πρότυπο κατά κύριο λόγο στα βασικά τμήματα των πνευμόνων και με υποπεζωκοτική εντόπιση σε εγκάρσια, οβελιαία και στεφανιαία τομή. Είναι εμφανείς οι πολυγωνικοί κυστικοί σχηματισμοί διαμέτρου 3-10 mm κατά στρώματα (Τροποποιημένη εικόνα από [1])

Όσον αφορά στα ιστοπαθολογικά ευρήματα, και πάλι αναγνωρίζονται τέσσερις κατηγορίες, ονομαστικά ίδιες με τα ακτινολογικά πρότυπα που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η διάγνωση της ΙΠΙ υποστηρίζεται από ένα συνδυασμό των παρακάτω ευρημάτων: διάσπαρτες πυκνές ινωτικές περιοχές με καταστροφή της αρχιτεκτονικής (καταστροφική ουλοποίηση και/ ή εικόνα μελικυρήθρας) εναλλασσόμενες με λιγότερο βεβλαμμένες περιοχές, με κατανομή υποπεζωκοτικά και στο διάμεσο ιστό, ινοβλαστικές εστίες και

απουσία άλλων ευρημάτων ενδεικτικών άλλης διάγνωσης [32]. Όταν είναι παρόντα όλα αυτά τα χαρακτηριστικά, η διάγνωση του UIP προτύπου γίνεται με ασφάλεια. Αντίστοιχα, το πρότυπο της Probable UIP αναφέρεται σε βιοψίες στις οποίες κάποια από τα παραπάνω ευρήματα είναι παρόντα ενώ ταυτόχρονα απουσιάζουν στοιχεία που προτείνουν άλλη διάγνωση [1] (Εικόνα 1.3.2).



Εικόνα 1.3.2 Ιστολογικό πρότυπο UIP. Είναι εμφανές ένα ινοβλαστικό κέντρο (αστερίσκος) μεταξύ ενός πνευμονικού τμήματος με εκτεταμένες ινωτικές βλάβες (πάνω από τον αστερίσκο) και λιγότερο παθολογικές περιοχές (κάτωθεν του αστερίσκου). [Τροποποιημένη εικόνα από [35]].

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι ένα συνδυασμός κλινικών, ακτινολογικών και αν χρειαστεί ιστοπαθολογικών πληροφοριών είναι απαραίτητος για να τεθεί η διάγνωση της ΙΠΙ ενώ εξέχουσα θέση κατέχει η διεπιστημονική συζήτηση του κάθε ασθενούς χωριστά.

1.4 Θεραπεία της Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης

Τις τελευταίες δεκαετίες έχουν γίνει άλματα όσον αφορά στη θεραπεία της ΙΠΠ. Έχουν σημειωθεί σημαντικές αλλαγές στις φαρμακευτικές θεραπείες που αντανακλούν την πρόοδο στην κατανόηση της παθογένειας της νόσου, στην καθορισμό πιο σαφών διαγνωστικών κριτηρίων αλλά και στο σχεδιασμό ευρύτερων τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών. Τα αποτελέσματα μελετών που αφορούν στην ασφάλεια και αποτελεσματικότητα παραγόντων που στοχεύουν στην ανοσολογική απάντηση αλλά και στον καταρράκτη της πήξης [42], [43],[44] οδήγησαν σε ισχυρή σύσταση κατά της χρήσης τους στις κατευθυντήριες οδηγίες του 2015 για τη θεραπεία της ΙΠΠ[45]. Αντιθέτως, στις ίδιες κατευθυντήριες οδηγίες συστήνεται η χρήση των δύο εγκεκριμένων πλέον αντινωτικών παραγόντων, της πιρφενιδόνης και της νιντεδανίμπης, φέρνοντας επανάσταση στην ιατρική διαχείριση της ΙΠΠ. Σημαντική πρόκληση για τους Ιατρούς που διαχειρίζονται ασθενείς που διαγνώστηκαν πρόσφατα με ΙΠΠ και οι οποίοι είναι ασυμπτωματικοί και έχουν διατηρημένη πνευμονική λειτουργία αποτελεί η επιλογή του χρόνου έναρξης της αντι-νωτικής αγωγής. Δεν είναι σαφές εάν θα μπορούσαν να επωφεληθούν από οποιαδήποτε θεραπεία, δεδομένου ότι δεν υπάρχει δείκτης που μπορεί να προβλέψει τη μελλοντική κλινική πορεία αυτών των ασθενών. Πρόσφατες post-hoc αναλύσεις συγκεντρωτικών δεδομένων από τις δοκιμές όψιμης φάσης σχετικά με την αποτελεσματικότητα τόσο της νιντεδανίμπης όσο και της πιρφενιδόνης έδειξαν ότι στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου, οι υποομάδες ασθενών με περισσότερο διατηρημένη πνευμονική λειτουργία κατά την έναρξη είχαν παρόμοιο ρυθμό εξέλιξης της νόσου σε σύγκριση με ασθενείς με λιγότερο διατηρημένη πνευμονική λειτουργία, ενώ στην ομάδα των ασθενών που έλαβε θεραπεία αποδείχθηκε το ίδιο όφελος και από τα δύο φάρμακα [46], [47]. Τα στοιχεία αυτά υποδηλώνουν ότι η πρόιμη έναρξη της αντι-νωτικής

θεραπείας στους ασθενείς με ΙΠΠ συστήνεται ανεξάρτητα της πνευμονικής τους λειτουργίας [48]. Μέχρι να ανακαλυφθούν αποτελεσματικοί δείκτες που θα μπορούν να προβλέψουν την πορεία και την πρόοδο της νόσου, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα πιθανά οφέλη, το οικονομικό κόστος αλλά και οι κίνδυνοι που απορρέουν από την πρόωπη έναρξη αντι-ινωτικής αγωγής σε κάθε ασθενή εξατομικευμένα. Τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι τα αντι-ινωτικά φάρμακα πιρφενιδόνη και νιντεδανίμη επιβραδύνουν την έκπτωση της πνευμονικής λειτουργίας, όπως αντικατοπτρίζεται από το ποσοστό μείωσης της δυναμικής ζωτικής χωρητικότητας (Forced Vital Capacity – FVC) [49], [50]. Συγκεκριμένα, στις παραπάνω μελέτες, κάθε φάρμακο έχει δείξει περίπου 50% μείωση του ρυθμού μείωσης της FVC κατά τη διάρκεια 1 έτους [50],[49]. Και τα δύο φάρμακα έχουν δείξει κάποια αποτελεσματικότητα στη μείωση σοβαρών αναπνευστικών επεισοδίων, όπως οξείες παροξύνσεις και νοσηλεία για αναπνευστικά επεισόδια [51], [52]. Επιπλέον, μεταγενέστερες μετα-αναλύσεις δείχνουν ότι αυτοί οι παράγοντες μειώνουν επίσης τη θνητότητα [53], [54]. Είναι δύσκολο να υπάρξει σύσταση υπέρ του ενός παράγοντα έναντι του άλλου καθώς δεν υπάρχει μελέτη ανωτερότητας και μεταξύ τους σύγκρισης. Σε μια μετα-ανάλυση διαπιστώθηκε ότι και τα δύο φάρμακα παρουσιάζουν παρόμοια οφέλη [55], [56].

Ειδικότερα, η νιντεδανίμη (παλαιότερα γνωστό ως μόριο BIBF 1120) είναι ένας ενδοκυττάριος αναστολέας των διαφόρων τυροσινικών κινασών που στοχεύει πολλαπλούς υποδοχείς αυξητικού παράγοντα, συμπεριλαμβανομένου του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα, του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών και του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα [57], [58], [59], [60]. Στις μελέτες INPULSIS, η νιντεδανίμη φάνηκε ότι επιβράδυνε τη μείωση της FVC σε μια περίοδο θεραπείας 52 εβδομάδων σε ασθενείς με ΙΠΠ [49].

Η πιρφενιδόνη είναι ένα συνθετικό, μικρό μόριο πυριδίνης με αντι-ινωτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Αναστέλλει τους προ-ινωτικούς αυξητικούς παράγοντες όπως ο TGF- β και την παραγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (όπως ο TNF- α), ρυθμίζοντας με αυτόν τον τρόπο σημαντικούς προ-ινωτικούς και προ-φλεγμονώδεις καταρράκτες κυτταροκινών *in vitro* [61], ενώ παράλληλα μειώνει το οξειδωτικό stress, τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και τη σύνθεση του κολλαγόνου σε ζωικά μοντέλα με πνευμονική ίνωση [62], [63], [64]. Η πιρφενιδόνη αξιολογήθηκε στις μελέτες CAPACITY [65] και ASCEND [50] και βρέθηκε ότι αναστέλλει την πρόοδο της ΙΠΠ, όπως υποδεικνύεται από αλλαγές στην FVC, την ανοχή στην άσκηση (δοκιμή βάρδισης 6 λεπτών) και την επιβίωση χωρίς εξέλιξη [50].

Εξίσου σημαντικές με τις φαρμακολογικές παρεμβάσεις είναι και οι μη φαρμακολογικές οι οποίες μπορούν να βοηθήσουν τους ασθενείς με ΙΠΠ να διατηρήσουν την ποιότητα ζωής τους για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο διάστημα. Σε αυτές περιλαμβάνονται η διακοπή του καπνίσματος, η εμβολιαστική κάλυψη έναντι της γρίπης, του πνευμονιοκόκκου και η οξυγονοθεραπεία [66]. Η χορήγηση οξυγόνου έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την δύσπνοια κατά την κόπωση και βελτιώνει την ανοχή στην άσκηση [67]. Κριτήρια για την έναρξη συμπληρωματικής οξυγονοθεραπείας αποτελούν κορεσμός της οξυαιμοσφαιρίνης $\leq 88\%$ σε ηρεμία ενώ σοβαρή υποξυγοναιμία κατά τη δοκιμασία 6λεπτης βάρδισης ή κατά τη διάρκεια του ύπνου επιβάλλει τη συνταγογράφηση οξυγονοθεραπείας για τους περιπατητικούς ασθενείς. Τα προγράμματα πνευμονικής αποκατάστασης φαίνεται ότι βελτιώνουν την ικανότητα άσκησης και την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με την υγεία των ασθενών με ΙΠΠ [68], [69].

Τέλος, η μεταμόσχευση πνευμόνων αποτελεί μια πιθανή επιλογή. Πάνω από 4600 μεταμοσχεύσεις πνευμόνων πραγματοποιούνται παγκοσμίως κάθε χρόνο, περίπου οι μισές

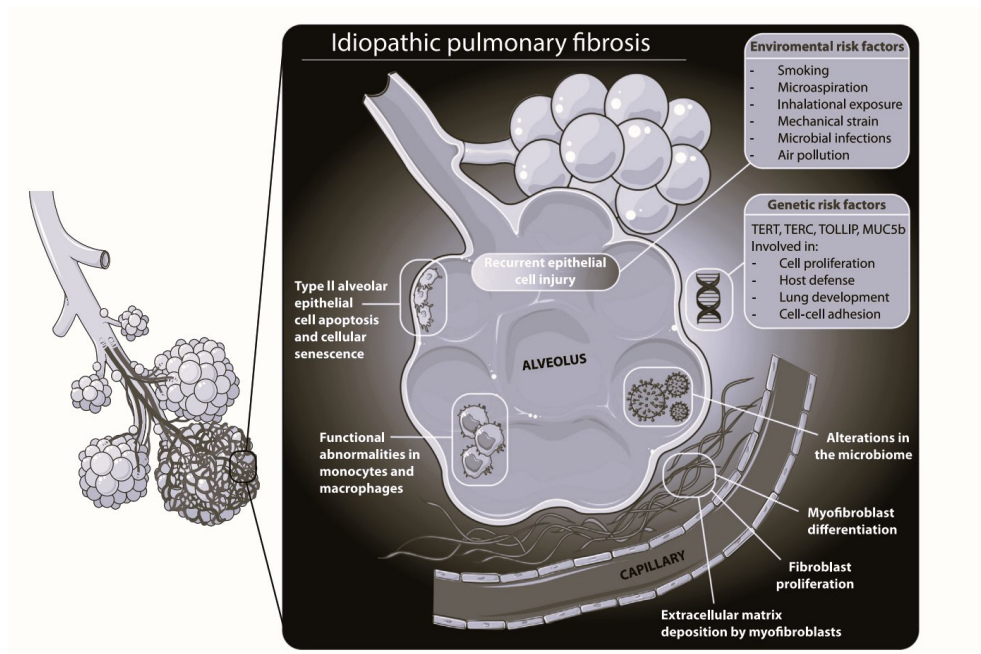
από τις οποίες αφορούν ασθενείς με διάμεσες πνευμονοπάθειες [70], [71]. Η ΙΠΙ είναι πλέον η πιο κοινή ένδειξη για μεταμόσχευση πνευμόνων παγκοσμίως. Σε κατάλληλες περιπτώσεις, η εξέλιξη της νόσου θα πρέπει να οδηγεί σε έγκαιρη παραπομπή σε μεταμοσχευτικό κέντρο παράλληλα με την παρεχόμενη φροντίδα σε κέντρο διάμεσης πνευμονοπάθειας προκειμένου να επιτευχθεί σταθεροποίηση της κλινικής κατάστασης ώστε οι συνθήκες να είναι βέλτιστες για τον υποψήφιο λήπτη του μοσχεύματος [72].

Η συνεχής πρόοδος όσον αφορά στην κατανόηση της παθογένειας της ΙΠΙ έχει οδηγήσει σε κλινικές μελέτες με νέους παράγοντες που στοχεύουν σε διαφορετικά παθοφυσιολογικά μονοπάτια της νόσου. Μονοκλωνικά αντισώματα όπως το Pamrevlumab [73], **(NCT03955146)**, αναστολείς της αυτοταξίνης [74], [75], φαρμακευτικές ουσίες που στοχεύουν στο μονοπάτι του TGF-β όπως το μονοκλωνικό αντίσωμα BG00011 **(NCT01371305)** και ο εισπνεόμενος ανταγωνιστής ιντεγκρίνης GSK3008348 **(NCT02612051)**, **(NCT03069989)**, ανάλογα της προστακυκλίνης όπως η τρεπροστινίλη [76], η ανασυνδυασμένη πεντραξίνη-2 η οποία δρα ως αντι-ινωτικός και αντι-φλεγμονώδης παράγοντας [77], **(NCT02550873)**, **(NCT04552899)** αλλά και άλλες ουσίες βρίσκονται υπό κλινική δοκιμή (αναγράφονται οι κωδικοί των αντίστοιχων κλινικών δοκιμών που δεν έχουν ολοκληρωθεί).

1.5 Παθογένεια Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ίνωσης

Αν και η παθογένεια της ΙΠΙ παραμένει άγνωστη σε μεγάλο βαθμό και πιθανότατα πολυπαραγοντική, έχει γίνει σημαντική πρόοδος τα τελευταία χρόνια στην κατανόηση των υποκείμενων παθοφυσιολογικών μηχανισμών (Εικόνα 1.5.1). Ιστολογικά, η ΙΠΙ χαρακτηρίζεται από υπερβολική εναπόθεση πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας (ECM), παρουσία εστιών ινοβλαστών και περιοχές ίνωσης που γειτνιάζουν με περιοχές

φυσιολογικού πνευμονικού παρεγχύματος [78], [11]. Στην ΙΠΙ, έχουν αναγνωριστεί πολυάριθμοι παράγοντες κινδύνου, συμπεριλαμβανομένης της περιβαλλοντικής έκθεσης, του καπνίσματος, των χρόνιων ιογενών λοιμώξεων και ορισμένων συννοσηροτήτων. Τα τελευταία 5 χρόνια, έχει επίσης σημειωθεί πρόοδος στον προσδιορισμό των γενετικών παραγόντων κινδύνου. Οι γενετικές παραλλαγές εκτιμάται ότι εξηγούν έως και το ένα τρίτο του εγγενούς ατομικού κινδύνου ασθένειας [79]. Στην ΙΠΙ, η φυσική διαδικασία της κυτταρικής και μοριακής γήρανσης είναι υπέρμετρη και συμβαίνει πρόωρα. Τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα, κυρίως τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα τύπου 2 (Alveolar Epithelial Cells type 2 – AEC2s), επηρεάζονται κυρίως. Η πολυπλοκότητα της ΙΠΙ καθορίζεται επίσης από έναν εκτεταμένο αριθμό πολυδιάστατων αλληλεπιδράσεων μεταξύ επιθηλιακών, μεσεγχυματικών κυττάρων και ECM. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο αυτοί οι παράγοντες αλληλεπιδρούν για να προκαλέσουν ασθένεια παραμένει σε μεγάλο βαθμό ασαφής [80].



Εικόνα 1.5.1 Σχηματική επισκόπηση της έως τώρα γνώσης όσον αφορά στην παθογένεια της ΙΠΙ (Τροποποιημένη εικόνα [80])

1.5.1 Γενετική

Η ΙΠΠ εμφανίζεται τόσο σποραδικά όσο και στα μέλη οικογενειών, γεγονός που δείχνει την ύπαρξη γενετικής προδιάθεσης. Η οικογενής πνευμονική ίνωση (Familial pulmonary fibrosis - FPF), που ορίζεται ως η ύπαρξη δύο ή περισσότερων μελών της οικογένειας με ιδιοπαθή διάμεση πνευμονία, αντιπροσωπεύει περίπου το 5-20% των περιπτώσεων ΙΠΠ [34]. Είναι σημαντικό ότι έως 1 στις 3 περιπτώσεις σποραδικής ΙΠΠ έχει οικογενειακό ιστορικό πνευμονικής ίνωσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η γενετική προδιάθεση είναι καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη της ΙΠΠ [81], [82]. Υπάρχει ένα σημαντικό κενό στην κατανόηση της λειτουργικής σημασίας των περισσότερων γονιδιακών πολυμορφισμών που έχει αναγνωριστεί ότι συσχετίζονται με την ανάπτυξη της ΙΠΠ (Πίνακας 1.5.1.1). Ωστόσο, διακριτές γενετικές παραλλαγές έχουν συσχετιστεί με παθολογικούς μηχανισμούς που υπεισέρχονται στην επιδιόρθωση του DNA όπως μεταλλάξεις του γονιδίου για τον επιφανειοδραστικό παράγοντα, λανθασμένη αναδίπλωση πρωτεϊνών και βράχυνση των τελομερών. Ενώ συγκεκριμένες μεταλλάξεις έχουν συμβάλει στην κατανόηση της παθογένειας της ΙΠΠ, οι περισσότερες περιγραφόμενες γενετικές παραλλαγές δεν είναι ούτε απαραίτητες ούτε επαρκείς για να ερμηνεύσουν την ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης. Ενώ η γενετική επηρεάζει την ανάπτυξη της ΙΠΠ, σε μια μελέτη 14 παραλλαγών ευαισθησίας στην ΙΠΠ σε έναν ευρωπαϊκό πληθυσμό, οι γνωστές γενετικές παραλλαγές εξήγησαν μόνο το 12,4% της νόσου στον γενικό πληθυσμό και το 17,7% σε άτομα άνω των 65 ετών [83].

Μέχρι σήμερα, μελέτες συσχέτισης σε επίπεδο γονιδιώματος (GWAS) [84], [85], [86], [87], [88], [89] έχουν αναφέρει διάφορες γονιδιακές παραλλαγές που σχετίζονται με την ΙΠΠ, τονίζοντας τη σημασία του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της άμυνας του ξενιστή, της ανάπτυξης των πνευμόνων, των φλεγμονωδών διεργασιών ή της διακυτταρικής

προσκόλλησης. Ο πολυμορφισμός που φαίνεται ότι συσχετίζεται πιο έντονα με την ανάπτυξη ΙΠΠ είναι ο rs35705950 που αντιστοιχεί στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου MUC5B και φαίνεται να προδιαθέτει στην ανάπτυξη της νόσου περισσότερο από οποιαδήποτε άλλη αναφερόμενη στη βιβλιογραφία παραλλαγή με 5 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για κάθε αλληλόμορφο γονίδιο που τη φέρει [90], [91]. Ωστόσο, σε ασθενείς με ΙΠΠ υπό αντι-ινωτική θεραπεία, η φορεία του αλληλόμορφου MUC5B rs35705950 T συσχετίστηκε με μεγαλύτερη επιβίωση [92]. Το γονίδιο MUC5B παίζει σημαντικό ρόλο στη βλεννοκροσσωτή λειτουργία και στην άμυνα του ξενιστή, αλλά οι μηχανισμοί για τη συμμετοχή του στην ΙΠΠ παραμένουν ατελώς καθορισμένοι. Αυτή η παραλλαγή rs35705950 παρατηρείται σε περιπτώσεις ΙΠΠ με συχνότητα 35% (σε σύγκριση με 11% στον γενικό πληθυσμό) και έτσι δεν αποτελεί το μοναδικό γενετικό παράγοντα κινδύνου για την ΙΠΠ. Άλλη μια σημαντική γονιδιακή περιοχή που συνδέεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΠΠ βρίσκεται στο γονίδιο της δεσμοπλακίνης (DSP), το οποίο είναι σημαντικό για τη διακυτταρική προσκόλληση [86], όπως έχουν δείξει μελέτες συσχέτισης γονιδιώματος (GWAS). Η γενετική παραλλαγή αυτού του γονιδίου σχετίζεται με μειωμένη έκφρασή του στα AECs και υπερέκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με την παραγωγή ECM [93]. Η διαταραχή της δομικής ακεραιότητας της κυψελίδας λόγω μειωμένης έκφρασης DSP και η μειωμένη διακυτταρική προσκόλληση μπορεί να συμβάλει στη χρόνια κυψελιδική βλάβη και την ανώμαλη διαδικασία επιθηλιακής επιδιόρθωσης.

Σπάνιοι γονότυποι που σχετίζονται με τα τελομερή και την επιφανειοδραστική ουσία έχουν επίσης συσχετιστεί με την οικογενή πνευμονική ίνωση (FPF) και τη σποραδική ΙΠΠ [94], [95]. Παραλλαγές τόσο του TOLLIP (που κωδικοποιεί έναν αναστολέα του σηματοδοτικού μονοπατιού του TGFβ και ρυθμιστή της ενδογενούς ανοσολογικής απόκρισης) και του OBFC1 (που κωδικοποιεί το ολιγονουκλεοτίδιο/ολιγοσακχαρίτη

STN1) όσο και των TERC and TERT εμπλέκονται στη σποραδική μορφή της ΙΠΙ. Στις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες, ο γενετικός έλεγχος για αυτές τις παραλλαγές συνιστάται σε επιλεγμένους ασθενείς με ιδιοπαθείς διάμεσες πνευμονίες [96]. Σε μια πρόσφατη GWAS μετα-ανάλυση αναγνωρίστηκαν τρεις νέες περιοχές που εμπλέκουν τα γονίδια DEPTOR, KIF15 και MAD1L1 (τα οποία σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΠΙ), ενισχύοντας την υπόθεση ότι η σηματοδότηση mTOR προάγει την πνευμονική ινογένεση και επίσης εμπλέκοντας ομάδες γονιδίων στην παθογένεια της ΙΠΙ [97].

Συνοψίζοντας, η ανάπτυξη και η εξέλιξη της ΙΠΙ συνδέεται ολοένα και περισσότερο με γονιδιακή προδιάθεση σχετικά με την απορρυθμισμένη άμυνα του ξενιστή, τη διατήρηση των τελομερών και την προσκόλληση κυττάρου με κύτταρο. Η αναγνώριση αυτών των κρίσιμων περιοχών του ανθρώπινου γονιδιώματος που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΠΙ θα οδηγήσει σε καλύτερη κατανόηση των βιολογικών διεργασιών στις οποίες βασίζεται η νόσος και θα βοηθήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών επιλογών [98].

Category	Gene
Mucin production	<i>MUC5B</i>
	<i>MUC2</i>
Surfactant	<i>SFTPC</i>
	<i>SFTPA1</i>
	<i>SFTPA2</i>
	<i>ABCA3</i>
Telomeres	<i>TERT</i>
	<i>TERC</i>
	<i>TINF2</i>
	<i>DKC1</i>
	<i>RTEL1</i>
	<i>PARN</i>
	<i>STN1</i>
	<i>OBFC1</i>
Cell-cycle regulation	<i>KIF15</i>
	<i>MAD1L1</i>
	<i>CDKN1A</i>
	<i>TP53</i>
Cytokines and immune function	<i>IL1RN</i>
	<i>IL8</i>
	<i>IL4</i>
	<i>TGFB1</i>
	<i>FAM13A</i>
	<i>HLA-DRB1</i>
Toll-like receptor signaling	<i>TOLLIP</i>
	<i>TLR3</i>
	<i>ATP11A</i>
Cell adhesion and interaction	<i>DSP</i>
	<i>MDGA2</i>
	<i>MAPT</i>
	<i>DPP9</i>
RhoA signaling	<i>AKAP13</i>
mTOR signaling	<i>DEPTOR</i>

Πίνακας 1.5.1.1 Κοινές (με έντονη γραμματοσειρά) και σπανιότερες γενετικές παραλλαγές στην ΙΙΙ.

(Τροποποιημένος πίνακας από [99])

1.5.2 Περιβαλλοντικοί Παράγοντες

Καθώς οι κυψελίδες και οι αεραγωγοί βρίσκονται σε συνεχή επικοινωνία με τον ατμοσφαιρικό αέρα, το αναπνευστικό επιθήλιο εκτίθεται συνεχώς σε οργανικά και ανόργανα σωματίδια τόσο από το εξωτερικό περιβάλλον (π.χ. ρύποι, ζωικά αντιγόνα και επαγγελματική έκθεση) όσο και από το περιβάλλον του ξενιστή (π.χ. μικροεισρόφηση,

γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση και κοινά μικρόβια) [99]. Καθώς ένα βασικό χαρακτηριστικό της παθοφυσιολογίας της ΙΠΠ είναι ο παθολογικός μηχανισμός επιθηλιακής επιδιόρθωσης, η χρόνια βλάβη στο κυψελιδικό επιθήλιο μέσω της περιβαλλοντικής έκθεσης μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην παθογένεια της νόσου. Η περιβαλλοντική έκθεση μπορεί να αποτελέσει το απαραίτητο έναυσμα για τις επιγενετικές τροποποιήσεις που έχουν παρατηρηθεί στην ΙΠΠ. Αυτές περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, την τροποποίηση των ιστονών και τη ρύθμιση των microRNAs [100] (Εικόνα 1.5.2.1). Έχει βρεθεί ότι η έκθεση στον καπνό του τσιγάρου οδηγεί σε αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA σε όλο το γονιδίωμα [101]. Ακόμη και μετά τη διακοπή του καπνίσματος, ο καπνός παραμένει παράγοντας κινδύνου προκαλώντας αυτοσυντηρούμενη πνευμονική βλάβη. Επιπλέον, οι ασθενείς με ΙΠΠ, με ιστορικό καπνίσματος έχουν φτωχότερη επιβίωση σε σύγκριση με τους μη καπνιστές [102].

Ορισμένες ιογενείς λοιμώξεις έχουν επίσης συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΠΠ, συμπεριλαμβανομένης της έκθεσης στον ιό Epstein-Barr (EBV), στον κυτταρομεγαλοϊό (CMV), στον ανθρώπινο ερπητοϊό 7 (HHV-7) και 8 (HHV-8) [103], [104]. Τα ιικά φορτία των EBV και CMV βρέθηκαν να είναι υψηλότερα σε ασθενείς με ΙΠΠ και αντιγόνα του EBV ανιχνεύθηκαν σε κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα (AECs) σε άτομα με ΙΠΠ. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτό το αντιγόνο συσχετίστηκε επίσης με δείκτες στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (ER), υποδηλώνοντας μια σχέση μεταξύ λανθάνουσας ιογενούς λοίμωξης και ανάπτυξης ΙΠΠ [105]. Ωστόσο, ο αιτιώδης ρόλος αυτών των χρόνιων ιογενών λοιμώξεων στην παθοφυσιολογία της ΙΠΠ μένει να προσδιοριστεί με μεγαλύτερη ακρίβεια.

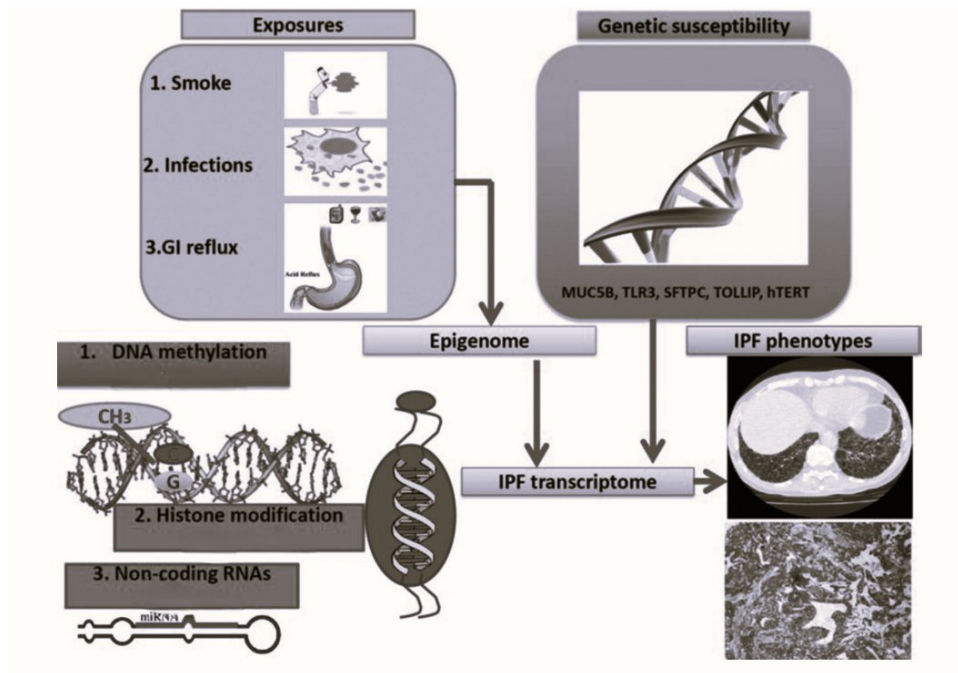
Εκτός από τη συσχέτιση με την έκθεση σε ιούς, σε ένα ευρύτερο πλαίσιο διάφοροι παθογόνοι μικροοργανισμοί (ιοί, μύκητες και βακτήρια) παίζουν πιθανό ρόλο στην

παθογένεση της ΙΠΠ [106]. Ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου είναι το μικροβίωμα των πνευμόνων, συμπεριλαμβανομένων των βακτηρίων, των μυκήτων, των ιών και των βακτηριοφάγων και έχει γίνει πεδίο επιστημονικού ενδιαφέροντος οδηγώντας σε σημαντικές μελέτες σχετικά με θεραπευτικές παρεμβάσεις. Τα βακτήρια και οι ιοί είναι γνωστό ότι προκαλούν άμεση βλάβη των επιθηλιακών κυττάρων των αεραγωγών και έμμεση βλάβη με την ενεργοποίηση των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή μετά τη μόλυνση [107]. Η κρίσιμη σημασία της εύρυθμης λειτουργίας της άμυνας του ξενιστή προτάθηκε στη μελέτη PANTHER-IPF (πρεδνιζόνη, αζαθειοπρίνη και N-ακετυλοκυστεΐνη: μια μελέτη που αξιολογεί την ανταπόκριση στην ΙΠΠ), η οποία έδειξε χειρότερα αποτελέσματα σε ασθενείς με ΙΠΠ που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με συνδυασμό ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων [103]. Μελέτες παρέχουν στοιχεία για ένα τροποποιημένο μικροβίωμα με υψηλότερο βακτηριακό φορτίο στην ΙΠΠ. Ζωικά μοντέλα έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ του μικροβιώματος και της ίνωσης, με αυξημένο βακτηριακό φορτίο και απώλεια ποικιλομορφίας μικροβιώματος σε ασθενείς με ΙΠΠ [108], [109]. Η αιτιολογία αυτών των αλλαγών στο μικροβιακό περιβάλλον του ξενιστή είναι άγνωστη και έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί όπως οι υποτροπιάζουσες μικροεισροφές περιεχομένου του εντερικού σωλήνα, η ελαττωματική ανοσολογική απόκριση αλλά και η παραμορφωμένη παρεγχυματική αρχιτεκτονική του πνεύμονα λόγω ίνωσης [107]. Ωστόσο, σε μια πρόσφατη μελέτη μεταξύ ενηλίκων με ΙΠΠ, η προσθήκη κοτριμοξαζόλης ή δοξκυκλίνης στη συνήθη φροντίδα, σε σύγκριση με τη συνήθη φροντίδα μόνο, δεν αύξησε σημαντικά το χρόνο έως την ανάγκη νοσηλείας ή έως το θάνατο [110], [111]. Η ανάλυση της σύνθεσης του πνευμονικού μικροβιώματος στην ΙΠΠ μπορεί να δώσει μια εξήγηση για την παθογένεια της νόσου και μπορεί να είναι χρήσιμη ως προγνωστικός βιοδείκτης [112]. Επιπλέον, ο Huang και οι συνεργάτες του ανέλυσαν

τους ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη COMET-IPF και έδειξαν μια σχέση μεταξύ της ανοσολογικής έκφρασης του περιφερικού αίματος και των χαρακτηριστικών του μικροβιώματος του BAL στην ΙΠΠ [113]. Μελέτες που διερευνούν φαρμακευτικές ουσίες όπως αντιιικά, αντιμικροβιακά και αντιμυκητιασικά σχήματα αφήνουν υποσχέσεις για τη θεραπεία της ΙΠΠ, εδραιώνοντας τη σχέση μεταξύ μικροβιώματος και ΙΠΠ. Ωστόσο δε μπορεί να παραλειφθεί το γεγονός ότι οι αλλαγές στην υποκείμενη αρχιτεκτονική των πνευμόνων στην ΙΠΠ πιθανώς μεταβάλλουν το μικρόβιομα, οπότε η εξαγωγή συμπερασμάτων είναι δύσκολη [99].

Ένας άλλος εγγενής περιβαλλοντικός παράγοντας που αποτελεί γνωστή συννοσηρότητα σε άτομα με ΙΠΠ και έχει προταθεί ως αιτία ανάπτυξης και εξέλιξης της νόσου είναι η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (Gastroesophageal Reflux Disease GERD) [114], [115]. Είναι ενδιαφέρον ότι ορισμένες μελέτες ανέφεραν όφελος όσον αφορά στην επιβίωση για τους ασθενείς με ΙΠΠ που λάμβαναν αντιόξινη θεραπεία [116], [117]. Ωστόσο, οι τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες δε συστήνουν τη χρήση αντιόξινης θεραπείας για τη θεραπεία της ΙΠΠ [1].

Τέλος, φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της ΙΠΠ και της επαγγελματικής έκθεσης, όπως η έκθεση σε γεωργικές χημικές ουσίες, ζώα, σκόνη ξύλου, μεταλλική σκόνη, πέτρα και άμμο, καθώς και με την ατμοσφαιρική ρύπανση [118]. Αυτό καταδεικνύει την πολύπλοκη φύση της παθοφυσιολογίας της ΙΠΠ, στην οποία μια μεμονωμένη παρέμβαση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες μπορεί να μην είναι αρκετή για να αλλάξει την ανάπτυξη και την έκβαση της νόσου. Συνολικά, όχι πλήρως γνωστοί ενδογενείς και εξωγενείς περιβαλλοντικοί παράγοντες επηρεάζουν το μικροπεριβάλλον των πνευμόνων και μπορούν να συμβάλουν στην ανάπτυξη και εξέλιξη της ΙΠΠ [80].



Εικόνα 1.5.2.1 Το μετάγραφο στους ασθενείς με ΙΠΠ προκύπτει από την αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι επιγενετικές μεταβολές, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA, των τροποποιήσεων των ιστονών και της ρύθμισης των μη κωδικοποιητικών RNAs αντιπροσωπεύουν έναν σημαντικό μηχανισμό που συνδέει την περιβαλλοντική έκθεση με τη γονιδιακή προδιάθεση (μεταλλάξεις γονιδίων) και μπορεί να εξηγήσει τους διάφορους φαινότυπους στους ασθενείς με ΙΠΠ (Τροποποιημένη εικόνα από[100])

1.5.3 Επιθηλιακά κύτταρα

Η ΙΠΠ θεωρείται σήμερα μια επιθηλιακή νόσος, στην οποία το δυσλειτουργικό και γηρασμένο πνευμονικό επιθήλιο που εκτίθεται σε επαναλαμβανόμενους μικροτραυματισμούς οδηγεί σε αποτυχημένες προσπάθειες αναγέννησης και παθολογική επιθηλιακή-μεσεγχυματική σχέση. Το παραπάνω δημιουργεί μια ανισορροπία μεταξύ προϊνωτικών και αντινωτικών μεσολαβητών, διατηρώντας ένα περιβάλλον που

υποστηρίζει την υπέρμετρη δραστηριότητα των ινοβλαστών και μυοϊνοβλαστών και παραβιάζει τους φυσιολογικούς μηχανισμούς απομάκρυνσης του ινώδους ιστού [35].

Τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα, κυρίως τα AEC2s, είναι αυτά που παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΠΠ. Τα AEC2s εκκρίνουν την επιφανειοδραστική ουσία η οποία είναι απαραίτητη για την εύρυθμη λειτουργία των κυψελίδων διατηρώντας τες ανοιχτές προκειμένου να πραγματοποιηθεί η ανταλλαγή των αναπνευστικών αερίων. Έχουν επίσης κρίσιμες μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες και είναι τα προγονικά κύτταρα για τα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα τύπου 1 (Alveolar Epithelial Cells type I - AEC1s), τα οποία είναι γνωστά για τη διατήρηση του κυψελιδικού επιθηλίου καθώς αποτελούν το 97% των κυψελιδικών επιφανειών (το υπόλοιπο 3% αποτελείται από τα AEC2s) [119]. Σε υγιείς πνεύμονες, τα AEC1s είναι οι κύριοι μεσολαβητές της ανταλλαγής αερίων και παρέχουν το μεγαλύτερο μέρος της επιθηλιακής επιφάνειας. Οι μικροτραυματισμοί των κυψελίδων απαιτούν έναν υγιή, λειτουργικό πληθυσμό αναγεννητικών κυττάρων AEC2s. Στην ΠΠ τα AEC2s παρουσιάζουν γρηγορότερη απόπτωση, γήρανση, ανωμαλίες στη διαφοροποίησή τους και αδυναμία αναγέννησης του φυσιολογικού κυτταρικού πληθυσμού του κυψελιδικού επιθηλίου από τα ανωτέρω κύτταρα. Ένας συνδυασμός ενδογενών και εξωγενών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής γήρανσης, της δυσλειτουργίας των μιτοχονδρίων, του στρες του ενδοπλασματικού δικτύου, της βράχυνσης των τελομερών και της παθολογικής ενδοκυττάριας επικοινωνίας τελικά οδηγεί σε αδυναμία του κυττάρου AEC2 να συμβάλει στην αποτελεσματική αποκατάσταση του τραυματισμένου επιθηλίου [120]. Μια βασική ιδέα είναι ότι η εξάντληση των AEC2s μέσω επαναλαμβανόμενων μικροτραυματισμών του κυψελιδικού επιθηλίου θα μπορούσε να είναι η υποκείμενη αιτία της πνευμονικής ίνωσης [121]. Έχει αποδειχθεί σε μελέτες ότι ο αριθμός των AEC2s μειώνεται στους

πνεύμονες με ΙΠΙ, γεγονός που υποστηρίζει τη βασική ιδέα εξάντλησης των βλαστικών κυττάρων σε αυτούς τους ασθενείς [122], [123]. Ωστόσο, η εξάντληση αυτού του ζωτικού προγονικού κυττάρου δεν είναι μόνο συνάρτηση της παραμορφωμένης αρχιτεκτονικής των πνευμόνων, αλλά μπορεί επίσης να είναι πρόδρομος της ίνωσης [124]. Από την εμφάνιση των τεχνικών αλληλούχισης του RNA ενός κυττάρου (single-cell RNA sequencing - scRNASeq), αρκετές μελέτες τα τελευταία χρόνια έχουν φέρει επανάσταση στην ιδέα των επιθηλιακών κυτταρικών πληθυσμών στην ΙΠΙ. Με την πάροδο του χρόνου, οι μελέτες scRNA-seq εντόπισαν έως και 10 διακριτές ομάδες επιθηλιακών κυττάρων. Αν και όλες οι μελέτες προσδιόρισαν τους περισσότερους κλασικούς τύπους των κυττάρων του αναπνευστικού επιθηλίου, δηλαδή AEC1s, AAEC2s, βασικά, κροσσωτά και εκκριτικά κύτταρα, υπάρχουν κάποιες διαφορές στην υποκατηγοριοποίηση των περιγραφόμενων κυτταρικών ομάδων [125].

Δεδομένα από τις μελέτες scRNA-seq που συγκρίνουν τον πνευμονικό ιστό με ΙΠΙ με τον πνευμονικό ιστό ελέγχου κάνουν λόγο για έναν ανώμαλο επιθηλιακό κυτταρικό τύπο που εντοπίζεται σε μια συγκεκριμένη περιοχή των ινοβλαστικών εστιών και εμφανίζει δείκτες τόσο των AECs όσο και των βασικών κυττάρων. Αυτός ο τύπος προϊνωτικού κυττάρου εκφράζει γονίδια και σχετίζεται με κυτταρικά μονοπάτια που είναι γνωστό ότι είναι απορρυθμισμένα στην ΙΠΙ, συμπεριλαμβανομένης της μεταλλοπρωτεϊνάσης 7 του στρώματος (matrix metalloproteinase 7 - MMP7), της ιντεγκρίνης αVβ6, της κυτταρικής γήρανσης και της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT) και παρουσιάζει ανώμαλη έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη [99]. Είναι σημαντικό ότι αυτός ο τύπος κυττάρου δεν βρίσκεται σε υγιείς πνεύμονες και σπάνια βρίσκεται σε άλλες χρόνιες πνευμονικές παθήσεις όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, αλλά εμφανίζεται σχεδόν σε κάθε πνεύμονα με ΙΠΙ [126], [127]. Ένας άλλος μηχανισμός που

μπορεί επίσης να συμβάλλει στην ανώμαλη διαφοροποίηση των κυττάρων AEC2s είναι αυτός με την IL-1β. Η παραπάνω ιντερλευκίνη απαιτείται για την ομαλή διαφοροποίηση των κυττάρων AEC2s σε κύτταρα AEC1s. Η επίμονη σηματοδότηση IL-1β, η οποία παρατηρείται στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) ασθενών με ΙΠΠ, αναστέλλει αυτή την οδό [128]. Αυτό μπορεί να αποτελεί ένα μηχανισμό με τον οποίο η χρόνια φλεγμονή οδηγεί σε ίνωση. Έτσι, αυτός ο ανώμαλος τύπος επιθηλιακού κυττάρου μπορεί να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΙΠΠ.

Οι πρώτες μελέτες στην ΙΠΠ εντόπισαν έναν μοναδικό τύπο κυττάρου του βρογχικού επιθηλίου που χαρακτηρίζεται από ανώμαλη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου εντός των ινοβλαστικών εστιών στους πνεύμονες με ΙΠΠ αλλά όχι στον πνευμονικό ιστό άλλων διάμεσων πνευμονοπαθειών, όπως είναι η οξεία ή μη ειδική διάμεση πνευμονία και η κρυπτογενής οργανούμενη πνευμονία [129]. Σε όλα τα μοντέλα που έχουν περιγραφεί, οι μεταβατικοί τύποι επιθηλιακών κυττάρων έχουν χαρακτηριστικά του εγγύς αεραγωγού, γεγονός που υποδηλώνει ότι σε περιόδους εκτεταμένης βλάβης των κυψελίδων ή των απομακρυσμένων αεραγωγών, είτε τα προγονικά κύτταρα στρατολογούνται από τον αεραγωγό είτε τα προϋπάρχοντα κυψελιδικά προγονικά κύτταρα υιοθετούν έναν φαινότυπο των κυττάρων των αεραγωγών. Στην ΙΠΠ, η ανάπτυξη ενός μοναδικού, γηράσκοντος πληθυσμού AECs μπορεί να εμποδίσει την επιθηλιακή επιδιόρθωση και να οδηγήσει στη δημιουργία μιας ινωτικής νησίδας [124], [126]. Είναι ενδιαφέρον ότι ένας παρόμοιος πληθυσμός κυττάρων εντοπίστηκε σε μοσχεύματα ασθενών με σοβαρό σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας λόγω της νόσου COVID19, που αντιστοιχούσε σε ινωτικό ιστοπαθολογικό πρότυπο [130]. Το γεγονός ότι αυτά τα κύτταρα υπάρχουν τόσο σε οξεία όσο και σε χρόνια βλάβη και παρατηρούνται σταθερά

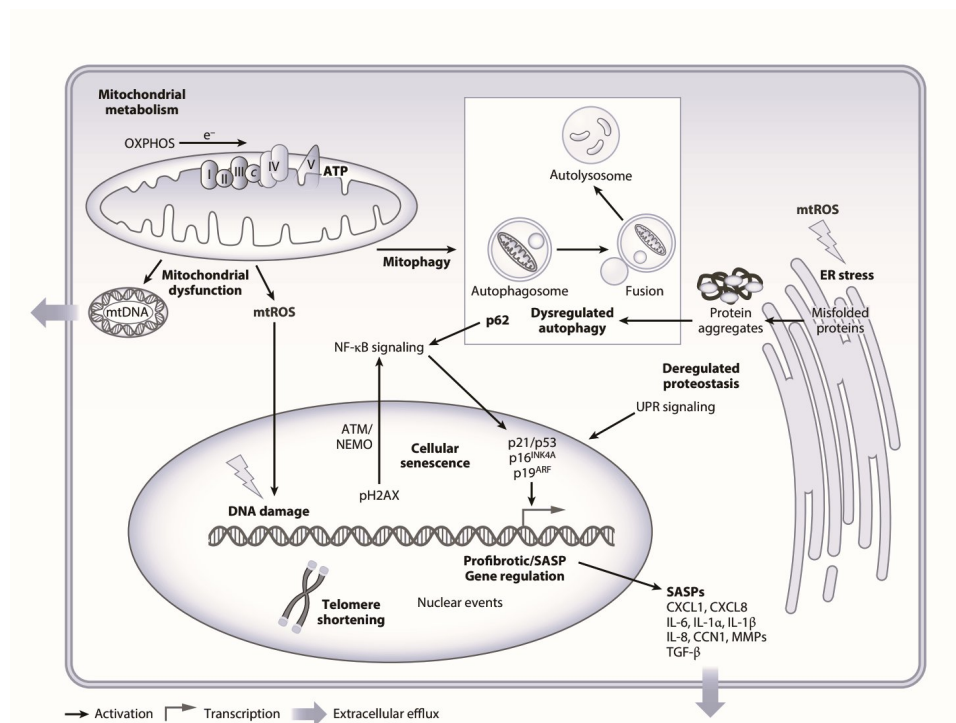
στην ΙΠΙ μπορεί να υποδηλώνει ότι είναι ένα κοινό και απαραίτητο βήμα στη διαίωνιση της μη αναστρέψιμης πνευμονικής ίνωσης.

1.5.4. Γήρανση

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ΙΠΙ αλλά και οι διάμεσες πνευμονοπάθειες στο πλαίσιο των νοσημάτων κολλαγόνου, θεωρούνται πλέον συχνά καταστάσεις που σχετίζονται με τη γήρανση με παρόμοιο τρόπο με τις καρδιαγγειακές παθήσεις, τον καρκίνο και τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, αν και ταυτόχρονα τις χωρίζουν αρκετές διαφορές στην ιστοπαθολογία [131]. Έχουν προταθεί κοινοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί, συμπεριλαμβανομένης της βλάβης των επιθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων, της ανεπαρκούς επιθηλιακής επιδιόρθωσης, του οξειδωτικού στρες, των ανωμαλιών πήξης, της ανοσολογικής δυσλειτουργίας και της υπερβολικής ενεργοποίησης του TGF- β , που οδηγεί σε υπερβολική εναπόθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ECM) από ενεργοποιημένους μυοϊνοβλάστες, το σήμα κατατεθέν της ίνωσης [132], [133]. Η γήρανση των AEC2s αναδύεται ως πρώιμο χαρακτηριστικό γνώρισμα στην παθογένεση της χρόνιας προοδευτικής ινωτικής πνευμονοπάθειας. Η κυτταρική γήρανση ορίζεται ως η μόνιμη αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης στην οποία τα κύτταρα εμφανίζουν χαρακτηριστικά του «φαινότυπου γήρανσης» συμπεριλαμβανομένης της αστάθειας του γονιδιώματος, της βράχυνσης των τελομερών, των επιγενετικών αλλαγών, της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της αντίστασης στο σηματοδοτικό μονοπάτι της απόπτωσης [134]. Στην ΙΠΙ, έχει υποτεθεί ότι η χρόνια έκθεση σε παράγοντες κινδύνου (π.χ. κάπνισμα, γενετικοί παράγοντες και γαστροοισοφαγική νόσος) οδηγεί σε μεταβολές στη σύνθετη ομοιόσταση των AEC2s και των ινοβλαστών, με αποτέλεσμα την απώλεια της επανορθωτικής απόκρισης και την ενεργοποίηση των ινογενετικών οδών. Ωστόσο, η

αλληλεπίδραση του οξειδωτικού στρες, της αστάθειας του γονιδιώματος, της φθοράς των τελομερών, της υπέρμετρης φλεγμονώδους απάντησης, της αυτοφαγίας και των επιγενετικών αλλοιώσεων φαίνεται να οδηγεί σε μια δεξαμενή γηρασμένων κυττάρων, οδηγώντας τελικά σε επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) [121], [12], [135], [136].

Όπως περιγράφεται στην Εικόνα 1.5.4.1, υπάρχει μια πλειάδα κυτταρικών μονοπατιών που οδηγεί στη γήρανση ιδίως των AEC2s με αποτέλεσμα να μη μπορούν να αντικαταστήσουν το βεβλαμμένο κυτταρικό πληθυσμό μετά τις συνεχείς βλάβες του αναπνευστικού επιθηλίου.



Εικόνα 1.5.4.1 Απορρυθμισμένες κυτταρικές οδοί που οδηγούν σε γήρανση. Το σχήμα δείχνει ένα υποθετικό κύτταρο-στόχο στο οποίο οι απορρυθμισμένες κυτταρικές οδοί προάγουν πρώιμους φαινότυπους γήρανσης και ίνωσης [Τροποποιημένη εικόνα από [99]]

Η γήρανση είναι ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για ΙΠΙ, έτσι ώστε ο επιπολασμός της ΙΠΙ διπλασιάζεται με κάθε δεκαετία μετά την ηλικία των 50 ετών [15]. Χαρακτηριστικά παθοφυσιολογικά χαρακτηριστικά της γήρανσης παρατηρούνται στην ΙΠΙ και περιλαμβάνουν βράχυνση τελομερών, βλάβη του DNA, επιγενετικές τροποποιήσεις, μη φυσιολογική πρωτεόσταση, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και απορρυθμισμένη αυτοφαγία [137] (βλ. Εικόνα 1.1.4.1). Σε κυτταρικό επίπεδο, υπάρχει σημαντική επικάλυψη στην παθολογία της γήρανσης και της ΙΠΙ, που αποδεικνύεται από την αυξημένη έκφραση δεικτών κυτταρικής γήρανσης. Η γήρανση, που χαρακτηρίζεται από διακοπή της κυτταρικής ανάπτυξης και μειωμένο δυναμικό κυτταρικής αναπαραγωγής, προδιαθέτει τους πνεύμονες σε ίνωση εμποδίζοντας την αναγέννηση των κυψελιδικών προγονικών κυττάρων και προωθώντας ένα προϊνωτικό κυτταρικό περιβάλλον. Στην ΙΠΙ, τα κύτταρα AEC2s εμφανίζουν δείκτες γήρανσης και τα δεδομένα από scRNA-seq υποδηλώνουν ότι τα ανώμαλα επιθηλιακά κύτταρα, τα οποία κατά προτίμηση εντοπίζονται σε ινοβλαστικές εστίες, εκφράζουν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα προϊόντων μεταγραφής γονιδίων που σχετίζονται με τη γήρανση [124], [126]. Συνολικά, η ανώμαλη μιτοχονδριακή λειτουργία, η πρωτεόσταση και η μειωμένη ικανότητα για αυτοφαγία μπορεί να οδηγήσουν σε μονοπάτια ενεργοποίησης της κυτταρικής γήρανσης [99].

Η μιτοχονδριακή ομοιόσταση συνδέεται στενά με τη ρύθμιση της γήρανσης των κυττάρων. Τα μιτοχόνδρια, ως ζωτικά οργανίδια, παίζουν βασικό ρόλο στην παραγωγή κυτταρικής ενέργειας και στη μεταβολική ομοιόσταση. Κατά συνέπεια, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, που χαρακτηρίζεται από ελλατωματική δραστηριότητα της αναπνευστικής αλυσού, αποπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης και αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου (mitochondrial reactive oxygen species - mtROS), μπορεί να προάγει τη

γήρανση. Η γήρανση καθιστά τον πνεύμονα πιο ευάλωτο στα ευμεγέθη μιτοχόνδρια με αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου [138]. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η διαταραχή της μιτοχονδριακής ποιότητας μπορεί να προδιαθέσει το κύτταρο AEC2 σε γήρανση. Τα κύτταρα AEC2s είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία λόγω των υψηλών μεταβολικών απαιτήσεων σε παραγωγή επιφανειοδραστικού παράγοντα. Ασυνήθιστα διευρυμένα και διογκωμένα μιτοχόνδρια έχουν παρατηρηθεί σε κύτταρα AEC2 από ασθενείς με ΙΠΠ [139].

Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και η δημιουργία mtROS από τα μιτοχόνδρια οδηγούν σε βλάβη του DNA και ελαττωματική επιδιόρθωση, εν μέρει λόγω αδυναμίας συντήρησης των τελομερών. Όπως ειπώθηκε και παραπάνω, η επαναλαμβανόμενη έκθεση του κυψελιδικού επιθηλίου σε μικροτραυματισμούς, όπως λοιμώξεις, καπνός τσιγάρου, περιβαλλοντικά εισπνεόμενα τοξικά προϊόντα, γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, οδηγούν σε βλάβη των AEC1s. Τα δυσλειτουργικά AEC2s θα πρέπει να αναγεννήσουν τα βεβλαμμένα κύτταρα, αλλά η ικανότητά τους να αποκαταστήσουν την κανονικότητα είναι σοβαρά μειωμένη. Αυτή είναι η κρίσιμη στιγμή της παθογένειας της ΙΠΠ [140], [141]. Η κυτταρική δραστηριότητα οδηγεί σε πρωτεϊνική υπερέκφραση και σε στρες του ενδοπλασματικού δικτύου (ER). Πρόκειται για μια προστατευτική οδό που συμβαίνει όταν υπάρχει ανισορροπία μεταξύ κυτταρικής ζήτησης για πρωτεϊνική σύνθεση και ικανότητας του ενδοπλασματικού δικτύου να λειτουργεί σωστά. Το αποτέλεσμα είναι η ενεργοποίηση μιας άλλης προστατευτικής οδού, αυτή της απάντησης στη συσσώρευση ανώμαλα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών (unfolded protein response – UPR) η οποία έχει σχεδιαστεί για να αποκαταστήσει την ομαλή λειτουργία του ER αναστέλλοντας τη μετάφραση των πρωτεϊνών και προωθώντας την αποδόμησή τους, αλλά και να οδηγήσει το κύτταρο σε απόπτωση εάν το στρες επιμείνει. Η ενεργοποίηση της UPR οδού έχει αρκετές συνέπειες

στην κυτταρική συμπεριφορά, που δεν είναι πλήρως κατανοητές. Μια σχετική συνέπεια είναι η ενεργοποίηση των ενδοκυτταρικών αποπτωτικών οδών. Επιπλέον, η UPR διεγείρει την παραγωγή προϋνωτικών μεσολαβητών, όπως TGF-β1, PDGF, CXCL12 (C-X-C motif chemokine 12), CCL2 (chemokine C-C motif ligand 2) [142], [143]. Η απορρύθμιση του μεταβολικού ρυθμού των επιθηλιακών κυττάρων από ερεθίσματα που συνδέονται με τη δημιουργία ίνωσης, μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή παραγωγής της κυτταρικής ενέργειας, διαταράσσοντας τις οδούς που εξαρτώνται από τα μιτοχόνδρια, όπως η οξείδωση λιπαρών οξέων. Επιπλέον, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία σχετίζεται με την αποπόλωση της μιτοχονδριακής μεμβράνης και την παραγωγή mtROS. Η απώλεια πρωτεόστασης λόγω προϋνωτικών παραγόντων ή γενετικών παραλλαγών (π.χ. μεταλλάξεις των γονιδίων της επιφανειοδραστικής ουσίας) οδηγεί σε συσσώρευση όχι καλά αναδιπλωμένων ή κατεστραμμένων πρωτεϊνών, στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και ενεργοποίηση της UPR οδού (Εικόνα 1.1.4.1).

Η επιθηλιακή δυσλειτουργία αντιπροσωπεύει ένα πρωταρχικό συμβάν στην παθογένεση της ΙΠΠ, αν και κοινά στοιχεία κυτταρικής δυσλειτουργίας (αυτοφαγία, στρες ER και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία) μπορεί επίσης να εμφανιστούν και σε άλλους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ινοβλαστών, των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ανοσοκυττάρων [99].

1.5.5 Το ενδοθήλιο και ο καταρράκτης της πήξης

Το ενδοθήλιο και ο καταρράκτης πήξης διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΙΠΠ. Η βλάβη στην κυψελιδική δομή και η απώλεια των AECs, με διακοπή της συνέχειας της βασικής μεμβράνης, δεν αφήνει ανεπηρέαστα τα κυψελιδικά τριχοειδή

και οδηγεί σε αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα. Αυτή η πρόωμη φάση της διαδικασίας επούλωσης χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό θρόμβου. Κατά συνέπεια, θα πρέπει να σχηματιστούν νέα αγγεία και τα ενδοθηλιακά κύτταρα θα πρέπει να πολλαπλασιαστούν, συμπεριλαμβανομένων των ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων (Endothelial Progenitor Cells - EPCs) [144]. Η Μάλλη και οι συνεργάτες της έδειξαν ότι οι ασθενείς με ΙΠΠ παρουσιάζουν σημαντικά μειωμένο αριθμό EPCs, με σημαντικές συνέπειες όπως αποτυχία επανενδοθηλιοποίησης, κάτι που μπορεί να οδηγήσει σε δυσλειτουργική κυψελιδοτριχοειδική μεμβράνη, επάγοντας μια προ-ινωτική απάντηση και αντισταθμιστικά αυξημένα επίπεδα του ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (Vascular Endothelial Growth Factor – VEGF), που θα μπορούσαν κατά συνέπεια να διεγείρουν τη διαδικασία ίνωσης και τις ανωμαλίες της λειτουργίας των αγγείων, συμβάλλοντας στις καρδιοαναπνευστικές συνέπειες που είναι χαρακτηριστικές του προχωρημένου σταδίου της νόσου. Επιπλέον, τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να υποστούν μεσεγχυματική μετάβαση, με τις ίδιες συνέπειες του EMT [145]. Η ενδοθηλιακή και επιθηλιακή βλάβη οδηγεί στην ενεργοποίηση του καταρράκτη πήξης στις πρώιμες φάσεις της διαδικασίας επούλωσης. Οι πρωτεΐνες της πήξης έχουν διάφορες επιδράσεις στα κύτταρα που εμπλέκονται στην επούλωση. Η οδός που εξαρτάται από τον ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου είναι η πιο σημαντική στην παθογένεση της ΙΠΠ, οδηγώντας σε μια προπηκτική κατάσταση που ενισχύεται από τα αυξημένα επίπεδα αναστολέων ενεργοποίησης πλασμινογόνου (Plasminogen Activation Inhibitors – PAI) όπως PAI1 και PAI2, ενεργούς αναστολείς της ινωδολύσης και αναστολείς της πρωτεΐνης C. Το προπηκτικό αυτό περιβάλλον μειώνει την αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ECM, έχοντας ως αποτέλεσμα μια προϊνωτική επίδραση, και επάγει τη διαφοροποίηση

των ινοβλαστών σε μυοϊνοβλάστες μέσω υποδοχέων που ενεργοποιούνται από πρωτεΐνάσες [146], [147].

Ο όρος πρωτεόσταση περιλαμβάνει όλους εκείνους τους μηχανισμούς που υπεισέρχονται στη ρύθμιση της παραγωγής πρωτεϊνών, της διακίνησης, της συντήρησης και της αποδόμησής τους. Οποιαδήποτε ανωμαλία σε ένα ή και περισσότερα από αυτά τα βήματα μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης [148], [149], αλλά οι καλύτερα μελετημένες μεταβολές που σχετίζονται με την πρωτεόσταση στην ΙΠΠ προκαλούνται από το στρες του ενδοπλασματικού δικτύου και τη UPR. Το στρες του ER αναφέρεται σε ανισορροπίες στην ομοιόσταση των πρωτεϊνών που οδηγούν σε συσσώρευση πρωτεϊνών οι οποίες έχουν υποστεί μια ανώμαλη διαδικασία πτύχωσης, δηλαδή παρουσιάζουν διαταραχή στην τριτοταγή δομή τους. Υπό συνθήκες στρες του ER, ενεργοποιείται η UPR η οποία βοηθά στην πρωτεϊνική σύνθεση, την αναδίπλωση των πρωτεϊνών και την αποδόμησή τους. Εάν η UPR δεν είναι σε θέση να μετριάσει το στρες του ER ενεργοποιούνται οδοί απόπτωσης. Το στρες του ER και η UPR έχουν αναγνωριστεί ως μεσολαβητές της ίνωσης σε πολλές ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης της ΙΠΠ. Οι δείκτες για το στρες του ER και την UPR είναι αυξημένοι στα κύτταρα AEC2s των πνευμόνων με ΙΠΠ [150], [151], [152]. Τα AEC2s είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην ομοιόσταση των πρωτεϊνών λόγω της υψηλής παραγωγής επιφανειοδραστικού παράγοντα από αυτά. Η σημασία του στρες του ER στην ΙΠΠ εισήχθη για πρώτη φορά με την ανακάλυψη των μεταλλάξεων για τον επιφανειοδραστικό παράγοντα στην περίπτωση της οικογενούς πνευμονικής ίνωσης. Οι πιο κοινές μεταλλάξεις στην οικογενή πνευμονική ίνωση εντοπίζονται σε περιοχές του γονιδίου για τον επιφανειοδραστικό παράγοντα που είναι απαραίτητες για την αναδίπλωση και τη διακίνηση, οδηγώντας σε συσσώρευση πρωτεϊνών με παθολογική τριτοταγή δομή, στρες του ER και ενεργοποίηση της UPR

[153], [154]. Εκτός όμως από τις μεταλλάξεις στο γονίδιο του επιφανειοδραστικού παράγοντα, περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε στρες του ER. Όπως αναφέρθηκε και σε άλλο κεφάλαιο, οι ιογενείς λοιμώξεις, ειδικά οι ερπητοϊοί, έχουν συσχετιστεί με το στρες του ER και αρκετές μελέτες τους έχουν συσχετίσει με την ανάπτυξη ΙΠΠ [150]. Ο καπνός του τσιγάρου και η επαγγελματική έκθεση έχουν επίσης συνδεθεί με το στρες του ER [155]. Το στρες του ER είναι ένας εξέχων μηχανισμός που οδηγεί σε εξάντληση και απόπτωση των κυττάρων AEC2s, ένα παθολογικό χαρακτηριστικό των πνευμόνων με ΙΠΠ [151], [156], [157]. Η αυξημένη έκφραση δεικτών απόπτωσης στα AECs είναι εμφανής σε ινωτικές περιοχές [157]. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις που αφορούν στον επιφανειοδραστικό παράγοντα προκαλούν απόπτωση μέσω στρες του ER, ενώ οι μεταλλάξεις που σχετίζονται με το μέγεθος των τελομερών προκαλούν απόπτωση μέσω βλάβης του DNA [158]. Η σηματοδότηση από AECs που χαρακτηρίζονται από στρες του ER συμβάλλει στη διαφοροποίηση των ινοβλαστών σε μυοϊνοβλάστες, προωθώντας την ίνωση [159], [160].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ένα ακόμη μονοπάτι ενεργοποίησης της κυτταρικής γήρανσης είναι η μειωμένη ικανότητα για αυτοφαγία. Η αυτοφαγία συμβάλλει στην ομοιοστάση του κυττάρου μέσω της αντικατάστασης των μακρόβιων πρωτεϊνών και των δυσλειτουργικών οργανιδίων (π.χ μιτοχόνδρια) με την απομόνωσή τους σε αυτοφαγοσώματα και την επακόλουθη εξαρτώμενη από τα λυσοσώματα αποδόμησή τους. Η επαγωγίμη αυτοφαγία, ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των σηματοδοτικών μονοπατιών εναντίον της γήρανσης, δρα ως μηχανισμός επιβίωσης κατά τη διάρκεια του κυτταρικού στρες. Ο TGF- β αναστέλλει την αυτοφαγία μέσω ενεργοποίησης του συμπλόκου mTOR 1 (mTORC1), ενός αναστολέα της αυτοφαγίας [161]. Το mTORC1 ενεργοποιείται συνεχώς τόσο στα γηρασμένα κύτταρα όσο και στα κύτταρα ασθενών με ΙΠΠ, οδηγώντας σε

μειωμένη αυτοφαγία [162]. Η λειτουργική σημασία της παθολογικής αυτοφαγίας στην παθογένεια της ΙΠΠ παραμένει ασαφής, αλλά πιθανώς να σχετίζεται με τη διατήρηση κακής ποιότητας μιτοχονδρίων, μειωμένη κάθαρση των λιπιδίων, του κολλαγόνου και των παθογόνων, μεταξύ άλλων παραγόντων. Η αναστολή της αυτοφαγίας προάγει την επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάβαση μέσω αλληλεπίδρασης επιθηλιακών κυττάρων και ινοβλαστών [163]. Η μετάλλαξη που αφορά στην πρωτεΐνη C της επιφανειοδραστικής ουσίας οδηγεί σε όψιμη αναστολή της αυτοφαγίας και συσσώρευση p62 στα AEC2s. Η συσσώρευση του p62 έχει συσχετιστεί με ανώμαλη σηματοδότηση που ενδεχομένως συνδέεται με την ινογένεση [164].

1.5.6 Μεσεγχυματικά κύτταρα, Ινοβλάστες, Μυοϊνοβλάστες και Εξοκυττάρια Θεμέλια ουσία

Η συμβολή των μεσεγχυματικών κυττάρων, και ιδιαίτερα των ινοβλαστών και των μυοϊνοβλαστών είναι ζωτικής σημασίας στην παθογένεια της ΙΠΠ. Τα ενεργοποιημένα επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα δημιουργούν ένα ανώμαλο βιοχημικό περιβάλλον το οποίο επάγει τη στρατολόγηση και ενεργοποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων προκειμένου να διαφοροποιηθούν σε ινοβλάστες και να πολλαπλασιαστούν. Είναι ακόμα άγνωστο το αρχικό έναυσμα και η πηγή της στρατολόγησης των μεσεγχυματικών κυττάρων, αλλά η τρέχουσα βιβλιογραφία συμφωνεί να ορίσει τους ινοβλάστες και τους μυοϊνοβλάστες ως τα βασικά κύτταρα της παθογένειας της ΙΠΠ. Συγκεκριμένα, ο μεσεγχυματικός τύπος κυττάρου που εμπλέκεται είναι τα κυκλοφορούντα ινοκύτταρα, οι πνευμονικοί ινοβλάστες και οι μυοϊνοβλάστες [165].

Οι ινοβλάστες αποτελούν τα πιο συχνά απαντώμενα κύτταρα του συνδετικού ιστού. Στα κύτταρα αυτά παρατηρούνται δύο στάδια λειτουργικής δραστηριότητας, η έντονη

πρωτεϊνοσύνθεση (ενεργό κύτταρο) και η χαμηλή συνθετική δραστηριότητα (αδρανές κύτταρο σε φάση ηρεμίας). Συνήθως χρησιμοποιείται ο όρος ινοβλάστης για το ενεργό κύτταρο ενώ με τον όρο ινοκύτταρο αναφέρεται το κύτταρο σε στάδιο λειτουργικής ύφεσης. Τα ινοκύτταρα αποτελούν κυκλοφορούντα μεσεγχυματικά προγονικά κύτταρα, προερχόμενα από το μυελό των οστών, τα οποία στρατολογούνται από κατεστραμμένους ιστούς όταν έχει εξαντληθεί σημαντικά η δεξαμενή των τοπικών μεσεγχυματικών κυττάρων. Το ενεργοποιημένο επιθήλιο τα στρατολογεί εκθέτοντας τους δείκτες CXCL12, CCL2 και εκκρίνοντας TGF- β 1, έναν ισχυρό ενεργοποιητή των ινοκυττάρων που επάγει την παραγωγή α SMA. Στους πνεύμονες μετά από μικροτραυματισμούς υπό την επίδραση εξωγενών παραγόντων, τα ινοκύτταρα συμβάλλουν στην παθογένεια της ΙΠΙ μέσω της παραγωγής ECM και της διαφοροποίησής τους σε ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες και ενισχύοντας το προϊνωτικό περιβάλλον εκκρίνοντας κυτοκίνες οι οποίες προάγουν τη διαδικασία της ίνωσης. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι κατά τη διάρκεια οξείας παρόξυνσης της ΙΠΙ, το ποσοστό των κυκλοφορούντων ινοκυττάρων αυξάνεται και στη συνέχεια μειώνεται όταν τελειώνει η υπεροξεία φάση. Ως εκ τούτου, θα μπορούσαν να θεωρηθούν πολλά υποσχόμενοι βιοδείκτες, με προγνωστική αξία [166].

Κατά την ανάπτυξη της ΙΠΙ, οι ινοβλάστες εκτίθενται επίμονα σε προϊνωτικούς μεσολαβητές με αποτέλεσμα την παραγωγή ECM και τη διαφοροποίησή τους σε μυοϊνοβλάστες. Ο σημαντικότερος παράγοντας διέγερσης για αυτή τη διαφοροποίηση είναι ο TGF- β 1, αλλά και ο PDGF παίζει σημαντικό ρόλο.

Ένα άλλο βασικό κύτταρο, ο μυοϊνοβλάστης, αποτελεί έναν κεντρικό μεσολαβητή των ινωτικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της ΙΠΙ. Πρόκειται για ένα μεγάλο αστεροειδές κύτταρο με προσεκβολές εστιακής προσκόλλησης και ίνες στρες που αποτελούνται από α -ακτίνη των λείων μυϊκών ινών (α -smooth muscle actin - α SMA). Οι

μυοϊνοβλάστες των πνευμόνων προέρχονται κυρίως από μόνιμους ινοβλάστες των οποίων η περαιτέρω φαινοτυπική διαφοροποίηση οδηγείται από προϊνωτικούς μεσολαβητές, όπως ο TGF-β. Αυτά τα κύτταρα προάγουν την ίνωση και τη δυσκαμψία των ιστών μέσω της συσταλτικής λειτουργίας τους αλλά και της ικανότητάς τους να εκκρίνουν άφθονες ποσότητες διαφόρων πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας όπως είναι το κολλαγόνο, η ελαστίνη και η φιβρονεκτίνη [167], [168]. Οι μυοϊνοβλάστες συνθέτουν περισσότερη ECM από τους ινοβλάστες. Ωστόσο, η ECM που παράγεται από τους μυοϊνοβλάστες είναι κακώς οργανωμένη αλλά πολύ πυκνή. Οι μυοϊνοβλάστες έχουν συσταλτικές ιδιότητες λόγω της αSMA, παρόμοια με τα κύτταρα των λείων μυών. Η κύρια διαφορά μεταξύ αυτών των κυττάρων είναι η μη αναστρεψιμότητα της συστολής των μυοϊνοβλαστών, προκαλώντας μια χωρική αναδιοργάνωση των ινιδίων κολλαγόνου και οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο σε μια δύσκαμπτη ECM. Τα μηχανικά χαρακτηριστικά της εναποτιθέμενης ECM είναι ίσως ο πιο σημαντικός παράγοντας ρύθμισης της δραστηριότητας των μυοϊνοβλαστών: στην πραγματικότητα, όταν οι μυοϊνοβλάστες έρθουν σε επαφή με μια πιο σκληρή και δύσκαμπτη θεμέλιο ουσία, μέσω θετικής παλίνδρομης ρύθμισης, αυξάνεται και η σύνθεση θεμέλιας ουσίας από αυτούς. Αντιθέτως, η φυσιολογική μαλακής σύστασης ECM αναστέλλει την παραγωγή της από τους μυοϊνοβλάστες και οδηγεί σε μείωση του αριθμού τους. Αυτός είναι πιθανώς ο λόγος απουσίας μυοϊνοβλαστών σε φυσιολογικούς ιστούς [165], [169], [170].

Ένα επιπλέον σημαντικό χαρακτηριστικό γνώρισμα των μυοϊνοβλαστών στην ΙΠΙ και σε άλλες ινωτικές διαταραχές είναι η αντοχή τους στην απόπτωση, η οποία συμβάλλει στη συσσώρευσή τους στους εμπλεκόμενους ιστούς [171], [172]. Παραμένουν δηλαδή περισσότερο από τους ινοβλάστες σε κατεστραμμένο ιστό. Αυτή η επίμονη συσσώρευση μυοϊνοβλαστών έρχεται σε αντίθεση με την κάθαρση που αυτοί υφίστανται κατά τη

διάρκεια της φυσιολογικής επούλωσης πληγών, επιτρέποντας έτσι στον ινώδη ιστό να παραμένει και να εξελίσσεται [173]. Αν και οι μυοϊνοβλάστες θεωρούνταν ιστορικά ως τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα, η ικανότητά τους για αποδιαφοροποίηση, που ορίζεται ως η απώλεια ινών στρες αSMA, είναι πλέον καλά αναγνωρισμένη και είναι απαραίτητη για τη λύση της ίνωσης [174].

Σε τραυματισμό ιστού, ως απάντηση, οι ινοβλάστες μεταναστεύουν στο σημείο της βλάβης και διαφοροποιούνται σε μυοϊνοβλάστες. Στην ΙΠΙ, ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες του διάμεσου ιστού οργανώνονται σε περιοχές που είναι γνωστές ως ινοβλαστικές εστίες οι οποίες αποτελούν χαρακτηριστικό παθολογοανατομικό εύρημα του προτύπου της συνήθους διάμεσης πνευμονίας- UIP. Πρόκειται για μικρές ομάδες ενεργών ινοβλαστών και μυοϊνοβλαστών, πολύ κοντά στα υπερπλαστικά AEC2s. Η αυστηρή συσχέτιση μεταξύ των AEC2s και των μεσεγχυματικών κυττάρων μέσα στην ινοβλαστική εστία ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ τους και ευοδώνει τα μονοπάτια των TGF- β 1, PDGF, Wnt, ενισχύοντας το προϊνωτικό περιβάλλον και οδηγώντας σε μεγαλύτερο ρυθμό διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων προς ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες και υπερβολική παραγωγή θεμέλιας ουσίας, με ανισορροπία μεταξύ εναπόθεσης και αποδόμησης του κολλαγόνου [144]. Οι μυοϊνοβλάστες πιστεύεται ότι είναι υπεύθυνοι για τη σύνθεση των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ECM) μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από τον TGF- β [175]. Στη διαδικασία επούλωσης πληγών, οι μυοϊνοβλάστες υποβάλλονται σε απόπτωση και εμφανίζεται εκ νέου επιθηλιοποίηση [176], [8], [177]. Αντίθετα, η συσσώρευση μυοϊνοβλαστών και η μειωμένη επανεπιθηλιοποίηση είναι τα παθολογικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα της ινωτικής νόσου [178], [179], [180]. Η επίμονη ενεργοποίηση/συσσώρευση μυοϊνοβλαστών σε βεβλαμένους ιστούς και η αδυναμία τερματισμού των επανορθωτικών λειτουργιών του

ξενιστή, μπορεί να ευθύνονται για την προοδευτική φύση ινωτικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης και της ΙΠΙ [181], [182]. Συνεχώς αυξανόμενος αριθμός μελετών υποστηρίζει την ιδέα ότι η γήρανση μπορεί να προάγει την ινωτική διαδικασία αυξάνοντας την αντίσταση των μυοϊνοβλαστών στην απόπτωση, κάτι που συμβάλλει τελικά στη συσσώρευσή τους [183]. Αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι η στόχευση της αποδιαφοροποίησης των μυοϊνοβλαστών ή της αποπτωτικής κάθαρσης των γηρασμένων κυττάρων μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή από τις στρατηγικές που εμποδίζουν την ανάπτυξη ίνωσης [174].

1.5.7 Το Ανοσοποιητικό Σύστημα

Η ΙΠΙ περιγράφηκε αρχικά ως ασθένεια που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή [184]. Ωστόσο, μεταγενέστερες κλινικές δοκιμές ανοσοκατασταλτικών παραγόντων απέτυχαν να δείξουν όφελος και μάλιστα απέδειξαν χειρότερη έκβαση στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν ανοσοκατασταλτική θεραπεία [185]. Ωστόσο, τόσο η φυσική όσο και η επίκτητη ανοσία λαμβάνει μέρος στη διαδικασία επούλωσης τραυμάτων και κατ'επέκταση στη δημιουργία ινώδους ιστού [186]. Λαμβάνοντας υπόψιν από τη μία την ύπαρξη ινώδους ιστού στην ΙΠΙ και από την άλλη το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζει το ανοσοποιητικό σύστημα φυσιολογικά στη διαδικασία επούλωσης των τραυμάτων, υπάρχει ένα προ-ινωτικό φλεγμονώδες στάδιο στην ΙΠΙ.

Αν και η ακριβής αιτιολογία στην ΙΠΙ είναι άγνωστη και πιθανώς ποικίλη, υπάρχουν στοιχεία ότι τόσο η φυσική όσο και η επίκτητη ανοσία παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη της ίνωσης [187]. Η φυσική ανοσία αποτελεί την ταχεία άμυνα πρώτης γραμμής του ξενιστή έναντι των αντιγόνων, η οποία είναι ευρεία και μη ειδική. Συνήθως εκτελείται από μακροφάγα, ουδετερόφιλα, κύτταρα φυσικούς φονείς (Natural Killers - NK) και

δενδριτικά κύτταρα (Dendritic Cells - DCs). Η στρατολόγηση και η διαφοροποίηση των μονοκυττάρων καθορίζεται από το μικροπεριβάλλον, με τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα να έχουν τη δυνατότητα να γίνουν μακροφάγα του διάμεσου ιστού ή μακροφάγα αεραγωγών ή δενδριτικά κύτταρα [111], [188], [120], [121]. Ο αυξημένος αριθμός μονοκυττάρων έχει συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο προόδου της ΙΠΠ, νοσηλείας και θνησιμότητας [189]. Κατά την τελευταία δεκαετία έχει επίσης αναγνωριστεί ότι τα μακροφάγα παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΙΠΠ. Τα κύτταρα αυτά είναι γνωστά για τον κεντρικό τους ρόλο στην ανανέωση των ιστών και την ανοσία. Φυσιολογικά ο πνεύμονας περιέχει ξεχωριστούς πληθυσμούς μακροφάγων: αυτά που βρίσκονται στους αεραγωγούς και εκείνα που διαβιούν στο διάμεσο ιστό. Τα μακροφάγα του πνεύμονα έχουν την ικανότητα για αυτοανανέωση [190], [191]. Σε απάντηση στη φλεγμονή και τον τραυματισμό των ιστών, μια ομάδα μόνιμων μακροφάγων του πνεύμονα παραμένει, ενώ παράλληλα ένας πληθυσμός που προέρχεται από μονοκύτταρα στρατολογείται για να βοηθήσει στην επιδιόρθωση. Καθώς ο τραυματισμός υποχωρεί, αυτός ο πληθυσμός που προέρχεται από μονοκύτταρα συνήθως μειώνεται και υφίσταται απόπτωση [192]. Μελέτες σε επίμυες με πνευμονική ίνωση απέδειξαν την έκφραση προ-ινωτικών γονιδίων στην ομάδα των κυψελιδικών μακροφάγων που προέρχονταν από μονοκύτταρα. Η καταστροφή αυτής της ομάδας μακροφάγων είχε ως αποτέλεσμα την επιβράδυνση ανάπτυξης ίνωσης, αποδεικνύοντας εμμέσως το ρόλο τους στη νόσο [193], [194]. Επιπλέον, μελέτες scRNA-seq σε μοντέλα πνευμονικής ίνωσης προκαλούμενης από αμίαντο έδειξαν ότι τα κυψελιδικά μακροφάγα που προέρχονταν από μονοκύτταρα εξέφρασαν προ-ινωτικά γονίδια και εντοπίστηκαν σε περιοχές ίνωσης δίπλα σε ινοβλάστες και τραυματισμένα επιθηλιακά κύτταρα [195].

Κατά τη διαδικασία της επούλωσης πληγών, φυσιολογικά τα μακροφάγα απελευθερώνουν διάφορες κυτταροκίνες [π.χ. IL-1, IL-6, TNF- α , TGF- β , MMPs και τον αυξητικό παράγοντα 1 (insulin-like growth factor 1 - IGF-1)] που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό των επιθηλιακών κυττάρων, την ενεργοποίηση των ινοβλαστών, την αγγειογένεση και την εναπόθεση ECM για τη διευκόλυνση του σχηματισμού ουλώδους ιστού [186]. Τα μακροφάγα εμπλέκονται επίσης στον περιορισμό της ίνωσης εκκρίνοντας ιστικούς αναστολείς των MMPs [186]. Σε μελέτες διακρίνονται δύο βασικοί φαινότυποι μακροφάγων. Ο φαινότυπος M1 (κλασικά ενεργοποιημένα μακροφάγα) ενεργοποιείται από λιποπολυσακχαρίτες, TNF- α και ιντερφερόνη- γ (IFN- γ) και σχετίζεται με τη φλεγμονή. Με τη σειρά του, ο φαινότυπος M2 (εναλλακτικά ενεργοποιημένα μακροφάγα) ενεργοποιείται από την IL-4, την IL-10, τον παράγοντα διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor – GMCS) και την IL-13 και είναι γενικά προ-ινωτικός, αλλά εμπλέκεται και στη λύση της φλεγμονής [99], [80]. Τα μονοκύτταρα είναι ικανά να διαφοροποιούνται προς κάθε φαινότυπο με βάση το περιβάλλον των κυτταροκινών. Στο περιβάλλον προ-ινωτικών κυτταροκινών της ΙΠΙ συνήθως ευνοείται ο υποπληθυσμός των M2 μακροφάγων, τα οποία με τη σειρά τους εκκρίνουν παράγοντες που εμπλέκονται στην ΙΠΙ, όπως οι TGF- β , FGF, PDGF α , IGF-1 και VEGF και μπορούν να συμβάλουν άμεσα στη συσσώρευση της ECM [187]. Τα μακροφάγα M2 φαίνεται να παίζουν κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της ίνωσης [196] και θα μπορούσαν ακόμη και να εμπλέκονται σε οξείες παροξύνσεις της ΙΠΙ [197].

Αν και υπάρχουν στοιχεία που υποστηρίζουν την ύπαρξη των μακροφάγων μόνο στους φαινότυπους M1 και M2, πιο πρόσφατες εργασίες δείχνουν ότι τα μακροφάγα υπάρχουν κατά μήκος ενός φάσματος [198], [199]. Για παράδειγμα, σε ένα μοντέλο πρόκλησης ίνωσης μέσω μπλεομυκίνης, ένας υβριδικός υπότυπος κοκκιοκυττάρων/μονοκυττάρων,

αντί για ένα συγκεκριμένο μακροφάγο M1 ή M2, ήταν κρίσιμος για την ίνωση ΙΔΙΟ [199]. Τα μακροφάγα συμβάλλουν στην ίνωση διεγείροντας τους ινοβλάστες μέσω απελευθέρωσης διαλυτών παραγόντων [200], [201] και αναδιαμόρφωσης της ECM [202]. Στο BAL και τον ορό ασθενών με ΙΠΠ και οξεία παρόξυνση αυτής, υπερεκφράζεται η CCL18 (CC-Chemokine Ligand 18), μια χημειοκίνη που τυπικά σχετίζεται με τον φαινότυπο M2 των μακροφάγων. Η CCL18 διεγείρει τους ινοβλάστες σε κυτταρικές καλλιέργειες [126], [198], [197] και τα επίπεδα της σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση [203], [204]. Επίσης, η CCL18 στρατολογεί T λεμφοκύτταρα και διαιωνίζει ένα βρόχο θετικής ανάδρασης με τους ινοβλάστες προκειμένου να αυξηθεί η παραγωγή κολλαγόνου [205]. Τα μακροφάγα προάγουν επίσης την ίνωση μέσω της φαγοκυττάρωσης των αποπτωτικών κυττάρων, κάτι που ενεργοποιεί τον TGF-β. Κατά συνέπεια τα κυψελιδικά μακροφάγα μπορεί να αποτελούν έναν πιθανό θεραπευτικό στόχο στην ΙΠΠ [206].

Παράλληλα με τη φυσική ενεργοποιείται και η επίκτητη ανοσιακή απάντηση η οποία μεταξύ άλλων περιλαμβάνει τα T και B λεμφοκύτταρα (Εικόνα 1.5.7.1). T λεμφοκύτταρα έχουν αναγνωρισθεί σε περιοχές ενεργού νόσου και σε τριτογενή λεμφοειδή όργανα (tertiary lymphoid organs - TLOs) στους πνεύμονες και το BAL ασθενών με ΙΠΠ [207], [208], [209], [210]. Κατά την τελευταία δεκαετία, έχουν βρεθεί στοιχεία για την εμπλοκή αρκετών υποσυνόλων βοηθητικών T λεμφοκυττάρων στην παθογένεια της ΙΠΠ τα οποία μπορεί να είναι προστατευτικά, ενώ άλλα μπορεί να επιταχύνουν την εξέλιξη της νόσου [211]. Συγκεκριμένα, τα Th-1, Th-2 και Th-17 T-κύτταρα έχουν συνδεθεί με την παθογένεση της ΙΠΠ. Το υποσύνολο Th1 παράγει IL-1α, TNF-α, PDGF και TGF-β1, οδηγώντας σε προ-ινωτικό αποτέλεσμα, αλλά οι αποκρίσεις των Th2 και Th17 φαίνεται να είναι πιο σημαντικές στην παθογένεση της νόσου. Η χαρακτηριστική ιντερλευκίνη του υποσυνόλου Th2 είναι η IL-4. Αυτή η ιντερλευκίνη οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα IL-5, IL-

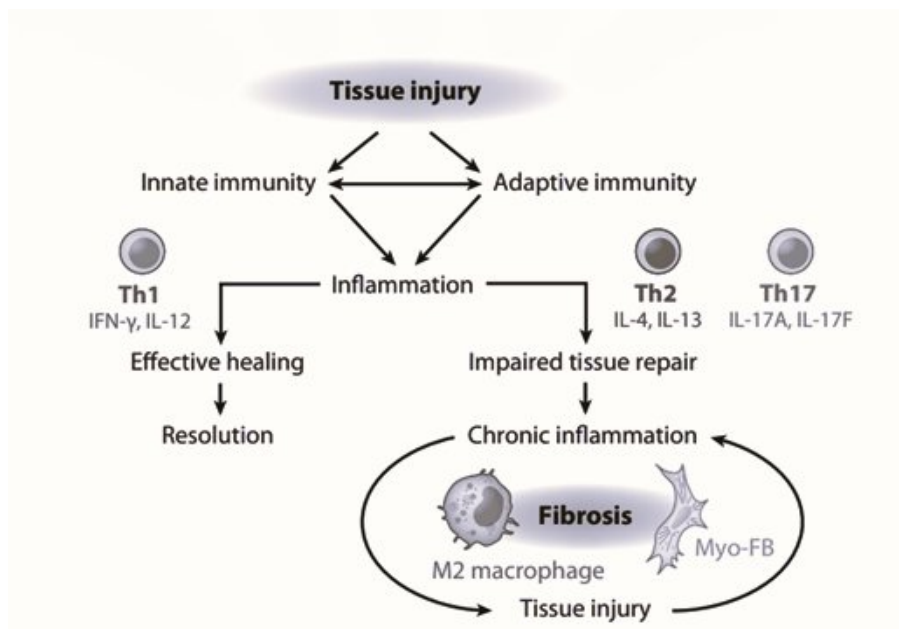
13 και TGF-β1, στρατολογώντας μακροφάγα, μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα και μεσεγχυματικά κύτταρα και εμπλέκεται άμεσα στην ενεργοποίηση των ινοβλαστών. Επιπλέον, οι ινοβλάστες που απομονώνονται από ασθενείς με ΙΠΙ παρουσιάζουν υπερ-ανταπόκριση στην IL-13. Αυτή η ιντερλευκίνη έχει θετική επίδραση στη δραστηριότητα των ινοβλαστών, ενισχύοντας την παραγωγή ECM. Το υποσύνολο Th17 προάγει έμμεσα την ίνωση, αυξάνοντας τα επίπεδα TGF-β1 ενώ παράλληλα ρυθμίζεται θετικά από τον TGF-β1 μέσω θετικής παλίνδρομης ρύθμισης [146]. Γενικά, οι κυτταροκίνες της Th2 οδού προάγουν την ίνωση, ενώ οι κυτταροκίνες της Th1 (π.χ. IFN-γ και IL-12) προάγουν τη φλεγμονή. Οι κυτταροκίνες της Th2 περιλαμβάνουν τις IL-4, IL-5, IL-9 και IL-13 και είναι σημαντικές για την ίνωση σε διάφορα στάδια της νόσου. Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα περισσότερα T λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στους πνεύμονες ασθενών με ΙΠΙ τείνουν προς τον άξονα Th2 [208]. Κατά συνέπεια, οι πρώτες μελέτες προσπάθησαν να περιορίσουν την ίνωση προωθώντας τη λιγότερο ινωτική απόκριση Th1. Η IL-12 μπορεί να αμβλύνει τις ινωτικές βλάβες που προκαλούνται από μπλεομυκίνη σε επίμυες διεγείροντας την IFN-γ [212]. Στην ΙΠΙ τα επίπεδα της IFN-γ είναι χαμηλά. Η IFN-γ φαίνεται να αναστέλλει την ινοβλαστική δραστηριότητα και να απενεργοποιεί την απόκριση Th2. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές για την IFN-γ απέτυχαν να δείξουν όφελος [213]. Τέλος, οι προ-ινωτικές χημειοκίνες από κύτταρα Th2 (δηλ. IL-13 και IL-4) προάγουν τη διαφοροποίηση προς μυοϊνοβλάστες [214]. Τόσο στο BAL όσο και στο περιφερικό αίμα των ασθενών με ΙΠΙ υπάρχει μειωμένος αριθμός CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ ρυθμιστικών T κυττάρων (regulatory T cells - Tregs) σε σύγκριση με υγιή άτομα και ασθενείς με άλλες πνευμονικές παθήσεις. Τα Tregs διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανοσολογική ανοχή και την πρόληψη της αυτοανοσίας. Η αριθμητική και λειτουργική τους ανεπάρκεια μπορεί να διαδραματίσει κεντρικό ρόλο στις αρχικές φάσεις της

παθογένειας της ΙΠΠ, όπως φαίνεται από τον Κοτσανίδη και τους συνεργάτες του [215].

Τα Β κύτταρα αντιπροσωπεύουν έναν άλλο βραχίονα της επίκτητης ανοσίας. Στην ΙΠΠ έχει βρεθεί αυξημένος αριθμός Β-κυττάρων στους πνεύμονες των ασθενών [207], [209]. Επιπλέον στοιχεία για τη συμμετοχή των Β κυττάρων προστέθηκαν με την ανεύρεση αυξημένων επιπέδων ενός διεγέρτη των Β λεμφοκυττάρων, γνωστού ως παράγοντα ενεργοποίησης Β-κυττάρων (B-cell-activating factor - BAFF), στους πνεύμονες και στο αίμα ασθενών με ΙΠΠ [216].

Τέλος, σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της ΙΠΠ, όσον αφορά στο ανοσοποιητικό σύστημα, διαδραματίζουν και τα φλεγμονοσώματα. Οι ουσίες που απελευθερώνονται από κατεστραμμένους ιστούς ή κύτταρα, γνωστές ως μόρια σχετιζόμενα με βλάβη (damage-associated molecular patterns - DAMPs), μπορούν να προκαλέσουν μια προ-ινωτική φλεγμονώδη αντίδραση. Στην ΙΠΠ, τα DAMPs μπορεί να απελευθερωθούν από αποπτωτικά ή τραυματισμένα AECs. Οι υποδοχείς Toll (Toll-like receptors – TLRs) δεσμεύουν τα DAMPs και ενεργοποιούν φλεγμονώδεις αποκρίσεις. Μεταλλάξεις τόσο στα γονίδια αυτών των υποδοχέων όσο και στους ρυθμιστές τους έχουν αναγνωριστεί σε μελέτες γονιδιώματος που αφορούν στην ΙΠΠ [85]. Ο TLR4 έχει βρεθεί ότι είναι σημαντικός για τη φυσιολογική επανόρθωση των AECs [123]. Αντίστοιχα, ένας πολυμορφισμός στον TLR3 που οδηγεί σε δυσλειτουργικό υποδοχέα, σχετίζεται με υψηλότερη θνητότητα και μείωση στην πνευμονική λειτουργία σε ασθενείς με ΙΠΠ [217]. Η φυσική ανοσία απαντά τόσο στα ενδογενή όσο και στα εξωγενή αντιγόνα ενεργοποιώντας τα φλεγμονοσώματα. Τα φλεγμονοσώματα αποτελούν κυτταροπλασματικά συμπλέγματα πρωτεϊνών που ανιχνεύουν εν δυνάμει παθογόνα μόρια και ενεργοποιούν μια ανοσιακή απάντηση ρυθμίζοντας την ωρίμανση και την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Τα φλεγμονοσώματα διαβιούν κυρίως στα μακροφάγα

αλλά και σε άλλα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, χωρίς ωστόσο να αποκλείεται και η ύπαρξή τους και σε κύτταρα εκτός του ανοσοποιητικού συστήματος [99]. Το πιο καλά μελετημένο φλεγμονόσωμα στην ίνωση είναι το NLRP3 εξαρτώμενο. Ακόμη και η πνευμονική ίνωση που προκαλείται από εξωγενείς ουσίες όπως η άσβεστος, η πυριτίαση και η μπλεομυκίνη σχετίζεται με την ενεργοποίηση φλεγμονοσωμάτων [218], [219]. Το NLRP3 φλεγμονόσωμα μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ίνωσης μέσω μονοπατιών που περιλαμβάνουν τον TGF-β1 και την EMT [220]. Το φλεγμονόσωμα NLRP3 εντοπίζεται τόσο στα κυψελιδικά μακροφάγα όσο και στα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα στην ΙΠΙ και συμβάλλει στη διαφοροποίηση των μυοϊνοβλαστών *in vitro* [219], [221]. Έχει βρεθεί ότι η ενεργοποίηση των φλεγμονοσωμάτων είναι παθολογική στα μακροφάγα του BAL ασθενών με ΙΠΙ [222]. Η πιρφενιδόνη, μία φαρμακευτική ουσία που χρησιμοποιείται στην ΙΠΙ, ανταγωνίζεται την ενεργοποίηση του NLRP3 [223], υποδεικνύοντας ότι το φλεγμονόσωμα μπορεί να χρησιμεύσει ως πιθανός φαρμακευτικός θεραπευτικός στόχος.



Εικόνα 1.5.7.1 Παθογένεια της ίνωσης: Οι τραυματισμοί των ιστών που προκαλούνται από λοίμωξη, ξένα σώματα, μηχανική καταπόνηση, αυτοάνοσες αντιδράσεις ή νεοπλασία

ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα και τους μηχανισμούς επιδιόρθωσης. Η αποτελεσματική επούλωση χαρακτηρίζεται συνήθως από μια κυρίαρχη απόκριση Th1, ενώ κυρίαρχη απόκριση Th2 και αύξηση των κυττάρων Th17 οδηγούν σε χρόνια φλεγμονή, η οποία μπορεί τελικά να οδηγήσει σε ίνωση (Τροποποιημένη εικόνα από [186])

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

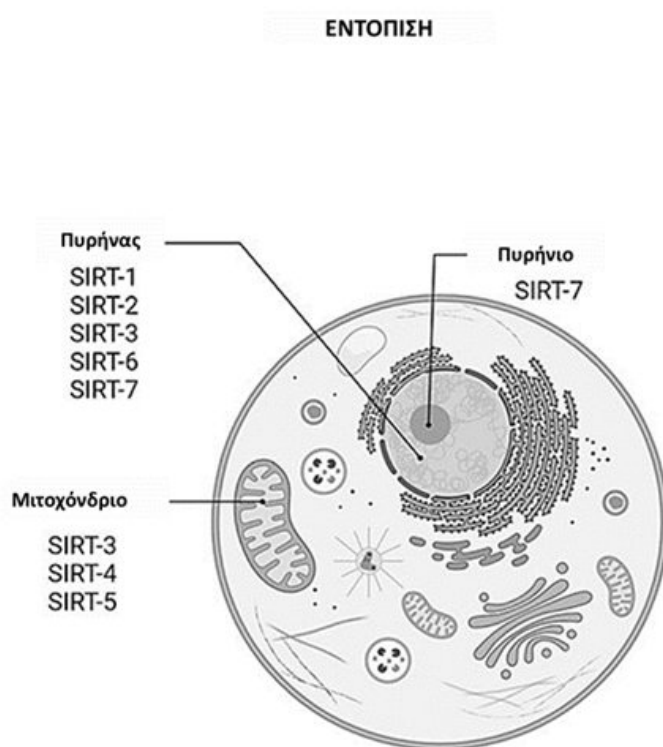
2.1 ΣΙΡΤΟΥΙΝΕΣ- SIRT_s

2.1.1 Ρόλος των SIRT_s γενικά

Έχει προταθεί ότι η ΙΠΠ μοιράζεται κοινούς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς με άλλες νόσους που σχετίζονται με την ηλικία, όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και ο καρκίνος [224]. Ολοένα και πιο πρόσφατα δεδομένα έχουν συνδέσει τη διαταραχή της έκφρασης και της δραστηριότητας της πρωτεΐνης sirtuin1 - SIRT1 (Silent Information Regulator Type - SIRT1) με διάφορες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία. Η SIRT1 είναι μέλος μιας οικογένειας πρωτεϊνών που αποτελείται από επτά μέλη, ανήκουν στις NAD⁺ εξαρτώμενες απακετυλάσες και έχουν διατηρηθεί κατά τη διαδικασία της εξέλιξης από τα ευβακτήρια, τα ευκαρυωτικά και τα θηλαστικά [12]. Λόγω της εξάρτησής τους από το νικοτιναμίδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (Nicotinamide Adenine Dinucleotide – NAD) ως κύριο υπόστρωμα, οι σιρτουίνες συνδέονται επίσης με την έννοια της κυτταρικής ενέργειας. Στην πραγματικότητα, η κυτταρική ενεργειακή κατάσταση που μεταφράζεται με τη μορφή NAD⁺, NADH και NAM (υδρόλυση τελικού προϊόντος NAD) ρυθμίζει τη δραστηριότητα των σιρτουινών. Η υψηλή αναλογία NAD⁺/NADH ενεργοποιεί τη δραστηριότητα της SIRT ενώ το υψηλό επίπεδο NAM καταστέλλει τη δραστηριότητά της

αντίστοιχα [225]. Οι σιρτουίνες αποτελούν σημαντικούς κυτταρικούς μεσολαβητές που εμπλέκονται σε ποικίλες κυτταρικές δραστηριότητες, όπως είναι η ανίχνευση της ενεργειακής επάρκειας του κυττάρου, η επιδιόρθωση του DNA, η ρύθμιση του μεταβολισμού και της μιτοχονδριακής δομής, η διατήρηση των τελομερών, η φλεγμονή, η διατήρηση της ομοιόστασης του συστήματος Redox και ο κυτταρικός θάνατος [226]. Λόγω του ρόλου τους στην κυτταρική μακροζωία μέσω διατήρησης των τελομερών και της επιδιόρθωσης του DNA, προσδίδονται στις σιρτουίνες αντιγηραντικές ιδιότητες [226], [227]. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, οι SIRTs μοιράζονται μια καταλυτική περιοχή δέσμευσης του (NAD)⁺ και μπορεί να δρουν ειδικά με τη σύνδεση διαφορετικών υποστρωμάτων ανάλογα με τις βιολογικές διεργασίες στις οποίες εμπλέκονται [228]. Η αλληλουχία και το μήκος των SIRTs διαφέρουν τόσο στις N- όσο και στις C-τερματικές περιοχές τους, εξηγώντας εν μέρει τη διαφορετική εντόπιση και τις λειτουργίες τους [228]. Έχουν κατηγοριοποιηθεί με βάση τις ενζυματικές δραστηριότητες και τη θέση τους ενδοκυτταρίως [12]. Με βάση κυρίως τη δραστηριότητα, αναγνωρίζονται 4 κατηγορίες σιρτουινών ως εξής [229]: Η κατηγορία I αποτελείται από τις NAD⁺-εξαρτώμενες ισχυρές απακετυλάσες SIRT1, SIRT2 και SIRT3 [230], η κατηγορία II απαρτίζεται από την ADP-ριβοσυλτρανσφεράση SIRT4, η κατηγορία III όπου ανήκει η απακετυλάση και εξαρτώμενη από NAD⁺ δεμαλονυλάση και δεσουκινυλάση SIRT5 [231] και τέλος οι ασθενέστερες αλλά με τη μεγαλύτερη ειδικότητα όσον αφορά στο ενζυμικό υπόστρωμα (σε σύγκριση με την ομάδα I) in vitro απακετυλάσες SIRT6 και SIRT7 που αποτελούν την κατηγορία IV. Η SIRT6 ασκεί επίσης δράση ADP-ριβοσυλτρανσφεράσης [232]. Με βάση την ενδοκυττάρια εντόπισή τους (Εικόνα 2.1.1.1), οι SIRT1, SIRT6 και SIRT7 βρίσκονται κυρίως στον πυρήνα [233]. Επιπλέον, η SIRT7 εντοπίζεται ειδικά στο πυρήνιο [232] ενώ η SIRT6 συναντάται ως σχετιζόμενη με τη χρωματίνη πρωτεΐνη [234]. Η SIRT1 έχει βρεθεί

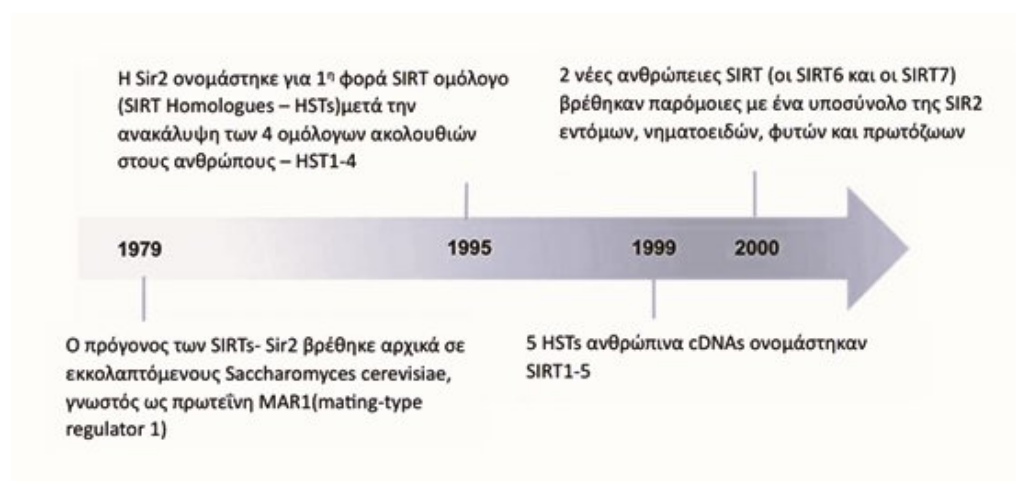
ότι ασκεί τη λειτουργία της κάποιες φορές και εντός του κυτταροπλάσματος, όπου αναφέρεται ότι σχετίζεται με την ογκογένεση, τη διαφοροποίηση και την κυτταρική απόπτωση [235]. Οι SIRT3, SIRT4 και SIRT5 βρίσκονται κατά κύριο λόγο στα μιτοχόνδρια ενώ η SIRT2 εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα, αν και μπορεί να μετακινηθεί επίσης στον πυρήνα κατά τη διάρκεια ορισμένων φάσεων του κυτταρικού κύκλου δρώντας ως ρυθμιστής της μίτωσης ως απάντηση στο στρες [236], [237]. Όπως καθίσταται σαφές, η εντόπιση και η ενδοκυτταρική μετακίνηση των SIRTs εξαρτώνται και από τον τύπο του κυττάρου αλλά και από τη φάση του κυτταρικού κύκλου [238]. Για παράδειγμα, η SIRT1 εντοπίζεται πρωτίστως στο κυτταρόπλασμα σε ορισμένες ομάδες νευρώνων, ενώ στα επενδυματικά κύτταρα μπορεί να εκφραστεί τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα [239]. Από την άλλη η SIRT2, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι κυτταροπλασματική κυρίως, ωστόσο μπορεί να βρεθεί και στον πυρήνα κατά τη μετάβαση από τη G2 στη φάση M του κυτταρικού κύκλου [240].



Εικόνα 2.1.1.1 *Ενδοκυττάρια εντόπιση των SIRTs* [Τροποποιημένη εικόνα από [131]]

Η ιστορία των SIRTs ξεκινά από το ιδρυτικό μέλος Sir2 πριν από σχεδόν 40 χρόνια, το οποίο ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στον εκκολαπτόμενο *Saccharomyces cerevisiae* και ήταν αρχικά γνωστό ως mating type regulator 1 protein [241] (Εικόνα 2.1.1.2). Στα τέλη της δεκαετίας του 1990, μια μελέτη επιβεβαίωσε ότι η Sir2 παρέτεινε τη διάρκεια ζωής της ζύμης εμποδίζοντας την αστάθεια του γονιδιώματος. Η απώλεια της Sir2 μείωσε σημαντικά τη διάρκεια ζωής της ζύμης, ενώ ένα επιπλέον αντίγραφο της Sir2 την παρέτεινε κατά περίπου 40% [242]. Καθώς ομόλογα γονίδια της Sir2 έχουν διαδοχικά απομονωθεί σε βακτήρια, φυτά και θηλαστικά, οι αντίστοιχες πρωτεΐνες σε όλα τα είδη αναφέρονται συλλογικά ως SIRTs [243], [244]. Επί του παρόντος, έχουν ταυτοποιηθεί επτά ομόλογα Sir2 που ονομάζονται SIRT1 έως SIRT7, τα οποία είναι γνωστά ως ένζυμα εξαρτώμενα από NAD⁺ [245], [246], [247]. Όσον αφορά στη μοριακή τους δομή, οι SIRTs1-7 μοιράζονται γενικά έναν χημικώς και δομικώς διατηρημένο πυρήνα κατάλυσης των ενζυματικών αντιδράσεων και μπορεί να υπάρχουν λεπτές διαφορές στην υποδομή της ενεργού θέσης [248]. Συγκεκριμένα, ο καταλυτικός πυρήνας περιλαμβάνει δύο δίλοβες σφαιρικές περιοχές που αποτελούνται από περίπου 275 υπολείμματα αμινοξέων που χαρακτηρίζονται από την αναγκαιότητα για NAD ως συμπράγοντα. Τα διαφορετικά N και C τελικά άκρα των SIRTs ποικίλλουν σε μήκος, χημική σύνθεση, ευαισθησία σε μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις (όπως η φωσφορυλίωση) και καθιστούν ικανά τα πρωτεϊνικά τους μόρια να συνδέουν διαφορετικά υποστρώματα [228], [249], [250]. Η ρύθμιση της καταλυτικής δραστηριότητας των SIRTs περιλαμβάνει πολλαπλά στάδια: α) τη δέσμευση υποστρωμάτων NAD⁺ και ακετυλολυσίνης, β) τη διάσπαση του γλυκοζιτικού δεσμού, γ) τη μεταφορά ακετυλίου και δ) το σχηματισμό O-ακετυλο-ADPR,

νικοτιναμιδίου και απακετυλιωμένων προϊόντων λυσίνης [251]. Πολυάριθμες πρωτεΐνες-στόχοι, συμπεριλαμβανομένων των ιστονών και των μη ιστονών έχει αποδειχθεί ότι τροποποιούνται από τις SIRTs και συμμετέχουν στη ρύθμιση πολλαπλών θεμελιωδών κυτταρικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένου του μεταβολισμού της γλυκόζης και των λιπιδίων, της μιτοχονδριακής βιογένεσης, της επιδιόρθωσης του DNA, του οξειδωτικού στρες, της απόπτωσης και της φλεγμονής [252]. Ως εκ τούτου, οι SIRTs αναγνωρίζονται πλέον ως σημαντικός ρυθμιστής της κυτταρικής φυσιολογίας και φαίνεται ότι παίζουν σπουδαίο ρόλο στη φλεγμονή, στο μεταβολισμό, στο οξειδωτικό stress, στην απόπτωση, στην αυτοφαγία, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στην κυτταρική μετανάστευση. Έτσι, θεωρείται πιθανός θεραπευτικός στόχος για διάφορες νόσους, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων, των αναπνευστικών παθήσεων και άλλων καταστάσεων, ενώ παράλληλα γίνονται προσπάθειες για την ανακάλυψη νέων μικρών μορίων, τα οποία μπορούν να τροποποιήσουν τη δραστηριότητα των SIRTs (διεγερτών και αναστολέων)[251].



Εικόνα 2.1.1.2 Το ιστορικό χρονοδιάγραμμα για τα ορόσημα στα μέλη της οικογένειας SIRTs

[Εικόνα τροποποιημένη από [251]]

Η παθολογική δραστικότητα των SIRTs, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, έχει συσχετιστεί με ποικίλες νόσους, συμπεριλαμβανομένων των νευροεκφυλιστικών παθήσεων, της παχυσαρκίας, του σακχαρώδη διαβήτη, του καρκίνου, των καρδιαγγειακών παθήσεων, της ίνωσης και των εκφυλιστικών διαταραχών που σχετίζονται με τη γήρανση [12], [253], [250], [254]. Ειδικά, οι SIRT2, SIRT6 και SIRT7 φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο στη φλεγμονή και το κυτταρικό stress [255], [256]. Παράλληλα, υπάρχει πλούσια βιβλιογραφία που υποστηρίζει την προστατευτική δράση που ασκούν κάποιες από τις σιρτουίνες έναντι ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, όπως ο καρκίνος, ο σακχαρώδης διαβήτης καθώς και η καρδιακή και ηπατική ίνωση [257], [258], [259]. Διαδραματίζουν επίσης ενεργό ρόλο στην αποκατάσταση των ιστών μετά από τραυματισμό[260].

Οι SIRTs έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας τα τελευταία χρόνια λόγω των σημαντικών επιπτώσεών τους στις αναπνευστικές παθήσεις [261]. Μέχρι σήμερα, έχουν διεξαχθεί ερευνητικές μελέτες προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος των SIRTs σε διάφορες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που αφορούν την καρδιακή και ηπατική ίνωση αφενός και αναπνευστικές διαταραχές αφετέρου όπως η ΧΑΠ, το άσθμα, η COVID19, η πνευμονική ίνωση αλλά και η πνευμονική βλάβη από αναπνευστήρα ή παρακουάτ [251]. Το οξειδωτικό στρες, η φλεγμονή και η απόπτωση είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση της ΧΑΠ και σχετίζονται στενά με την οικογένεια των SIRTs [262], [263]. Το κάπνισμα όπως είναι γνωστό αποτελεί αιτιολογικό παράγοντα για τη ΧΑΠ. Το επίπεδο της SIRT1 μειώνεται σημαντικά στους πνεύμονες ασθενών με ΧΑΠ/εμφύσημα, καθώς και στους πνεύμονες επίμυων που εκτίθενται στον καπνό του τσιγάρου [264]. Επιπλέον, η SIRT1 έχει βρεθεί

ότι έχει αντιφλεγμονώδεις, αντιαποπτωτικούς και αντιοξειδωτικούς ρόλους στην παθογένεση της ΧΑΠ [265]. Για παράδειγμα, η SIRT1 διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση των εξαρτώμενων από NF-κΒ προφλεγμονωδών μεσολαβητών στους πνεύμονες καπνιστών και ασθενών με ΧΑΠ. Οι Chun et al εξέτασαν το ρόλο των σιρτουινών στη ΧΑΠ, γεγονός που έστρεψε την προσοχή στη σχέση αυτών των πρωτεϊνών που πιθανώς αναστέλλουν τη γήρανση και με άλλες πνευμονικές παθήσεις [261]. Υπάρχουν αναφορές από το 2011 ότι η SIRT1 λειτουργεί ως ρυθμιστής όχι μόνο κατά της γήρανσης και των διαταραχών που σχετίζονται με την ηλικία, αλλά συμβάλλει επίσης στη βελτίωση της ανθρώπινης υγείας και της διάρκειας ζωής [266]. Η SIRT6 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της αυτοφαγίας στη ΧΑΠ αντίστοιχα [261]. Για παράδειγμα, το μειωμένο επίπεδο έκφρασης της SIRT6 σχετίζεται με την ανάπτυξη της ΧΑΠ μέσω επιτάχυνσης της κυτταρικής γήρανσης λόγω ανεπαρκούς αυτοφαγίας κατά τη διάρκεια της έκθεσης στον καπνό του τσιγάρου [267]. Η υπερέκφραση της SIRT6 αποδυναμώνει το μηχανισμό της αυτοφαγίας μέσω της σηματοδότησης IGF–Akt–mTOR [267]. Παρόμοια με τη SIRT1, το μειωμένο επίπεδο SIRT6 εμπλέκεται επίσης στη ΧΑΠ [268]. Επομένως, η ανεπάρκεια της SIRT6 μπορεί να συμβάλλει στην ανάπτυξη της ΧΑΠ. Η SIRT3 είναι μια απακετυλάση που ρυθμίζει τη μιτοχονδριακή λειτουργία και ο ρόλος της στην παθογένεση της ΧΑΠ έχει επίσης αναφερθεί. Για παράδειγμα, η SIRT3 αναστέλλει το οξειδωτικό στρες των μιτοχονδρίων των επιθηλιακών κυττάρων των αεραγωγών, συμβάλλοντας έτσι στην επιβράδυνση της εξέλιξης της ΧΑΠ [269]. Με την κατανόηση των θετικών ρόλων των SIRT1, SIRT3 και SIRT6 στη ΧΑΠ, η φαρμακολογική ενεργοποίησή τους από συγκεκριμένους παράγοντες μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική κατά της ΧΑΠ. Επιπλέον, η ΧΑΠ θεωρείται συνήθως ότι μοιράζεται κοινά στοιχεία με άλλες χρόνιες νόσους, ειδικά εκείνες στην παθογένεια των οποίων εμπλέκεται η επιτάχυνση της

γήρανσης. Ως εκ τούτου, η καταστολή αντιγηραντικών μορίων, όπως οι SIRT6, έχει προταθεί ως μηχανισμός για την επιτάχυνση της γήρανσης των πνευμόνων στη ΧΑΠ [270].

Εκτός από την προστατευτική δράση των SIRT1, SIRT3 και SIRT6 στη ΧΑΠ, αυτά τα τρία μέλη της οικογένειας των SIRT6 ασκούν θετική επίδραση και στο άσθμα [251]. Φαίνεται ότι η στόχευση της SIRT1 είναι μια δυνητικά αποτελεσματική νέα στρατηγική για τη θεραπεία του άσθματος [271], [272]. Για παράδειγμα, τα επίπεδα της SIRT1 μειώνονται σε ασθενείς με σοβαρό άσθμα [273]. Η SIRT1 ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση στα νοσήματα των αεραγωγών, συμπεριλαμβανομένου του άσθματος. Η SIRT1 φαίνεται ότι ρυθμίζει το επίπεδο της IL-6 μέσω της οδού Akt, επηρεάζοντας έτσι την πνευμονική λειτουργία σε ασθενείς με άσθμα [274], [275]. Όσον αφορά στη SIRT3, η αύξηση της έκφρασής της μειώνει την απόπτωση του βρογχικού επιθηλίου και τη φλεγμονή των αεραγωγών στο άσθμα [276]. Η αύξηση της έκφρασης της SIRT6 βοηθά την αναδιαμόρφωση των αεραγωγών μέσω της ρύθμισης (καταστολής) της EMT στο άσθμα [277]. Αντίθετα, η υπερέκφραση της SIRT7 προάγει την αναδιαμόρφωση των αεραγωγών στο άσθμα ρυθμίζοντας τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών κυττάρων των αεραγωγών που προκαλούνται από TGF-β1, υποδεικνύοντας έναν διαφορετικό ρόλο από τη SIRT6 κατά την αναδιαμόρφωση των αεραγωγών [278]. Όπως η SIRT7 έτσι και η SIRT2 φαίνεται ότι μπορεί να επιτείνει την εμφάνιση άσθματος. Η SIRT2 ενισχύει την αλλεργική φλεγμονώδη αντίδραση στο άσθμα και η υπερέκφρασή της προάγει τον αλλεργικό ασθματικό φαινότυπο [279]. Επιπλέον, η SIRT2 επιδεινώνει τη φλεγμονή στο άσθμα ευοδώνοντας τις Th2 αποκρίσεις των T-βοηθητικών κυττάρων και την πόλωση των μακροφάγων [280].

Το Δεκέμβριο του 2019 αναγνωρίστηκε ένα νέο στέλεχος κορονοϊού, ο SARS-CoV2 και προκάλεσε την πανδημία της COVID19 [281]. Μια απορρυθμισμένη φλεγμονώδης απάντηση παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της COVID-19 [282]. Έχει αναφερθεί ότι η οικογένεια των SIRTs παίζει ρόλο σε αυτόν τον μηχανισμό. Ο μη ισορροπημένος άξονας p53/SIRT1 μπορεί να επηρεάσει την ομοιόσταση των λεμφοκυττάρων σε ασθενείς με COVID-19 [282]. Η COVID-19 μπορεί να χαρακτηριστεί όχι μόνο από αύξηση της μεταγραφής της p53 στα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα, αλλά και από μια επίμονα ενεργοποιημένη μορφή p53, πιθανώς λόγω του χαμηλού επιπέδου της SIRT1 [282]. Επιπλέον, τα επίπεδα της SIRT3 του ορού φαίνεται να σχετίζονται με την κλινική έκβαση και την πρόγνωση των ασθενών με COVID-19 [283]. Τα επίπεδα της SIRT3 είναι σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς με σοβαρή μορφή της COVID19 σε σύγκριση με εκείνους με ήπια/μέτρια νόσο, υποδεικνύοντας θετικό ρόλο της SIRT3 στην έκβαση της COVID-19. Ωστόσο, οι SIRTs φαίνεται να συμμετέχουν και στην επίταση ή την υποχώρηση της οξείας πνευμονικής βλάβης (Acute Lung Injury – ALI) που οφείλεται σε ARDS αλλά και στον αναπνευστήρα ή το παρακούατ. Ειδικότερα, οι SIRT3 και SIRT6 συμβάλλουν στην ύφεση της πνευμονικής βλάβης, ενώ η SIRT1 παίζει διττό ρόλο. Η SIRT3 μειώνει την ένταση της φλεγμονώδους απάντησης και μετριάξει την προκαλούμενη από ενδοτοξίνη ALI [284]. Ομοίως, η SIRT6 ρυθμίζει την πόλωση των μακροφάγων προκειμένου να μετριάσει το ARDS που προκαλείται από σήψη μέσω διπλού μηχανισμού, εξαρτώμενου και μη εξαρτώμενου από την αυτοφαγία [285]. Από την άλλη μεριά, η SIRT1 έχει αναφερθεί ευρέως ότι ασκεί την αντιφλεγμονώδη λειτουργία της ρυθμίζοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών [286], [287]. Η ρεσβερατρόλη η οποία είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής της SIRT1 φαίνεται να μετριάξει την ALI σε ένα μοντέλο σήψης στους επίμυς [286]. Αντίθετα, ο αναστολέας της SIRT1 EX-527

καταστέλλει την ενεργοποίηση του mTOR και περιορίζει την ALI σε επίμυς με ενδοτοξιναιμία [288]. Αυτό το εύρημα υποδηλώνει ότι η SIRT1 μπορεί να είναι ένας επιζήμιος παράγοντας υπό ορισμένες παθολογικές καταστάσεις. Επιπλέον, η ενεργοποίηση της SIRT1 μπορεί να ανακουφίσει αποτελεσματικά την πνευμονική βλάβη που προκαλείται από τον αναπνευστήρα ή το paraquat [289].

Οι SIRTs όπως φαίνεται εμπλέκονται στην παθογένεια της ίνωσης σε διάφορα όργανα. Ενώ οι SIRT1, SIRT3, SIRT6 και SIRT7 είναι γνωστό ότι παίζουν προστατευτικό ρόλο έναντι της ανάπτυξης και της εξέλιξης της πνευμονικής ίνωσης [12], [290], οι ρυθμιστικές λειτουργίες άλλων SIRTs δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί. Σχεδόν όλες οι κύριες οδοί σηματοδότησης που ενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια της ίνωσης επηρεάζονται από τη δραστηριότητα των SIRTs, συμπεριλαμβανομένης αυτής του πυρηνικού παράγοντα-κΒ (nuclear factor-κΒ - NF-κΒ), του IGF)/AKT, της WNT/β-κατενίνης, του (transforming growth factor TGF)-β/(Mothers against decapentaplegic homolog 3 - Smad3), του FOXO (Forkhead box O - FOXO) και του p53 [291], [292], [293], [290]. Η SIRT1 αφαιρεί τις ακετυλομάδες από πολλαπλές θέσεις της πρωτεΐνης p53 [294], μειώνοντας τη δραστηριότητά της και εμποδίζοντας τα κύτταρα να εισέλθουν σε φάση γήρανσης που προκαλείται από ογκογονίδια ή στρες. Επιπλέον, ως απακετυλάσες των ιστονών, οι SIRTs έχουν θεωρηθεί, μέσω επιγενετικών μηχανισμών, βασικοί μεσολαβητές των μονοπατιών που οδηγούν σε ίνωση, συμπεριλαμβανομένης της επιθηλιακής- μεσεγχυματικής μετάβασης EMT αλλά και του πολλαπλασιασμού και της παραμονής των ινοβλαστών [295].

2.1.2 SIRTs και Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση- Πιθανοί Μοριακοί Μηχανισμοί

Η ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης είναι το αποτέλεσμα της πολύπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Σε αυτό το σενάριο, οι SIRTs μπορεί να εμπλέκονται ως πιθανοί βασικοί παράγοντες στην ανάπτυξη ίνωσης (Εικόνα 2.1.2.1). Ειδικότερα, ο TGF-β1 κατά τη σύνδεση με τους αντίστοιχους υποδοχείς του στην κυτταρική επιφάνεια, ενεργοποιεί πολυάριθμες οδούς, με το σηματοδοτικό μονοπάτι του Smad να αναδύεται ως εξέχων ρυθμιστής της μεταγραφής ινογόνων παραγόντων. Παράλληλα, η ενεργοποίηση του μονοπατιού του NF-κΒ προάγει την έκφραση προφλεγμονωδών γονιδίων, ενώ οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται ενδοκυτταρίως και στα μιτοχόνδρια λόγω φλεγμονής προκαλούν σημαντική βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA). Τέσσερις από τις επτά SIRTs (SIRT1, SIRT3, SIRT6 και SIRT7) έχουν διερευνηθεί στην πνευμονική ίνωση, ενώ οι λειτουργικοί ρόλοι των υπόλοιπων SIRTs (SIRT2, SIRT4 και SIRT5) παραμένουν όχι καλά διευκρινισμένοι.

Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί πολλές μελέτες με πιθανές οδούς με τις οποίες η SIRT1 (μία από τις πιο καλά μελετημένες σιρτουίνες) ασκεί προστατευτικό ρόλο κατά της πνευμονικής ίνωσης. Μια *in vivo* μελέτη απέδειξε ότι ένας ενεργοποιητής της SIRT1 παίζει ανασταλτικό ρόλο στην πρόκληση πνευμονικής ίνωσης από BLM σε επίμυς αναστέλλοντας τη μετατροπή των επιθηλιακών κυψελιδικών κυττάρων σε μεσεγχυματικά κύτταρα. Αυτή η μελέτη επιβεβαίωσε τον ανασταλτικό ρόλο της ρεσβερατρόλης στην πνευμονική ίνωση που προκαλείται από BLM σε μοντέλο επίμυος μέσω πιθανώς της ενεργοποίησης της SIRT1 στους πνεύμονες των επίμυων [13]. Μια άλλη μελέτη το 2017 απέδειξε την αύξηση της έκφρασης της SIRT1 στους πνεύμονες επίμυων με επαγόμενη από τη μπλεομυκίνη πνευμονική ίνωση, καθώς και στους πνεύμονες ασθενών με ΙΠΠ. Ένας πιθανός μηχανισμός για το ρόλο της SIRT1 στην πνευμονική ίνωση ήταν μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του p300 [296]. Τέλος, έχουν δημοσιευτεί μελέτες για τον

προστατευτικό ρόλο που ασκεί η SIRT1 έναντι της πνευμονικής ίνωσης στους ασθενείς με συστηματική σκλήρυνση. Μεταξύ των διαφόρων συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων, η συστηματική σκλήρυνση (Systemic Sclerosis - SSc), η μικτή νόσος του συνδετικού ιστού (Mixed Connective Tissue Disease - MCTD) και οι φλεγμονώδεις ιδιοπαθείς μυοπάθειες συνοδεύονται συνήθως και από την ανάπτυξη διάμεσης πνευμονοπάθειας που αποτελεί συχνά την κύρια αιτία θανάτου σε αυτούς τους ασθενείς [297] ενώ η πνευμονική συμμετοχή είναι λιγότερο συχνή σε άλλες νόσους του συνδετικού ιστού όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Rheumatoid Arthritis - RA), το σύνδρομο Sjögren (Sjogren Syndrome - SS) και ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (Systemic Lupus Erythematosus - SLE) [298]. Συγκεκριμένα, καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι παρατηρείται χαμηλή έκφραση της SIRT1 στα PBMCs αυτών των ασθενών και ότι η ενεργοποίηση της SIRT1 αναστέλλει την ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης αναστέλλοντας τα μονοπάτια της προφλεγμονώδους και προϊνωτικής σηματοδότησης. Οι παραπάνω δράσεις της SIRT1 απαιτούν το ρόλο της ως απακετυλάσης προκειμένου να ανασταλεί το φλεγμονώδες μονοπάτι NF-κB και η δραστηριότητα της οδού mTOR [299].

Η SIRT1 παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της ανανέωσης των προγονικών κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων τύπου 2 και κατ' επέκταση στη ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης [300]. Μηχανιστικά, η ενεργοποίηση της SIRT1 προάγει την ανανέωση και διαφοροποίηση των AEC2s σε πνευμονικούς ιστούς ασθενών με ΙΠΙ και ηλικιωμένων ποντικών [300]. Η SIRT1 μεσολαβεί αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του NF-κB και την επακόλουθη μεταγραφική δραστηριότητα μέσω της αναστολής της p300. Επιπλέον, η SIRT1 ενισχύει την κυτταρική αναλογία $NAD^+ / NADH$, προωθώντας τη μεταγραφή της SIRT3 μέσω PGC-1α.

Για τη SIRT3 έχει βρεθεί ότι η ανεπάρκειά της στους πνεύμονες ηλικιωμένων ποντικών ευνοεί τη μεσολαβούμενη από τον TGF-β1 ανάπτυξη ίνωσης [301]. Επιπλέον, η ανεπάρκεια της SIRT3 προάγει την πνευμονική ίνωση αυξάνοντας τη βλάβη του μιτοχονδριακού DNA και την απόπτωση των κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων [302]. Οι Cheresch et al. έχουν προτείνει ότι η υπερέκφραση της SIRT3 μπορεί να μετριάσει την πνευμονική ίνωση που προκαλείται από τον αμίαντο [303]. Η SIRT3 προστατεύει το mtDNA από βλάβες απακετυλιώνοντας το OGG1 και σταθεροποιώντας το με αυτόν τον τρόπο. Επιπλέον, η SIRT3 διατηρεί τη λειτουργία της ισοκιτρικής αφυδρογονάσης 2 (IDH2), της μιτοχονδριακής ακονιδάσης (ACO2) και της δισμουτάσης υπεροξειδίου του μαγγανίου (MnSOD), ενζύμων που μετριάζουν την πρόοδο της πνευμονικής ίνωσης. Οι επίμυες χωρίς SIRT3 έχουν αυξημένη ινωτική απόκριση στη μπλεομυκίνη [304]. Τα εξωκυτταρικά κυστίδια που απελευθερώνονται από ινοβλάστες που περιέχουν συγκεκριμένα miRNAs καταστέλλουν την έκφραση του γονιδίου της SIRT3, οδηγώντας σε αυξημένη παραγωγή mtROS και τελικά σε κυτταρική γήρανση [305].

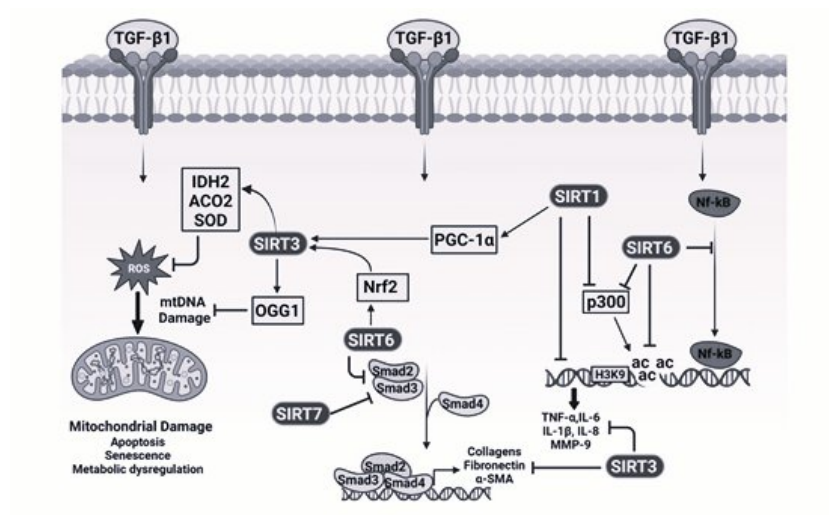
Είναι πιθανό ότι η SIRT6 συμμετέχει στην αναστολή της κυτταρικής ίνωσης ρυθμίζοντας την οδό σηματοδότησης του TGF-β1. Η SIRT6 μπορεί επίσης να είναι ένα φιλόδοξο μόριο-στόχος για την κατανόηση της παθογένειας της ΙΠΙ μέσω του ανασταλτικού της ρόλου στην κυτταρική γήρανση που προκαλείται από τον TGF-β [306]. Επιπλέον, οι Chen et al. έχουν δείξει ότι η στόχευση της SIRT6 είναι μια πιθανή νέα θεραπευτική στρατηγική για την πνευμονική ίνωση που περιλαμβάνει την αδρανοποίηση της οδού σηματοδότησης TGF-β1/Smad2 [307]. Συγκεκριμένα, εμποδίζει τη φωσφορυλίωση του Smad και το αντίστοιχο σηματοδοτικό μονοπάτι, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο το ρυθμό έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με την ίνωση. Επίσης, η SIRT6 διευκολύνει τη μεταγραφή του γονιδίου της SIRT3 μέσω της οδού που εξαρτάται

από το Nrf2 και αναστέλλει τη μεταγραφή προϋνωτικών γονιδίων μέσω της απακετυλίωσης της ιστόνης 3 της λυσίνης 9 (H3K9) [293]. Επιπλέον, η SIRT6 αποτρέπει τη διαφοροποίηση των πνευμονικών μυοϊνοβλαστών που επάγεται από τον TGF-β1 αναστέλλοντας τις οδούς σηματοδότησης TGF-β1/Smad2 και NF-κΒ [308]. Η SIRT6 αναστέλλει επίσης την EMT κατά τη ανάπτυξη της ΠΠ απενεργοποιώντας τη σηματοδότηση TGF-β1/Smad3 [290], αναδεικνύοντας τον κρίσιμο ρόλο της SIRT6 στην πνευμονική ίνωση.

Επιπλέον, όλες οι SIRTs παρουσιάζουν τάση να εκφράζονται σε χαμηλότερα επίπεδα στους ινοβλάστες από τους ασθενείς σε σύγκριση με τους υγιείς, αλλά η μεγαλύτερη μείωση παρατηρείται με την SIRT7 [309]. Επιπλέον, η μείωση της SIRT7 στην πνευμονική ίνωση έχει προϋνωτική δράση, η οποία διαμεσολαβείται από αλλαγές στα επίπεδα του Smad3 [309]. Συγκεκριμένα, η SIRT7 περιορίζει την έκφραση του Smad3 και την παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας [131].

Συνολικά, αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η ανεπάρκεια των SIRTs συμβάλλει στην οξειδωτική και μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που εμπλέκεται στην ινογένεση. Συγκεκριμένα, τα παραπάνω στοιχεία δείχνουν ότι οι SIRT1, SIRT3, SIRT6 και SIRT7 ασκούν προστατευτικό ρόλο στην παθογένεια της πνευμονικής ίνωσης. Ωστόσο, οι ρυθμιστικοί ρόλοι των άλλων μελών των SIRTs παραμένουν ασαφείς. Οι Mazumder et al. έχουν επανεξετάσει τους ρυθμιστικούς ρόλους των λιγότερο αναφερόμενων SIRTs (κυρίως των SIRT2, SIRT4 και SIRT5, οι οποίες δεν έχουν άμεσες αναφερόμενες συσχετίσεις με την πνευμονική ίνωση) σε βασικές κυτταρικές και μιτοχονδριακές μεταβολικές οδούς κρίσιμες για την πνευμονική ίνωση [12]. Συνολικά, έχει προταθεί ότι οι SIRTs φαίνεται να ασκούν προστατευτική δράση στην πνευμονική ίνωση, εκτός από την

SIRT2, η οποία μπορεί να έχει προϊνωτική δράση, δεδομένων των προφλεγμονωδών επιδράσεών της που παρατηρούνται στο άσθμα [12].



Εικόνα 2.1.2.1 Σιρτουίνες και ινογενετικές σηματοδοτικές οδοί [Τροποποιημένη εικόνα από [131]]

2.2 TGF-β

2.2.1 Ρόλος του TGF-β γενικά

Ο TGF-β είναι ένας μεσολαβητής με πολλαπλές λειτουργίες ο οποίος ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση, την προσκόλληση και τη μετανάστευση διαφόρων κυττάρων όπως είναι τα μακροφάγα, τα ενεργοποιημένα T και B λεμφοκύτταρα, τα άωρα αιμοποιητικά κύτταρα, τα ουδετερόφιλα και τα δενδριτικά κύτταρα [310], [311]. Υπάρχουν τρεις ισομορφές του TGF-β συμπεριλαμβανομένου του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β1 (TGF-β1), του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β2 (TGF-β2) και του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β3 (TGF β3). Ο TGF-β1 εκφράζεται σε ενδοθηλιακά, αιμοποιητικά κύτταρα και κύτταρα του συνδετικού ιστού και ο TGF-β2 εκφράζεται σε επιθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του

νευρικού ιστού, ενώ ο TGF-β3 εκφράζεται κυρίως σε μεσεγχυματικά κύτταρα [312], [311], [313]. Ο TGF-β είναι το πρωτότυπο μιας οικογένειας αυξητικών παραγόντων. Έχει βρεθεί ότι περισσότερα από 40 μέλη αυτής της υπεροικογένειας αναγνωρίστηκαν από την ικανότητά τους να επάγουν την "μετασχηματιστική" ανάπτυξη ινοβλαστών σε καλλιέργεια το 1981 [314], έχουν μια κοινή διμερή δομή και παρουσιάζουν το δομικό μοτίβο κόμβου κυστεΐνης [313]. Μέχρι σήμερα, 33 γονίδια σχετιζόμενα με τον TGF-β έχουν ήδη ταυτοποιηθεί σε γονιδιώματα θηλαστικών ως αποτέλεσμα των προγραμματιών αλληλούχησης γονιδιώματος. Αυτά σχετίζονται με την έκφραση μορφογενών πρωτεϊνών των οστών (bone morphogenic proteins - BMPs), ακτιβίνη / ινχιμπίνη, αυξητικούς παράγοντες και παράγοντες διαφοροποίησης και την αντιμυλλέρια ορμόνη. Στα θηλαστικά, οι παραπάνω κυτοκίνες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο, μέσω της ρύθμισης ενός ευρέος φάσματος κυτταρικών διεργασιών, όπως η κυτταρική ανάπτυξη, η διαφοροποίηση, η μετανάστευση, η απόπτωση, η παραγωγή ECM, ακόμη και η εμβρυϊκή ανάπτυξη [315], [311]. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας TGF-β ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Επιπλέον, οι TGF-β1, TGF-β2 και TGF-β3 επάγονται και ενεργοποιούνται σε μια ποικιλία ινωτικών ασθενειών [316], [310], [317], [318].

Ο TGF-β1 είναι μια κυτταροκίνη με πολλαπλές λειτουργίες που παίζει θεμελιώδη ρόλο στη ρύθμιση των κυτταρικών διεργασιών και την παραγωγή των συστατικών της ECM, συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου, της φιβρονεκτίνης και της ελαστίνης. Ο TGF-β1 και οι δύο υποδοχείς του TGFβRI και TGFβRII παίζουν βασικό ρόλο στην EMT και στην ινογένεση [316]. Τα μόρια Smad2, Smad3, Smad4 και Smad7 εμπλέκονται στην EMT που προκαλείται από τον TGF-β1, ενώ το Smad7 εμποδίζει την έκφραση του Smad3 [316]. Η υπερέκφραση του γονιδίου του TGF-β1 έχει παρατηρηθεί στην ίνωση των πνευμόνων, του

ήπατος και των νεφρών [316], [310], [317]. Ο TGF-β1 έχει επίσης αναγνωριστεί ως βασικός ρυθμιστής της καρδιακής ίνωσης [319] και μπορεί να επηρεάσει την κυτταρική ανάπτυξη, την απόπτωση και τη διαφοροποίηση, να αυξήσει την παραγωγή ECM, να διατηρήσει τη βιωσιμότητα των ινοβλαστών, να αναστείλει την παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνάσης και να διευκολύνει την αποδόμηση του κολλαγόνου [320]. Ο TGF-β1 ενεργοποιεί εξαρτώμενες και μη εξαρτημένες από το Smad οδούς για να επιδείξει τις βιολογικές του δραστηριότητες [321]. Ο TGF-β1 μπορεί να προκαλέσει νεφρική ίνωση τόσο με τα κανονικά (με βάση το Smad) όσο και με τα μη κανονικά (μη βασισμένα στο Smad) σηματοδοτικά μονοπάτια, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των μυοϊνοβλαστών, την υπερβολική παραγωγή ECM και την αναστολή της αποδόμησης της ECM [312]. Τα τελευταία χρόνια, μελέτες έχουν αποδείξει ότι η μεταγωγή σήματος μέσω της οδού του TGF-β1 / Smad είναι βασική για τον προσανατολισμό, τη διαφοροποίηση, την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών. Ωστόσο, ο TGF-β1 έχει ισχυρά ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα. Μελέτες έδειξαν ότι εμφάνισε προφλεγμονώδη δράση ευοδώνοντας την έκφραση χημειοτακτικών και προφλεγμονωδών παραγόντων στα μεσαγγειακά και φλεγμονώδη κύτταρα [322], [323].

Η συγκέντρωση του TGF-β βρέθηκε αυξημένη στα μακροφάγα, τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών, τα κύτταρα των λείων μυών και τους ινοβλάστες σε διάφορες πνευμονικές παθήσεις. Πιο συγκεκριμένα, το σηματοδοτικό μονοπάτι του TGF-β/Smad φαίνεται να ασκεί αρνητική επίδραση στους πνεύμονες των ασθενών με κυστική ίνωση μέσω άμεσης μείωσης της μεταφοράς χλωρίου [324]. Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι αύξηση της παραγωγής του TGF-β1 στα ανθρώπινα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών προκάλεσε τη μειωμένη έκφραση της ρυθμιστικής πρωτεΐνης της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας στην κυστική ίνωση και την ανάπτυξη μιας εναλλακτικής οδού μεταφοράς

χλωρίου [325]. Επίσης, ο TGF-β1 ενισχύει την έκφραση γονιδίων που οδηγούν στην παθολογική αναδιαμόρφωση των αεραγωγών. Η υπερπλασία των κυττάρων Goblet και η αυξημένη έκκριση βλεννίνης αποτελούν γνωστά χαρακτηριστικά της κυστικής ίνωσης στους πνεύμονες. Η αναστολή της σηματοδότησης του TGF-β1 καταστέλλει την υπερπλασία των κυττάρων Goblet μέσω εξαρτώμενων οδών από το Smad σε μοντέλα ποντικών με ρινίτιδα από αλλεργιογόνα και αναδιαμόρφωση των αεραγωγών [326].

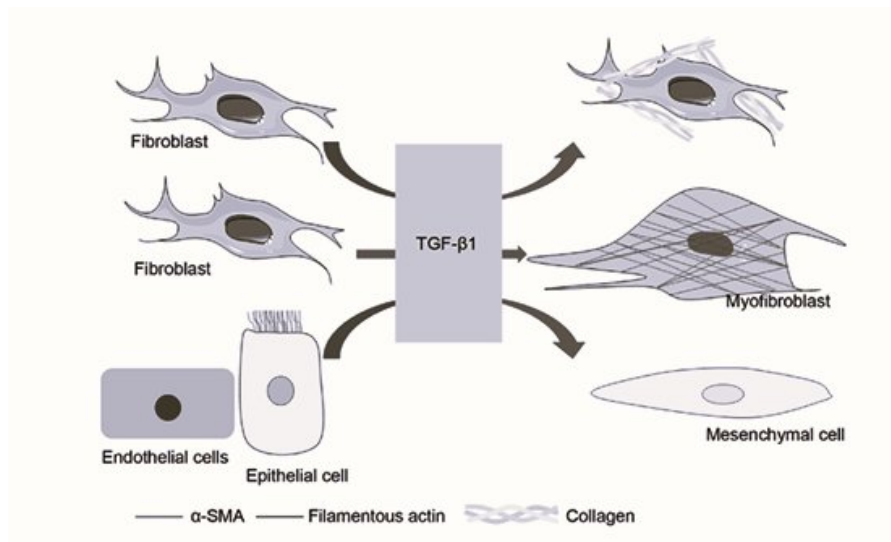
Επίσης, οι σηματοδοτικές οδοί στις οποίες συμμετέχει ο TGF-β φαίνεται ότι εμπλέκονται στην παθογένεια της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας και του άσθματος, νοσήματα που χαρακτηρίζονται από απόφραξη των αεραγωγών, φλεγμονή και αναδιαμόρφωση [327]. Η συγκέντρωση του TGF-β1 βρέθηκε αυξημένη στα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών και των κυψελίδων των ασθενών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ασθενών με άσθμα [324]. Ενώ ο TGF-β έχει θεωρηθεί ως πιθανός θεραπευτικός στόχος στο άσθμα, κανένα εγκεκριμένο φάρμακο που στοχεύει σε αυτόν στο άσθμα δεν έχει προχωρήσει στην κλινική πράξη [328].

2.2.2 Ρόλος του TGF-β στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση

Πολυάριθμες μελέτες έχουν αναδείξει τον κεντρικό ρόλο που παίζει στην ανάπτυξη της ΙΠΙ ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-β1 (Εικόνα 2.2.2.1). Ο TGF-β1 προάγει την ινογένεση στην ΙΠΙ μέσω διαφόρων οδών σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των μονοπατιών σηματοδότησης Smad, MAPK και ERK [329]. Μέσω της κανονικής οδού σηματοδότησης TGF-β1/Smad, ο TGF-β1 ενεργοποιεί τα Smads μέσω του διαμεμβρανικού υποδοχέα κινάσης σερίνης/θρεονίνης, ρυθμίζοντας διαδοχικά τη μεταγραφή των γονιδίων-στόχων [330]. Μέσω αυτών των οδών αποδεικνύεται ο

σημαντικός ρόλος του TGF-β1 ως μεσολαβητή στην παθογένεση της ΙΠΠ [331]. Έχουν διεξαχθεί φαρμακολογικές μελέτες για τον TGF-β1 στην ΙΠΠ και έχουν αναπτυχθεί νέες πολλά υποσχόμενες θεραπευτικές επιλογές που στοχεύουν τα σχετικά με τον TGF-β1 μονοπάτια σηματοδότησης. Τέτοια φάρμακα περιλαμβάνουν το Nimbolide [332], το Tanshinone IIA (Tan IIA) [333], το μεθυλοσουλφονυλομεθάνιο [334] και το Isoliquiritigenin (ISL) [335]. Ωστόσο, δεδομένου ότι κανένα από αυτά τα φάρμακα δε μπορεί να αντιμετωπίσει με επιτυχία την ΙΠΠ, η μεταμόσχευση πνεύμονα παραμένει η κύρια μέθοδος θεραπείας [144].

Είναι γνωστό ότι ο TGF-β1 ασκεί τις βιολογικές του δράσεις ενεργοποιώντας μεσολαβητές όπως οι Smad2 και Smad3, ενώ ρυθμίζεται αρνητικά από την έκφραση του Smad7 [316], [336]. Σε παθολογικές καταστάσεις, τόσο το Smad2 όσο και το Smad3 υπερεκφράζονται, ενώ το Smad7 υποεκφράζεται. Ο καταρράκτης TGF-β/Smad αποτελείται από ένα τριμερές σύμπλοκο σηματοδότησης που ενεργοποιείται όταν ο TGF-β1 αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα II (TGFβRII), στη συνέχεια το εν λόγω σύμπλοκο φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα I (TGFβRI), ο οποίος με τη σειρά του φωσφορυλιώνει τους κυτταροπλασματικούς μεσολαβητές, Smad2 και/ή Smad3, και σχηματίζεται με αυτόν τον τρόπο ένα ετεροτριμερές σύμπλοκο με Smad4 που μετατοπίζεται στον πυρήνα και ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων [316].



Εικόνα 2.2.2.1 Ο ρόλος του *TGF-β1* στην ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση. Ο *TGF-β1* παίζει κρίσιμο ρόλο στην ΙΠΙ. Προωθεί τη μετατροπή των ινοβλαστών σε μυοϊνοβλάστες, των επιθηλιακών κυττάρων σε μεσεγχυματικά κύτταρα και προάγει την παραγωγή κολλαγόνου, νηματοειδούς ακτίνης και α-SMA [(Εικόνα τροποποιημένη από [337])]

3. Σκοπός της παρούσας μελέτης

Η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση αποτελεί μια καταστροφική διάμεση πνευμονοπάθεια στην παθοφυσιολογία της οποίας παίζει πρωτεύοντα ρόλο η γήρανση και τα κυτταρικά μονοπάτια που οδηγούν σε αυτή. Οι Σιρτουίνες και οι διαταραχές της έκφρασής και της δραστηριότητάς τους συνδέονται στη βιβλιογραφία με νοσήματα ατόμων μεγαλύτερης

ηλικίας. Αντικείμενο της παρούσας μελέτης αποτέλεσε ο ρόλος της Σιρτουίνης-1 και του TGF- β 1 σε ασθενείς με ΙΠΠ . Για το λόγο αυτό μετρήθηκαν τα επίπεδα της Σιρτουίνης-1 στο πλάσμα, στα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος αλλά και στο υπερκείμενο υγρό μετά την καλλιέργεια των PBMCs με και χωρίς την προσθήκη αυτόλογου ορού. Επίσης, μετρήθηκαν τα επίπεδα του TGF- β 1 στο πλάσμα. Οι παραπάνω μετρήσεις έγιναν τόσο σε ασθενείς με ΙΠΠ όσο και σε υγιή άτομα που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Δεδομένης της έλλειψης αντίστοιχων μελετών στη βιβλιογραφία στις οποίες προσδιορίζονται τα επίπεδα της Σιρτουίνης-1 στα PBMCs, στο πλάσμα αλλά και στο υπερκείμενο υγρό μετά από καλλιέργεια των PBMCs και συσχετίζονται με την ΙΠΠ, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαν να αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο διάγνωσης και αξιολόγησης των ασθενών με ΙΠΠ.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ασθενείς και Ομάδα Ελέγχου

Στη μελέτη συμμετείχαν 34 ασθενείς με ΠΠ και 22 υγιείς εθελοντές που αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Τα κριτήρια ένταξης για την ομάδα ελέγχου ήταν:

- 1) ηλικία >60 ετών,
- 2) μη καπνιστές και με ελεύθερο ιστορικό από οποιαδήποτε αναπνευστική διαταραχή.

Οι υγιείς εθελοντές βρίσκονται σε αντιστοιχία όσον αφορά στην ηλικία και το φύλο με την ομάδα των ασθενών. Όσον αφορά στους ασθενείς, η διάγνωση της ΙΠΠ βασίστηκε σε κλινικά, ακτινολογικά και ιστολογικά κριτήρια και αφού αποκλείστηκαν άλλες διάμεσες πνευμονοπάθειες, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες των ATS/ ERS/JRS/ALAT [34], [32]. Οι ασθενείς στρατολογήθηκαν από το Εξωτερικό Ιατρείο Διάμεσων Πνευμονοπαθειών της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κατά το χρονικό διάστημα Νοέμβριος 2017 – Νοέμβριος 2019. Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη ενημερώθηκαν και έδωσαν ενυπόγραφη συγκατάθεση, σύμφωνα με τη Συνθήκη του Ελσίνκι. Η μελέτη εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Από τους ασθενείς με ΙΠΠ και τους υγιείς εθελοντές συλλέχθηκε περιφερικό αίμα και πραγματοποιήθηκε πλήρης λειτουργικός έλεγχος κατά την ένταξή τους στην μελέτη.

Τα δημογραφικά και κλινικά στοιχεία των ασθενών και των υγιών εθελοντών συνοψίζονται στον **Πίνακα 4.1** στα αποτελέσματα.

2. Υλικά

2.1 Αντιδραστήρια και Αναλώσιμα Υλικά

Τα αναλώσιμα υλικά και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη αναγράφονται στους πίνακες 2.1.1 και 2.1.2.

Αναλώσιμα	Όνομα προϊόντος	Αρ.Καταλόγου	Προέλευση
Βαθμονομημένη πιπέτα 10 mL	10 mL pipette, sterile	161010	Bioline, Israel
Βαθμονομημένη πιπέτα 1 mL	2 mL pipette, sterile	160210	Bioline, Israel
Βαθμονομημένη πιπέτα 25 mL	25 mL pipette, sterile	162510	Bioline, Israel
Βαθμονομημένη πιπέτα 5 mL	5 mL pipette, sterile	160510	Bioline, Israel
Κυβέτες φωτομέτρου	Uvette 220-1600 nm	9520010051	Eppendorf, UK
Μπουκάλι 1000 mL	1L Storage bottles	430518	Corning, USA
Μπουκάλι 125 mL	Sterile squared Media Bottle 125 mL	2019-0125	Nalgene, Denmark
Μπουκάλι 250 mL	250 mL Storage bottles	430281	Corning, USA
Μπουκάλι 500 mL	500 mL Storage bottles	430282	Corning, USA
Ρύγχη πιπέτας 10 µL	10 µL sterilised long tips	DL10ST	Gilson Inc, USA
Ρύγχη πιπέτας 100 µL, με φίλτρο	100 µL sterilised filter tips	DF100ST	Gilson Inc, USA
Ρύγχη πιπέτας 1000 µL	1000 µL sterilised filter tips	DF1000ST	Gilson Inc, USA
Ρύγχη πιπέτας 200 µL	200 µL sterilised tips	D200ST	Gilson Inc, USA
Ρύγχη πιπέτας 200 µL, με φίλτρο	200 µL sterilised filter tips	DF200ST	Gilson Inc, USA
Ρύγχη πιπέτας 30 µL, με φίλτρο	30 µL sterilised filter tips	DF30ST	Gilson Inc, USA
Σωλήνες τύπου falcon 50 ml	Falcon® Conical Tubes, 50 mL, EasySep	352070	Stem Cell Techn, Canada
Σωληνάρια γενικής αίματος	VACUETTE® EDTA tubes	454087	Vacurette, USA

Πίνακας 2.1.1 Αναλώσιμα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη και τα χαρακτηριστικά τους.

Αντιδραστήριο	Όνομα προϊόντος	Αρ.Καταλόγου	Προέλευση
Αλβουμίνη βοδινού ορού	10x BSA	B9001S	New England Biolabs, USA
Αιθανόλη 100%	Absolute Ethanol	E/0650DF/C17	Fischer Scientific, Eu
Αποστειρωμένο νερό	Water for injection	-	DEMO S.A, Greece
Αραιωτικό διάλυμα	N Diluent D	OUMT65	Siemens, Germany
Διάλυμα PBS	PBS	508002	INOVA Diagnostics, USA
Διάλυμα TBE	TBE 10x buffer,	15581-028	Invitrogen,UK
Διάλυμα πλύσης	Buffer AW1	19081	Qiagen, Germany
Διάλυμα πλύσης	Buffer AW2	19072	Qiagen, Germany
Διάλυμα εκχύλισης	Elution Buffer AE	19077	Qiagen, Germany
Διάλυμα λύσης	Lysis Buffer AL	19075	Qiagen, Germany

Διάλυμα ελέγχου	N/T Protein Control SL/M	OQIO135	Siemens, Germany
Διάλυμα Novex TBE	Novex® TBE Running Buffer (5X)	LC6675	Invitrogen, UK
Elisa kit για τη SIRT1	SIRT1(Sirtuin1) Human SimpleStep ELISA® Kit	ab 171573	United States
Elisa kit για τον TGF-β1	TGF beta 1 Human ELISA Kit	ab 100647	United States

Πίνακας 2.1.2 Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη και τα χαρακτηριστικά τους.

3. Μέθοδοι

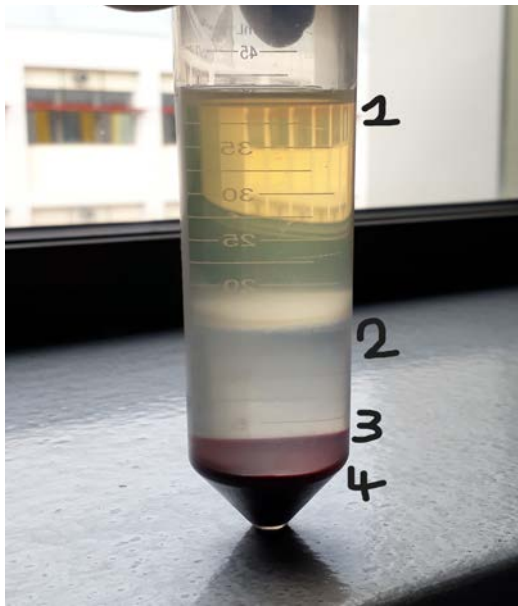
3.1 Επεξεργασία ολικού περιφερικού αίματος και απομόνωση των μονοκυττάρων του περιφερικού αίματος (PBMCs)

Είκοσι χιλιοστόλιτρα ολικού αίματος από περιφερική φλέβα όλων των συμμετεχόντων συλλέχθηκαν σε σωληνάρια με EDTA και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία εντός τριών έως πέντε ωρών για την απομόνωση των PBMCs. Στη συνέχεια, 10 ml αίματος αραιώθηκαν με 20 ml στείρου PBS για την απομόνωση των PBMCs όπως περιγράφεται λεπτομερώς παρακάτω.

Είκοσι χιλιοστόλιτρα Ficoll σε σωλήνα Falcon των 50 ml επικαλύφθηκαν με το αραιωμένο αίμα με απαλές κινήσεις με την πιπέτα κατά μήκος του τοιχώματος του σωλήνα. Ο σωλήνας στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου στις 2500 στροφές χωρίς φρένο για είκοσι λεπτά, γεγονός που είχε ως αποτέλεσμα το σχηματισμό των ακόλουθων στιβάδων από την επιφάνεια του σωληναρίου προς τον πυθμένα (όπως φαίνεται και στην εικόνα 3.1.1 από το αρχείο της παρούσας μελέτης): (1) πλάσμα

ελεύθερο κυττάρων, (2) στιβάδα buffy coat (που περιλαμβάνει τα PBMCs), (3) επιφάνεια Ficoll-PBS και (4) στιβάδα ερυθρών αιμοσφαιρίων στον πυθμένα. Ο σωλήνας στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε βάση για να διατηρηθούν οι κλασματοποιημένες στιβάδες και υποβλήθηκε σε περαιτέρω επεξεργασία ως εξής: συλλέχθηκαν 2 ml από τη στιβάδα του πλάσματος χρησιμοποιώντας μικροπιπέτα του 1 ml σε αποστειρωμένα σωληνάκια Eppendorf και καταψύχθηκαν αμέσως σε καταψύκτη -80°C μέχρι την περαιτέρω ανάλυσή τους για SIRT-1 (ab171573) ή TGF-β1 (ab100647) με ELISA.

Το στρώμα buffy coat συλλέχθηκε με ένα φρέσκο άκρο πιπέτας όγκου έως 5 ml και αραιώθηκε απευθείας σε 20 ml αποστειρωμένου PBS σε ένα φρέσκο σωλήνα falcon των 50 ml. Το αραιωμένο κλάσμα buffy coat υποβλήθηκε σε άλλους δύο γύρους φυγοκέντρησης στις 2500 στροφές χωρίς φρένο για επτά λεπτά και το υπερκείμενο αφαιρέθηκε με αναρρόφηση χρησιμοποιώντας μια αποστειρωμένη πιπέτα Pasteur. Στη συνέχεια, προστέθηκαν 0,5 ml του εναιωρήματος των PBMCs που προέκυψε σε 1 ml πλήρους RPMI με 10% ανθρώπινο ορό φαινοτύπου ομάδας O. Εναλλακτικά, τα PBMCs προστέθηκαν στο RPMI χωρίς ορό ή αντιβιοτικά πρόσθετα.



Εικόνα 3.1.1 Οι τέσσερις στιβάδες που προκύπτουν μετά τη φυγοκέντρηση του διαλελυμένου αίματος με το Ficoll για την απομόνωση των PBMCs. 1)πλάσμα, 2) Buffy coat (μέσα στο οποίο βρίσκονται τα PBMCs), 3) στιβάδα Ficoll-PBS και 4)συσσωματώματα ερυθρών αιμοσφαιρίων. Από το αρχείο της παρούσας μελέτης.

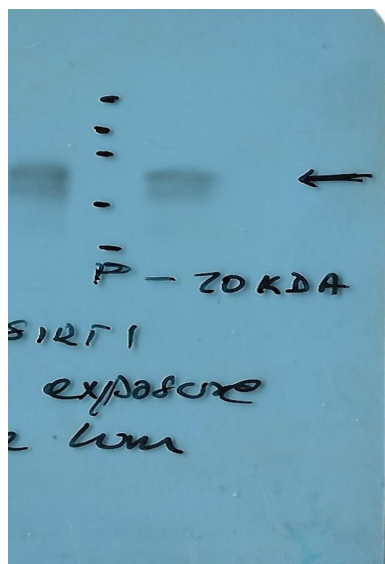
3.2 Καλλιέργεια των PBMCs

Το διάλυμα των PBMCs υποβλήθηκε σε κυτταροκαλλιέργεια σε μη προσκολλημένα, στείρα τρυβλία 12 κοιλοτήτων. Εν συντομία, 0,25 ml του εναιωρήματος των PBMCs προστέθηκαν είτε σε 1 ml 10% ανθρώπινου ορού RPMI-1640 είτε σε 1 ml RPMI-1640 χωρίς ορό. Η πλάκα επώαστηκε για 48 ώρες σε θάλαμο υγραποιημένου διοξειδίου του άνθρακα στους 37°C. Το κυτταρικό εναιώρημα στη συνέχεια υποβλήθηκε σε φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές για πέντε λεπτά και διαιρέθηκε περαιτέρω σε κλάσματα υπερκείμενου υγρού μετά την καλλιέργεια των PMBCs και σε συσσωματώματα PBMCs (ίζημα). Αυτά τα κλάσματα αποθηκεύτηκαν σε σωλήνες Eppendorf στους -80 °C μέχρι

την περαιτέρω ανάλυσή τους για SIRT-1 (ab171573) με ELISA. Τα συσσωματώματα των PBMCs υποβλήθηκαν σε πλήρη λύση πριν από την ELISA, όπως συνιστάται από τις οδηγίες του κατασκευαστή.

3.3 Μέτρηση επιπέδων SIRT-1 και TGF-β1 με την τεχνική της ELISA

Αρχικά δοκιμάστηκε η ανίχνευση των επιπέδων της SIRT1 με τη μέθοδο της dot Blot μέσω της αντίδρασης αντισώματος έναντι της SIRT1 (AbSIRT1) και του αντιαντισώματος για τη SIRT1 (Ab- antiSIRT1), ωστόσο, η ανίχνευση δεν ήταν ομοιόμορφη στις μεμβράνες φθοριούχου πολυβινυλιδενίου (Polyvinylidene fluoride – PVDF) και νιτροκυτταρίνης (Nitrocellulose membrane – NC). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε Western Blot σε δείγμα από προϊόντα διάσπασης των PBMCs προκειμένου να ανιχνευθεί η αντίδραση με το αντίσωμα της SIRT1 που υπήρχε στο ELISA kit. Ωστόσο, η Western Blot ανέδειξε διπλό σήμα SIRT1 στη θέση του αναμενόμενου μοριακού βάρους (Εικόνα 3.3.1). Λόγω της ποικιλομορφίας του σήματος στις PVDF και NC μεμβράνες με τη dot Blot και του διπλού σήματος στη Western Blot, συνέχισε η προσπάθεια ανίχνευσης της SIRT1 και του TGF-β1 με τη μέθοδο της ELISA.

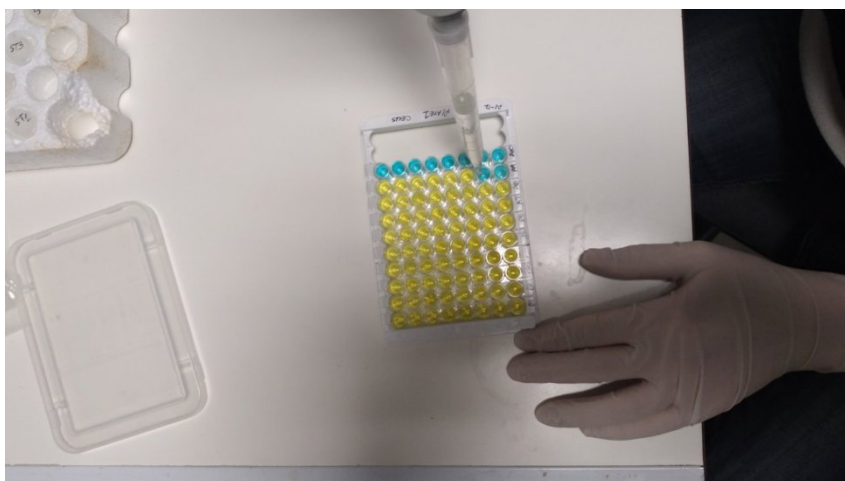


Εικόνα 3.3.1 Προσπάθεια ανίχνευσης της *SIRT1* σε προϊόντα λύσης των *PBMCs* με τη μέθοδο της *Western Blot*. Χρησιμοποιήθηκαν σε διαλύσεις 1:500 αντίσωμα έναντι της *SIRT1* (Ab*SIRT1*) και 1:1000 αντι- αντίσωμα για τη *SIRT1* (Ab- anti*SIRT1*). Είναι εμφανές το διπλό σήμα στην ίδια θέση (από το αρχείο της παρούσας μελέτης).

Κατά την *ELISA* χρησιμοποιούνται αντιγόνα ή αντισώματα (αντισώματα στο συγκεκριμένο πρωτόκολλο) επικαλυμμένα σε πλάκες πολυστυρενίου σε πιάτα 96 θέσεων (wells – πηγάδια). Αυτά αποτελούν και την στερεή φάση (αντίσωμα ακινητοποίησης – Immobilization Antibody). Η τεχνική χρησιμοποιείται για ημι-ποσοτικό ή ποσοτικό προσδιορισμό αντισωμάτων ή αντιγόνων. Το δείγμα του ασθενούς επωάζεται με τη στερεή φάση. Εάν περιέχει ειδικά αντισώματα ή αντιγόνα, αυτά συνδέονται με το αντιγόνο ή αντίστοιχα το αντίσωμα της στερεής φάσης (στο πρωτόκολλο της μελέτης αντιγόνο του ασθενή- *SIRT1* συνδέθηκε με το αντίσωμα της στερεής φάσης). Σε επόμενο βήμα προστίθεται ένα κοκτέιλ αντισωμάτων που περιλαμβάνει ένα αντίσωμα που ανιχνεύει το σύμπλοκο αντισώματος στερεής φάσης - αντιγόνου στο δείγμα του ασθενή (αντίσωμα

δέσμευσης – Capture Antibody) και ένα σεσημασμένο με υπεροξειδάση αντίσωμα (αντίσωμα ανιχνευτής- Detector Antibody) το οποίο συνδέεται με το παραπάνω σύμπλοκο. Μόλις προστεθεί το υπόστρωμα της υπεροξειδάσης καταλύεται η αντίδραση και αλλάζει χρώμα το διάλυμα. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου ή των αντισωμάτων στο δείγμα του ασθενούς. Αυτό μετατρέπεται σε συγκέντρωση μέσω μιας πρότυπης καμπύλης.

Το πλάσμα, το υπερκείμενο υγρό μετά από καλλιέργεια των PBMCs με και χωρίς την προσθήκη ανθρώπινου ορού και τα προϊόντα λύσης των PBMCs υποβλήθηκαν σε αντίδραση με αντισώματα έναντι της SIRT1 (ab171573) και του TGF- β 1 (ab100647) (μόνο το πλάσμα) όπως συνιστάται από το πρωτόκολλο του κατασκευαστή (Abcam, Cambridge, Αγγλία). Συγκεκριμένα, τα επικαλυμένα με τα αντισώματα πηγάδια βαθμονομήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αραιωμένο πλάσμα (50 ml) ή προϊόν κυτταρικής λύσης (50 ml) τοποθετήθηκε στα πηγάδια εις διπλούν, ακολουθούμενο από την προσθήκη αντισώματος ανίχνευσης έναντι συγκεκριμένων αντιγόνων και επώαστηκε σε υγροποιημένο επωαστήριο στους 37 °C επί μία ώρα. Στη συνέχεια, τα δείγματα απομακρύνθηκαν από τα πηγάδια με αναστροφή και κάθε πηγάδι πλύθηκε 3 φορές με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (350 ml). Κάθε πηγάδι υποβλήθηκε σε επεξεργασία και έλαβε χρωμογενές υπόστρωμα TMB (100 ml) (Εικόνα 3.3.2 από το αρχείο της μελέτης) ακολουθούμενο από επώαση 10 λεπτών στο σκοτάδι. Η ανάπτυξη χρώματος τερματίστηκε στη συνέχεια με την προσθήκη του διαλύματος διακοπής. Στη συνέχεια, η πλάκα διαβάστηκε για το τελικό σημείο οπτικής πυκνότητας - O.D. χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο στα 450 nm. Οι συγκεντρώσεις των SIRT1 και TGF- β 1 υπολογίστηκαν στη συνέχεια μετά τη χάραξη των πρότυπων καμπυλών.



Εικόνα 3.3.2 Μέτρηση της συγκέντρωσης της *SIRT-1* και του *TGF-β1* με τη μέθοδο της *Elisa*. Στην εικόνα απεικονίζονται τα πηγάδια όπου γίνονται οι αντιδράσεις αντιγόνου-αντισώματος. Από το αρχείο της παρούσας μελέτης.

3.4 Στατιστική Ανάλυση

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ SD, εκτός εάν αναφέρεται διαφορετικά. Η κανονική κατανομή αξιολογήθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι μονοπαραγοντικές συσχετίσεις πραγματοποιήθηκαν με τον συντελεστή συσχέτισης του Pearson ή με τον συντελεστή συσχέτισης του Spearman σύμφωνα με την κατανομή της μεταβλητής. Η σύγκριση μεταξύ ασθενών και μαρτύρων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του t-test του Student ή του Mann-Whitney U-test σύμφωνα με κατανομή των μεταβλητών. Οι τιμές αναλύθηκαν στατιστικά με ένα ανεξάρτητο t-test του Student ή One Way- ANOVA (για συγκρίσεις μεταξύ ομάδων). Για να αξιολογήσουμε την προγνωστική αξία της *SIRT1*, χρησιμοποιήσαμε ανάλυση πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης. Η έκδοση 8.0 του λογισμικού GraphPad Prism (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) και το στατιστικό πακέτο SPSS 16 (SPSS Chicago, IL) χρησιμοποιήθηκαν για γραφήματα

και στατιστικές αναλύσεις, αντίστοιχα. Μια τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

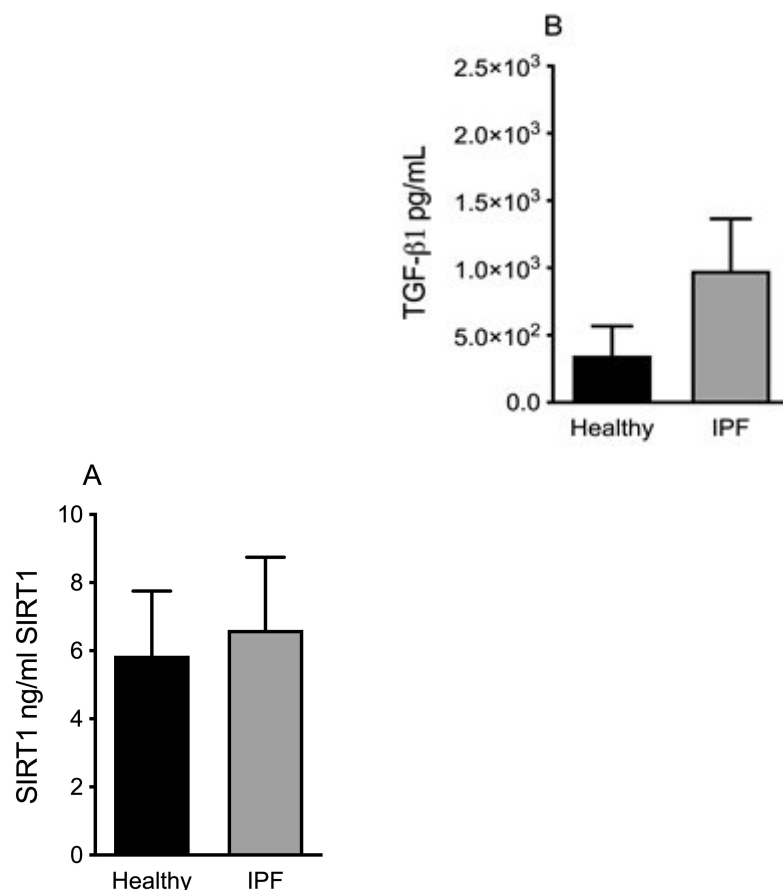
4. Αποτελέσματα

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στη μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.1. Η μέση ηλικία (έτη) των υγιών εθελοντών ήταν $68,57 \pm 6,97$ και της ομάδας ασθενών ήταν $71,28 \pm 5,39$ έτη ($p > 0,05$). Οι υγιείς εθελοντές και οι ασθενείς με ΙΠΠ δεν διέφεραν ως προς το φύλο (Πίνακας 4.1). Η μέση διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων για το μονοξείδιο του άνθρακα (diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide – DLCO) (%προβλεπόμενη) των ασθενών με ΙΠΠ ήταν $40,50 \pm 15,19\%$ (Πίνακας 4.1). Από την ομάδα ΙΠΠ, το 17,64% ήταν καπνιστές και το 50% ήταν πρώην καπνιστές, ενώ το 23,52% ήταν υπό μακροχρόνια οξυγονοθεραπεία κατά τη στιγμή που ενσωματώθηκαν στη μελέτη. Μέσα σε ένα χρόνο από την ένταξή τους στη μελέτη, το 32,35% των ασθενών με ΙΠΠ απεβίωσε.

Παράμετρος	Ομάδα Ελέγχου (N=22)	Ασθενείς με ΙΠΠ (N=34)
Ηλικία (Ετη)	68.57±6.97	71.28±5.39
Φύλο (Αρρεν/ Θήλυ)	12/10	19/14
FVC (%προβλεπόμενου)	87.88±3.61	72.13±14.06*
FEV1/FVC (%)	84.10±2.55	82.00±6.55
DLCO (%προβλεπόμενου)	86.79±3.98	40.50±15.19*
TLC (%προβλεπόμενου)	86.22±4.90	55.38±2.71*

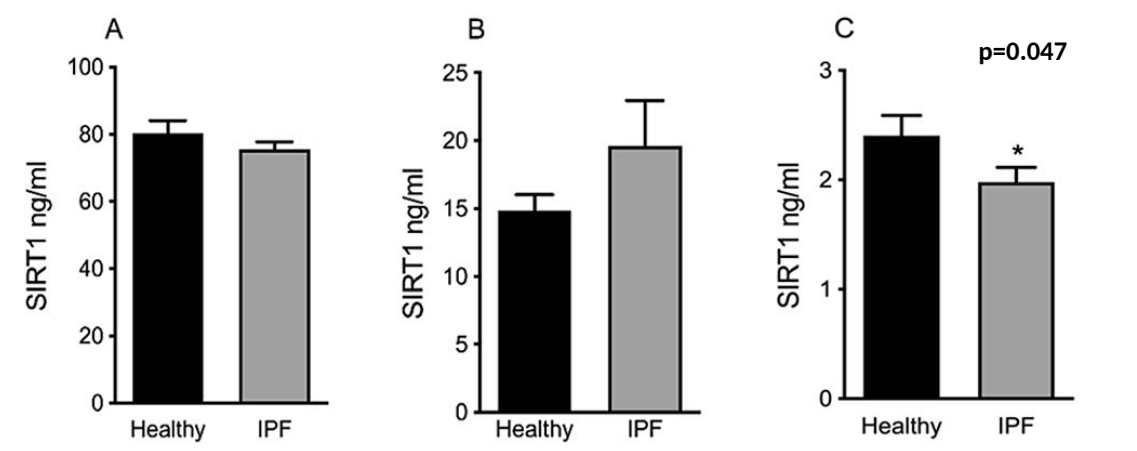
Πίνακας 4.1 Δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά του υπό μελέτη πληθυσμού FVC: forced vital capacity - δυναμική ζωτική χωρητικότητα, FEV1: forced expiratory volume in 1 second – δυναμικά εκπνεόμενος όγκος στο πρώτο δευτερόλεπτο, DLCO: diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide – διαχυτική ικανότητα των πνευμόνων για το μονοξείδιο του άνθρακα, TLC: total lung capacity – ολική πνευμονική χωρητικότητα, N: αριθμός συμμετεχόντων, ΙΠΠ: Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση. *p <0.05 σε σύγκριση με τους υγιείς εθελοντές. Οι τιμές των αριθμητικών μεταβλητών εκφράζονται σε μέσες τιμές (±τυπική απόκλιση)

Η συγκέντρωση της SIRT1 στο πλάσμα (μέση τιμή±SEM) στην ομάδα της ΙΠΙ ήταν $6,6 \pm 2,1$ έναντι $5,8 \pm 1,9$ ng/ml σε υγιείς εθελοντές ($p > 0,05$). Οι ασθενείς με ΙΠΙ εμφάνισαν αυξημένη συγκέντρωση TGF-β1 έναντι των υγιών εθελοντών ($979,7 \pm 385,7$ έναντι $348,2 \pm 219,9$ pg/ml, αντίστοιχα, $p > 0,05$) (Εικόνα 4.1A και 4.1B) . Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν τα επίπεδα της SIRT1 σε PBMCs μετά τη λύση τους. Η συγκέντρωση της SIRT1 στην ομάδα της ΙΠΙ ήταν $75,5 \pm 9,28$ ng/ml έναντι της $80,34 \pm 16,49$ ng/ml που μετρήθηκε στην ομάδα ελέγχου χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δειγμάτων ($p > 0,05$, Εικόνα 4.1A).



Εικόνα 4.1 Συγκεντρώσεις στο πλάσμα A: SIRT1 και B: TGF-β1. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή±SEM. SIRT1: Sirtuin1, TGF-β1: Transforming Growth Factor beta1, IPF: ιδιοπαθής

πνευμονική ίνωση, ng/ml: νανογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο, pg/ml: πικογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο.



Εικόνα 4.2 Συγκεντρώσεις SIRT1 σε A: προϊόντα λύσης των PBMCS, B: υπερκείμενο υγρό από καλλιέργεια των PBMCS με την προσθήκη 10% αυτόλογου ορού, C: υπερκείμενο υγρό από καλλιέργεια των PBMCS χωρίς την προσθήκη 10% αυτόλογου ορού. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή±SEM. SIRT1: Sirtuin1, PBMC: μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος, IPF: ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση, ng/ml: νανογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο.

Αξιολογήθηκε η έκκριση της SIRT1 στο υπερκείμενο υγρό που συλλέχθηκε μετά την απομόνωση και καλλιέργεια των PBMCS σε καλλιεργητικά μέσα με την προσθήκη ανθρώπινου ορού 10% ("υπερκείμενο ορό") και δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (19,6±3,3 ng/ml στην έναντι 14,8±1,2 ng/ml στην ομάδα

ελέγχου, $p=0,34$, Εικόνα 4.2B). Ωστόσο, όταν τα PBMCs καλλιιεργήθηκαν χωρίς ανθρώπινο ορό ("υπερκείμενο χωρίς ορό") παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση της SIRT1 στο υπερκείμενο υγρό στην ομάδα της ΙΙΙ ήταν σημαντικά χαμηλότερη από τη συγκέντρωσή της στη ομάδα ελέγχου ($1,97 \pm 0,59$ ng/ml έναντι $2,4 \pm 0,74$ ng/ml, αντίστοιχα, $p=0,047$. Εικόνα 4.2C).

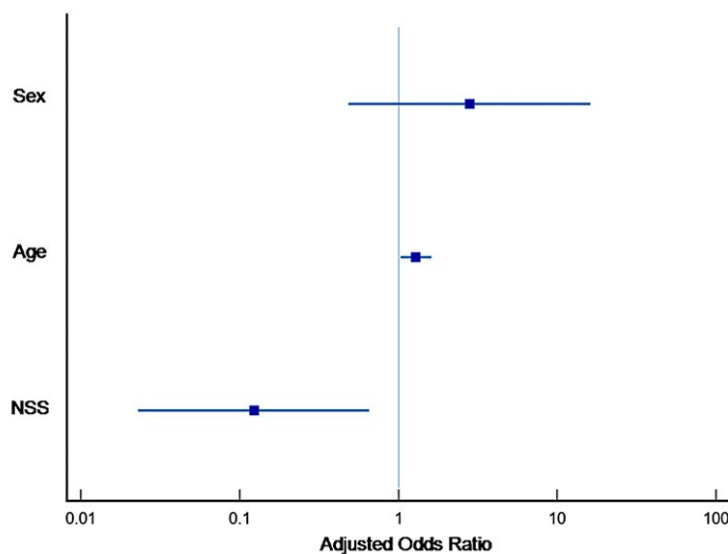
Πραγματοποιήθηκαν στη συνέχεια σε κάθε ομάδα ξεχωριστά συγκρίσεις μεταξύ όλων των δειγμάτων (πλάσμα, PBMCs και υπερκείμενο της καλλιέργειας των PBMCs με και χωρίς ορό). Και στις δύο ομάδες, παρατηρήσαμε μια στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της SIRT1 μεταξύ των υλικών ($p<0,001$). Σε σύγκριση ένα προς ένα, όλα τα δείγματα διέφεραν στατιστικά σημαντικά, εκτός από τη σύγκριση μεταξύ της συγκέντρωσης SIRT1 στο πλάσμα και στο υπερκείμενο υγρό «χωρίς ορό» και στις δύο ομάδες. Επιπλέον, στην ομάδα των ασθενών με ΙΙΙ δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση της SIRT1 μεταξύ των προϊόντων λύσης των PBMCs και του «υπερκείμενου με ορό». Η συγκέντρωση SIRT1 ήταν υψηλότερη στα προϊόντα λύσης των PBMCs και μειώνεται κατά φθίνουσα σειρά στο «υπερκείμενο με ορό», στο πλάσμα, και τελικά στο υπερκείμενο «χωρίς ορό», αντίστοιχα (Πίνακας 4.2).

	Προϊόντα λύσης των PBMCs	Υπερκείμενο με ορό	Πλάσμα	Υπερκείμενο χωρίς ορό
SIRT1 (ng/ml) ομάδα ελέγχου	80.3±3.8 ⁺ *	14.8±1.2**	5.8±1.9*	2.4±0.2***
SIRT1 (ng/ml) στην ΙΠΙ	75.6±2.2 ⁺	19.6±3.3**	6.6±2.1*	2.0±0.13***

Πίνακας 4.2 Συγκέντρωση SIRT1 στο πλάσμα, τα PBMCs και το υπερκείμενο υγρό μετά από καλλιέργεια των PBMCs με και χωρίς την προσθήκη αυτόλογου ορού στην ομάδα ελέγχου και σε ασθενείς με ΙΠΙ. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή ±SEM. *p<0,001 σε σύγκριση με το υπερκείμενο με ορό, **p<0,001 σε σύγκριση με το υπερκείμενο χωρίς ορό, +p<0,001 σε σύγκριση με το πλάσμα, ***p<0,001 σε σύγκριση με τα προϊόντα λύσης των PBMCs. SIRT1: σιρτουΐνη1, PBMC: μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος, ΙΠΙ: ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση, ng/ml: νανογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο.

Τέλος, μετά την προσαρμογή για την ηλικία και το φύλο, η αύξηση της ηλικίας συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης ΙΠΙ (p=0,026, OR=1,289 [95%CI: 1,031-1,611]), ενώ η αυξημένη συγκέντρωση SIRT1 στο «υπερκείμενο χωρίς ορό»

συσχετίστηκε με μείωση της πιθανότητας εμφάνισης ΙΠΙ ($p=0,014$, $OR=0,124$ [95%CI: 0,023-0,653]) (Εικόνα 4.3). Αυτή η συσχέτιση απουσίαζε στο μοντέλο ανάλυσης παλινδρόμησης των άλλων υλικών (πλάσμα, «υπερκείμενο με ορό» και PBMCs). Αυτό το εύρημα θα μπορούσε να δείξει ότι «το υπερκείμενο χωρίς ορό» είναι το υλικό επιλογής για τη μέτρηση της SIRT1 και θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως εργαλείο στη διάγνωση και παρακολούθηση ασθενών με ΙΠΙ.



Εικόνα 4.3 Η μεγαλύτερη ηλικία και η χαμηλότερη συγκέντρωση SIRT1 στο «υπερκείμενο χωρίς ορό» αυξάνουν την πιθανότητα ο ασθενής να ανήκει στην ομάδα της ΙΠΙ στο δείγμα μας. Όσον αφορά στο φύλο δε βρέθηκε συσχέτιση. Sex: Φύλο, Age: Ηλικία, NSS: υπερκείμενο χωρίς ορό.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη μας, αξιολογήσαμε τη συγκέντρωση της SIRT1 στο πλάσμα, στα προϊόντα λύσης των PBMCs και το υπερκείμενο υγρό μετά από καλλιέργεια των PBMCs σε ασθενείς με ΙΠΙ και υγιείς εθελοντές. Παρατηρήσαμε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα μέσα επίπεδα SIRT1 στο υπερκείμενο υγρό των PBMCs που καλλιεργήθηκαν σε μέσα

χωρίς την προσθήκη ανθρώπινου ορού σε ασθενείς με ΙΠΙ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Τα χαμηλά επίπεδα SIRT1 ήταν προγνωστικά της ΙΠΙ όταν προσαρμόστηκαν για την ηλικία και το φύλο, γεγονός που υποδηλώνει ότι η SIRT1 μπορεί να χρησιμεύσει ως εργαλείο για τη διάγνωση της νόσου. Επιπλέον, δείξαμε αυξημένα επίπεδα TGF- β 1 στην ΙΠΙ έναντι των υγιών. Εξ όσων γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που εξετάζει τα επίπεδα της SIRT1 στο πλάσμα και τα PBMCs ασθενών με ΙΠΙ.

Οι σιρτουίνες έχουν προκαλέσει αυξημένο ενδιαφέρον ως σημαντικοί παράγοντες στη βιολογία της γήρανσης [338]. Αποτελούν απαραίτητους κυτταρικούς μεσολαβητές που εμπλέκονται σε διάφορες κυτταρικές δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένης της επιδιόρθωσης του DNA, της τροποποίησης της δομής και του μεταβολισμού των μιτοχονδρίων, της διατήρησης των τελομερών, της φλεγμονής, της ομοιόστασης του συστήματος Redox και του κυτταρικού θανάτου. Λόγω του ρόλου τους στη διατήρηση της κυτταρικής μακροζωίας μέσω της διατήρησης των τελομερών και της επιδιόρθωσης του DNA, έχει προταθεί μια πιθανή αντιγηραντική λειτουργία [131]. Η SIRT1 είναι η πιο καλά διατηρημένη, εξαρτώμενη από το (NAD⁺) απακετυλάση των ιστονών στα θηλαστικά [339], [340]. Η συσχέτιση της SIRT1 με αναπνευστικά νοσήματα έχει προκαλέσει την προσοχή τα τελευταία χρόνια. Η έκφραση της SIRT1 στα PBMCs έχει βρεθεί μειωμένη σε ασθενείς με βρογχεκτασίες [341]. Η έκφραση της SIRT1 είναι μειωμένη σε υγιείς καπνιστές και σε ασθενείς με ΧΑΠ σε σύγκριση με υγιείς μη καπνιστές, ενώ η δραστηριότητα της SIRT1 είναι σημαντικά μειωμένη στη ΧΑΠ σε σύγκριση με τις δύο ομάδες ελέγχου [224].

Την τελευταία δεκαετία έχει εξεταστεί ο ρόλος των σιρτουινών, και ιδιαίτερα της SIRT1, στην πνευμονική ίνωση. Μετά τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης, δημοσιεύτηκε μελέτη των Perrotta et al όπου μετρήθηκαν τα επίπεδα της SIRT1 στο

πλάσμα ασθενών με ΙΠΙ και βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αντιθέτως, τα επίπεδα της SIRT3 στον ορό των ασθενών με ΙΠΙ βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα από την ομάδα ελέγχου, ενώ δε διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων στα επίπεδα των SIRT6 και SIRT7. Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν θετική συσχέτιση της συγκέντρωσης της SIRT1 με παραμέτρους του πλήρους λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού (FEV1%, FVC% και DLCO%) και αρνητική συσχέτιση της SIRT1 με το GAP score (Gender-Age-Physiology) για την ΙΠΙ [347]. Σε μια άλλη πρόσφατη μελέτη οι Manetti et al απέδειξαν ότι η συγκέντρωση της SIRT1 στον ορό των ασθενών με Συστηματική Σκλήρυνση ήταν χαμηλότερα συγκριτικά με την ομάδα των υγιών εθελοντών. Συγκεκριμένα, η μειωμένη συγκέντρωση της SIRT1 και SIRT3 στον ορό αυτών των ασθενών συσχετίστηκε θετικά με την έκταση της δερματικής σκλήρυνσης, με την ύπαρξη διάμεσης πνευμονοπάθειας και πνευμονικής ίνωσης και με χειρότερη πνευμονική λειτουργία (FVC%) [348]. Παλαιότερη μελέτη το 2018 που είχε συμπεριλάβει ασθενείς με πνευμονική ίνωση στα πλαίσια συστηματικής σκλήρυνσης, είχε καταλήξει, μεταξύ άλλων, στο συμπέρασμα ότι αυτοί οι ασθενείς έχουν μειωμένα επίπεδα mRNA για SIRT1 στα PBMCs σε σύγκριση με εκείνους χωρίς πνευμονική συμμετοχή [299]. Οι λοιπές μελέτες στη βιβλιογραφία αναφέρονται στη μέτρηση της SIRT1 ή της έκφρασής της στα AECs ή σε ινοβλάστες ανθρώπων ή ζωικών μοντέλων. Συγκεκριμένα, στα AEC2s μετρήθηκε η έκφραση της SIRT1 σε ασθενείς με ΙΠΙ και σε υγιείς εθελοντές και βρέθηκε στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη στη μελέτη των Liang et al το 2022. Στην παραπάνω μελέτη, οι ερευνητές απέδειξαν ότι ο άξονας SIRT1 και μιας πρωτεΐνης μεταφορέα του ψευδαργύρου (ZIP8) ρυθμίζουν την ικανότητα των AEC2s να λειτουργούν ως προγονικά κύτταρα προκειμένου να προάγουν την ανανέωση του κυψελιδικού επιθηλίου. Ειδικότερα, προτάθηκε ότι η ZIP8 ρυθμίζει την

ανανέωση των AEC2s μέσω της SIRT1. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι η ενεργοποίηση της SIRT1 σχετίζεται άμεσα με την προγονική λειτουργία των AEC2s και ότι η μειωμένη έκφραση της SIRT1 στα AEC2s ασθενών με ΙΠΠ συμβάλλει στην εξασθενημένη ικανότητα ανανέωσης των κυττάρων του αναπνευστικού επιθηλίου [300]. Σε μελέτη που χρησιμοποιήθηκαν πνευμονικοί ινοβλάστες ποντικών, διαπιστώθηκε ότι η έκφραση της SIRT1 στους πνευμονικούς ινοβλάστες και η βιταμίνη D του ορού μειώνονται κατά τη διαδικασία γήρανσης και ενεργοποιούν το σηματοδοτικό μονοπάτι των TGFβ1/IL-11/MEK/ERK, προάγοντας με αυτόν τον τρόπο τη σχετιζόμενη με τη γήρανση πνευμονική ίνωση [349]. Άλλη μελέτη έδειξε ότι οι επίμυες που εκτέθηκαν στον καπνό του τσιγάρου παρουσίασαν επαγόμενη από τον καπνό γήρανση των AEC2s λόγω μειωμένης αυτοφαγίας που προκαλείται από αδρανοποίηση της SIRT1. Με τη σειρά της, η αναστολή της ικανότητας για αυτοφαγία μείωσε τη δραστηριότητα της SIRT1 προωθώντας τη βλάβη του DNA που σχετίζεται με το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες και επάγοντας με αυτόν τον τρόπο την πρόκληση πνευμονικής ίνωσης [342]. Στη βιβλιογραφία, ο ρόλος της SIRT1 σε μελέτες πνευμονικής ίνωσης επαγόμενης από τη μπλεομυκίνη παραμένει αντιφατικός. Στη μελέτη των Qian W et al, ένα από τα μακρά μη κωδικοποιητικά τμήματα του γονιδίου της SIRT1 (lncRNA sirt1 antisense - sirt1 AS) αναστέλλει αποτελεσματικά τη μεσολαβούμενη από τον TGF-β1 EMT in vitro και επιβραδύνει την εξέλιξη της ΙΠΠ in vivo. Η έκφραση της SIRT1 AS μειώνεται σημαντικά στην επαγόμενη από μπλεομυκίνη πνευμονική ίνωση [344]. Ομοίως, οι Rong et al απέδειξαν ότι η ρεσβερατρόλη, ένας ενεργοποιητής της SIRT1, αναστέλλει την επαγόμενη από μπλεομυκίνη πνευμονική ίνωση σε επίμυς μέσω της μείωσης της EMT [13]. Αντιθέτως, οι Rozenman et al. κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αναστολή της SIRT1 από την πρόσδεση στην υδρόφοβη τσέπη του μορίου της του MCH [4-(4-χλωρο-2-

μεθυλοφαινοξυ)-N-υδροξυβουταναμίδιο] έχει ως αποτέλεσμα την απόπτωση των μυοινοβλαστών σε ασθενείς με ΙΠΙ (μέσω της αύξησης της ακετυλίωσης του Ku70-αποσταθεροποίηση του Ku70/FLIP) [343]. Σε αυτά τα πειράματα, οι επιστήμονες χρησιμοποίησαν επίσης διαφοροποιημένους ανθρώπινους ινοβλάστες από πνεύμονες ασθενών με ΙΠΙ και υγιών.

Προ κλινικά και κλινικά δεδομένα έχουν αρχίσει να υποδηλώνουν ένα ρόλο για την οικογένεια των SIRTs στην παθογένεια της ΙΠΙ καθώς αποτελούν βασικούς κυτταρικούς μεσολαβητές της γήρανσης και της ίνωσης. Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί μελέτες που προσδίδουν στη SIRT1 συγκεκριμένους ρόλους στην ανάπτυξη της ΙΠΙ. Στην παρούσα μελέτη, αναφέραμε μειωμένα επίπεδα SIRT1 στο υπερκείμενο υγρό χωρίς ορό των PBMCs που απομονώθηκαν από άτομα με ΙΠΙ, ενώ τα μειωμένα επίπεδα της SIRT1 ήταν προγνωστικά της ΙΠΙ, ανεξάρτητα από την ηλικία και το φύλο. Ένας εύλογος μηχανισμός με τον οποίο η SIRT1 μπορεί να εμπλέκεται στην ΙΠΙ βασίζεται στο ρόλο της SIRT1 στη μείωση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Επιπλέον, η SIRT1 μπορεί να αναστείλει την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση, ένα βασικό συστατικό της εναπόθεσης εξωκυττάριας ουσίας που εμπλέκεται στην παθογένεια της ΙΠΙ [255]. Η SIRT1, όπως αναφέρθηκε και στο γενικό μέρος εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένης της επιβίωσης των κυττάρων, της γήρανσης, της επιδιόρθωσης του DNA, της φλεγμονής και της αυτοφαγίας. Επιπλέον, η SIRT1 είναι μια ισχυρή ενδογενής αντι-ινωτική πρωτεΐνη. Οι προαναφερθείσες παρατηρήσεις χρειάζονται περαιτέρω επιβεβαίωση σε μεγαλύτερες μελέτες για την ΙΠΙ πριν εξαχθούν οριστικά συμπεράσματα.

Μετρήσαμε επίσης τον TGF- β 1 στο πλάσμα και στις δύο ομάδες ασθενών και παρατηρήσαμε αυξημένη συγκέντρωση TGF- β 1 στην ομάδα της ΙΠΙ. Ο TGF- β προάγει

την ινωτική διαδικασία στην ΙΠΙ μέσω διαφόρων οδών σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένης της σηματοδότησης Smad, MAPK και ERK και επηρεάζοντας το οξειδωτικό στρες [337]. Οι τύποι κυττάρων/ιστών που έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορα πειράματα στη βιβλιογραφία είναι οι ανθρώπινοι πνευμονικοί ινοβλάστες, οι πνευμονικοί ινοβλάστες ποντικών, τα ανθρώπινα εμβρυϊκά πνευμονικά μεσεγχυματικά κύτταρα, τα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα ανθρώπινα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα και τα ανθρώπινα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα (A549). Η επίδραση του TGF-β1 στην ΙΠΙ είναι ευοδωτική της ινωτικής διεργασίας, ωστόσο, υπάρχουν ορισμένοι αυτοπεριοριζόμενοι μηχανισμοί. Συγκεκριμένα, οι Wei et al. έδειξαν στη μελέτη τους ότι ο TGF-β1 επάγει το miR-133a, το οποίο αναστέλλει τη διαφοροποίηση των μυοϊνοβλαστών και την πνευμονική ίνωση με έναν αυτορρυθμιζόμενο μηχανισμό. Ο TGF-β1 λειτουργεί δηλαδή ρυθμιστής του μηχανισμού αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης στο μονοπάτι της ινογένεσης [345]. Τα αποτελέσματά μας παρέχουν περαιτέρω επιβεβαίωση του ρόλου του TGF-β στην ΙΠΙ και συμφωνούν με αυτά της διεθνούς βιβλιογραφίας. Το 2016 οι Molina-Molina et al, απέδειξαν υψηλή συγκέντρωση του TGFβ1 στο πλάσμα ασθενών με ΙΠΙ [350]. Το 2012 σε άλλη μελέτη που απέδειξε ότι ο TGFβ1 αυξάνει την ικανότητα για αγγειογένεση των προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων, μετρήθηκαν και πάλι τα επίπεδα του TGFβ1 στο πλάσμα ασθενών με ΙΠΙ και υγιών εθελοντών και βρέθηκαν αυξημένα στην ομάδα των ασθενών[351]. Και σε άλλη μελέτη που μετρήθηκαν τα επίπεδα του TGFβ1 στον ορό ασθενών με ιδιοπαθείς διάμεσες πνευμονοπάθειες (μέσα στους οποίους οι μισοί ήταν ασθενείς με ΙΠΙ) βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα από την ομάδα των υγιών, ενώ δε διέφεραν μεταξύ των ασθενών με τις διάφορες μορφές διάμεσων πνευμονοπαθειών [352]. Τέλος, σε μια πιο πρόσφατη μελέτη του 2023, οι ερευνητές σε μια προσπάθεια να προσδιορίσουν τα επίπεδα του TGFβ1 που προέρχονται από τα

αιμοπετάλια, χρησιμοποιώντας πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα, διαπίστωσαν μεγαλύτερη συγκέντρωση του TGFβ1 στους ασθενείς με ΙΠΙ συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου χωρίς ωστόσο να υπάρχει στατιστική σημαντικότητα σε αυτό το εύρημα [353].

Όπως αναμένονταν, η συγκέντρωση της SIRT1 ήταν υψηλότερη στα PBMCs (ενδοκυτταρική πρωτεΐνη) και κατά φθίνουσα σειρά στο υπερκείμενο υγρό με ορό, στο πλάσμα και στο υπερκείμενο χωρίς ορό και στις δύο ομάδες (ασθενείς με ΙΠΙ και ομάδα ελέγχου). Εντύπωση προκαλεί η στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη συγκέντρωση SIRT1 στο υπερκείμενο με ορό σε σύγκριση με το υπερκείμενο χωρίς ορό και στις δύο ομάδες. Η παρουσία ή απουσία ορού κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των PBMCs παίζει σημαντικό ρόλο όπως φαίνεται στην παραγωγή SIRT1 από αυτά. Αν υποθέσουμε ότι η απουσία ορού στο καλλιεργητικό μέσο ισοδυναμεί με μια κατάσταση stress για το κύτταρο, η χαμηλότερη συγκέντρωση της SIRT1 στο υπερκείμενο χωρίς ορό ίσως να μπορούσε να μεταφραστεί σε χαμηλότερη παραγωγή της από τα PBMCs σε συνθήκες stress. Ενδιαφέρον επίσης προκαλεί η απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στη συγκέντρωση της SIRT1 μεταξύ των PBMCs και του υπερκείμενου υγρού της καλλιέργειας των PBMCs μετά την προσθήκη ορού μόνο στην ομάδα των ασθενών με ΙΠΙ. Αυτή η διαφορά πιθανώς υποδηλώνει αυξημένη έκκριση SIRT1 από τα PBMCs και πιθανή αδυναμία των PBMCs να συγκρατήσουν τη SIRT1 στον ενδοκυττάριο χώρο, πιθανώς στο πλαίσιο μιας μετάλλαξης στο γονίδιο της SIRT1 στους ασθενείς με ΙΠΙ.

Η μελέτη μας έχει πολλά πλεονεκτήματα αλλά και περιορισμούς. Χρησιμοποιήσαμε μια μάλλον μικρή ομάδα ασθενών με ΙΠΙ. Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η ΙΠΙ αντιπροσωπεύει μια σπάνια διάμεση πνευμονοπάθεια με ετήσια επίπτωση 10 ανά 100.000 άτομα [346]. Επιπλέον, η ΙΠΙ έχει κακή πρόγνωση, με μέση επιβίωση 2,5-5 χρόνια, οπότε η δεξαμενή των ασθενών είναι μάλλον μικρή. Ένας ακόμη περιορισμός είναι το γεγονός

ότι οι ασθενείς δεν αξιολογήθηκαν τόσο διαχρονικά όσο και πριν και μετά τη λήψη αντι-ινωτικής θεραπείας για πιθανές διαφορές στα επίπεδα SIRT1 και/ή TGF-β1.

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση είναι μια θανατηφόρα ασθένεια που σχετίζεται με την ηλικία με άγνωστη αιτιολογία και χωρίς καμία αποτελεσματική ιατρική θεραπεία. Οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν αναπνευστική επιδείνωση με επακόλουθη αναπνευστική ανεπάρκεια και θάνατο εντός δύο έως τριών ετών από τη διάγνωση ενώ παράλληλα η συχνότητα εμφάνισης της ΙΠΙ συνεχίζει να αυξάνεται. Κατά συνέπεια, είναι σημαντικό να διερευνηθούν μόρια με πιθανό ρόλο στην ΙΠΙ. Συγκρίναμε τη συγκέντρωση της SIRT1 στο πλάσμα, στα PBMCs και στο υπερκείμενο υγρό των PBMCs μετά την καλλιέργειά τους με και χωρίς την προσθήκη ανθρώπινου ορού. Βρήκαμε σημαντικά μειωμένη τη SIRT1 στο υπερκείμενο των PBMCs των ασθενών με ΙΠΙ σε σύγκριση με την υγιή ομάδα, ενώ χαμηλότερη συγκέντρωση SIRT1 στο υπερκείμενο χωρίς ορό φάνηκε να είναι προγνωστική της ΙΠΙ. Αξιολογήσαμε επίσης τη συγκέντρωση του TGF-β1 στο πλάσμα και τη βρήκαμε υψηλότερη στην ομάδα της ΙΠΙ. Τα ευρήματά μας υποστηρίζουν την πιθανή εμπλοκή της SIRT1 στην παθογένεια ή/και τη διάγνωση και την πρόγνωση της ΙΠΙ.

Οι προαναφερθείσες παρατηρήσεις χρειάζονται περαιτέρω επιβεβαίωση με μελλοντικές μελέτες οι οποίες θα περιλαμβάνουν μεγαλύτερο αριθμό ασθενών. Τέλος ο προσδιορισμός της SIRT1 σε διάφορες χρονικές περιόδους, σε κάθε στάδιο της ΙΠΙ, ακόμη και κατά τις παροξύνσεις της νόσου και η αξιολόγηση των επιπέδων της σε σχέση με τη λήψη των διαθέσιμων αντι-ινωτικών φαρμάκων αποτελούν πιθανούς μελλοντικούς στόχους.

Βιβλιογραφία

- [1] G. Raghu *et al.*, ‘Idiopathic Pulmonary Fibrosis (an Update) and Progressive Pulmonary Fibrosis in Adults: An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 205, no. 9, pp. e18–e47, May 2022, doi: 10.1164/rccm.202202-0399ST.
- [2] M. J. G. Van Manen *et al.*, ‘Cough in idiopathic pulmonary fibrosis’, *Eur. Respir. Rev.*, vol. 25, no. 141, pp. 278–286, Sep. 2016, doi: 10.1183/16000617.0090-2015.
- [3] H. J. Kim, D. Perlman, and R. Tomic, ‘Natural history of idiopathic pulmonary fibrosis’, *Respir. Med.*, vol. 109, no. 6, pp. 661–670, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.rmed.2015.02.002.
- [4] I. A. Cox *et al.*, ‘Health-related quality of life of patients with idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review and meta-analysis’, *Eur. Respir. Rev.*, vol. 29, no. 158, p. 200154, Dec. 2020, doi: 10.1183/16000617.0154-2020.
- [5] M. J. G. Van Manen, J. J. Miranda. Geelhoed, N. C. Tak, and M. S. Wijsenbeek, ‘Optimizing quality of life in patients with idiopathic pulmonary fibrosis’, *Ther. Adv. Respir. Dis.*, vol. 11, no. 3, pp. 157–169, Mar. 2017, doi: 10.1177/1753465816686743.
- [6] M. Kreuter *et al.*, ‘The clinical course of idiopathic pulmonary fibrosis and its association to quality of life over time: longitudinal data from the INSIGHTS-IPF registry’, *Respir. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 59, Dec. 2019, doi: 10.1186/s12931-019-1020-3.
- [7] H. Orbach, M. Karlinskaya, and O. Fruchter, ‘Idiopathic Pulmonary Fibrosis’, *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, no. 8, p. 796, Aug. 2018, doi: 10.1056/NEJMc1807508.
- [8] B. Hinz, S. H. Phan, V. J. Thannickal, A. Galli, M.-L. Bochaton-Piallat, and G. Gabbiani, ‘The Myofibroblast’, *Am. J. Pathol.*, vol. 170, no. 6, pp. 1807–1816, Jun. 2007, doi: 10.2353/ajpath.2007.070112.
- [9] H. A. Chapman, ‘Disorders of lung matrix remodeling’, *J. Clin. Invest.*, vol. 113, no. 2, pp. 148–157, Jan. 2004, doi: 10.1172/JCI20729.
- [10] B. Hinz *et al.*, ‘Recent Developments in Myofibroblast Biology’, *Am. J. Pathol.*, vol. 180, no. 4, pp. 1340–1355, Apr. 2012, doi: 10.1016/j.ajpath.2012.02.004.
- [11] T. A. Wynn, ‘Integrating mechanisms of pulmonary fibrosis’, *J. Exp. Med.*, vol. 208, no. 7, pp. 1339–1350, Jul. 2011, doi: 10.1084/jem.20110551.
- [12] S. Mazumder, M. Barman, U. Bandyopadhyay, and S. Bindu, ‘Sirtuins as endogenous regulators of lung fibrosis: A current perspective’, *Life Sci.*, vol. 258, p. 118201, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.lfs.2020.118201.
- [13] L. Rong, J. Wu, W. Wang, R.-P. Zhao, X.-W. Xu, and D. Hu, ‘Sirt 1 activator attenuates the bleomycin-induced lung fibrosis in mice via inhibiting epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)’, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 20, no. 10, pp. 2144–2150, Dec. 2016.

- [14] W. D. Travis *et al.*, ‘An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 188, no. 6, pp. 733–748, Sep. 2013, doi: 10.1164/rccm.201308-1483ST.
- [15] G. Raghu, D. Weycker, J. Edelsberg, W. Z. Bradford, and G. Oster, ‘Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 174, no. 7, pp. 810–816, Oct. 2006, doi: 10.1164/rccm.200602-163OC.
- [16] G. Raghu *et al.*, ‘Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: incidence, prevalence, and survival, 2001–11’, *Lancet Respir. Med.*, vol. 2, no. 7, pp. 566–572, Jul. 2014, doi: 10.1016/S2213-2600(14)70101-8.
- [17] H. R. Collard *et al.*, ‘Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An International Working Group Report’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 194, no. 3, pp. 265–275, Aug. 2016, doi: 10.1164/rccm.201604-0801CI.
- [18] B. Ley, H. R. Collard, and T. E. King, ‘Clinical course and prediction of survival in idiopathic pulmonary fibrosis’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 183, no. 4, pp. 431–440, Feb. 2011, doi: 10.1164/rccm.201006-0894CI.
- [19] H. F. Nadrous, J. L. Myers, P. A. Decker, and J. H. Ryu, ‘Idiopathic pulmonary fibrosis in patients younger than 50 years’, *Mayo Clin. Proc.*, vol. 80, no. 1, pp. 37–40, Jan. 2005, doi: 10.1016/S0025-6196(11)62955-8.
- [20] M. Armanios, ‘Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis’, *Mutat. Res.*, vol. 730, no. 1–2, pp. 52–58, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.10.013.
- [21] J. Hutchinson, A. Fogarty, R. Hubbard, and T. McKeever, ‘Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review’, *Eur. Respir. J.*, vol. 46, no. 3, pp. 795–806, Sep. 2015, doi: 10.1183/09031936.00185114.
- [22] S. C. Schäfer, M. Funke-Chambour, and S. Berezowska, ‘[Idiopathic pulmonary fibrosis-epidemiology, causes, and clinical course]’, *Pathol.*, vol. 41, no. 1, pp. 46–51, Feb. 2020, doi: 10.1007/s00292-019-00747-x.
- [23] T. M. Maher *et al.*, ‘Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis’, *Respir. Res.*, vol. 22, no. 1, p. 197, Dec. 2021, doi: 10.1186/s12931-021-01791-z.
- [24] T. E. King, J. A. Tooze, M. I. Schwarz, K. R. Brown, and R. M. Cherniack, ‘Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis: scoring system and survival model’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 164, no. 7, pp. 1171–1181, Oct. 2001, doi: 10.1164/ajrccm.164.7.2003140.
- [25] C. Wells and D. M. Mannino, ‘Pulmonary fibrosis and lung cancer in the United States: analysis of the multiple cause of death mortality data, 1979 through 1991’, *South. Med. J.*, vol. 89, no. 5, pp. 505–510, Dec. 1996, doi: 10.1097/00007611-199605000-00012.
- [26] K. M. Mortimer *et al.*, ‘Characterizing Health Outcomes in Idiopathic Pulmonary Fibrosis using US Health Claims Data’, *Respiration*, vol. 99, no. 2, pp. 108–118, 2020, doi: 10.1159/000504630.

- [27] J. Behr *et al.*, 'Management of patients with idiopathic pulmonary fibrosis in clinical practice: the INSIGHTS-IPF registry', *Eur. Respir. J.*, vol. 46, no. 1, pp. 186–196, Jul. 2015, doi: 10.1183/09031936.00217614.
- [28] E. M Lambert, W. A Wuyts, J. Yserbyt, and L. J. De Sadeleer, 'Statins: cause of fibrosis or the opposite? Effect of cardiovascular drugs in idiopathic pulmonary fibrosis', *Respir. Med.*, vol. 176, p. 106259, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.rmed.2020.106259.
- [29] N. Jeganathan, R. A. Smith, and M. Sathananthan, 'Mortality Trends of Idiopathic Pulmonary Fibrosis in the United States From 2004 Through 2017', *Chest*, vol. 159, no. 1, pp. 228–238, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.chest.2020.08.016.
- [30] A. Guenther *et al.*, 'The European IPF registry (eurIPFreg): baseline characteristics and survival of patients with idiopathic pulmonary fibrosis', *Respir. Res.*, vol. 19, no. 1, p. 141, Jul. 2018, doi: 10.1186/s12931-018-0845-5.
- [31] M. Zurkova *et al.*, 'Effect of pirfenidone on lung function decline and survival: 5-yr experience from a real-life IPF cohort from the Czech EMPIRE registry', *Respir. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 16, Jan. 2019, doi: 10.1186/s12931-019-0977-2.
- [32] G. Raghu *et al.*, 'Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 198, no. 5, pp. e44–e68, Sep. 2018, doi: 10.1164/rccm.201807-1255ST.
- [33] G. Raghu, V. C. Amatto, J. Behr, and S. Stowasser, 'Comorbidities in idiopathic pulmonary fibrosis patients: a systematic literature review', *Eur. Respir. J.*, vol. 46, no. 4, pp. 1113–1130, Oct. 2015, doi: 10.1183/13993003.02316-2014.
- [34] G. Raghu *et al.*, 'An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 183, no. 6, pp. 788–824, Mar. 2011, doi: 10.1164/rccm.2009-040GL.
- [35] L. Richeldi, H. R. Collard, and M. G. Jones, 'Idiopathic pulmonary fibrosis', *The Lancet*, vol. 389, no. 10082, pp. 1941–1952, May 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)30866-8.
- [36] D. J. Lamas, S. M. Kawut, E. Bagiella, N. Philip, S. M. Arcasoy, and D. J. Lederer, 'Delayed access and survival in idiopathic pulmonary fibrosis: a cohort study', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 184, no. 7, pp. 842–847, Oct. 2011, doi: 10.1164/rccm.201104-0668OC.
- [37] G. P. Cosgrove, P. Bianchi, S. Danese, and D. J. Lederer, 'Barriers to timely diagnosis of interstitial lung disease in the real world: the INTENSITY survey', *BMC Pulm. Med.*, vol. 18, no. 1, p. 9, Dec. 2018, doi: 10.1186/s12890-017-0560-x.
- [38] W. A. Wuyts *et al.*, 'Baseline clinical characteristics, comorbidities and prescribed medication in a real-world population of patients with idiopathic pulmonary fibrosis: the PROOF registry', *BMJ Open Respir. Res.*, vol. 5, no. 1, p. e000331, 2018, doi: 10.1136/bmjresp-2018-000331.

- [39] N. Hoyer, T. S. Prior, E. Bendstrup, T. Wilcke, and S. B. Shaker, 'Risk factors for diagnostic delay in idiopathic pulmonary fibrosis', *Respir. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 103, Dec. 2019, doi: 10.1186/s12931-019-1076-0.
- [40] N. Hoyer, T. S. Prior, E. Bendstrup, and S. B. Shaker, 'Diagnostic delay in IPF impacts progression-free survival, quality of life and hospitalisation rates', *BMJ Open Respir. Res.*, vol. 9, no. 1, p. e001276, Jul. 2022, doi: 10.1136/bmjresp-2022-001276.
- [41] G. Raghu, M. Remy-Jardin, J. Myers, L. Richeldi, and K. C. Wilson, 'The 2018 Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Guidelines: Surgical Lung Biopsy for Radiological Pattern of Probable Usual Interstitial Pneumonia Is Not Mandatory', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 200, no. 9, pp. 1089–1092, Nov. 2019, doi: 10.1164/rccm.201907-1324ED.
- [42] P. Spagnolo *et al.*, 'Non-steroid agents for idiopathic pulmonary fibrosis', *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 9, p. CD003134, Sep. 2010, doi: 10.1002/14651858.CD003134.pub2.
- [43] H. R. Davies, L. Richeldi, and E. H. Walters, 'Immunomodulatory agents for idiopathic pulmonary fibrosis', *Cochrane Database Syst. Rev.*, no. 3, p. CD003134, 2003, doi: 10.1002/14651858.CD003134.
- [44] The Idiopathic Pulmonary Fibrosis Clinical Research Network, 'Prednisone, Azathioprine, and *N*-Acetylcysteine for Pulmonary Fibrosis', *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, no. 21, pp. 1968–1977, May 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1113354.
- [45] G. Raghu *et al.*, 'An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline: Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Update of the 2011 Clinical Practice Guideline', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 192, no. 2, pp. e3-19, Jul. 2015, doi: 10.1164/rccm.201506-1063ST.
- [46] C. Albera *et al.*, 'Efficacy of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis with more preserved lung function', *Eur. Respir. J.*, vol. 48, no. 3, pp. 843–851, Sep. 2016, doi: 10.1183/13993003.01966-2015.
- [47] M. Kolb *et al.*, 'Nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and preserved lung volume', *Thorax*, vol. 72, no. 4, pp. 340–346, Apr. 2017, doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208710.
- [48] T. M. Maher and M. E. Streck, 'Antifibrotic therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: time to treat', *Respir. Res.*, vol. 20, no. 1, p. 205, Sep. 2019, doi: 10.1186/s12931-019-1161-4.
- [49] L. Richeldi *et al.*, 'Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis', *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, no. 22, pp. 2071–2082, Dec. 2014, doi: 10.1056/NEJMoa1402584.
- [50] T. E. King *et al.*, 'A phase 3 trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis', *N. Engl. J. Med.*, vol. 370, no. 22, pp. 2083–2092, Dec. 2014, doi: 10.1056/NEJMoa1402582.

- [51] B. Ley *et al.*, 'Pirfenidone Reduces Respiratory-related Hospitalizations in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 196, no. 6, pp. 756–761, Sep. 2017, doi: 10.1164/rccm.201701-0091OC.
- [52] U. Costabel *et al.*, 'Efficacy of Nintedanib in Idiopathic Pulmonary Fibrosis across Prespecified Subgroups in INPULSIS', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 193, no. 2, pp. 178–185, Jan. 2016, doi: 10.1164/rccm.201503-0562OC.
- [53] S. D. Nathan *et al.*, 'Effect of pirfenidone on mortality: pooled analyses and meta-analyses of clinical trials in idiopathic pulmonary fibrosis', *Lancet Respir. Med.*, vol. 5, no. 1, pp. 33–41, Jan. 2017, doi: 10.1016/S2213-2600(16)30326-5.
- [54] L. Richeldi *et al.*, 'Nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: Combined evidence from the TOMORROW and INPULSIS(®) trials', *Respir. Med.*, vol. 113, pp. 74–79, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.rmed.2016.02.001.
- [55] W. J. Canestaro, S. H. Forrester, G. Raghu, L. Ho, and B. E. Devine, 'Drug Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Systematic Review and Network Meta-Analysis', *Chest*, vol. 149, no. 3, pp. 756–766, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.chest.2015.11.013.
- [56] B. Rochwerg *et al.*, 'Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a network meta-analysis', *BMC Med.*, vol. 14, p. 18, Feb. 2016, doi: 10.1186/s12916-016-0558-x.
- [57] F. Hilberg *et al.*, 'BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy', *Cancer Res.*, vol. 68, no. 12, pp. 4774–4782, Jun. 2008, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6307.
- [58] K. E. Hostettler *et al.*, 'Anti-fibrotic effects of nintedanib in lung fibroblasts derived from patients with idiopathic pulmonary fibrosis', *Respir. Res.*, vol. 15, no. 1, p. 157, Dec. 2014, doi: 10.1186/s12931-014-0157-3.
- [59] S. Sato *et al.*, 'Anti-fibrotic efficacy of nintedanib in pulmonary fibrosis via the inhibition of fibrocyte activity', *Respir. Res.*, vol. 18, no. 1, p. 172, Dec. 2017, doi: 10.1186/s12931-017-0654-2.
- [60] L. Wollin, I. Maillet, V. Quesniaux, A. Holweg, and B. Ryffel, 'Antifibrotic and anti-inflammatory activity of the tyrosine kinase inhibitor nintedanib in experimental models of lung fibrosis', *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 349, no. 2, pp. 209–220, Dec. 2014, doi: 10.1124/jpet.113.208223.
- [61] H. Nakazato, H. Oku, S. Yamane, Y. Tsuruta, and R. Suzuki, 'A novel anti-fibrotic agent pirfenidone suppresses tumor necrosis factor-alpha at the translational level', *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 446, no. 1–3, pp. 177–185, Jun. 2002, doi: 10.1016/S0014-2999(02)01758-2.
- [62] S. N. Iyer, G. Gurujeyalakshmi, and S. N. Giri, 'Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis', *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 291, no. 1, pp. 367–373, Oct. 1999.
- [63] S. N. Iyer, G. Gurujeyalakshmi, and S. N. Giri, 'Effects of pirfenidone on procollagen gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis', *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, vol. 289, no. 1, pp. 211–218, Apr. 1999.

- [64] H. Oku *et al.*, 'Antifibrotic action of pirfenidone and prednisolone: different effects on pulmonary cytokines and growth factors in bleomycin-induced murine pulmonary fibrosis', *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 590, no. 1–3, pp. 400–408, Aug. 2008, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.06.046.
- [65] P. W. Noble *et al.*, 'Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials', *Lancet Lond. Engl.*, vol. 377, no. 9779, pp. 1760–1769, Dec. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60405-4.
- [66] S. S. Jacobs *et al.*, 'Home Oxygen Therapy for Adults with Chronic Lung Disease. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 202, no. 10, pp. e121–e141, Nov. 2020, doi: 10.1164/rccm.202009-3608ST.
- [67] L. M. Dowman *et al.*, 'Greater endurance capacity and improved dyspnoea with acute oxygen supplementation in idiopathic pulmonary fibrosis patients without resting hypoxaemia', *Respirol. Carlton Vic*, vol. 22, no. 5, pp. 957–964, Jul. 2017, doi: 10.1111/resp.13002.
- [68] L. M. Dowman *et al.*, 'The evidence of benefits of exercise training in interstitial lung disease: a randomised controlled trial', *Thorax*, vol. 72, no. 7, pp. 610–619, Jul. 2017, doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-208638.
- [69] L. Dowman, C. J. Hill, A. May, and A. E. Holland, 'Pulmonary rehabilitation for interstitial lung disease', *Cochrane Database Syst. Rev.*, vol. 2, no. 2, p. CD006322, Feb. 2021, doi: 10.1002/14651858.CD006322.pub4.
- [70] D. C. Chambers *et al.*, 'The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-sixth adult lung and heart-lung transplantation Report-2019; Focus theme: Donor and recipient size match', *J. Heart Lung Transplant. Off. Publ. Int. Soc. Heart Transplant.*, vol. 38, no. 10, pp. 1042–1055, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.healun.2019.08.001.
- [71] S. G. Kapnadak and G. Raghu, 'Lung transplantation for interstitial lung disease', *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.*, vol. 30, no. 161, p. 210017, Sep. 2021, doi: 10.1183/16000617.0017-2021.
- [72] L. E. Leard *et al.*, 'Consensus document for the selection of lung transplant candidates: An update from the International Society for Heart and Lung Transplantation', *J. Heart Lung Transplant. Off. Publ. Int. Soc. Heart Transplant.*, vol. 40, no. 11, pp. 1349–1379, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.healun.2021.07.005.
- [73] G. Raghu *et al.*, 'FG-3019 anti-connective tissue growth factor monoclonal antibody: results of an open-label clinical trial in idiopathic pulmonary fibrosis', *Eur. Respir. J.*, vol. 47, no. 5, pp. 1481–1491, Dec. 2016, doi: 10.1183/13993003.01030-2015.
- [74] C. A. Kuttruff *et al.*, 'Discovery of BI-2545: A Novel Autotaxin Inhibitor That Significantly Reduces LPA Levels in Vivo', *ACS Med. Chem. Lett.*, vol. 8, no. 12, pp. 1252–1257, Dec. 2017, doi: 10.1021/acsmchemlett.7b00312.
- [75] A. Nikolaou, M. G. Kokotou, D. Limnios, A. Psarra, and G. Kokotos, 'Autotaxin inhibitors: a patent review (2012-2016)', *Expert Opin. Ther. Pat.*, vol. 27, no. 7, pp. 815–829, Jul. 2017, doi: 10.1080/13543776.2017.1323331.

- [76] S. D. Nathan *et al.*, ‘Study design and rationale for the TETON phase 3, randomised, controlled clinical trials of inhaled treprostinil in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis’, *BMJ Open Respir. Res.*, vol. 9, no. 1, p. e001310, Jul. 2022, doi: 10.1136/bmjresp-2022-001310.
- [77] B. van den Blink *et al.*, ‘Recombinant human pentraxin-2 therapy in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: safety, pharmacokinetics and exploratory efficacy’, *Eur. Respir. J.*, vol. 47, no. 3, pp. 889–897, Mar. 2016, doi: 10.1183/13993003.00850-2015.
- [78] I. E. Fernandez and O. Eickelberg, ‘New cellular and molecular mechanisms of lung injury and fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis’, *The Lancet*, vol. 380, no. 9842, pp. 680–688, Aug. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)61144-1.
- [79] S. K. Mathai, C. A. Newton, D. A. Schwartz, and C. K. Garcia, ‘Pulmonary fibrosis in the era of stratified medicine’, *Thorax*, vol. 71, no. 12, pp. 1154–1160, Dec. 2016, doi: 10.1136/thoraxjnl-2016-209172.
- [80] T. Koudstaal and M. S. Wijsenbeek, ‘Idiopathic pulmonary fibrosis’, *Presse Médicale*, vol. 52, no. 3, p. 104166, Sep. 2023, doi: 10.1016/j.lpm.2023.104166.
- [81] J. E. Loyd, ‘Pulmonary fibrosis in families’, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 29, no. 3 Suppl, pp. S47-50, Sep. 2003.
- [82] B. A. Fernandez *et al.*, ‘A Newfoundland cohort of familial and sporadic idiopathic pulmonary fibrosis patients: clinical and genetic features’, *Respir. Res.*, vol. 13, no. 1, p. 64, Dec. 2012, doi: 10.1186/1465-9921-13-64.
- [83] O. C. Leavy *et al.*, ‘Proportion of Idiopathic Pulmonary Fibrosis Risk Explained by Known Common Genetic Loci in European Populations’, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 203, no. 6, pp. 775–778, Mar. 2021, doi: 10.1164/rccm.202008-3211LE.
- [84] T. Mushiroda *et al.*, ‘A genome-wide association study identifies an association of a common variant in TERT with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis’, *J. Med. Genet.*, vol. 45, no. 10, pp. 654–656, Jun. 2008, doi: 10.1136/jmg.2008.057356.
- [85] I. Noth *et al.*, ‘Genetic variants associated with idiopathic pulmonary fibrosis susceptibility and mortality: a genome-wide association study’, *Lancet Respir. Med.*, vol. 1, no. 4, pp. 309–317, Jun. 2013, doi: 10.1016/S2213-2600(13)70045-6.
- [86] T. E. Fingerlin *et al.*, ‘Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for pulmonary fibrosis’, *Nat. Genet.*, vol. 45, no. 6, pp. 613–620, Jun. 2013, doi: 10.1038/ng.2609.
- [87] T. E. Fingerlin *et al.*, ‘Genome-wide imputation study identifies novel HLA locus for pulmonary fibrosis and potential role for auto-immunity in fibrotic idiopathic interstitial pneumonia’, *BMC Genet.*, vol. 17, no. 1, p. 74, Dec. 2016, doi: 10.1186/s12863-016-0377-2.
- [88] R. J. Allen *et al.*, ‘Genetic variants associated with susceptibility to idiopathic pulmonary fibrosis in people of European ancestry: a genome-wide association study’, *Lancet Respir. Med.*, vol. 5, no. 11, pp. 869–880, Nov. 2017, doi: 10.1016/S2213-2600(17)30387-9.

- [89] A. L. Peljto *et al.*, 'Idiopathic Pulmonary Fibrosis Is Associated with Common Genetic Variants and Limited Rare Variants', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 207, no. 9, pp. 1194–1202, May 2023, doi: 10.1164/rccm.202207-1331OC.
- [90] Q.-Q. Zhu *et al.*, 'Association Between the MUC5B Promoter Polymorphism rs35705950 and Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Meta-analysis and Trial Sequential Analysis in Caucasian and Asian Populations', *Medicine (Baltimore)*, vol. 94, no. 43, p. e1901, Oct. 2015, doi: 10.1097/MD.0000000000001901.
- [91] M. A. Seibold *et al.*, 'A Common *MUC5B* Promoter Polymorphism and Pulmonary Fibrosis', *N. Engl. J. Med.*, vol. 364, no. 16, pp. 1503–1512, Apr. 2011, doi: 10.1056/NEJMoa1013660.
- [92] D. Biondini *et al.*, 'Prognostic role of MUC5B rs35705950 genotype in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) on antifibrotic treatment', *Respir. Res.*, vol. 22, no. 1, p. 98, Apr. 2021, doi: 10.1186/s12931-021-01694-z.
- [93] Y. Hao *et al.*, 'Genome-Wide Association Study: Functional Variant rs2076295 Regulates Desmoplakin Expression in Airway Epithelial Cells', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 202, no. 9, pp. 1225–1236, Nov. 2020, doi: 10.1164/rccm.201910-1958OC.
- [94] M. A. Coghlan *et al.*, 'Sequencing of idiopathic pulmonary fibrosis-related genes reveals independent single gene associations', *BMJ Open Respir. Res.*, vol. 1, no. 1, p. e000057, Dec. 2014, doi: 10.1136/bmjresp-2014-000057.
- [95] S. Petrovski *et al.*, 'An Exome Sequencing Study to Assess the Role of Rare Genetic Variation in Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 196, no. 1, pp. 82–93, Jul. 2017, doi: 10.1164/rccm.201610-2088OC.
- [96] J. A. Kropski *et al.*, 'Genetic Evaluation and Testing of Patients and Families with Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 195, no. 11, pp. 1423–1428, Jun. 2017, doi: 10.1164/rccm.201609-1820PP.
- [97] R. J. Allen *et al.*, 'Genome-Wide Association Study of Susceptibility to Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 201, no. 5, pp. 564–574, Mar. 2020, doi: 10.1164/rccm.201905-1017OC.
- [98] M. R. Nelson *et al.*, 'The support of human genetic evidence for approved drug indications', *Nat. Genet.*, vol. 47, no. 8, pp. 856–860, Aug. 2015, doi: 10.1038/ng.3314.
- [99] B. J. Moss, S. W. Ryter, and I. O. Rosas, 'Pathogenic Mechanisms Underlying Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Annu. Rev. Pathol.*, vol. 17, pp. 515–546, Jan. 2022, doi: 10.1146/annurev-pathol-042320-030240.
- [100] A. Tzouveleakis and N. Kaminski, 'Epigenetics in idiopathic pulmonary fibrosis', *Biochem. Cell Biol. Biochim. Biol. Cell.*, vol. 93, no. 2, pp. 159–170, Apr. 2015, doi: 10.1139/bcb-2014-0126.
- [101] M. Vaz *et al.*, 'Chronic Cigarette Smoke-Induced Epigenomic Changes Precede Sensitization of Bronchial Epithelial Cells to Single-Step Transformation by KRAS Mutations', *Cancer Cell*, vol. 32, no. 3, pp. 360–376.e6, Sep. 2017, doi: 10.1016/j.ccell.2017.08.006.

- [102] A. Spira *et al.*, 'Effects of cigarette smoke on the human airway epithelial cell transcriptome', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 101, no. 27, pp. 10143–10148, Jul. 2004, doi: 10.1073/pnas.0401422101.
- [103] B. B. Moore and T. A. Moore, 'Viruses in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Etiology and Exacerbation', *Ann. Am. Thorac. Soc.*, vol. 12, no. Supplement 2, pp. S186–S192, Nov. 2015, doi: 10.1513/AnnalsATS.201502-088AW.
- [104] G. Sheng *et al.*, 'Viral Infection Increases the Risk of Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Chest*, vol. 157, no. 5, pp. 1175–1187, May 2020, doi: 10.1016/j.chest.2019.10.032.
- [105] J. A. Kropski *et al.*, 'Extensive phenotyping of individuals at risk for familial interstitial pneumonia reveals clues to the pathogenesis of interstitial lung disease', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 191, no. 4, pp. 417–426, Feb. 2015, doi: 10.1164/rccm.201406-1162OC.
- [106] O. S. Chioma and W. P. Drake, 'Role of Microbial Agents in Pulmonary Fibrosis', *Yale J. Biol. Med.*, vol. 90, no. 2, pp. 219–227, Jun. 2017.
- [107] A. Fastrès *et al.*, 'The Lung Microbiome in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Promising Approach for Targeted Therapies', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 12, p. 2735, Dec. 2017, doi: 10.3390/ijms18122735.
- [108] J. H. Lipinski, B. B. Moore, and D. N. O'Dwyer, 'The evolving role of the lung microbiome in pulmonary fibrosis', *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 319, no. 4, pp. L675–L682, Oct. 2020, doi: 10.1152/ajplung.00258.2020.
- [109] D. N. O'Dwyer and S. Garantziotis, 'The Lung Microbiome in Health, Hypersensitivity Pneumonitis, and Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Heavy Bacterial Burden to Bear', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 203, no. 3, pp. 281–283, Feb. 2021, doi: 10.1164/rccm.202007-2822ED.
- [110] F. J. Martinez *et al.*, 'Effect of Antimicrobial Therapy on Respiratory Hospitalization or Death in Adults With Idiopathic Pulmonary Fibrosis: The CleanUP-IPF Randomized Clinical Trial', *JAMA*, vol. 325, no. 18, pp. 1841–1851, Dec. 2021, doi: 10.1001/jama.2021.4956.
- [111] A. M. Wilson *et al.*, 'Effect of Co-trimoxazole (Trimethoprim-Sulfamethoxazole) vs Placebo on Death, Lung Transplant, or Hospital Admission in Patients With Moderate and Severe Idiopathic Pulmonary Fibrosis: The EME-TIPAC Randomized Clinical Trial', *JAMA*, vol. 324, no. 22, p. 2282, Dec. 2020, doi: 10.1001/jama.2020.22960.
- [112] M. K. Han *et al.*, 'Lung microbiome and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of the COMET study', *Lancet Respir. Med.*, vol. 2, no. 7, pp. 548–556, Jul. 2014, doi: 10.1016/S2213-2600(14)70069-4.
- [113] Y. Huang *et al.*, 'Microbes Are Associated with Host Innate Immune Response in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 196, no. 2, pp. 208–219, Jul. 2017, doi: 10.1164/rccm.201607-1525OC.

- [114] G. Raghu and K. C. Meyer, 'Silent gastro-oesophageal reflux and microaspiration in IPF: mounting evidence for anti-reflux therapy?', *Eur. Respir. J.*, vol. 39, no. 2, pp. 242–245, Feb. 2012, doi: 10.1183/09031936.00211311.
- [115] Y. T. Ghebre and G. Raghu, 'Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Novel Concepts of Proton Pump Inhibitors as Antifibrotic Drugs', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 193, no. 12, pp. 1345–1352, Jun. 2016, doi: 10.1164/rccm.201512-2316PP.
- [116] J. S. Lee *et al.*, 'Anti-acid treatment and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of data from three randomised controlled trials', *Lancet Respir. Med.*, vol. 1, no. 5, pp. 369–376, Jul. 2013, doi: 10.1016/S2213-2600(13)70105-X.
- [117] J. S. Lee *et al.*, 'Gastroesophageal Reflux Therapy Is Associated with Longer Survival in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 184, no. 12, pp. 1390–1394, Dec. 2011, doi: 10.1164/rccm.201101-0138OC.
- [118] C. Sack and G. Raghu, 'Idiopathic pulmonary fibrosis: unmasking cryptogenic environmental factors', *Eur. Respir. J.*, vol. 53, no. 2, p. 1801699, Feb. 2019, doi: 10.1183/13993003.01699-2018.
- [119] C. E. Barkauskas *et al.*, 'Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung', *J. Clin. Invest.*, vol. 123, no. 7, pp. 3025–3036, Jul. 2013, doi: 10.1172/JCI68782.
- [120] M. Selman and A. Pardo, 'Revealing the Pathogenic and Aging-related Mechanisms of the Enigmatic Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Integral Model', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 189, no. 10, pp. 1161–1172, May 2014, doi: 10.1164/rccm.201312-2221PP.
- [121] T. Parimon, C. Yao, B. R. Stripp, P. W. Noble, and P. Chen, 'Alveolar Epithelial Type II Cells as Drivers of Lung Fibrosis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no. 7, p. 2269, Mar. 2020, doi: 10.3390/ijms21072269.
- [122] Y. Xu *et al.*, 'Single-cell RNA sequencing identifies diverse roles of epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis', *JCI Insight*, vol. 1, no. 20, Dec. 2016, doi: 10.1172/jci.insight.90558.
- [123] J. Liang *et al.*, 'Hyaluronan and TLR4 promote surfactant-protein-C-positive alveolar progenitor cell renewal and prevent severe pulmonary fibrosis in mice', *Nat. Med.*, vol. 22, no. 11, pp. 1285–1293, Nov. 2016, doi: 10.1038/nm.4192.
- [124] C. Yao *et al.*, 'Senescence of Alveolar Type 2 Cells Drives Progressive Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 203, no. 6, pp. 707–717, Mar. 2021, doi: 10.1164/rccm.202004-1274OC.
- [125] A. Chakraborty, M. Mastalerz, M. Ansari, H. B. Schiller, and C. A. Staab-Weijnitz, 'Emerging Roles of Airway Epithelial Cells in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Cells*, vol. 11, no. 6, p. 1050, Mar. 2022, doi: 10.3390/cells11061050.
- [126] T. S. Adams *et al.*, 'Single-cell RNA-seq reveals ectopic and aberrant lung-resident cell populations in idiopathic pulmonary fibrosis', *Sci. Adv.*, vol. 6, no. 28, p. eaba1983, Jul. 2020, doi: 10.1126/sciadv.aba1983.

- [127] A. C. Habermann *et al.*, ‘Single-cell RNA sequencing reveals profibrotic roles of distinct epithelial and mesenchymal lineages in pulmonary fibrosis’, *Sci. Adv.*, vol. 6, no. 28, p. eaba1972, Jul. 2020, doi: 10.1126/sciadv.aba1972.
- [128] J. Choi *et al.*, ‘Inflammatory Signals Induce AT2 Cell-Derived Damage-Associated Transient Progenitors that Mediate Alveolar Regeneration’, *Cell Stem Cell*, vol. 27, no. 3, pp. 366–382.e7, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.stem.2020.06.020.
- [129] M. Chilosi *et al.*, ‘Abnormal re-epithelialization and lung remodeling in idiopathic pulmonary fibrosis: the role of deltaN-p63’, *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.*, vol. 82, no. 10, pp. 1335–1345, Oct. 2002, doi: 10.1097/01.lab.0000032380.82232.67.
- [130] A. Bharat *et al.*, ‘Lung transplantation for patients with severe COVID-19’, *Sci. Transl. Med.*, vol. 12, no. 574, p. eabe4282, Dec. 2020, doi: 10.1126/scitranslmed.abe4282.
- [131] V. D’Agnano *et al.*, ‘Sirtuins and Cellular Senescence in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Systemic Autoimmune Disorders’, *Drugs*, Apr. 2024, doi: 10.1007/s40265-024-02021-8.
- [132] T. R. Luckhardt and V. J. Thannickal, ‘Systemic sclerosis-associated fibrosis: an accelerated aging phenotype?’, *Curr. Opin. Rheumatol.*, vol. 27, no. 6, pp. 571–576, Nov. 2015, doi: 10.1097/BOR.0000000000000219.
- [133] N. W. Todd, I. G. Luzina, and S. P. Atamas, ‘Molecular and cellular mechanisms of pulmonary fibrosis’, *Fibrogenesis Tissue Repair*, vol. 5, no. 1, p. 11, Dec. 2012, doi: 10.1186/1755-1536-5-11.
- [134] J. M. Van Deursen, ‘The role of senescent cells in ageing’, *Nature*, vol. 509, no. 7501, pp. 439–446, May 2014, doi: 10.1038/nature13193.
- [135] F. Perrotta *et al.*, ‘Idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer: targeting the complexity of the pharmacological interconnection’, *Expert Rev. Respir. Med.*, vol. 16, no. 10, pp. 1043–1055, Oct. 2022, doi: 10.1080/17476348.2022.2145948.
- [136] G. M. Stella *et al.*, ‘The oncogenic landscape of the idiopathic pulmonary fibrosis: a narrative review’, *Transl. Lung Cancer Res.*, vol. 11, no. 3, pp. 472–496, Mar. 2022, doi: 10.21037/tlcr-21-880.
- [137] M. Korfei, B. MacKenzie, and S. Meiners, ‘The ageing lung under stress’, *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.*, vol. 29, no. 156, p. 200126, Jun. 2020, doi: 10.1183/16000617.0126-2020.
- [138] A. L. Mora, M. Bueno, and M. Rojas, ‘Mitochondria in the spotlight of aging and idiopathic pulmonary fibrosis’, *J. Clin. Invest.*, vol. 127, no. 2, pp. 405–414, Feb. 2017, doi: 10.1172/JCI87440.
- [139] M. Bueno *et al.*, ‘PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis’, *J. Clin. Invest.*, vol. 125, no. 2, pp. 521–538, Feb. 2015, doi: 10.1172/JCI74942.
- [140] W. R. Coward, G. Saini, and G. Jenkins, ‘The pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis’, *Ther. Adv. Respir. Dis.*, vol. 4, no. 6, pp. 367–388, Dec. 2010, doi: 10.1177/1753465810379801.

- [141] C. M. Evans *et al.*, 'Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Genetic Disease That Involves Mucociliary Dysfunction of the Peripheral Airways', *Physiol. Rev.*, vol. 96, no. 4, pp. 1567–1591, Oct. 2016, doi: 10.1152/physrev.00004.2016.
- [142] P. J. Wolters, H. R. Collard, and K. D. Jones, 'Pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis', *Annu. Rev. Pathol.*, vol. 9, pp. 157–179, 2014, doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104706.
- [143] J. S. Zolak and J. A. de Andrade, 'Idiopathic pulmonary fibrosis', *Immunol. Allergy Clin. North Am.*, vol. 32, no. 4, pp. 473–485, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.iac.2012.08.006.
- [144] G. Sgalla, B. Iovene, M. Calvello, M. Ori, F. Varone, and L. Richeldi, 'Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and management', *Respir. Res.*, vol. 19, no. 1, p. 32, Dec. 2018, doi: 10.1186/s12931-018-0730-2.
- [145] F. Malli *et al.*, 'Endothelial Progenitor Cells in the Pathogenesis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Evolving Concept', *PLoS ONE*, vol. 8, no. 1, p. e53658, Jan. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0053658.
- [146] A. Betensley, R. Sharif, and D. Karamichos, 'A Systematic Review of the Role of Dysfunctional Wound Healing in the Pathogenesis and Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *J. Clin. Med.*, vol. 6, no. 1, p. 2, Dec. 2016, doi: 10.3390/jcm6010002.
- [147] T. E. King, A. Pardo, and M. Selman, 'Idiopathic pulmonary fibrosis', *Lancet Lond. Engl.*, vol. 378, no. 9807, pp. 1949–1961, Dec. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60052-4.
- [148] W. E. Balch *et al.*, 'Malformed protein structure and proteostasis in lung diseases', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 189, no. 1, pp. 96–103, Jan. 2014, doi: 10.1164/rccm.201306-1164WS.
- [149] F. Romero and R. Summer, 'Protein Folding and the Challenges of Maintaining Endoplasmic Reticulum Proteostasis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Ann. Am. Thorac. Soc.*, vol. 14, no. Supplement_5, pp. S410–S413, Nov. 2017, doi: 10.1513/AnnalsATS.201703-207AW.
- [150] W. E. Lawson *et al.*, 'Endoplasmic reticulum stress in alveolar epithelial cells is prominent in IPF: association with altered surfactant protein processing and herpesvirus infection', *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 294, no. 6, pp. L1119–L1126, Jun. 2008, doi: 10.1152/ajplung.00382.2007.
- [151] M. Korfei *et al.*, 'Epithelial endoplasmic reticulum stress and apoptosis in sporadic idiopathic pulmonary fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 178, no. 8, pp. 838–846, Oct. 2008, doi: 10.1164/rccm.200802-313OC.
- [152] M. Korfei *et al.*, 'Comparative proteome analysis of lung tissue from patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), non-specific interstitial pneumonia (NSIP) and organ donors', *J. Proteomics*, vol. 85, pp. 109–128, Jun. 2013, doi: 10.1016/j.jprot.2013.04.033.
- [153] A. F. Kabore, W. J. Wang, S. J. Russo, and M. F. Beers, 'Biosynthesis of surfactant protein C: characterization of aggresome formation by EGFP chimeras containing

- propeptide mutants lacking conserved cysteine residues', *J. Cell Sci.*, vol. 114, no. Pt 2, pp. 293–302, Jan. 2001, doi: 10.1242/jcs.114.2.293.
- [154] A. Q. Thomas *et al.*, 'Heterozygosity for a surfactant protein C gene mutation associated with usual interstitial pneumonitis and cellular nonspecific interstitial pneumonitis in one kindred', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 165, no. 9, pp. 1322–1328, Dec. 2002, doi: 10.1164/rccm.200112-123OC.
- [155] J. A. Kropski and T. S. Blackwell, 'Endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of fibrotic disease', *J. Clin. Invest.*, vol. 128, no. 1, pp. 64–73, Jan. 2018, doi: 10.1172/JCI93560.
- [156] B. D. Uhal, I. Joshi, W. F. Hughes, C. Ramos, A. Pardo, and M. Selman, 'Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung', *Am. J. Physiol.*, vol. 275, no. 6, pp. L1192–1199, Dec. 1998, doi: 10.1152/ajplung.1998.275.6.L1192.
- [157] M. Plataki, A. V. Koutsopoulos, K. Darivianaki, G. Delides, N. M. Siafakas, and D. Bouros, 'Expression of apoptotic and antiapoptotic markers in epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis', *Chest*, vol. 127, no. 1, pp. 266–274, Jan. 2005, doi: 10.1378/chest.127.1.266.
- [158] A. Günther, M. Korfei, P. Mahavadi, D. von der Beck, C. Ruppert, and P. Markart, 'Unravelling the progressive pathophysiology of idiopathic pulmonary fibrosis', *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.*, vol. 21, no. 124, pp. 152–160, Jun. 2012, doi: 10.1183/09059180.00001012.
- [159] Q. Zhong *et al.*, 'Role of endoplasmic reticulum stress in epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells: effects of misfolded surfactant protein', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 45, no. 3, pp. 498–509, Sep. 2011, doi: 10.1165/rcmb.2010-0347OC.
- [160] H. Tanjore *et al.*, 'Alveolar epithelial cells undergo epithelial-to-mesenchymal transition in response to endoplasmic reticulum stress', *J. Biol. Chem.*, vol. 286, no. 35, pp. 30972–30980, Sep. 2011, doi: 10.1074/jbc.M110.181164.
- [161] A. S. Patel *et al.*, 'Autophagy in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *PLoS ONE*, vol. 7, no. 7, p. e41394, Jul. 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0041394.
- [162] Y. Romero *et al.*, 'mTORC1 activation decreases autophagy in aging and idiopathic pulmonary fibrosis and contributes to apoptosis resistance in IPF fibroblasts', *Aging Cell*, vol. 15, no. 6, pp. 1103–1112, Dec. 2016, doi: 10.1111/accel.12514.
- [163] C. Hill *et al.*, 'Autophagy inhibition-mediated epithelial-mesenchymal transition augments local myofibroblast differentiation in pulmonary fibrosis', *Cell Death Dis.*, vol. 10, no. 8, p. 591, Aug. 2019, doi: 10.1038/s41419-019-1820-x.
- [164] S.-I. Nureki *et al.*, 'Expression of mutant Sftpc in murine alveolar epithelia drives spontaneous lung fibrosis', *J. Clin. Invest.*, vol. 128, no. 9, pp. 4008–4024, Aug. 2018, doi: 10.1172/JCI99287.
- [165] B. Hinz, 'Mechanical aspects of lung fibrosis: a spotlight on the myofibroblast', *Proc. Am. Thorac. Soc.*, vol. 9, no. 3, pp. 137–147, Jul. 2012, doi: 10.1513/pats.201202-017AW.

- [166] S. Maharaj, C. Shimbori, and M. Kolb, 'Fibrocytes in pulmonary fibrosis: a brief synopsis', *Eur. Respir. Rev.*, vol. 22, no. 130, pp. 552–557, Dec. 2013, doi: 10.1183/09059180.00007713.
- [167] M. B. Vaughan, E. W. Howard, and J. J. Tomasek, 'Transforming growth factor-beta1 promotes the morphological and functional differentiation of the myofibroblast', *Exp. Cell Res.*, vol. 257, no. 1, pp. 180–189, Dec. 2000, doi: 10.1006/excr.2000.4869.
- [168] L. R. Penke and M. Peters-Golden, 'Molecular determinants of mesenchymal cell activation in fibroproliferative diseases', *Cell. Mol. Life Sci. CMLS*, vol. 76, no. 21, pp. 4179–4201, Nov. 2019, doi: 10.1007/s00018-019-03212-3.
- [169] P.-J. Wipff, D. B. Rifkin, J.-J. Meister, and B. Hinz, 'Myofibroblast contraction activates latent TGF-beta1 from the extracellular matrix', *J. Cell Biol.*, vol. 179, no. 6, pp. 1311–1323, Dec. 2007, doi: 10.1083/jcb.200704042.
- [170] C. J. Scotton and R. C. Chambers, 'Molecular Targets in Pulmonary Fibrosis', *Chest*, vol. 132, no. 4, pp. 1311–1321, Oct. 2007, doi: 10.1378/chest.06-2568.
- [171] V. J. Thannickal and J. C. Horowitz, 'Evolving concepts of apoptosis in idiopathic pulmonary fibrosis', *Proc. Am. Thorac. Soc.*, vol. 3, no. 4, pp. 350–356, Jun. 2006, doi: 10.1513/pats.200601-001TK.
- [172] B. Hinz and D. Lagares, 'Evasion of apoptosis by myofibroblasts: a hallmark of fibrotic diseases', *Nat. Rev. Rheumatol.*, vol. 16, no. 1, pp. 11–31, Jan. 2020, doi: 10.1038/s41584-019-0324-5.
- [173] J. C. Horowitz and V. J. Thannickal, 'Mechanisms for the Resolution of Organ Fibrosis', *Physiol. Bethesda Md*, vol. 34, no. 1, pp. 43–55, Jan. 2019, doi: 10.1152/physiol.00033.2018.
- [174] K. Kato *et al.*, 'Impaired Myofibroblast Dedifferentiation Contributes to Nonresolving Fibrosis in Aging', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 62, no. 5, pp. 633–644, Dec. 2020, doi: 10.1165/rcmb.2019-0092OC.
- [175] F.-F. Duan, G. Barron, A. Meliton, G. M. Mutlu, N. O. Dulin, and L. Schuger, 'P311 Promotes Lung Fibrosis via Stimulation of Transforming Growth Factor- β 1, - β 2, and - β 3 Translation', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 60, no. 2, pp. 221–231, Feb. 2019, doi: 10.1165/rcmb.2018-0028OC.
- [176] J. J. Tomasek, G. Gabbiani, B. Hinz, C. Chaponnier, and R. A. Brown, 'Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling', *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 3, no. 5, pp. 349–363, Dec. 2002, doi: 10.1038/nrm809.
- [177] A. Desmoulière, M. Redard, I. Darby, and G. Gabbiani, 'Apoptosis mediates the decrease in cellularity during the transition between granulation tissue and scar', *Am. J. Pathol.*, vol. 146, no. 1, pp. 56–66, Jan. 1995.
- [178] L. Bai *et al.*, 'Glutaminolysis Epigenetically Regulates Antiapoptotic Gene Expression in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Fibroblasts', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 60, no. 1, pp. 49–57, Jan. 2019, doi: 10.1165/rcmb.2018-0180OC.
- [179] A. M. Scruggs, H. B. Koh, P. Tripathi, N. J. Leeper, E. S. White, and S. K. Huang, 'Loss of CDKN2B Promotes Fibrosis via Increased Fibroblast Differentiation

- Rather Than Proliferation', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 59, no. 2, pp. 200–214, Aug. 2018, doi: 10.1165/rcmb.2017-0298OC.
- [180] A. Munguía-Reyes *et al.*, 'R-Spondin-2 Is Upregulated in Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Affects Fibroblast Behavior', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 59, no. 1, pp. 65–76, Jul. 2018, doi: 10.1165/rcmb.2017-0115OC.
- [181] V. J. Thannickal, G. B. Toews, E. S. White, J. P. Lynch, and F. J. Martinez, 'Mechanisms of pulmonary fibrosis', *Annu. Rev. Med.*, vol. 55, pp. 395–417, 2004, doi: 10.1146/annurev.med.55.091902.103810.
- [182] A. V. Misharin and G. R. S. Budinger, 'Targeting the Myofibroblast in Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 198, no. 7, pp. 834–835, Oct. 2018, doi: 10.1164/rccm.201806-1037ED.
- [183] S. M. Fortier, L. R. Penke, D. King, T. X. Pham, G. Ligresti, and M. Peters-Golden, 'Myofibroblast dedifferentiation proceeds via distinct transcriptomic and phenotypic transitions', *JCI Insight*, vol. 6, no. 6, pp. e144799, 144799, Mar. 2021, doi: 10.1172/jci.insight.144799.
- [184] 'American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS)', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 161, no. 2 Pt 1, pp. 646–664, Feb. 2000, doi: 10.1164/ajrccm.161.2.ats3-00.
- [185] Idiopathic Pulmonary Fibrosis Clinical Research Network, G. Raghu, K. J. Anstrom, T. E. King, J. A. Lasky, and F. J. Martinez, 'Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis', *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, no. 21, pp. 1968–1977, Dec. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1113354.
- [186] G. Wick *et al.*, 'The immunology of fibrosis', *Annu. Rev. Immunol.*, vol. 31, pp. 107–135, 2013, doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095937.
- [187] P. Heukels, C. C. Moor, J. H. Von Der Thüsen, M. S. Wijsenbeek, and M. Kool, 'Inflammation and immunity in IPF pathogenesis and treatment', *Respir. Med.*, vol. 147, pp. 79–91, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.rmed.2018.12.015.
- [188] P. L. Molyneaux and T. M. Maher, 'The role of infection in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis', *Eur. Respir. Rev. Off. J. Eur. Respir. Soc.*, vol. 22, no. 129, pp. 376–381, Sep. 2013, doi: 10.1183/09059180.00000713.
- [189] M. Kreuter *et al.*, 'Monocyte Count as a Prognostic Biomarker in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 204, no. 1, pp. 74–81, Jul. 2021, doi: 10.1164/rccm.202003-0669OC.
- [190] D. Hashimoto *et al.*, 'Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes', *Immunity*, vol. 38, no. 4, pp. 792–804, Apr. 2013, doi: 10.1016/j.immuni.2013.04.004.
- [191] M. Guilleams *et al.*, 'Alveolar macrophages develop from fetal monocytes that differentiate into long-lived cells in the first week of life via GM-CSF', *J. Exp. Med.*, vol. 210, no. 10, pp. 1977–1992, Sep. 2013, doi: 10.1084/jem.20131199.

- [192] W. J. Janssen *et al.*, 'Fas determines differential fates of resident and recruited macrophages during resolution of acute lung injury', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 184, no. 5, pp. 547–560, Sep. 2011, doi: 10.1164/rccm.201011-1891OC.
- [193] A. V. Misharin *et al.*, 'Monocyte-derived alveolar macrophages drive lung fibrosis and persist in the lung over the life span', *J. Exp. Med.*, vol. 214, no. 8, pp. 2387–2404, Aug. 2017, doi: 10.1084/jem.20162152.
- [194] A. L. McCubbrey *et al.*, 'Deletion of c-FLIP from CD11bhi Macrophages Prevents Development of Bleomycin-induced Lung Fibrosis', *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 58, no. 1, pp. 66–78, Jan. 2018, doi: 10.1165/rcmb.2017-0154OC.
- [195] N. Joshi *et al.*, 'A spatially restricted fibrotic niche in pulmonary fibrosis is sustained by M-CSF/M-CSFR signalling in monocyte-derived alveolar macrophages', *Eur. Respir. J.*, vol. 55, no. 1, p. 1900646, Jan. 2020, doi: 10.1183/13993003.00646-2019.
- [196] C. D. Mills, 'M1 and M2 Macrophages: Oracles of Health and Disease', *Crit. Rev. Immunol.*, vol. 32, no. 6, pp. 463–488, 2012, doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i6.10.
- [197] J. C. Schupp *et al.*, 'Macrophage activation in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis', *PloS One*, vol. 10, no. 1, p. e0116775, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0116775.
- [198] A. J. Byrne, T. M. Maher, and C. M. Lloyd, 'Pulmonary Macrophages: A New Therapeutic Pathway in Fibrosing Lung Disease?', *Trends Mol. Med.*, vol. 22, no. 4, pp. 303–316, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.molmed.2016.02.004.
- [199] T. Satoh *et al.*, 'Identification of an atypical monocyte and committed progenitor involved in fibrosis', *Nature*, vol. 541, no. 7635, pp. 96–101, Jan. 2017, doi: 10.1038/nature20611.
- [200] P. B. Bitterman, M. D. Wewers, S. I. Rennard, S. Adelberg, and R. G. Crystal, 'Modulation of alveolar macrophage-driven fibroblast proliferation by alternative macrophage mediators', *J. Clin. Invest.*, vol. 77, no. 3, pp. 700–708, Mar. 1986, doi: 10.1172/JCI112364.
- [201] Y. Zhou *et al.*, 'Chitinase 3-like 1 suppresses injury and promotes fibroproliferative responses in Mammalian lung fibrosis', *Sci. Transl. Med.*, vol. 6, no. 240, p. 240ra76, Jun. 2014, doi: 10.1126/scitranslmed.3007096.
- [202] S. J. Madsen, H. M. Gach, S. J. Hong, F. A. Uzal, Q. Peng, and H. Hirschberg, 'Increased nanoparticle-loaded exogenous macrophage migration into the brain following PDT-induced blood-brain barrier disruption', *Lasers Surg. Med.*, vol. 45, no. 8, pp. 524–532, Oct. 2013, doi: 10.1002/lsm.22172.
- [203] M. Cai *et al.*, 'CCL18 in serum, BAL fluid and alveolar macrophage culture supernatant in interstitial lung diseases', *Respir. Med.*, vol. 107, no. 9, pp. 1444–1452, Sep. 2013, doi: 10.1016/j.rmed.2013.06.004.
- [204] A. Prasse *et al.*, 'Serum CC-chemokine ligand 18 concentration predicts outcome in idiopathic pulmonary fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 179, no. 8, pp. 717–723, Apr. 2009, doi: 10.1164/rccm.200808-1201OC.

- [205] A. Prasse *et al.*, 'A vicious circle of alveolar macrophages and fibroblasts perpetuates pulmonary fibrosis via CCL18', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 173, no. 7, pp. 781–792, Apr. 2006, doi: 10.1164/rccm.200509-1518OC.
- [206] G. Raghu *et al.*, 'Effect of Recombinant Human Pentraxin 2 vs Placebo on Change in Forced Vital Capacity in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Randomized Clinical Trial', *JAMA*, vol. 319, no. 22, pp. 2299–2307, Jun. 2018, doi: 10.1001/jama.2018.6129.
- [207] J. Marchal-Sommé *et al.*, 'Cutting edge: nonproliferating mature immune cells form a novel type of organized lymphoid structure in idiopathic pulmonary fibrosis', *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 176, no. 10, pp. 5735–5739, Dec. 2006, doi: 10.4049/jimmunol.176.10.5735.
- [208] G. J. Nuovo *et al.*, 'The distribution of immunomodulatory cells in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis', *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc.*, vol. 25, no. 3, pp. 416–433, Mar. 2012, doi: 10.1038/modpathol.2011.166.
- [209] N. W. Todd *et al.*, 'Lymphocyte aggregates persist and accumulate in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis', *J. Inflamm. Res.*, vol. 6, pp. 63–70, 2013, doi: 10.2147/JIR.S40673.
- [210] E. Fireman *et al.*, 'Predictive value of response to treatment of T-lymphocyte subpopulations in idiopathic pulmonary fibrosis', *Eur. Respir. J.*, vol. 11, no. 3, pp. 706–711, Mar. 1998.
- [211] A. Adegunsoye *et al.*, 'Skewed Lung CCR4 to CCR6 CD4+ T Cell Ratio in Idiopathic Pulmonary Fibrosis Is Associated with Pulmonary Function', *Front. Immunol.*, vol. 7, p. 516, 2016, doi: 10.3389/fimmu.2016.00516.
- [212] M. P. Keane, J. A. Belperio, M. D. Burdick, and R. M. Strieter, 'IL-12 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis', *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 281, no. 1, pp. L92–97, Jul. 2001, doi: 10.1152/ajplung.2001.281.1.L92.
- [213] T. E. King *et al.*, 'Effect of interferon gamma-1b on survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (INSPIRE): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial', *Lancet Lond. Engl.*, vol. 374, no. 9685, pp. 222–228, Jul. 2009, doi: 10.1016/S0140-6736(09)60551-1.
- [214] S. Hashimoto, Y. Gon, I. Takeshita, S. Maruoka, and T. Horie, 'IL-4 and IL-13 induce myofibroblastic phenotype of human lung fibroblasts through c-Jun NH2-terminal kinase-dependent pathway', *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 107, no. 6, pp. 1001–1008, Jun. 2001, doi: 10.1067/mai.2001.114702.
- [215] I. Kotsianidis *et al.*, 'Global impairment of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in idiopathic pulmonary fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 179, no. 12, pp. 1121–1130, Jun. 2009, doi: 10.1164/rccm.200812-1936OC.
- [216] A. François *et al.*, 'B cell activating factor is central to bleomycin- and IL-17-mediated experimental pulmonary fibrosis', *J. Autoimmun.*, vol. 56, pp. 1–11, Jan. 2015, doi: 10.1016/j.jaut.2014.08.003.

- [217] D. N. O'Dwyer *et al.*, 'The Toll-like receptor 3 L412F polymorphism and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis', *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 188, no. 12, pp. 1442–1450, Dec. 2013, doi: 10.1164/rccm.201304-0760OC.
- [218] C. Dostert, V. Pétrilli, R. Van Bruggen, C. Steele, B. T. Mossman, and J. Tschopp, 'Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica', *Science*, vol. 320, no. 5876, pp. 674–677, Dec. 2008, doi: 10.1126/science.1156995.
- [219] P. Gasse *et al.*, 'IL-1R1/MyD88 signaling and the inflammasome are essential in pulmonary inflammation and fibrosis in mice', *J. Clin. Invest.*, vol. 117, no. 12, pp. 3786–3799, Dec. 2007, doi: 10.1172/JCI32285.
- [220] R. Tian *et al.*, 'NLRP3 participates in the regulation of EMT in bleomycin-induced pulmonary fibrosis', *Exp. Cell Res.*, vol. 357, no. 2, pp. 328–334, Aug. 2017, doi: 10.1016/j.yexcr.2017.05.028.
- [221] J. Ji, J. Hou, Y. Xia, Z. Xiang, and X. Han, 'NLRP3 inflammasome activation in alveolar epithelial cells promotes myofibroblast differentiation of lung-resident mesenchymal stem cells during pulmonary fibrogenesis', *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, vol. 1867, no. 5, p. 166077, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166077.
- [222] I. Lasithiotaki *et al.*, 'NLRP3 inflammasome expression in idiopathic pulmonary fibrosis and rheumatoid lung', *Eur. Respir. J.*, vol. 47, no. 3, pp. 910–918, Mar. 2016, doi: 10.1183/13993003.00564-2015.
- [223] Y. Li *et al.*, 'Pirfenidone ameliorates lipopolysaccharide-induced pulmonary inflammation and fibrosis by blocking NLRP3 inflammasome activation', *Mol. Immunol.*, vol. 99, pp. 134–144, Jul. 2018, doi: 10.1016/j.molimm.2018.05.003.
- [224] V. Conti *et al.*, 'SIRT1 Activity in Peripheral Blood Mononuclear Cells Correlates with Altered Lung Function in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease', *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2018, p. 9391261, 2018, doi: 10.1155/2018/9391261.
- [225] J. Brenmoehl and A. Hoeflich, 'Dual control of mitochondrial biogenesis by sirtuin 1 and sirtuin 3', *Mitochondrion*, vol. 13, no. 6, pp. 755–761, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.mito.2013.04.002.
- [226] Z. Ji, G.-H. Liu, and J. Qu, 'Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging', *J. Genet. Genomics Yi Chuan Xue Bao*, vol. 49, no. 4, pp. 287–298, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.jgg.2021.11.005.
- [227] M. Aventaggiato *et al.*, 'Sirtuins and Hypoxia in EMT Control', *Pharm. Basel Switz.*, vol. 15, no. 6, p. 737, Jun. 2022, doi: 10.3390/ph15060737.
- [228] J. Min, J. Landry, R. Sternglanz, and R. M. Xu, 'Crystal structure of a SIR2 homolog-NAD complex', *Cell*, vol. 105, no. 2, pp. 269–279, Apr. 2001, doi: 10.1016/s0092-8674(01)00317-8.
- [229] A. Z. Herskovits and L. Guarente, 'Sirtuin deacetylases in neurodegenerative diseases of aging', *Cell Res.*, vol. 23, no. 6, pp. 746–758, Jun. 2013, doi: 10.1038/cr.2013.70.

- [230] M. B. Scher, A. Vaquero, and D. Reinberg, 'SirT3 is a nuclear NAD⁺-dependent histone deacetylase that translocates to the mitochondria upon cellular stress', *Genes Dev.*, vol. 21, no. 8, pp. 920–928, Apr. 2007, doi: 10.1101/gad.1527307.
- [231] J. Du *et al.*, 'Sirt5 Is a NAD-Dependent Protein Lysine Demalonylase and Desuccinylase', *Science*, vol. 334, no. 6057, pp. 806–809, Nov. 2011, doi: 10.1126/science.1207861.
- [232] G. Liszt, E. Ford, M. Kurtev, and L. Guarente, 'Mouse Sir2 Homolog SIRT6 Is a Nuclear ADP-ribosyltransferase', *J. Biol. Chem.*, vol. 280, no. 22, pp. 21313–21320, Jun. 2005, doi: 10.1074/jbc.M413296200.
- [233] S. Bindu, V. B. Pillai, and M. P. Gupta, 'Role of Sirtuins in Regulating Pathophysiology of the Heart', *Trends Endocrinol. Metab.*, vol. 27, no. 8, pp. 563–573, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.tem.2016.04.015.
- [234] R. Mostoslavsky *et al.*, 'Genomic Instability and Aging-like Phenotype in the Absence of Mammalian SIRT6', *Cell*, vol. 124, no. 2, pp. 315–329, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.cell.2005.11.044.
- [235] V. Byles *et al.*, 'Aberrant Cytoplasm Localization and Protein Stability of SIRT1 is Regulated by PI3K/IGF-1R Signaling in Human Cancer Cells', *Int. J. Biol. Sci.*, pp. 599–612, 2010, doi: 10.7150/ijbs.6.599.
- [236] T. Inoue *et al.*, 'SIRT2, a tubulin deacetylase, acts to block the entry to chromosome condensation in response to mitotic stress', *Oncogene*, vol. 26, no. 7, pp. 945–957, Feb. 2007, doi: 10.1038/sj.onc.1209857.
- [237] E. Michishita, J. Y. Park, J. M. Burneskis, J. C. Barrett, and I. Horikawa, 'Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins', *Mol. Biol. Cell*, vol. 16, no. 10, pp. 4623–4635, Oct. 2005, doi: 10.1091/mbc.e05-01-0033.
- [238] M. Buler, U. Andersson, and J. Hakkola, 'Who watches the watchmen? Regulation of the expression and activity of sirtuins', *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, vol. 30, no. 12, pp. 3942–3960, Dec. 2016, doi: 10.1096/fj.201600410RR.
- [239] M. Tanno, J. Sakamoto, T. Miura, K. Shimamoto, and Y. Horio, 'Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD⁺-dependent histone deacetylase SIRT1', *J. Biol. Chem.*, vol. 282, no. 9, pp. 6823–6832, Mar. 2007, doi: 10.1074/jbc.M609554200.
- [240] A. Vaquero *et al.*, 'SirT2 is a histone deacetylase with preference for histone H4 Lys 16 during mitosis', *Genes Dev.*, vol. 20, no. 10, pp. 1256–1261, Dec. 2006, doi: 10.1101/gad.1412706.
- [241] J. Rine, J. N. Strathern, J. B. Hicks, and I. Herskowitz, 'A suppressor of mating-type locus mutations in *Saccharomyces cerevisiae*: evidence for and identification of cryptic mating-type loci', *Genetics*, vol. 93, no. 4, pp. 877–901, Dec. 1979, doi: 10.1093/genetics/93.4.877.
- [242] M. Kaeberlein, M. McVey, and L. Guarente, 'The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different

- mechanisms', *Genes Dev.*, vol. 13, no. 19, pp. 2570–2580, Oct. 1999, doi: 10.1101/gad.13.19.2570.
- [243] C. B. Brachmann, J. M. Sherman, S. E. Devine, E. E. Cameron, L. Pillus, and J. D. Boeke, 'The SIR2 gene family, conserved from bacteria to humans, functions in silencing, cell cycle progression, and chromosome stability', *Genes Dev.*, vol. 9, no. 23, pp. 2888–2902, Dec. 1995, doi: 10.1101/gad.9.23.2888.
- [244] G. Afshar and J. P. Murnane, 'Characterization of a human gene with sequence homology to *Saccharomyces cerevisiae* SIR2', *Gene*, vol. 234, no. 1, pp. 161–168, Jun. 1999, doi: 10.1016/s0378-1119(99)00162-6.
- [245] V. Carafa *et al.*, 'Sirtuin functions and modulation: from chemistry to the clinic', *Clin. Epigenetics*, vol. 8, p. 61, 2016, doi: 10.1186/s13148-016-0224-3.
- [246] R. A. Frye, 'Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast SIR2 gene: Sir2-like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 260, no. 1, pp. 273–279, Jun. 1999, doi: 10.1006/bbrc.1999.0897.
- [247] R. A. Frye, 'Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins', *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 273, no. 2, pp. 793–798, Jul. 2000, doi: 10.1006/bbrc.2000.3000.
- [248] H. Yuan and R. Marmorstein, 'Structural basis for sirtuin activity and inhibition', *J. Biol. Chem.*, vol. 287, no. 51, pp. 42428–42435, Dec. 2012, doi: 10.1074/jbc.R112.372300.
- [249] B. Chen *et al.*, 'The chemical biology of sirtuins', *Chem. Soc. Rev.*, vol. 44, no. 15, pp. 5246–5264, 2015, doi: 10.1039/C4CS00373J.
- [250] S. Michan and D. Sinclair, 'Sirtuins in mammals: insights into their biological function', *Biochem. J.*, vol. 404, no. 1, pp. 1–13, Dec. 2007, doi: 10.1042/BJ20070140.
- [251] Q.-J. Wu *et al.*, 'The sirtuin family in health and disease', *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 7, no. 1, p. 402, Dec. 2022, doi: 10.1038/s41392-022-01257-8.
- [252] M. C. Haigis and D. A. Sinclair, 'Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance', *Annu. Rev. Pathol.*, vol. 5, pp. 253–295, 2010, doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092250.
- [253] G. Corbi, 'Role of sirtuins calorie restriction and physical activity in aging', *Front. Biosci.*, vol. E4, no. 2, pp. 768–778, 2012, doi: 10.2741/e417.
- [254] N. Zhang *et al.*, 'Calorie restriction-induced SIRT6 activation delays aging by suppressing NF- κ B signaling', *Cell Cycle Georget. Tex.*, vol. 15, no. 7, pp. 1009–1018, 2016, doi: 10.1080/15384101.2016.1152427.
- [255] S. B. Shaikh, A. Prabhu, and Y. P. Bhandary, 'Targeting anti-aging protein sirtuin (Sirt) in the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis', *J. Cell. Biochem.*, vol. 120, no. 5, pp. 6878–6885, May 2019, doi: 10.1002/jcb.28033.

- [256] C. K. Singh, G. Chhabra, M. A. Ndiaye, L. M. Garcia-Peterson, N. J. Mack, and N. Ahmad, 'The Role of Sirtuins in Antioxidant and Redox Signaling', *Antioxid. Redox Signal.*, vol. 28, no. 8, pp. 643–661, Mar. 2018, doi: 10.1089/ars.2017.7290.
- [257] A. Garten, S. Petzold, S. Schuster, A. Körner, J. Kratzsch, and W. Kiess, 'Nampt and Its Potential Role in Inflammation and Type 2 Diabetes', in *Diabetes - Perspectives in Drug Therapy*, vol. 203, M. Schwanstecher, Ed., in Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 203. , Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011, pp. 147–164. doi: 10.1007/978-3-642-17214-4_7.
- [258] M. Wątroba and D. Szukiewicz, 'The role of sirtuins in aging and age-related diseases', *Adv. Med. Sci.*, vol. 61, no. 1, pp. 52–62, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.advms.2015.09.003.
- [259] N. D'Onofrio, L. Servillo, and M. L. Balestrieri, 'SIRT1 and SIRT6 Signaling Pathways in Cardiovascular Disease Protection', *Antioxid. Redox Signal.*, vol. 28, no. 8, pp. 711–732, Mar. 2018, doi: 10.1089/ars.2017.7178.
- [260] N. Poulose and R. Raju, 'Sirtuin regulation in aging and injury', *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.*, vol. 1852, no. 11, pp. 2442–2455, Nov. 2015, doi: 10.1016/j.bbadis.2015.08.017.
- [261] P. Chun, 'Role of sirtuins in chronic obstructive pulmonary disease', *Arch. Pharm. Res.*, vol. 38, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2015, doi: 10.1007/s12272-014-0494-2.
- [262] P. J. Barnes, 'Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease', *Clin. Chest Med.*, vol. 35, no. 1, pp. 71–86, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.ccm.2013.10.004.
- [263] X.-Y. Zhang, W. Li, J.-R. Zhang, C.-Y. Li, J. Zhang, and X.-J. Lv, 'Roles of sirtuin family members in chronic obstructive pulmonary disease', *Respir. Res.*, vol. 23, no. 1, p. 66, Mar. 2022, doi: 10.1186/s12931-022-01986-y.
- [264] H. Yao *et al.*, 'SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice', *J. Clin. Invest.*, vol. 122, no. 6, pp. 2032–2045, Jun. 2012, doi: 10.1172/JCI60132.
- [265] L. Zhang, B. Luo, Y. Ting, S. He, L. Xie, and S. Sun, 'SIRT1 attenuates endoplasmic reticulum stress and apoptosis in rat models of COPD', *Growth Factors Chur Switz.*, vol. 38, no. 2, pp. 94–104, Feb. 2020, doi: 10.1080/08977194.2020.1810029.
- [266] A. Satoh, L. Stein, and S. Imai, 'The Role of Mammalian Sirtuins in the Regulation of Metabolism, Aging, and Longevity', in *Histone Deacetylases: the Biology and Clinical Implication*, vol. 206, T.-P. Yao and E. Seto, Eds., in Handbook of Experimental Pharmacology, vol. 206. , Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011, pp. 125–162. doi: 10.1007/978-3-642-21631-2_7.
- [267] A. Taguchi *et al.*, 'Resveratrol suppresses inflammatory responses in endometrial stromal cells derived from endometriosis: A possible role of the sirtuin 1 pathway', *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, vol. 40, no. 3, pp. 770–778, Mar. 2014, doi: 10.1111/jog.12252.

- [268] P. J. Barnes, 'Mechanisms of development of multimorbidity in the elderly', *Eur. Respir. J.*, vol. 45, no. 3, pp. 790–806, Mar. 2015, doi: 10.1183/09031936.00229714.
- [269] M. Zhang *et al.*, 'Sirtuin 3 Inhibits Airway Epithelial Mitochondrial Oxidative Stress in Cigarette Smoke-Induced COPD', *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2020, p. 7582980, 2020, doi: 10.1155/2020/7582980.
- [270] P. J. Barnes, 'Senescence in COPD and Its Comorbidities', *Annu. Rev. Physiol.*, vol. 79, pp. 517–539, Feb. 2017, doi: 10.1146/annurev-physiol-022516-034314.
- [271] Y. Liu, M. Zhang, H. Zhang, X. Qian, L. Luo, and Z. He, 'Anthocyanins Inhibit Airway Inflammation by Downregulating the NF- κ B Pathway via the miR-138-5p/SIRT1 Axis in Asthmatic Mice', *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 183, no. 5, pp. 539–551, 2022, doi: 10.1159/000520645.
- [272] Y. Fukuda *et al.*, 'Virus-Induced Asthma Exacerbations: SIRT1 Targeted Approach', *J. Clin. Med.*, vol. 9, no. 8, p. 2623, Aug. 2020, doi: 10.3390/jcm9082623.
- [273] T. Colley *et al.*, 'Defective sirtuin-1 increases IL-4 expression through acetylation of GATA-3 in patients with severe asthma', *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 137, no. 5, pp. 1595–1597.e7, Dec. 2016, doi: 10.1016/j.jaci.2015.10.013.
- [274] L. Tang *et al.*, 'Suppression of Sirtuin-1 Increases IL-6 Expression by Activation of the Akt Pathway During Allergic Asthma', *Cell. Physiol. Biochem. Int. J. Exp. Cell. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, vol. 43, no. 5, pp. 1950–1960, 2017, doi: 10.1159/000484119.
- [275] Y.-Z. Zhang, Q.-J. Wu, X. Yang, X.-X. Xing, Y.-Y. Chen, and H. Wang, 'Effects of SIRT1/Akt pathway on chronic inflammatory response and lung function in patients with asthma', *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, vol. 23, no. 11, pp. 4948–4953, Jun. 2019, doi: 10.26355/eurev_201906_18085.
- [276] J. Song and J. Wang, 'SIRT3 regulates bronchial epithelium apoptosis and aggravates airway inflammation in asthma', *Mol. Med. Rep.*, vol. 25, no. 4, p. 144, Apr. 2022, doi: 10.3892/mmr.2022.12660.
- [277] F. Liu and Y.-X. Shang, 'Sirtuin 6 attenuates epithelial-mesenchymal transition by suppressing the TGF- β 1/Smad3 pathway and c-Jun in asthma models', *Int. Immunopharmacol.*, vol. 82, p. 106333, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.intimp.2020.106333.
- [278] P. Fang *et al.*, 'SIRT7 regulates the TGF- β 1-induced proliferation and migration of mouse airway smooth muscle cells by modulating the expression of TGF- β receptor I', *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.*, vol. 104, pp. 781–787, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.060.
- [279] Y. G. Lee *et al.*, 'Sirtuin 2 enhances allergic asthmatic inflammation', *JCI Insight*, vol. 4, no. 4, pp. e124710, 124710, Feb. 2019, doi: 10.1172/jci.insight.124710.
- [280] Y.-Y. Kim *et al.*, 'AGK2 ameliorates mast cell-mediated allergic airway inflammation and fibrosis by inhibiting Fc ϵ RI/TGF- β signaling pathway', *Pharmacol. Res.*, vol. 159, p. 105027, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.phrs.2020.105027.

- [281] J. B. Moore and C. H. June, 'Cytokine release syndrome in severe COVID-19', *Science*, vol. 368, no. 6490, pp. 473–474, Dec. 2020, doi: 10.1126/science.abb8925.
- [282] V. Bordoni *et al.*, 'The unbalanced p53/SIRT1 axis may impact lymphocyte homeostasis in COVID-19 patients', *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.*, vol. 105, pp. 49–53, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.ijid.2021.02.019.
- [283] P. Zhang, T. Zhao, and W. Zhou, 'The Clinical Significance of SIRT3 in COVID-19 Patients: A Single Center Retrospective Analysis', *Ann. Clin. Lab. Sci.*, vol. 51, no. 5, pp. 686–693, Sep. 2021.
- [284] D. Kurundkar *et al.*, 'SIRT3 diminishes inflammation and mitigates endotoxin-induced acute lung injury', *JCI Insight*, vol. 4, no. 1, p. e120722, Jan. 2019, doi: 10.1172/jci.insight.120722.
- [285] Q.-L. Wang *et al.*, 'Sirtuin 6 regulates macrophage polarization to alleviate sepsis-induced acute respiratory distress syndrome via dual mechanisms dependent on and independent of autophagy', *Cytotherapy*, vol. 24, no. 2, pp. 149–160, Feb. 2022, doi: 10.1016/j.jcyt.2021.09.001.
- [286] T. Li *et al.*, 'Resveratrol reduces acute lung injury in a LPS-induced sepsis mouse model via activation of Sirt1', *Mol. Med. Rep.*, vol. 7, no. 6, pp. 1889–1895, Jun. 2013, doi: 10.3892/mmr.2013.1444.
- [287] R. Gao, Z. Ma, Y. Hu, J. Chen, S. Shetty, and J. Fu, 'Sirt1 restrains lung inflammasome activation in a murine model of sepsis', *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 308, no. 8, pp. L847–853, Apr. 2015, doi: 10.1152/ajplung.00274.2014.
- [288] J. Huang *et al.*, 'The SIRT1 inhibitor EX-527 suppresses mTOR activation and alleviates acute lung injury in mice with endotoxemia', *Innate Immun.*, vol. 23, no. 8, pp. 678–686, Nov. 2017, doi: 10.1177/1753425917733531.
- [289] S. Li *et al.*, 'Resveratrol protects mice from paraquat-induced lung injury: The important role of SIRT1 and NRF2 antioxidant pathways', *Mol. Med. Rep.*, vol. 13, no. 2, pp. 1833–1838, Feb. 2016, doi: 10.3892/mmr.2015.4710.
- [290] K. Tian *et al.*, 'Sirtuin 6 inhibits epithelial to mesenchymal transition during idiopathic pulmonary fibrosis via inactivating TGF- β 1/Smad3 signaling', *Oncotarget*, vol. 8, no. 37, pp. 61011–61024, Sep. 2017, doi: 10.18632/oncotarget.17723.
- [291] M. Königshoff *et al.*, 'Functional Wnt Signaling Is Increased in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *PLoS ONE*, vol. 3, no. 5, p. e2142, May 2008, doi: 10.1371/journal.pone.0002142.
- [292] Y. Tian *et al.*, 'Loss of PTEN induces lung fibrosis via alveolar epithelial cell senescence depending on NF- κ B activation', *Aging Cell*, vol. 18, no. 1, p. e12858, Feb. 2019, doi: 10.1111/ace1.12858.
- [293] T. L. A. Kawahara *et al.*, 'SIRT6 links histone H3 lysine 9 deacetylation to NF- κ B-dependent gene expression and organismal life span', *Cell*, vol. 136, no. 1, pp. 62–74, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.cell.2008.10.052.

- [294] J. Luo *et al.*, ‘Negative control of p53 by Sir2alpha promotes cell survival under stress’, *Cell*, vol. 107, no. 2, pp. 137–148, Oct. 2001, doi: 10.1016/s0092-8674(01)00524-4.
- [295] M. Sehgal, S. M. Jakhete, A. G. Manekar, and S. Sasikumar, ‘Specific epigenetic regulators serve as potential therapeutic targets in idiopathic pulmonary fibrosis’, *Heliyon*, vol. 8, no. 8, p. e09773, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09773.
- [296] Z. Zeng *et al.*, ‘Activation and overexpression of Sirt1 attenuates lung fibrosis via P300’, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 486, no. 4, pp. 1021–1026, May 2017, doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.155.
- [297] M. Rubio-Rivas, C. Royo, C. P. Simeón, X. Corbella, and V. Fonollosa, ‘Mortality and survival in systemic sclerosis: Systematic review and meta-analysis’, *Semin. Arthritis Rheum.*, vol. 44, no. 2, pp. 208–219, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.semarthrit.2014.05.010.
- [298] V. D’Agnano *et al.*, ‘Targeting Progression in Pulmonary Fibrosis: An Overview of Underlying Mechanisms, Molecular Biomarkers, and Therapeutic Intervention’, *Life*, vol. 14, no. 2, p. 229, Feb. 2024, doi: 10.3390/life14020229.
- [299] H. Chu *et al.*, ‘Sirtuin1 Protects against Systemic Sclerosis-related Pulmonary Fibrosis by Decreasing Proinflammatory and Profibrotic Processes’, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 58, no. 1, pp. 28–39, Jan. 2018, doi: 10.1165/rcmb.2016-0192OC.
- [300] J. Liang *et al.*, ‘The ZIP8/SIRT1 axis regulates alveolar progenitor cell renewal in aging and idiopathic pulmonary fibrosis’, *J. Clin. Invest.*, vol. 132, no. 11, p. e157338, Jun. 2022, doi: 10.1172/JCI157338.
- [301] M. L. Sosulski, R. Gongora, C. Feghali-Bostwick, J. A. Lasky, and C. G. Sanchez, ‘Sirtuin 3 Deregulation Promotes Pulmonary Fibrosis’, *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, p. glw151, Aug. 2016, doi: 10.1093/gerona/glw151.
- [302] R. P. Jablonski *et al.*, ‘SIRT3 deficiency promotes lung fibrosis by augmenting alveolar epithelial cell mitochondrial DNA damage and apoptosis’, *FASEB J.*, vol. 31, no. 6, pp. 2520–2532, Jun. 2017, doi: 10.1096/fj.201601077R.
- [303] P. Cheresch *et al.*, ‘SIRT3 Overexpression Ameliorates Asbestos-Induced Pulmonary Fibrosis, mt-DNA Damage, and Lung Fibrogenic Monocyte Recruitment’, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 13, p. 6856, Jun. 2021, doi: 10.3390/ijms22136856.
- [304] S.-J. Kim *et al.*, ‘Mitochondria-targeted Ogg1 and aconitase-2 prevent oxidant-induced mitochondrial DNA damage in alveolar epithelial cells’, *J. Biol. Chem.*, vol. 289, no. 9, pp. 6165–6176, Feb. 2014, doi: 10.1074/jbc.M113.515130.
- [305] T. Kadota *et al.*, ‘Extracellular Vesicles from Fibroblasts Induce Epithelial-Cell Senescence in Pulmonary Fibrosis’, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, vol. 63, no. 5, pp. 623–636, Nov. 2020, doi: 10.1165/rcmb.2020-0002OC.
- [306] S. Minagawa *et al.*, ‘Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF- β -induced senescence of human bronchial epithelial cells’, *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 300, no. 3, pp. L391–L401, Mar. 2011, doi: 10.1152/ajplung.00097.2010.

- [307] P. Chen, K. Tian, W. Tu, Q. Zhang, L. Han, and X. Zhou, 'Sirtuin 6 inhibits MWCNTs-induced epithelial-mesenchymal transition in human bronchial epithelial cells via inactivating TGF- β 1/Smad2 signaling pathway', *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 374, pp. 1–10, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.taap.2019.04.013.
- [308] Q. Zhang *et al.*, 'Sirtuin 6 inhibits myofibroblast differentiation via inactivating transforming growth factor- β 1/Smad2 and nuclear factor- κ B signaling pathways in human fetal lung fibroblasts', *J. Cell. Biochem.*, vol. 120, no. 1, pp. 93–104, Jan. 2019, doi: 10.1002/jcb.27128.
- [309] A. E. Wyman *et al.*, 'Sirtuin 7 is decreased in pulmonary fibrosis and regulates the fibrotic phenotype of lung fibroblasts', *Am. J. Physiol.-Lung Cell. Mol. Physiol.*, vol. 312, no. 6, pp. L945–L958, Jun. 2017, doi: 10.1152/ajplung.00473.2016.
- [310] P. Ö. Eser and P. A. Jänne, 'TGF β pathway inhibition in the treatment of non-small cell lung cancer', *Pharmacol. Ther.*, vol. 184, pp. 112–130, Apr. 2018, doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.11.004.
- [311] J. Nickel, P. Ten Dijke, and T. D. Mueller, 'TGF- β family co-receptor function and signaling', *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, vol. 50, no. 1, pp. 12–36, Jan. 2018, doi: 10.1093/abbs/gmx126.
- [312] X.-M. Meng, D. J. Nikolic-Paterson, and H. Y. Lan, 'TGF- β : the master regulator of fibrosis', *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 12, no. 6, pp. 325–338, Jun. 2016, doi: 10.1038/nrneph.2016.48.
- [313] A. Chaikuad and A. N. Bullock, 'Structural Basis of Intracellular TGF- β Signaling: Receptors and Smads', *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 8, no. 11, p. a022111, Nov. 2016, doi: 10.1101/cshperspect.a022111.
- [314] A. B. Roberts, M. A. Anzano, L. C. Lamb, J. M. Smith, and M. B. Sporn, 'New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from non-neoplastic tissues', *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 78, no. 9, pp. 5339–5343, Sep. 1981, doi: 10.1073/pnas.78.9.5339.
- [315] F. Verrecchia and F. Rédini, 'Transforming Growth Factor- β Signaling Plays a Pivotal Role in the Interplay Between Osteosarcoma Cells and Their Microenvironment', *Front. Oncol.*, vol. 8, p. 133, 2018, doi: 10.3389/fonc.2018.00133.
- [316] L. Chen *et al.*, 'Central role of dysregulation of TGF- β /Smad in CKD progression and potential targets of its treatment', *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.*, vol. 101, pp. 670–681, Dec. 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.02.090.
- [317] L. H. Katz, M. Likhter, W. Jogunoori, M. Belkin, K. Ohshiro, and L. Mishra, 'TGF- β signaling in liver and gastrointestinal cancers', *Cancer Lett.*, vol. 379, no. 2, pp. 166–172, Sep. 2016, doi: 10.1016/j.canlet.2016.03.033.
- [318] Y.-Y. Zhao *et al.*, 'Intrarenal metabolomic investigation of chronic kidney disease and its TGF- β 1 mechanism in induced-adenine rats using UPLC Q-TOF/HSMS/MS(E)', *J. Proteome Res.*, vol. 12, no. 2, pp. 692–703, Feb. 2013, doi: 10.1021/pr3007792.

- [319] Y. Yue, K. Meng, Y. Pu, and X. Zhang, 'Transforming growth factor beta (TGF- β) mediates cardiac fibrosis and induces diabetic cardiomyopathy', *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 133, pp. 124–130, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.diabres.2017.08.018.
- [320] A. Biernacka, M. Dobaczewski, and N. G. Frangogiannis, 'TGF- β signaling in fibrosis', *Growth Factors Chur Switz.*, vol. 29, no. 5, pp. 196–202, Oct. 2011, doi: 10.3109/08977194.2011.595714.
- [321] M. J. Macias, P. Martin-Malpartida, and J. Massagué, 'Structural determinants of Smad function in TGF- β signaling', *Trends Biochem. Sci.*, vol. 40, no. 6, pp. 296–308, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.tibs.2015.03.012.
- [322] X.-M. Meng, D. J. Nikolic-Paterson, and H. Y. Lan, 'Inflammatory processes in renal fibrosis', *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 10, no. 9, pp. 493–503, Sep. 2014, doi: 10.1038/nrneph.2014.114.
- [323] H. Y. Lan, 'Diverse roles of TGF- β /Smads in renal fibrosis and inflammation', *Int. J. Biol. Sci.*, vol. 7, no. 7, pp. 1056–1067, 2011, doi: 10.7150/ijbs.7.1056.
- [324] E. L. Kramer and J. P. Clancy, 'TGF β as a therapeutic target in cystic fibrosis', *Expert Opin. Ther. Targets*, vol. 22, no. 2, pp. 177–189, Feb. 2018, doi: 10.1080/14728222.2018.1406922.
- [325] H. Sun *et al.*, 'Tgf-beta downregulation of distinct chloride channels in cystic fibrosis-affected epithelia', *PloS One*, vol. 9, no. 9, p. e106842, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0106842.
- [326] Y. Ouyang *et al.*, 'TGF-beta signaling may play a role in the development of goblet cell hyperplasia in a mouse model of allergic rhinitis', *Allergol. Int. Off. J. Jpn. Soc. Allergol.*, vol. 59, no. 3, pp. 313–319, Sep. 2010, doi: 10.2332/allergolint.10-SC-0172.
- [327] H. Kang, 'Role of MicroRNAs in TGF- β Signaling Pathway-Mediated Pulmonary Fibrosis', *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 12, p. 2527, Nov. 2017, doi: 10.3390/ijms18122527.
- [328] M. Al-Alawi, T. Hassan, and S. H. Chotirmall, 'Transforming growth factor β and severe asthma: a perfect storm', *Respir. Med.*, vol. 108, no. 10, pp. 1409–1423, Oct. 2014, doi: 10.1016/j.rmed.2014.08.008.
- [329] J. C. Hewlett, J. A. Kropski, and T. S. Blackwell, 'Idiopathic pulmonary fibrosis: Epithelial-mesenchymal interactions and emerging therapeutic targets', *Matrix Biol.*, vol. 71–72, pp. 112–127, Oct. 2018, doi: 10.1016/j.matbio.2018.03.021.
- [330] K. C. Flanders, 'Smad3 as a mediator of the fibrotic response', *Int. J. Exp. Pathol.*, vol. 85, no. 2, pp. 47–64, Apr. 2004, doi: 10.1111/j.0959-9673.2004.00377.x.
- [331] H.-H. Hu *et al.*, 'New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis', *Chem. Biol. Interact.*, vol. 292, pp. 76–83, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.cbi.2018.07.008.
- [332] M. Prashanth Goud, S. Bale, G. Pulivendala, and C. Godugu, 'Therapeutic effects of Nimbolide, an autophagy regulator, in ameliorating pulmonary fibrosis through attenuation of TGF- β 1 driven epithelial-to-mesenchymal transition', *Int. Immunopharmacol.*, vol. 75, p. 105755, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.intimp.2019.105755.

- [333] F. Feng *et al.*, ‘Tanshinone IIA attenuates silica-induced pulmonary fibrosis via Nrf2-mediated inhibition of EMT and TGF- β 1/Smad signaling’, *Chem. Biol. Interact.*, vol. 319, p. 109024, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.cbi.2020.109024.
- [334] E. M. Moustafa, S. Ismail Ibrahim, and F. A.-F. Salem, ‘Methylsulfonylmethane inhibits lung fibrosis progression, inflammatory response, and epithelial-mesenchymal transition via the transforming growth factor-B1/SMAD2/3 pathway in rats exposed to both γ -radiation and Bisphenol-A’, *Toxin Rev.*, vol. 40, no. 4, pp. 1431–1440, Oct. 2021, doi: 10.1080/15569543.2020.1728337.
- [335] J. He *et al.*, ‘Isoliquiritigenin inhibits TGF- β 1-induced fibrogenesis through activating autophagy via PI3K/AKT/mTOR pathway in MRC-5 cells’, *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, vol. 52, no. 8, pp. 810–820, Jul. 2020, doi: 10.1093/abbs/gmaa067.
- [336] K. L. Walton, K. E. Johnson, and C. A. Harrison, ‘Targeting TGF- β Mediated SMAD Signaling for the Prevention of Fibrosis’, *Front. Pharmacol.*, vol. 8, p. 461, 2017, doi: 10.3389/fphar.2017.00461.
- [337] Z. Ye and Y. Hu, ‘TGF- β 1: Gentlemanly orchestrator in idiopathic pulmonary fibrosis (Review)’, *Int. J. Mol. Med.*, vol. 48, no. 1, p. 132, May 2021, doi: 10.3892/ijmm.2021.4965.
- [338] R. Kumar *et al.*, ‘Identification of serum sirtuins as novel noninvasive protein markers for frailty’, *Aging Cell*, vol. 13, no. 6, pp. 975–980, Dec. 2014, doi: 10.1111/accel.12260.
- [339] A. Salminen, K. Kaarniranta, and A. Kauppinen, ‘Crosstalk between Oxidative Stress and SIRT1: Impact on the Aging Process’, *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 14, no. 2, pp. 3834–3859, Feb. 2013, doi: 10.3390/ijms14023834.
- [340] B. Elibol and U. Kilic, ‘High Levels of SIRT1 Expression as a Protective Mechanism Against Disease-Related Conditions’, *Front. Endocrinol.*, vol. 9, p. 614, 2018, doi: 10.3389/fendo.2018.00614.
- [341] X.-R. Han *et al.*, ‘Decreased Systemic and Airway Sirtuin 1 Expression in Adults With Bronchiectasis’, *Front. Med.*, vol. 8, p. 768770, 2021, doi: 10.3389/fmed.2021.768770.
- [342] Y. Zhang *et al.*, ‘Cigarette smoke-inactivated SIRT1 promotes autophagy-dependent senescence of alveolar epithelial type 2 cells to induce pulmonary fibrosis’, *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 166, pp. 116–127, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2021.02.013.
- [343] J. Konikov-Rozenman, R. Breuer, N. Kaminski, and S. B. Wallach-Dayana, ‘CMH-Small Molecule Docks into SIRT1, Elicits Human IPF-Lung Fibroblast Cell Death, Inhibits Ku70-deacetylation, FLIP and Experimental Pulmonary Fibrosis’, *Biomolecules*, vol. 10, no. 7, p. 997, Jul. 2020, doi: 10.3390/biom10070997.
- [344] W. Qian, X. Cai, and Q. Qian, ‘Sirt1 antisense long non-coding RNA attenuates pulmonary fibrosis through sirt1-mediated epithelial-mesenchymal transition’, *Aging*, vol. 12, no. 5, pp. 4322–4336, Mar. 2020, doi: 10.18632/aging.102882.

- [345] P. Wei *et al.*, 'Transforming growth factor (TGF)- β 1-induced miR-133a inhibits myofibroblast differentiation and pulmonary fibrosis', *Cell Death Dis.*, vol. 10, no. 9, p. 670, Sep. 2019, doi: 10.1038/s41419-019-1873-x.
- [346] J. Sauleda, B. Núñez, E. Sala, and J. B. Soriano, 'Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Epidemiology, Natural History, Phenotypes', *Med. Sci. Basel Switz.*, vol. 6, no. 4, p. 110, Nov. 2018, doi: 10.3390/medsci6040110.
- [347] F. Perrotta *et al.*, 'Potential role of SIRT-1 and SIRT-3 as biomarkers for the diagnosis and prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis', *Respir Res*, vol. 25, no. 1, p. 189, Apr. 2024, doi: 10.1186/s12931-024-02796-0.
- [348] M. Manetti, I. Rosa, B. S. Fioretto, M. Matucci-Cerinic, and E. Romano, 'Decreased Serum Levels of SIRT1 and SIRT3 Correlate with Severity of Skin and Lung Fibrosis and Peripheral Microvasculopathy in Systemic Sclerosis', *JCM*, vol. 11, no. 5, p. 1362, Mar. 2022, doi: 10.3390/jcm11051362.
- [349] J. Zhou *et al.*, 'Sirt1 overexpression improves senescence-associated pulmonary fibrosis induced by vitamin D deficiency through downregulating *IL-11* transcription', *Aging Cell*, vol. 21, no. 8, p. e13680, Aug. 2022, doi: 10.1111/acer.13680.
- [350] M. Molina-Molina, S. Lario, P. Luburich, J. Ramírez, M. T. Carrión, and A. Xaubet, 'Quantifying Plasma Levels of Transforming Growth Factor β 1 in Idiopathic Pulmonary Fibrosis', *Archivos de Bronconeumología ((English Edition))*, vol. 42, no. 8, pp. 380–383, Aug. 2006, doi: 10.1016/S1579-2129(06)60550-8.
- [351] S. M. Evrard *et al.*, 'The profibrotic cytokine transforming growth factor- β 1 increases endothelial progenitor cell angiogenic properties', *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 10, no. 4, pp. 670–679, Apr. 2012, doi: 10.1111/j.1538-7836.2012.04644.x.
- [352] M. W. Zakaria, R. I. El-Korashy, S. Selim, I. Badawy, and K. J. Amum, 'Serum level of transforming growth factor-beta1 in major idiopathic interstitial pneumonia', *Egypt J Bronchol*, vol. 14, no. 1, p. 22, Dec. 2020, doi: 10.1186/s43168-020-00023-0.
- [353] D. L. W. Chong *et al.*, 'Investigating the role of platelets and platelet-derived transforming growth factor- β in idiopathic pulmonary fibrosis', *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, vol. 325, no. 4, pp. L487–L499, Oct. 2023, doi: 10.1152/ajplung.00227.2022.

