



**T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL AKCİĞER  
FİBROZİSİ MODELİNDE ERDOSTEİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN  
FİBROZİS ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mesut DEMİRKÖSE**

**GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Ersin Şükrü ERDEN**

**HATAY-2014**

**T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**RATLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL AKCİĞER  
FİBROZİSİ MODELİNDE ERDOSTEİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN  
FİBROZİS ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mesut DEMİRKÖSE**

**GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Ersin Şükrü ERDEN**

**HATAY-2014**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi  
tarafından 8761 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**TEZ ONAY SAYFASI**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**RATLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL AKCİĞER  
FİBROZİSİ MODELİNDE ERDOSTEİN VE N-ASETİLSİSTEİN'İN FİBROZİS  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Mesut DEMİRKÖSE**

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....

Prof. Dr. Ömer Faruk KÖKOĞLU  
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Sebahat GENÇ  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....

Yrd. Doç. Dr. Ersin Şükrü ERDEN  
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ

1. Doç. Dr. Sebahat GENÇ .....
2. Yrd. Doç. Dr. Ersin Şükrü ERDEN .....
3. Yrd. Doç. Dr. Cenk BABAYİĞİT.....

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No</b>
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
RESİM LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR.....	x
TEŞEKKÜR.....	xii
ÖZET.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tanım ve Sınıflama.....	3
2.2. Epidemiyoloji.....	7
2.3. Etiyoloji ve Risk Faktörleri.....	7
2.3.1. Sigara İçimi.....	8
2.3.2. Çevresel Faktörler.....	8
2.3.3. Viral Enfeksiyonlar.....	8
2.3.4. Gastroözofageal Reflü.....	9
2.3.5. İlaç Maruziyeti.....	9
2.3.6. Genetik Faktörler.....	9
2.3.7. Otoimmünite.....	10
2.4. Patogenez.....	10
2.4.1. İnflamasyon teorisi.....	10
2.4.2. Epitelyal Yaralanma ve Aktivasyon.....	11
2.4.3. Genetik değişiklikler.....	11
2.4.4. Epitelyal Hücre Apoptozu.....	11
2.4.5. Epitelyal Bazal Membran Zedelenmesi.....	12

2.4.6. Büyüme Faktörleri.....	12
2.4.7. Th1 ve Th2 stokinleri.....	12
2.4.8. Matrix Döngüsü.....	13
2.4.9. Fibroblastların Miyofibroblasta Dönüşümü.....	13
2.4.10. Anjiyogenez.....	13
2.4.11. Gastroözafageal Reflü.....	14
2.4.12. Yaşlılık.....	14
2.5. Semptom ve Bulgular.....	14
2.6. Tanı.....	15
2.6.1. Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi.....	17
2.6.2. Nükleer Tıp Görüntüleme Yöntemleri.....	18
2.6.3. Fonksiyonel değerlendirme.....	19
2.6.4. Bronkoalveoler Lavaj ve Hücre Analizi.....	19
2.7. Tedavi.....	20
2.7.1. Kortikosteroidler.....	21
2.7.2. Siklofosfamid/Azatiyoprin.....	21
2.6.3. Kombinasyon tedavisi.....	22
2.6.4. Antifibrotik ve Antiproliferatif ilaçlar.....	22
2.6.5. Akciğer Nakli.....	23
2.8. Prognoz.....	24
2.9.Hidroksiprolin, Malondialdehit, Makrofaj İnflamatuar Protein 2, Tumor Necrosis Factor Alfa, Transforming Growth Factor Beta 1, Total Oksidan ve Total Antioksidan Status, Matrix Metalloproteinase 1 ve 7...	24
2.9.1. Hidroksiprolin.....	24
2.9.2. Malondialdehit.....	25
2.9.3. Makrofaj İnflamatuar Protein 2.....	25
2.9.4. Tumor Necrosis Factor Alfa, Transforming Growth Factor Beta 1.....	26
2.9.5. Total Oksidan Status ve Total Antioksidan Status .....	26

2.9.6. Matrix Metalloproteinase 1 ve 7.....	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Deney Hayvanları.....	28
3.1.1. Deney grupları.....	28
3.1.2. Yapılan işlemler.....	29
3.2. BAL Malondialdehit ölçümü.....	31
3.3. Doku hidroksiprolin miktarının tespiti.....	32
3.4. Serum Total Antioxidant Status düzeylerinin ölçümü.....	33
3.5. Serum Total Oxidant Status düzeylerinin ölçümü.....	34
3.6. Serum Tumor Necrosis Factor Alfa düzeylerinin ölçümü.....	34
3.7. Serum Transforming Growth Factor Beta 1 düzeylerinin ölçümü.....	34
3.8. Serum Makrofaj İnflamatuar Protein 2 düzeylerinin ölçümü.....	34
3.9. Serum Matrix Metalloproteinase 1 düzeylerinin ölçümü.....	35
3.10. Serum Matrix Metalloproteinase 7 düzeylerinin ölçümü.....	35
3.11. Bronkoalveoler lavajda hücre sayımı.....	35
3.12. Histopatolojik inceleme.....	35
3.13. İstatistiksel Analiz.....	36
4.BULGULAR.....	37
4.1. BAL nötrofil düzeyleri.....	39
4.2. BAL lenfosit düzeyleri.....	40
4.3. Serum TNF $\alpha$ düzeyleri.....	41
4.4. Akciğer dokusunda fibrozis derecesi.....	42
4.5. Serum TAS düzeyleri.....	44
4.6. Serum TOS düzeyleri.....	45
4.7. Serum TGF $\beta$ 1 düzeyleri.....	46
4.8. Serum MIP 2 düzeyleri.....	47
4.9. Serum MMP 1 düzeyleri.....	48
4.10. Serum MMP 7 düzeyleri.....	49

4.11. BAL MDA düzeyleri.....	50
4.12. Akciğer doku hidroksiprolin düzeyleri.....	51
5. TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇLAR.....	58
7. KAYNAKLAR.....	60
8. ÖZGEÇMİŞ.....	73

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1:</b> İdiyopatik intertisyel pnömonilerin sınıflandırılması .....	5
<b>Tablo 2:</b> Major idiyopatik intertisyel pnömonilerin sınıflandırılması .....	5
<b>Tablo 3:</b> İPF'nin klinik, radyolojik ve histopatolojik özellikleri.....	6
<b>Tablo 4:</b> Hidroksiprolin ölçümü deney yapım tablosu.....	32
<b>Tablo 5:</b> Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi.....	36
<b>Tablo 6:</b> Tüm gruplarda BAL'da hücre düzeyleri, akciğer dokusunda fibrozis derecesi... ve akciğer hidroksiprolin miktarı	37
<b>Tablo 7:</b> Tüm gruplarda serum TGF $\beta$ 1, MIP 2, MMP1, MMP7, TNF $\alpha$ düzeyleri.....	38
<b>Tablo 8:</b> Tüm gruplarda serum TAS, TOS ve BAL MDA düzeyleri.....	38



## RESİM LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Resim 1:</b> İntratrakeal uygulama, sağ ventrikülden kan alma ve trakeal kanül aracılığıyla bronkoalveolar lavaj işlemleri.....	31
<b>Resim 2:</b> Bronkoalveolar lavaj yaymasında hücresel görünüm.....	41
<b>Resim 3:</b> Akciğer dokusu histopatolojik görünüm.....	43

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1:</b> Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının sınıflandırılması.....	4
<b>Şekil 2:</b> İPF için tanısal algoritma.....	17
<b>Şekil 3:</b> Tüm gruplarda BAL nötrofil düzeyleri.....	39
<b>Şekil 4:</b> Tüm gruplarda BAL lenfosit düzeyleri.....	40
<b>Şekil 5:</b> Tüm gruplarda doku fibrozis dereceleri.....	42
<b>Şekil 6:</b> Tüm gruplarda serum TAS düzeyleri.....	44
<b>Şekil 7:</b> Tüm gruplarda serum TOS düzeyleri.....	45
<b>Şekil 8:</b> Tüm gruplarda serum TGF $\beta$ 1 düzeyleri.....	46
<b>Şekil 9:</b> Tüm gruplarda serum MİP 2 düzeyleri.....	47
<b>Şekil 10:</b> Tüm gruplarda serum MMP 1 düzeyleri.....	48
<b>Şekil 11:</b> Tüm gruplarda serum MMP 7 düzeyleri.....	49
<b>Şekil 12:</b> Tüm gruplarda BAL MDA düzeyleri.....	50
<b>Şekil 13:</b> Tüm gruplarda akciğer doku hidroksiprolin düzeyleri.....	51

## KISALTMALAR

AİP	: Akut intertisyel pnömoni
ATS	: American Thoracic Society
AZA	: Azatiyoprin
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
BDİ	: Bazal dispne indeksi
BLM	: Bleomisin
DİAH	: Diffüz İntertisyel Akciğer Hastalığı
DİP	: Deskuamatif intertisyel pnömoni
DLCO	: Diffusing capacity of the lung for carbon monoxide
DPAH	: Diffüz Parankimal Akciğer Hastalığı
EBV	: Ebstein- Barr virüsü
ERD	: Erdostein
ERS	: European Respiratory Society
ESM	: Ekstrasellüler matriks proteinleri
FEV1	: 1. saniyede zorlu ekspiratuar volüm
FVC	: Zorlu vital kapasite
HE	: Hematoksilen-Eozin
ISHLT	: Uluslararası Kalp ve Akciğer Nakli Derneği
İİP	: İdiyopatik intertisyel pnömoni
İGF-1	: insülin-like growth factor
İPF	: İdyopatik Pulmoner Fibrozis
i.t.	: İntratrakeal
KOP	: Kriptojenik organize pnömoni
LİP	: Lenfositik intertisyel pnömoni
MMRC	: Modified Medical Research Council
MDA	: Malondialdehit

MİP-2	: Makrofaj İnflamatuar Protein-2
MMP-1	: Matrix Metalloproteinase 1
MMP-7	: Matrix Metalloproteinase 7
MT	: Masson Trichrome
Met I	: N-thioglycolylhomocysteine
NAC	: N-acetylcysteine
NSİP	: İdiyopatik nonspesifik intertisyel pnömoni
PBS	: Phosphate buffered saline
PD-GF	: Platelet derivated growth factor
PET	: Pozitron emisyon tomografisi
PPFE	: Pleroparankimal fibroelastozis
RB-İLD	: Respiratuar bronşiyolit ilişkili intertisyel akciğer hastalığı
SP	: Siklofosamid
TAS	: Total Antioksidan Status
TGF- $\alpha$	: Transforming Growth Factor Alfa
TGF- $\beta$	: Transforming growth faktör- $\beta$
TGF- $\beta$ 1	: Transforming Growth Factor-Beta 1
TNF- $\alpha$	: Tumor Necrosis Factor-Alfa
TOS	: Total Oksidan Status
TIMOs	: Doku metalloproteinaz inhibitörleri
UİP	: Usual intertisyel pnömoni
YÇBT	: Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi
6DYT	: Altı dakika yürüme testi

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam, klinik Anabilim Dalı başkanım Sayın Doç. Dr. Sebahat GENÇ'e

Bilimsel ve mesleki deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Cenk BABAYİĞİT ve Yrd. Doç. Dr. Sibel DOĞRU'ya

Tez çalışmam süresince her konuda desteğini, teorik ve pratikte değerli bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen tez danışmanım sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ersin Şükrü ERDEN'e

Rotasyonlarımda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Hasan KAYA ve Doç. Dr. Edip UÇAR başta olmak üzere tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarına

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım Mustafa Kemal Üniversitesi Göğüs Hastalıkları Kliniğindeki asistan arkadaşlarım, hemşire ve personel arkadaşlara,

Kaybettiğim, doktor olmamı çok isteyen ama göremeyen, ancak sınırsız sevgi ve desteğini her an yanımda hissettiğim, canım annem Cennet DEMİRKÖSE'ye, fedakarlığıyla bizlere kol kanat geren sevgili babam Mehmet DEMİRKÖSE'ye, bize annelik ve ablalık yapan çok sevdiğim Rukiye DEMİRKÖSE'ye, hayatıma neşe katan sevgili kardeşlerim Ayşegül YAVUZ ve eşi Selçuk YAVUZ'a, Ahmet DEMİRKÖSE'ye, Neslihan DEMİRKÖSE'ye, Emirhan DEMİRKÖSE, Mustafa DEMİRKÖSE'ye ve sevgili yeğenim Hüseyin Berat YAVUZ'a teşekkür ederim.

Dr. Mesut DEMİRKÖSE

HATAY-2014

## ÖZET

**Amaç:** İdiyopatik pulmoner fibrozis (İPF) etyolojisi bilinmeyen, progresif seyirli, etkili bir tedavi seçeneği olmayan bir İnterstisyel Akciğer Hastalığı'dır. Bleomisin (BLM) ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli, insanlardaki İPF'in değerlendirilmesi için kullanılan en önemli modeldir. Erdosteine (ERD) ve N-asetilsistein (NAC) sülfhidril içeren antioksidanlardır. Bu çalışmada bu ajanların BLM ile oluşturulan fibrozis üzerine etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Metod:** Çalışmaya alınan ratlar 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (n=7), 0. günde intratrakeal (i.t.) salın, BLM-I (n=5), BLM-II (n=6), ERD (n=6), ve NAC (n=7), gruplarına 0. günde 7.5 Ü/kg BLM i.t. verildi. 14. günden 29. güne kadar BLM-II grubuna distile su, ERD grubuna ERD (10 mg/kg/gün) ve NAC grubuna NAC (3 mmol/kg/gün) peroral verildi. BLM-I grubu için 14. günde, diğerleri için 29. günde çalışma sonlandırıldı. Bronkoalveoler lavajda (BAL) Malondialdehit (MDA), inflamatuvar hücre sayımı, serumda Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS), Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF $\alpha$ ), Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF $\beta$ 1), Makrofaj İnflamatuvar Protein 2 (MİP 2), Matrix Metalloproteinase 1 (MMP 1), MMP 7 çalışıldı. Akciğer dokusunda hidroksprolin ölçümü ve histopatolojik inceleme yapıldı.

**Bulgular:** Nötrofil düzeyleri, ERD grubunda BLM I, BLM II, NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p=0,004, p=0,015, p=0,022). Lenfosit düzeyleri, ERD, NAC gruplarında BLM I'e göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p=0,030, p=0,010). Akciğer dokusu fibrozis derecesi, ERD grubunda BLM I, BLM II, NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (p<0,001). TAS düzeyleri, ERD grubunda BLM I-II, NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (BLM II için p=0,002, diğerleri için p<0,001). TOS düzeyleri, ERD grubunda BLM I-II, NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p<0,001, p=0,009, p=0,025). MİP 2 düzeyleri, ERD grubunda BLM I grubuna göre anlamlı düşük bulundu (p=0,004). MMP 1 düzeyleri, ERD grubunda BLM I-II gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p=0,007, p=0,022). MDA düzeyleri, ERD grubunda BLM I grubuna göre anlamlı düşük bulundu (p=0,026). Hidroksprolin düzeyleri, ERD, NAC gruplarında BLM I grubuna göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla; p=0,001, p=0,003).

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları ERD'in BLM ile oluşturulan fibrozis üzerine tedavi edici etkisinin olduğunu göstermektedir. Bu etkiyi akciğerde çeşitli kemokin ve kollagenaz düzeylerini ve inflamatuvar hücre birikimini azaltarak, oksidan/antioksidan dengesini düzenleyerek gösterebilir.

**Anahtar kelimeler:** Akciğer fibrozisi, Bleomisin, Erdosteine, N-asetilsistein, Rat.

## ABSTRACT

### (Investigation of the effects of Erdosteine and N-acetylcysteine on fibrosis Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats)

**Background and aim:** Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a progressive Interstitial Lung Disease of unknown etiology, and there is no effective treatment option. Bleomycin (BLM)-induced lung fibrosis model is the most important model used for the evaluation of IPF in human. Erdosteine (ERD) and N-acetylcysteine (NAC) are sulfhydryl-containing antioxidants. The aim of this study was to investigate the efficacy of these agents on fibrosis created by BLM.

**Methods:** The rats were divided into 5 groups. Intratracheal (IT) saline was given to the control group (n=7), and 7.5 U / kg IT BLM to BLM-I (n=5), BLM-II (n=6), ERD (n=6) and NAC (n=7) groups on day 0. Distilled water to BLM -II group, ERD (10 mg / kg / day) to ERD group and NAC (3 mmol / kg / day) to NAC group was given perorally from day 14 until day 29. Study was terminated on day 14 for BLM-I group and on day 29 for other groups. Malondialdehit (MDA) measurement and inflammatory cell count in BAL fluid, Total Antioxidant Status (TAS), Total Oxidant Status (TOS), Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF $\alpha$ ), Transforming Growth Factor Beta 1 (TGF $\beta$ 1), Macrophage Inflammatory Protein 2 (MIP 2), Matrix Metalloproteinase 1 (MMP 1), MMP 7 measurement in serum were performed. Hydroxyproline levels were measured and histopathological examination was performed in lung tissue.

**Results:** Neutrophil levels were significantly lower in ERD group than BLM I, BLM II, and NAC groups (p=0,004, p=0,015, and p=0,022, respectively). Lymphocyte levels were significantly lower in ERD and NAC groups than BLM I group (p=0,030, p=0,010, respectively). The degree of fibrosis of the lung tissue was significantly lower in ERD group than in BLM I, BLM II, and NAC groups (p<0,001). TAS levels were significantly higher in ERD group than BLM I, BLM II, and NAC groups (p=0,002 for BLM II, p<0,001 for other groups). TOS levels were significantly lower in ERD group than BLM I, BLM II, and NAC groups (p<0,001, p=0,009, p=0,025, respectively). MIP 2 levels were significantly lower in ERD group than BLM I (p=0,004). MMP 1 levels were significantly lower in ERD group than BLM I and BLM II groups. (p=0,007, p=0,022, respectively). MDA levels were significantly lower in ERD group than BLM I (p=0,026). Hydroxyprolin levels were significantly lower in ERD and NAC groups than BLM I (p=0,001, p=0,003, respectively).

**Conclusion:** Our results showed that ERD has therapeutic effects on fibrosis induced by BLM. It can create this effect by reducing inflammatory cell accumulation, various chemokines and collagenase levels in the lung, and regulating oxidant / antioxidant balance.

**Key words:** Bleomycin, Erdosteine, N-acetylcysteine, Pulmonary Fibrosis, Rats.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diffüz İntertisyel Akciğer Hastalığı (DİAH) veya Diffüz Parankimal Akciğer Hastalığı (DPAH), akciğer parankiminde inflamasyon ve fibrozis gelişimi ile seyreden, benzer klinik, radyolojik ve fizyolojik bulgulara neden olan etyolojisi bilinen ve bilinmeyen 200 kadar hastalığı tanımlar. İdyopatik Pulmoner Fibrozis (İPF), patogenezi tam aydınlatılmamış, etyolojisi bilinmeyen, sık görülen, genellikle ölümcül seyreden ve halen kullanılmakta olan tedavilerin hastaların prognozu üzerine çok az etkili olduğu bir DİAH'dır (1, 2).

Bleomisin (BLM), streptomyces verticillus türünden elde edilmiş antitümöral etkili bir antibiyotiktir (3). BLM akciğerde inflamasyona ve fibrotik reaksiyona neden olur. Bu nedenle potansiyel antifibrotik ajanların etkilerini değerlendirmek için deneysel pulmoner fibrozis oluşturmak amacıyla sık kullanılan bir ajandır (4). BLM ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli, hastalığın aşamalarını ve akciğer yapısı ile fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için yıllardır kullanılan en önemli modeldir (5).

Erdostein antioksidan etkinliği olan bir tiol bileşiğidir. Vücuda alındıktan sonra aktif metaboliti olan N-thioglycolylhomocysteine ( Met I ) haline çevrilmektedir. Met I'in yapısında birçok antioksidan karakterli maddeyle birlikte asıl antioksidan özellikleri taşıyan sülfhidril grubu bulunmaktadır (6). Antioksidan özelliklerinin yanı sıra mukoaktif ve bakteri adhezyonunu azaltıcı özelliği vardır (7). Çalışmalarda erdosteinin deney hayvanlarında hava yolu sekresyonlarını artırdığı, insanlarda ise sigara ile oluşan alfa1-antitripsin'in inaktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (6, 8).

N-asetilsistein (NAC) hücre içinde sistein için bir kaynaktır ve hücre içi sistein, glutatyon redoks sistem üretimini sağlar. NAC hidrojen peroksit ile gelişen epitel hücre hasarını ve sigaranın neden olduğu inflamatuvar süreci baskılar (9).



Kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalarda yapılan çalışmalarda NAC'ın balgam viskozitesinde azalma, ekspektorasyonda kolaylık, öksürük ve balgam hacminde artış, nefes darlığı ve alevlenme sayısında azalma gibi etkilerinin olduğu gösterilmiştir (10).

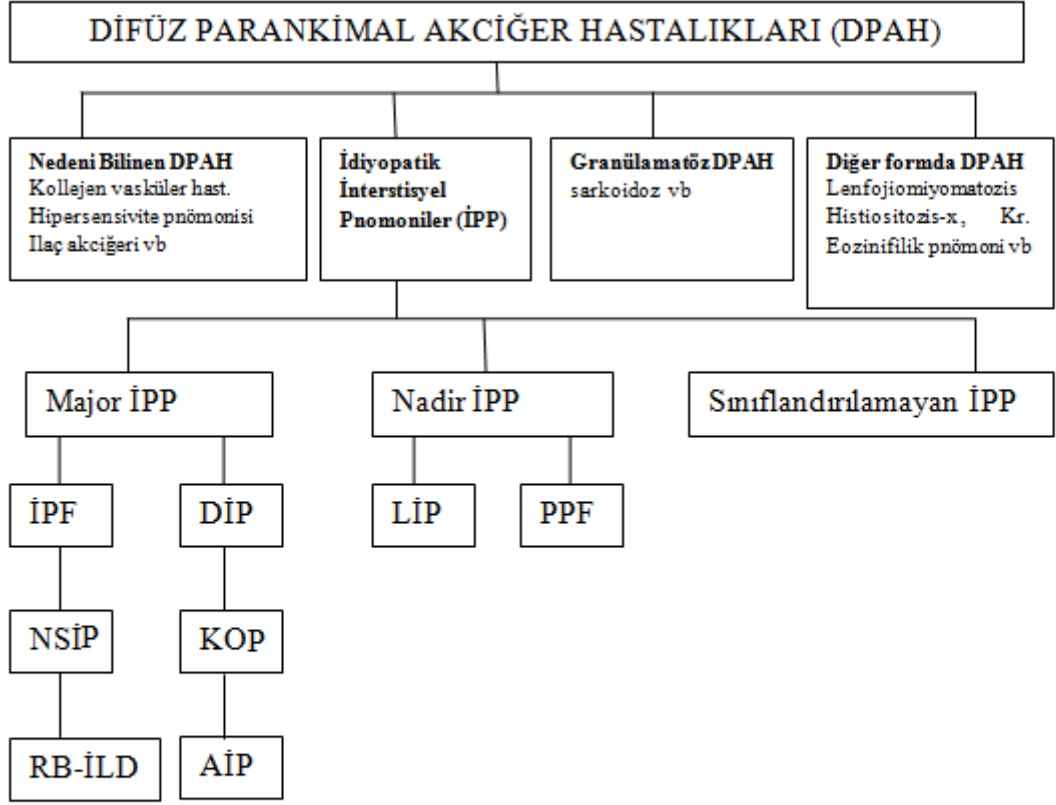
Deneyel hayvan modellerinde akciğer fibrozisi üzerine erdostein ve NAC'ın etkinliğini değerlendirmek üzere çok sayıda çalışma yapılmıştır (11-13). Bu çalışmalardan bir kısmında ilaç uygulama ve çalışma süresi kısa olup (14 gün vb.), daha uzun süreli çalışmalarda da BLM uygulaması ile birlikte tedavi verilerek değerlendirme yapılmıştır. Bizim literatür bilgimize göre BLM uygulaması ile akciğerlerde fibrozisin oluşmasından sonra geç fibrozis döneminde tedavi verilen bir çalışma mevcut değildir. Klinik pratikte pulmoner fibrozis'li hastalar genellikle semptomları ortaya çıktıktan sonra hekime gelmekte ve bu sırada da hastaların akciğerlerinde fibrozis gelişmiş (ileri evre) olmaktadır. Bu nedenle, biz bu çalışma ile akciğerlerde fibrozis tam olarak oluştuktan sonra erdostein ve NAC tedavisi vererek bu ajanların geç fibrozis döneminde herhangi bir teröpatik etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Tanım ve Sınıflama

Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıkları (DPAH) iki yüz kadar hastalığı içeren akciğer parankimi, hava yolları, vasküler yapıları ve nadiren de plevrayı etkileyen heterojen bir grup hastalıktır (14). DPAH heterojen bir grup hastalık olmasına rağmen benzer klinik, radyolojik ve fizyopatolojik özellikler gösteren hastalıklardan oluşur. Bu hastalıklar günümüzde başlıca dört başlık altında değerlendirilmektedir. Bunlar; nedeni bilinen DPAH, idiyopatik intertisyel pnömoniler (İİP), granülamatöz DPAH ve diğer formlardır (Şekil 1) (15).

İdiyopatik intertisyel pnömoniler (İİP), akciğer parankiminde hasarla sonuçlanan, inflamasyonun ve fibrozisin değişik derecelerini içeren neoplastik olmayan bir gruptur. Etyolojisi halen aydınlatılamamıştır. Ancak deskuamatif intertisyel pnömoni (DİP) ve respiratuar bronşiyolit ilişkili intertisyel akciğer hastalığı sigara ile ilişkili bulunmuştur. Son yıllarda yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (YÇBT) ve akciğer biyopsileri hastalığın sınıflandırılmasına önemli katkıda bulunmuştur (16, 17). Güncel sınıflamada İİP'ler başlıca üç ana gruba ayrılmıştır. Bunlar; major idiyopatik intertisyel pnömoniler, nadir idiyopatik intertisyel pnömoniler ve sınıflandırılmayan idiyopatik intertisyel pnömonilerdir (Tablo 1) (18). Major idiyopatik intertisyel pnömoniler de kronik fibrozisli, sigara ile ilişkili ve akut/subakut seyirli olarak üç alt gruba ayrılmıştır (Tablo 2) (18).



\*İPF; İdiyopatik pulmoner fibrozis, NSİP; İdiyopatik nonspesifik interstitial pnömoni, RB-İLD; Respiratuar bronşiyolit ilişkili interstitial akciğer hastalığı, DİP; Deskuamatif interstitial pnömoni, KOP; Kriptojenik organize pnömoni, AİP; Akut interstitial pnömoni, LİP; Lenfositik interstitial pnömoni, PPF; Pleroparankimal fibroelastozis

**Şekil 1.** Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının sınıflandırılması

**Tablo 1:** İdiyopatik intertisyel pnömonilerin sınıflandırılması (ATS/ERS 2013)

<b>Majör idiyopatik intertisyel pnömoniler</b> İdiyopatik pulmoner fibrozis (İPF) İdiyopatik nonspesifik intertisyel pnömoni (NSİP) Respiratuar bronşiyolit ilişkili intertisyel akciğer hastalığı (RB-İLD) Deskuamatif intertisyel pnömoni (DİP) Kriptojenik organize pnömoni (KOP) Akut intertisyel pnömoni (AİP)
<b>Nadir idiyopatik intertisyel pnömoniler</b> İdiyopatik lenfositik intertisyel pnömoni (LİP) İdiyopatik pleroparankimal fibroalestozis (PPFE)
<b>Sınıflandırılmayan idiyopatik intertisyel pnömoniler</b>

**ATS:** American Thoracic Society

**ERS:** European Respiratory Society

**Tablo 2:** Major idiyopatik intertisyel pnömonilerin sınıflandırılması

<b>Kategori</b>	<b>Klinik Radyolojik-Patolojik Tanı</b>	<b>Morfolojik Patern</b>
Kronik fibrozisli İP	İdiyopatik pulmoner fibrozis	Olağan intertisyel pnömoni
	İdiyopatik nonspesifik intertisyel pnömoni	Nonspesifik intertisyel pnömoni
Sigara ile ilişkili İP	Respiratuar bronşiyolit ilişkili intertisyel akciğer hastalığı	Respiratuar bronşiyolit
	Deskuamatif intertisyel pnömoni	Deskuamatif intertisyel pnömoni
Akut/Subakut İP	Kriptojenik organize pnömoni	Organize pnömoni
	Akut intertisyel pnömoni	Difüz alveolar hasar

İdiyopatik pulmoner fibrozis bu hastalık grubunun en sık karşılaşılan formudur ve etyolojisi halen bilinmemektedir (19). Son yıllarda hastalığın tanısında ve sınıflandırılmasında ilerlemeler olmasına rağmen etkili bir tedavi seçeneği henüz bulunamamıştır. Hastaların çoğu tanı konulduktan sonra 5 yıl içerisinde hayatını kaybetmektedir (20, 21).

Hastalığın tedavi ve takibinde ortak bir klinik yaklaşım oluşturmak amacıyla ATS ile ERS 2000 yılında ortak bir uzlaşma raporu yayınlamıştır. 2011 yılında bu uzlaşma raporu Japanese Respiratory Society ve Latin American Thoracic Association'ın katılımıyla güncellenmiştir (21, 22). Bu raporda klinik, radyolojik ve patolojik veriler tanımlanmış ve YÇBT kullanımı artırılarak, akciğer biyopsisinin rutin uygulaması sınırlandırılmıştır (Tablo 3) (23).

**Tablo 3:** İPF'nin Klinik, Radyolojik ve Histopatolojik Özellikleri

<b>Klinik özellikler</b>	<b>Radyolojik özellikler</b>	<b>Histopatolojik özellikler</b>
Yaş>60	Subplevral ve bazal baskınlık	Bölgesel heterojonite
Erkek>Kadın	Retiküler anormallikler	Temporal heterojonite
Sigara içen>içmeyen	Traksiyon bronşiektazisi	Fibroblastik odak
Dispne>3,ay kuru öksürük	Subplevral balpeteği kistleri	Periferik lobüler dağılım
Restriktif patern	Retikülasyon alanlarında minimal buzlu cam	Mikroskopik balpeteği
Çomak parmak (ileri hastalıkta)	Fibrozis alanlarında düz kas	
Egzersizde desaturasyon		

İdiyopatik pulmoner fibrozis genellikle sinsi başlangıçlı ve progresif seyirlidir. Hastalık klinik olarak, subklinik İPF, yavaş progresif İPF, hızlı progresif İPF ve alevlenmeler olarak dört başlık altında değerlendirilmektedir. Subklinik İPF

halen net olarak tanımlanamasa da radyolojik bulguların olmasına karşın semptomların olmaması durumu olarak açıklanmaktadır (24). Yavaş progresif İPF, hastalığın klasik klinik seyridir, tanı konulduktan ölüme kadar ortalama birkaç yıl içerisinde akciğer fonksiyonlarında azalma ve nefes darlığında kötüleşme ile karakterizedir (25). Hızlı progresif İPF ise ilk başvurudan sonraki 6 aydan kısa bir sürede semptomatik hale gelen ve yavaş seyirli İPF'den daha kısa sürede kaybedilen hastaları tanımlar (26). Alevlenmeler; enfeksiyon ya da kalp yetmezliği gibi sebeplere bağlı olmaksızın semptomlarda, akciğer fonksiyonlarında ve radyolojik bulgularda, birkaç gün veya hafta içinde bozulma olarak tanımlanmıştır (26, 27).

## **2.2 Epidemiyoloji**

Ülkemizde İPF epidemiyolojisi konusunda Türk Toraks Derneği tarafından yapılan “Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıkları” çalışmasında (28) Haziran 2007 - Mayıs 2009 tarihleri arasında yeni tanı almış 2245 diffüz parankimal akciğer hastası değerlendirilmiş, hastaların %19,9'unun İPF tanısı aldığı saptanmıştır. Avrupa da 1992-1996 yılları arasında yapılan çalışmada yeni tanı almış 264 olgunun değerlendirildiği çalışmada İPF oranı %19 bulunmuştur (29). İPF'nin prevalans ve insidansı, Amerika Birleşik Devletlerinde 14 – 63 /100.000 ve 6,8 – 17,4, Avrupa da 1,25 – 23,4 /100.000 ve 0,22 – 7,94 / 100.000 bulunmuştur (30). New Mexico çalışmasında İPF insidansı erkeklerde 100.000'de 10,7, kadınlarda 100.000'de 7,4 olarak bulunmuştur (21). İPF'nin erkeklerde kadınlardan daha sık görüldüğü kabul edilmektedir ve ülkemizde erkek kadın oranı (E/K) 1,53 olarak saptanmıştır (31).

## **2.3 Etiyoloji ve Risk Faktörleri**

İdiyopatik pulmoner fibrozis bir dışlama tanısıdır. İPF etyolojisi bilinmeyen, akciğerle sınırlı, erişkinlerde görülen, histopatolojik ve/veya radyolojik olarak olağan

intertisyel pnömoni ile karakterize, kronik progresif bir akciğer hastalığıdır (31). Etiyolojisi bilinmemekle birlikte bazı potansiyel risk faktörleri tanımlanmıştır.

### **2.3.1 Sigara İçimi**

Olgu-kontrol çalışmalarında, sigara içenlerde içmeyenlere oranla riskin 1,1-3,8 kat artmış olduğu tespit edilmiştir (32). Ancak sigaranın kesin hastalık kanıtı olduğuna dair net veri yoktur, diğer potansiyel risk faktörleri ile birlikte hastalığın gelişiminde rol oynayabileceği belirtilmiştir (33).

### **2.3.2 Çevresel Faktörler**

Odun tozu, metal tozları, taş, kum, tarım, hayvancılık gibi çevresel ve mesleksi maruziyetler İPF gelişme riskini önemli derecede arttırmaktadır (34, 35).

### **2.3.3 Viral Enfeksiyonlar**

İdiyopatik pulmoner fibrozis alevlenmelerinde ateş, miyalji, ve diffüz akciğer hasarı gibi viral enfeksiyon benzeri bulguların olması nedeni ile alevlenmelerin viral enfeksiyonlarla tetiklenebileceği öne sürülmüştür. Özellikle Ebstein- Barr virüsü (EBV) ve hepatit C virüsü üzerinde durulmuştur (36,37). Ek olarak İPF'li olguların akciğer dokusunda herpesvirüslere ve sitomegalovirüs serum antikorlarına rastlanmıştır (38). Bir çalışmada İPF herpesvirus saimiri kuvvetli ilişkili bulunmuştur (39).

### **2.3.4 Gastroözafageal Reflü**

Gastroözafageal reflüye (GÖR) bağlı oluşan kronik aspirasyon İPF için bir risk faktörüdür. İPF'li hastalarda GÖR'e sık rastlanması bu görüşü desteklemektedir (40, 41).

### **2.3.5 İlaç Maruziyeti**

Hubbard ve arkadaşlarının çalışmasında antidepresan ilaç (İmipramine, Dothiepin, Mianserin) kullanımı İPF ile ilişkili bulunmuştur (42). Bununla birlikte bu bulgunun İPF patogenezindeki yeri bilinmemektedir.

### **2.3.6 Genetik Faktörler**

Ailesel İPF olgularının saptanması, genetik faktörlerin İPF gelişiminde rol oynayabileceğinin en önemli bulgusudur. Bir çalışmada 4q31 kromozomunda lokalize bir genin ailesel İPF'den sorumlu gen olabileceği öne sürülmüştür (43). Ailesel İİP'nin otozomal dominant dikey geçişle geçtiği yönünde önemli kanıtlar elde edilmiştir (15). Alfa-<sub>1</sub> antitripsin, anjiotensin dönüştürücü enzim gibi çeşitli enzimlerin, interlökin, tümör nekrozis faktör- $\alpha$  gibi çeşitli sitokinlerin, koagülasyon yolağındaki enzimlerin, çeşitli gen polimorfizmlerinin, profibrotik moleküllerin sporadik İPF'li olgularda sıklığının arttığı bildirilmiştir (21).



### **2.3.7 Otoimmünite**

İPF'li hastaların akciğerlerinde sıklıkla B hücre agregatları ve dolaşımdaki CD4 T hücre aktivasyonu görülmektedir. Bir çalışmada İPF'li hastaların %40'nda BAL ve serumda periplakine karşı otoantikorlar tespit edilmiştir. İPF'li hastalarda matrikse ve hücrel komponentlere karşı antikorların varlığı bildirilmiştir. Periplakin hücre içi adhezyon kavşaklarında bulunur, hücre iskeletinin organizasyonundan ve epitel hücrelerinin hareketinde sorumludur (44). Epitelyal hasar oluştuğunda periplakinin ortaya çıkarak otoimmünite gelişimine zemin hazırladığı düşünülmektedir (33).

### **2.4 Patogenez**

İPF, etyolojisi net olarak ortaya konulamamış kompleks bir hastalıktır (45,46). Etiyolojisinde pekçok tetikleyici ajan olduğu düşünülmektedir. Ayrıca eksojen veya endojen uyaranlar da (viral fungal enfeksiyon, çevresel toksik ajan) suçlanmış fakat kanıtlanamamıştır (21). İPF patogenezinde rol oynadığı düşünülen muhtemel mekanizmalar aşağıda verilmiştir.

#### **2.4.1 İnflamasyon teorisi**

İPF patogenezinde etkin rolü; BAL'da nötrofil ve eozonofil hakimiyeti ile ortaya çıkan inflamatuvar yanıtın oluşturduğu düşünülmektedir (25). Herhangi bir eksojen uyarının, devamlı yenilenen inflamatuvar bir yanıt oluşturduğu ve oluşan inflamatuvar hücre birikiminde pulmoner fibrozise yol açtığı düşünülmüştür. Buna göre de antiinflamatuvar tedavinin fibrozis gelişimini önlenmesinde ya da

sınırlanmasında etkili olabileceği düşünölmüş fakat beklenen yanıt alınamamıştır (25, 29).

#### **2.4.2 Epitelyal Yaralanma ve Aktivasyon**

Tekrarlayan viral enfeksiyonlar, kronik aspirasyon ve sigara içimi gibi çeşitli faktörlerin epitel yaralanması ve apoptozise yol açarak İPF patogeneğinde rol oynadığı düşünölmektedir (21).

#### **2.4.3 Genetik değişiklikler**

Sporadik İPF’de genetik değişikliklerin rolü kanıtlanamamıştır (47,48). Ancak sürfaktan protein C mutasyonu bazı ailesel olgularda alveoler epitelyal hasarın nedeni olarak bildirilmiştir (49). Bazı ailesel ve sporadik olgularda müsin 5B geninde plimorfizm, ek olarak bazı İPF’li olgularda da antiviral etkinliği olan ELMOD2 gen ekspresyonunun azaldığı saptanmıştır (48,49).

#### **2.4.4 Epitelyal Hücre Apoptozu**

İPF’de elektron mikroskopik incelemeler yapılmış, alveolar epitelyal hücrelerde yaralanma, apoptozis görölmüş ve BAL’da proapoptotik proteinlerde artış saptanmıştır (47, 48,50). Fibrosların salgılanan anjiyotensin, transforming growth faktör-β ve TNF-β epitelyal hücre apoptozisine katkı sağlamaktadır (50).

#### **2.4.5 Epitelyal bazal membran zedelenmesi**

İPF'de subepitelyal bazal membran bütünlüğü bozulur ve böylece Tip-1 alveoler pnömositler zarar görür. Hasarlanan bazal membran, epitelyal büyüme/rejenerasyonun sağlanması için pek çok uyarıcı salgılasa da yeni oluşan tip-1 pnömositler bazal membran bozulduğu için tutunamazlar. Böylece düzensiz, artmış, hiperplastik ve hipertrofik epitelyal hücre yanıtı oluşur (48).

#### **2.4.6 Büyüme Faktörleri**

İPF'de aktive olan alveolar epitel hücrelerinin mezenseyal hücrelerinde migrasyon, proliferasyon, diferasyona yol açan keratinosit büyüme faktörü, insülin-like growth factor, transforming growth factor alfa-beta, platelet kaynaklı büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü ve endotelin-1 gibi çeşitli kemotaktik faktörler/mitojenler salgıladığı düşünülmektedir (21, 48, 51).

#### **2.4.7 Th1 ve Th2 sitokinleri**

İPF'de Th1 yanıtında azalma söz konusuysen, Th2 yanıtı ve salgıladığı (İL-4,5,13) sitokin düzeyleri artmıştır. Bu nedenle İPF tedavisinde interferon gama ve interferon gama-1b pek çok çalışmada denenmektedir (21, 47, 48).

#### **2.4.8 Matrix döngüsü**

İPF’de fibroblastlarda doku metalloproteinaz inhibitörleri (TIMOs) artmakta ve matriks yıkımı azalmaktadır. Bu nedenle ekstrasellüler matriks proteinlerinin (ESM) oluşumu ile yıkımı arasında bir dengesizlik söz konusudur (48, 50, 51).

#### **2.4.9 Fibroblastların miyofibroblasta dönüşümü**

Fibroblastın miyofibroblast dönüşümünde, mekanik stres, artmış TGF- $\beta$ 1 ve özel ESM proteinlerinin varlığı gibi 3 ana faktörün rol oynadığı düşünülmektedir. Miyofibroblastlar ESM de aşırı miktarda birikerek, bazal membran hasarına ve aşırı epitelyal hücre ölümüne neden olurlar. Miyofibroblastlar kontraktıl hücrelerdir ve normal iyileşmede geçici olarak akciğerde izlenir. İPF’de ise fibroblastik odakta sürekli saptanırlar (52).

#### **2.4.10 Anjiyogenez**

Akciğer fibrozisi için yapılan deneylerde vaskülarizasyonun arttığı izlenmiş, ancak İPF’de neovaskülarizasyonun rolü net bir şekilde ortaya konulamamıştır (47). İPF’de sürekli hücre proliferasyonuna rağmen fibroblastik odakta damarlanma yoktur (27).

#### **2.4.11 Gastroözafageal Reflü**

İPF’de epitelyal hasarı başlatan ve ilerleten en önemli uyarılardan birinin kronik sessiz mikroaspirasyon olduğu düşünülmektedir. İPF’li olguların 1/3’ünde aynı zamanda GÖR de saptanması bu teoriyi desteklemektedir (49).

#### **2.4.12 Yaşlılık**

Asemptomatik yetmiş beş yaş üzeri kişilerde, YÇBT’de İPF’ye benzer bulgulara sık rastlanmaktadır (53). Yaşlılarda İPF’yi kolaylaştıran neden tam olarak anlaşılammıştır, ancak olası mekanizmanın yaşlanmayla telomerazlarda oluşan kısalma olabileceği düşünülmektedir (47,54).

### **2.5 Semptom ve Bulgular**

Hastalarda semptom ve bulgular sinsi seyirlidir ve gastroözafageal reflü, pulmoner hipertansiyon, malignite, pnömotoraks, pulmoner tromboemboli gibi hastalıklara sekonder olarak da gelişebilir.

Hastalığın ilk bulgusu genellikle egzersiz dispnesidir (21). Yapılan çalışmalarda dispne şiddetinin hastaların yaşam kalitesi ve yaşam süresi ile doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir (55-57). Egzersiz dispnesine genellikle antitussif tedaviye dirençli olan progresif seyirli, nöbet şeklinde kuru öksürük eşlik eder. Genellikle öksürük şiddeti, radyolojik bulgular ve solunum fonksiyon testleri arasında korelasyon yoktur. Öksürük oral kortikosteroidlerle bir miktar azaltılabilir. Göğüs ağrısı nadirdir fakat ileri dönemlerde kardiyak nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir. Ani başlayan göğüs ağrısında pulmoner tromboemboli ve pnömotoraks akla gelmelidir. Kilo kaybı ileri evre hastalarda nadir de olsa görülebilir. Yaşam süresi,

vücut kitle indeksinin yüksek olduğu hastalarda daha uzun olarak gösterilmiştir. Halsizlik de yine ileri evre hastalığın sık bulgusudur. Hemoptizi çok nadir görülse de, hemoptizi varlığında hastalar malignite ve pulmoner emboli açısından değerlendirilmelidir (21). Hastalığın progresyonu ile hipoksemi derinleşir ve hastalarda takipne, siyanoz ve yardımcı solunum kas kullanımının da izlendiği solunum yetmezliği gelişir (41, 42).

Erken dönemde hastalarda muayene bulgusu olmayabilir. Hastalığın karakteristik bulgusu akciğer bazallerinde inspiryum sonunda ince raller (velcro ralleri)'dir. Semptomatik fakat akciğer grafisi normal olan hastalar da dahil hastaların %80'inde velcro ralleri duyulur. Erken dönemde sadece akciğer bazallerinde duyulan ince raller, ilerleyen dönemlerde tüm akciğerde duyulmaya başlanır (58).

Kardiyak muayene ileri evre hastalar dışında genellikle normaldir. Pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonale geliştiği zaman tabloya ikinci kalp sesinin pulmoner komponentinde sertleşme, parasternal lift, S3 gallo, boyun venöz dolgunluğu, asit, pretibial ödem, hepatik konjesyon gibi yeni muayene bulguları eklenir. İleri dönem hastalarda hipoksemiye sekonder sol ventrikül yetmezliği, aritmiler ve kalp krizi görülebilir (21). Çomak parmak, hastalar asemptomatikken ilk bulgu olarak ortaya çıkabilir ve hastalığın ilerleyen evresinde sık (%40-75) olarak görülür (47). Pnömoni, pnömotoraks, kalp yetmezliği ve pulmoner tromboemboli gibi nedenler hastaların her yıl %5-10'unda alevlenmeler meydana getirip, hastalığın semptom ve bulgularında kötüleşmeye neden olmaktadır (26).

## **2.6 Tanı**

İPF tanı algoritmasındaki ana tetkik, yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografidir (YÇBT). YÇBT'de İPF ile uyumlu radyolojik görünüm usual intertisyel pnömoni (UİP) olarak tanımlanmaktadır. YÇBT'de UİP, genellikle traksiyon bronşektaziler ile beraber retiküler dansite artışı izlenir. Genellikle subplevral yerleşimli ve düzgün sınırlı bal peteği görünümü tanı için kritik öneme sahiptir.

Buzlu cam dansiteleri de sık görülür. YÇBT’de bazal ve periferik yerleşimli UİP paterni karakteristiktir (21).

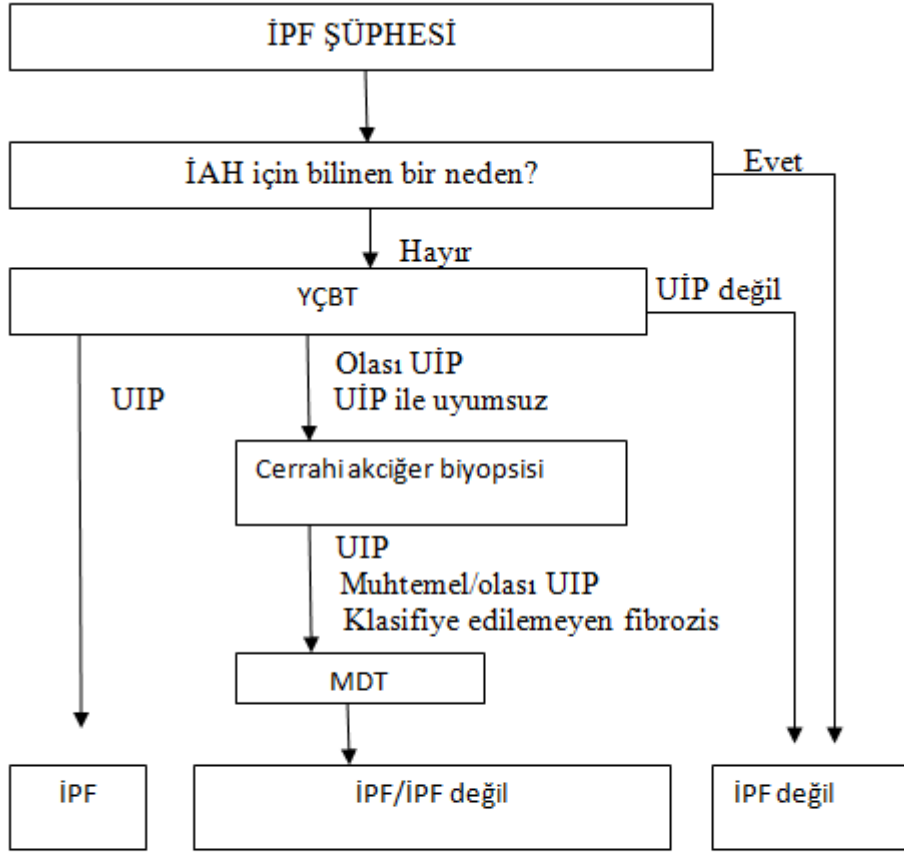
Cerrahi akciğer biyopsinin histopatolojik görünümü UİP olarak tanımlanmaktadır. Tanı için temel histopatolojik patern; daha az etkilenen veya normal parankiminde olduğu skar ve bal peteği değişiklikleri ile birlikte fibrozisin izlediği homojen görünümdür. Bu histopatolojik değişiklikler genellikle subplevral ve paraseptal yerleşimlidir. Tip 2 pnömosit ve bronşiyoler epitel hiperplazisinin eşlik ettiği, lenfosit ve plazma hücrelerinin yamalı intertisyel infiltrasyonundan oluşan genellikle hafif bir inflamasyon vardır (21). Farklı segmentlerden alınan cerrahi akciğer biyopsilerinde birbirleriyle uyumsuz histolojik paternler olabileceği için cerrahi biyopsilerin birden fazla lobdan alınması gereklidir (59,60).

Tanı multidisipliner yaklaşım gerektirir. 2011 kılavuzunda, İPF tanısı için UİP paterninin saptamasında, iyi kalitede çekilmiş bir YÇBT’nin yeterli olduğu ve artık cerrahi biyopsinin mutlak gerekliliğinin olmadığı belirtilmektedir. Klinik ile radyolojik bulguların uyumsuz olduğu, YÇBT’de atipik bulguların görülmesi durumunda, cerrahi biyopsi önerilmektedir.

İPF için tanı kriterleri;

- 1.İntertisyel akciğer hastalığının diğer bilinen nedenlerinin dışlanması,
- 2.Cerrahi biyopsi uygulanmayan hastalarda YÇBT’de UİP paterni görünümü,
- 3.Cerrahi biyopsi uygulanan hastalarda YÇBT ve cerrahi akciğer biyopsisi paternlerinin spesifik kombinasyonları (21).

Bağ dokusu hastalıklarına ait semptom ve bulgular olmasa da serolojik incelemeler yapılmalıdır. Bronkoalveolar lavajda hücre incelemesi spesifik değildir (61).



\*İAH; İnterisyel akciğer hastalığı, MDT; Multidisipliner tartışma, UIP; Olağan interisyel pnömoni interisyel pnömoni, KOP; Kriptojenik organize pnömoni, AİP; Akut interisyel pnömoni, LİP; Lenfositik interisyel pnömoni, PPFE; Pleroparankimal fibroelastozis (PPFE)

Şekil 2. İPF için tanısal algoritma (21).

### 2.6.1 Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi (YÇBT)

YÇBT interisyel akciğer hastalığı tanısında sensitivitesi yüksek bir görüntüleme yöntemidir (62). UIP, YÇBT bulgularına göre kesin, olası ve uyumsuz olarak sınıflandırılmaktadır ve kesin UIP diyebilmek için esas olarak alt lobların ve subplevral alanların etkilenmesi, retiküler değişikliklerin baskınlığı ve bal peteğinin varlığı gibi bulgularının tümünün bulunması gerekmektedir. Olası UIP için ise bal peteği yokluğu, fakat diğer YÇBT bulgularının desteklemesi gerekmektedir ki bu durumda cerrahi akciğer biyopsisi gerekir (21).



Her iki akciğerde bazal bölgeleri etkileyen subplevral retikülasyon ve buna sıklıkla eşlik eden traksiyon bronşektazileri, yapısal distorsiyon ve bal peteği kistleri UIP için karakteristik YÇBT bulgularıdır. Genellikle bu bulgular bazallerden apekslere doğru azalır (62). Tipik olarak radyolojik görünüm; fibrotik alanlar ile normal akciğer alanlarının ardışık olarak yama şeklinde dizildiği heterojen görünümdür. Diğer idiyopatik intertisyel hastalardan farklı olarak UIP'li hastalarda kaba retiküler ve lineer opasiteler vardır. YÇBT'de İPF'yi düşündüren en önemli bulgu değişik boyutlarda, subplevral yerleşimli, birbiri üzerine yaslanmış çok sayıda tabakadan oluşan bal peteği görünümüdür. Bu çok tabakalı yerleşim bal peteği kistlerini amfizem büllerinden ayıran özelliklerden biridir. Ek olarak YÇBT'de alt loblarda bal peteği görünümünün olması kötü prognoza işaret eder (64).

## **2.6.2 Nükleer Tıp Görüntüleme Yöntemleri**

Nükleer tıp görüntüleme yöntemleri, geçmişte İPF'nin tanı ve takibinde kullanılabilecek bir görüntüleme yöntemi olarak düşünülse, günümüzde YÇBT'nin oldukça gerisinde kalmış bir görüntüleme tekniğidir (63).

Tc-99m DTPA klirensi akciğer hasarının sensitif bir belirleyicisidir. İPF'nin erken tanısında, prognoz tahmininde ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılabilmektedir. Normal klirens hastalığın stabil olduğunu, artmış klirens ise aktif inflamasyonu gösterir (64).

İPF'li hastalarda pozitron emisyon tomografisinde artmış FDG (18 F-2-fluoro-2-deoxy-D-glucose) tutulumu gösterilmiştir ve artmış FDG tutulumunun hastalığın aktivitesini ve tedaviye bağlı oluşabilecek değişiklikleri gösterebileceği ileri sürülmüştür (65, 66).

### 2.6.3 Fonksiyonel değerlendirme

İPF'de solunum fonksiyon testleri erken dönemde normal olabilir, ilerleyen dönemde restriktif tipte solunum fonksiyon testleri saptanır. Total akciğer kapasitesi, fonksiyonel rezidüel kapasite ve rezidüel volümde azalma saptanır (67, 68). Zorlu vital kapasitede (FVC) azalma ile birlikte 1. saniyede zorlu ekspiratuar hacimde (FEV1) azalma olması nedeniyle FEV1/FVC oranı normal ya da artmış olarak izlenir. Akım volüm halkasına bakıldığında ise, normalde beklenen halkanın boyut olarak küçük bir şekilde ortaya çıktığı görülür (69, 70). Tedavi alan hastalarda %10-15'lik artış tedaviye yanıt olarak değerlendirilmelidir (71). Semptomlar gerilerken, solunum fonksiyon testlerinde kötüleşme olması tedaviye yanıtızsızlığı gösterir, bu durumda hasta akciğer nakli için değerlendirilmelidir (72). Diğer interstisyel akciğer hastalıklarına kıyasla İPF için solunum fonksiyon testlerine bakarak prognozu belirlemek daha olasıdır. FVC ve karbonmonoksit difüzyon kapasitesinin (DLCO) %60'ın altında olması kısa sağ kalımın bir göstergesidir (73).

Hastaların egzersiz kapasitelerini değerlendirmede, hastalığın prognozunun belirlenmesinde ve tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde; kardiyovasküler, pulmoner ve nöromusküler sistemler hakkında bilgi veren, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir ve güvenilir bir test olan altı dakika yürüme testi (6DYT) kullanılabilir (31).

### 2.6.4 Bronkoalveoler Lavaj ve Hücre Analizi

İdiyopatik pulmoner fibrozisde bulgular sarkoidoza benzerdir. Her ikisinde de %10'un üzerinde polimorf nüveli lökosit hakimiyeti vardır. Eozonofili, lenfosit artışı olmadan PNL artışı kötü prognozu gösterir. Lenfosit oranının %10'un üzerinde olması steroide yanıtın iyi olacağını düşündürür. Lenfosit oranının %8'den düşük olması, %4'ün altında PNL ve %3'ün üzerinde eozonofili saptanması da steroid tedavisine yanıtın zayıf olacağı anlamına gelir. Tanı, takip ve tedavide biyokimyasal

parametrelerden lipid, dietilfosfotilkolin, hiyaluridik asit, tip 3 prokollajene den faydalanilabilir (31).

## 2.7 Tedavi

İPF tedavisi en zor hastalıklarından biridir. Yapılan çalışmalarda, akciğer transplantasyonunun İPF'li hastalarda yaşam süresini uzatma ihtimali olan tek tedavi yöntemi olduğu gösterilmiştir. İPF'nin prognozu birçok kanserden daha kötüdür. Çeşitli çalışmalarda tanı konulduğu andan itibaren hastaların 2-3 yıl içinde öldüğü gösterilmiştir (20,74).

İPF'de etkinliği kanıtlanmamış, sınırlı sayıda tedavi seçeneği bulunmaktadır. İnflamatuvar ve otoimmün bir hastalık olduğu düşünüldüğü için hastalığın tedavisinde, kortikosteroidler, antiinflamatuvar ve sitotoksik ilaçlar kullanılmıştır. Buna karşılık UİP'de inflamasyon hastalığın ağırlığı ile ilişkisizdir ve görece önemsizdir (75). Son yıllarda İPF patogenezinde bazı değişik görüşler öne sürülmüştür. İPF'nin anormal yara iyileşmesi, koagülasyon sistemi bozukluğu, antioksidan sistem bozukluğu gibi birçok yoldan kaynaklanan kompleks bir hastalık olduğu kabul edilmiştir (76). Yapılan yeni tedavi çalışmaları da bu yollar üzerinde olmaktadır.

2011 yılında yayınlanan kılavuza göre (31), stabil İPF'de farmakolojik tedavi verilmesi benimsenmemiş, nonfarmakolojik tedavilerden uzun süreli oksijen tedavisi, rehabilitasyon ve transplantasyon yapılabileceği, ayrıca akut alevlenme olan olgularda kortikosteroid ve reflü tedavisi verilebileceği benimsenmiştir.

### **2.7.1 Kortikosteroidler**

Yıllardır etkinlikleri kanıtlanmamasına rağmen İPF’de en çok kullanılan ilaçlardır. 2003 yılında yayınlanan Cochrane analizinde, İPF’de kortikosteroidlerin etkinliği değerlendirilmiş olup, yüksek kalitede bir yayın bulunmadığı bildirilmiştir (77). Bu derleme 2010 yılında yenilenmiş ancak kortikosteroidlerin İPF’de kullanımına dair yeni randomize klinik çalışma bulunamamıştır (78). Hatta bir çalışmada kortikosteroid veya siklofosfamid kullanan İPF’li hastalarda prognozun daha da kötü olduğu bildirilmiştir (79).

2000 yılında yayınlanan ATS/ERS İPF klavuzuna göre yarar-zarar oranının göz önünde bulundurulması, ko-morbid hastalığın varlığı veya solunum fonksiyonlarının çok kötü olması veya radyolojik olarak terminal dönem bal peteği görünümünün olduğu 70 yaş üstü hastalarda önerilmediği belirtilmiştir (14). Ayrıca kortikosteroidlerin yan etkileri nedeniyle düşük doz kortikosteroidin, azotioprin veya siklofosfamid ile kombine kullanılması önerilmiştir. 2011 yılı güncellemesinde tek başına kortikosteroidin kullanımı önerilmemiştir (31).

### **2.7.2 Siklofosfamid/Azatiyoprin**

Siklofosfamid (SP) ve azatiyoprin (AZA) genellikle kortikosteroidler ile birlikte kombine edilerek kullanılmıştır. Siklofosfamid ile yapılan bir çalışmada siklofosfamid grubunda yaşam süresinin daha kısa olduğu bildirilmiştir (79). Yüksek doz steroid ile AZA/steroid kombinasyonun karşılaştırıldığı bir başka çalışmada solunum fonksiyon testlerinde değişim ve mortalite iki grupta benzer bulunmuştur (80). Kortikosteroid ile birlikte AZA veya SP tedavisi 2011 kılavuzunda önerilmemiştir (31).

### 2.7.3 Kombinasyon tedavisi

IFIGENIA çalışmasında İPF’de oksidan-antioksidan dengesinin bozulduğu düşünülerek hastalar ‘Kortikosteroid + AZA+ Plesebo’ ve ‘Kortikosteroid + AZA+ yüksek doz asetilsistein’ gruplarına ayrılmış, bir yıl sonra mortalite arasında farklılık gözlenmemiş ancak solunum fonksiyonlarının asetilsistein grubunda daha iyi korunduğu bildirilmiştir (81).

PANTHER çalışması IFIGENIA çalışmasındaki olumsuz eleştirilere cevap olabilmek amacıyla yapılmıştır (82). Hastalar; prednizon+azotiyoprin, prednizon+azotiyoprin+NAC ve plasebodan oluşan tedavi protokolleri ile üç gruba ayrılmıştır. Ara sonuçlara göre üçlü tedavide plaseboya göre daha yüksek mortalite, daha fazla hastaneye yatış ve daha ciddi yan etkiler görülmesi üzerine çalışmanın üçlü tedavi verilen kolu durdurulmuştur. 2011 yılı İPF kılavuzunda üçlü tedavi, seçilmiş hastalarda zayıf bir öneri olarak önerilmektedir (31).

### 2.7.4 Antifibrotik ve Antiproliferatif ilaçlar

İPF’de denenilen ilk immünmodülatör ve antifibrotik ajan İnterferon gamma 1b’dir. İlk çalışma 1999 yılında yayınlanmış, tedavi grubunda beklenmeyen derecede solunum fonksiyonlarında artış bildirilmiştir (83). Daha sonra yapılan çalışmalarda yaşam süresi, progresyon ve akciğer fonksiyonları gibi birincil sonlanım amaçlarına ulaşamamıştır (84, 85).

Bosentan ve ambrisentan endotelin reseptör antagonistidir. Bu ajanların pulmoner fibrozisteki etkisi farklı çalışmalarda denenmiş ancak bu çalışmaların hepsi olumsuz sonuçlanmıştır. 2011 kılavuzunda bosentan kullanımı aleyhinde güçlü bir öneri mevcuttur (31).

Antiinflamatuvar, antioksidan ve antifibrotik etkileri in vitro ve in vivo olarak gösterilmiş olan pirfenidon oral kullanılabilen bir moleküldür. Etki mekanizması tam

olarak anlaşılammıştır, bununla birlikte antifibrotik özelliğini sitokinler ve dönüştürücü (transforming) büyüme faktörü aracılığıyla gösterdiği bilinmektedir. Yeni İPF kılavuzunda ilaç için, fiyatı ve olası yan etkileri (gastrointestinal, karaciğer fonksiyon bozukluğu, fotosensivite ve döküntü gibi) nedeniyle ‘zayıf hayır’ önerisinde bulunulmuştur (86).

Tümör nekroz faktör antagonisti olan ve romatolojik hastalıklarda oldukça sık kullanılan Etanersept İPF’li hastalarda denenmiş ancak sonuçlar yüz güldürücü olmamış ve kılavuzda aleyhinde görüş bildirilmiştir (87).

### **2.7.5 Akciğer Nakli**

En sık akciğer nakil endikasyonu olan hastalıklardan biri günümüzde İPF’dir. Uluslararası Kalp ve Akciğer Nakli Derneği’nin (ISHLT) 2006 rehberinde, özellikle alevlenmelerin görüldüğü hastalarda uzun dönem sağ kalım sağlayan tek tedavi seçeneğinin akciğer nakli olduğu bildirilmiştir (88). Medikal tedaviye yanıtı olmayan, pulmoner hipertansiyon gelişen, doku hasarının şiddetli olduğu, progresif seyreden ve nakil kriterlerine uygun İPF hastalarında akciğer transplantasyonu endikasyonu vardır (89, 90).

İPF hastalarının akciğer nakli için yönlendirme kriterleri ISHLT 2006 rehberinde, radyolojik veya histolojik UIP varlığı (vital kapasiteye bakılmaksızın) ve histolojik olarak fibrotik NSIP kanıtlanmış olması olarak belirlenmiştir.

İPF için akciğer nakli endikasyonları (ISHLT 2006);

- a. Radyolojik ya da histolojik UIP varlığı ve aşağıdaki seçeneklerden birinin olması
  - DLCO<%39 tahmin edilen
  - 6 aylık takipte FVC’de  $\geq$ %10 düşme izlenmesi

- 6 dakika yürüme testinde oksijen saturasyonunun %88'in altına düşmesi
  - Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografide bal peteği görünümü (fibrozis skoru>2)
- b. Histolojik olarak fibrotik NSİP gösterilmesi ve aşağıdaki seçeneklerden birinin olması
- DLCO<%39 tahmin edilen
  - FVC'de >%10 azalma olması ya da altı aylık takipte DLCO'da %15 azalma

## **2.8 Prognoz**

İPF hastalarında 5 yıllık sağ kalım oranı %20-30 arasında olduğu bildirilmiştir (20, 91). Mevcut medikal tedavilerin sağ kalımı arttırdığına dair herhangi bir veri yoktur. Bu nedenle halen tek tedavi yöntemi olarak kabul edilen 'akciğer nakli' için en önemli faktör hastalar için doğru zamanı belirlemektir (92).

## **2.9. Hidroksiprolin, Malondialdehit, Makrofaj İnflamatuvar Protein-2, Tumor Necrosis Factor-Alfa, Transforming Growth Factor-Beta 1, Total Oksidan ve Total Antioksidan Status, Serum Matrix Metalloproteinase 1, Serum Matrix Metalloproteinase 7**

### **2.9.1 Hidroksiprolin**

Hidroksiprolin kollajenin major komponentlerinden biridir. Kollajenin aminoasit bileşiminin yaklaşık %13,5'ni oluşturur. Hidroksiprolinden sonraki en

yüksek komponent %2 oran ile elastindir. Hidroksiprolin düzeyi akciğer fibrozisini göstermede altın standart olarak kabul edilir (93).

### **2.9.2 Malondialdehit**

Hücre zarında bulunan lipidlerin peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının en önemli mekanizmasıdır (94). Lipid peroksidasyonu sağlıklı dokularda çok düşük düzeydedir. Lipid peroksidasyonunun artışı serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir. Lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinden birisi de Malondialdehit (MDA)'dir. Serumdaki MDA düzeyi in vivo serbest oksijen radikalleri aracılı doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir (95).

### **2.9.3 Makrofaj İnflamatuar Protein-2 (MİP-2)**

Kemotaksik sitokinler olarak da bilinen kemokinler primer aminoasit yapılarıyla uzlaşan dört sistein aminoasidinin ikisinin yerleşim yerine göre tanımlanan iki polipeptid grubuna aittir. Birçok delil bu kemokin ailesinin üyelerinin proinflamatuvar ve tamir edici aktivitelerinin olduğunu göstermiştir. Bu kemokinler İAH'de lökositlerin aktivasyonunda ve göçüyle ilişkili olabilirler (96).

İnterlökün-8'in fonksiyonel bir homoloğu olan MİP-2 akciğer hasarına neden olan nötrofil birikiminin potansiyel bir mediatörüdür. *İn vivo* uygulandığı zaman MİP- 2'nin nötrofiller için yüksek oranda kemotaktik olduğunu ve lokalize bir nötrofil infiltrasyonuna neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır (97).



#### **2.9.4 Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- $\alpha$ ), Transforming Growth Factor Beta1 (TGF- $\beta$ 1)**

Bleomisinin indüklediği akciğer hastalığının patogenezinde; TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-5, IL-6, platelet derived growth factor (PDGF) gibi çeşitli kemokin ve sitokinler rol oynarlar. Bleomisinle tedavi edilen farelerde TGF- $\beta$  mRNA alveolar makrofajlarda birikirler; anti TGF- $\beta$  antikorlarının uygulanması ilaç indüklü pulmoner cevapları minimize eder. Benzer olarak bleomisin duyarlı IL-1 ve TNF- $\alpha$  artmış miktarda üretilir ve IL-1 reseptör antagonistleri, anti-TNF antikorları ve çözümlü TNF reseptörleri bleomisin indüklü pulmoner fibrozisi azaltır (98).

#### **2.9.5 Total Oksidan Status (TOS) ve Total Antioksidan Status (TAS)**

Serum TAS düzeyi Erel tarafından geliştirilmiştir. Fe<sup>2+</sup> dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir.

Serum TOS düzeyi Erel tarafından geliştirilmiştir. Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (99).

Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinde oksidan/antioksidan dengesizliğinin rol oynadığı savunulmuştur.

### **2.9.6 Matrix Metalloproteinase 1 ve 7 (MMP-1 ve MMP-7)**

Matriks metalloproteinazlar hücre dışı matriksin yıkımından sorumlu enzim ailesidir. Hücre dışı matriks yıkımı; morfogenez, doku onarımı, yeniden şekillenme gibi konularda önem arz etmektedir ve bu yıkımın dengesinin bozulması ve normal fizyolojik yapım-yıkım dengesinin bozulması durumunda artrit, nefrit, ülser, fibrozis, kanser gelişimi gibi pek çok farklı patoloji ortaya çıkabilmektedir (100).

İdiyopatik pulmoner fibroziste immünokimyasal analizler ve transkripsiyonel göstergeler çeşitli MMP'lerin özellikle de MMP 1 ve MMP 7'nin kontrol akciğerlere göre belirgin yüksek olduğu gösterilmiştir (101).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Deney hayvanları

Çalışmada, Mustafa Kemal Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edilen Wistar Albino tipi ağırlıkları 250 g'ın üzerinde olan 35 adet erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlara standart rat kafeslerinde optimal şartlarda ad libitum standart pellet yem ve şebeke suyu verildi. Kafesleri, yatakları, yiyecek ve suları kullanılmadan önce steril edildi, oda sıcaklığı  $21\pm 2$  °C arasında tutulup, 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı. Ratlar rastgele alınarak 7'şerli 5 gruba ayrıldı.

Bu deneysel çalışma için Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (2012-09/09-6).

#### 3.1.1. Deney grupları

Tüm gruplarda intratrakeal (i.t.) uygulama günü 0. gün olarak kabul edildi. 14. günde bleomisin-I (BLM-I) grubundan 5 adet, 29. günde diğer gruplardan 26 adet olmak üzere toplam 31 rat anestezik koşullar altında sakrifiye edilerek gerekli işlemler yapıldı.

**Grup 1 (n=7, Kontrol grubu):** Bu gruptaki ratlara 0. gün 0.2 ml fosfatla tamponlanmış steril salin (PBS; phosphate buffered saline) i.t. uygulandı. 15. günden itibaren 0,3 ml/gün distile su orogastrik sonda ile uygulanmaya başlandı, 29. güne kadar uygulamaya devam edildi.

**Grup 2 (n=5, BLM-I grubu):** Bu gruptaki ratlara (n=7), 0. gün 7.5 Ü/kg dozunda BLM i.t. (Nippon Kayaku Co., Japan) verildi. Çalışmanın 10. gününde 1 ve 11. gününde 1 rat ex oldu. 14. günde ratlar anestezik koşullar sakrifiye edilerek gerekli işlemler yapıldı.

**Grup 3 (n=6, BLM-II grubu):** Bu gruptaki ratlara (n=7), 0. gün 7.5 Ü/kg dozunda BLM i.t. uygulandı. Çalışmanın 12. gününde 1 rat ex oldu. 15. günden itibaren 0,3 ml/gün distile su orogastrik sonda ile uygulanmaya başlandı, 29. güne kadar uygulamaya devam edildi.

**Grup 4 (n=6, Erdosteine (ERD) grubu):** Bu gruptaki ratlara (n=7), 0. gün 7.5 Ü/kg dozunda BLM i.t. uygulandı. Çalışmanın 11. gününde 1 rat ex oldu. 15. günden itibaren 10 mg/kg/gün dozunda erdosteine (Sandoz, Türkiye) distile su ile çözülerek orogastrik sonda ile uygulanmaya başlandı, 29. güne kadar uygulamaya devam edildi.

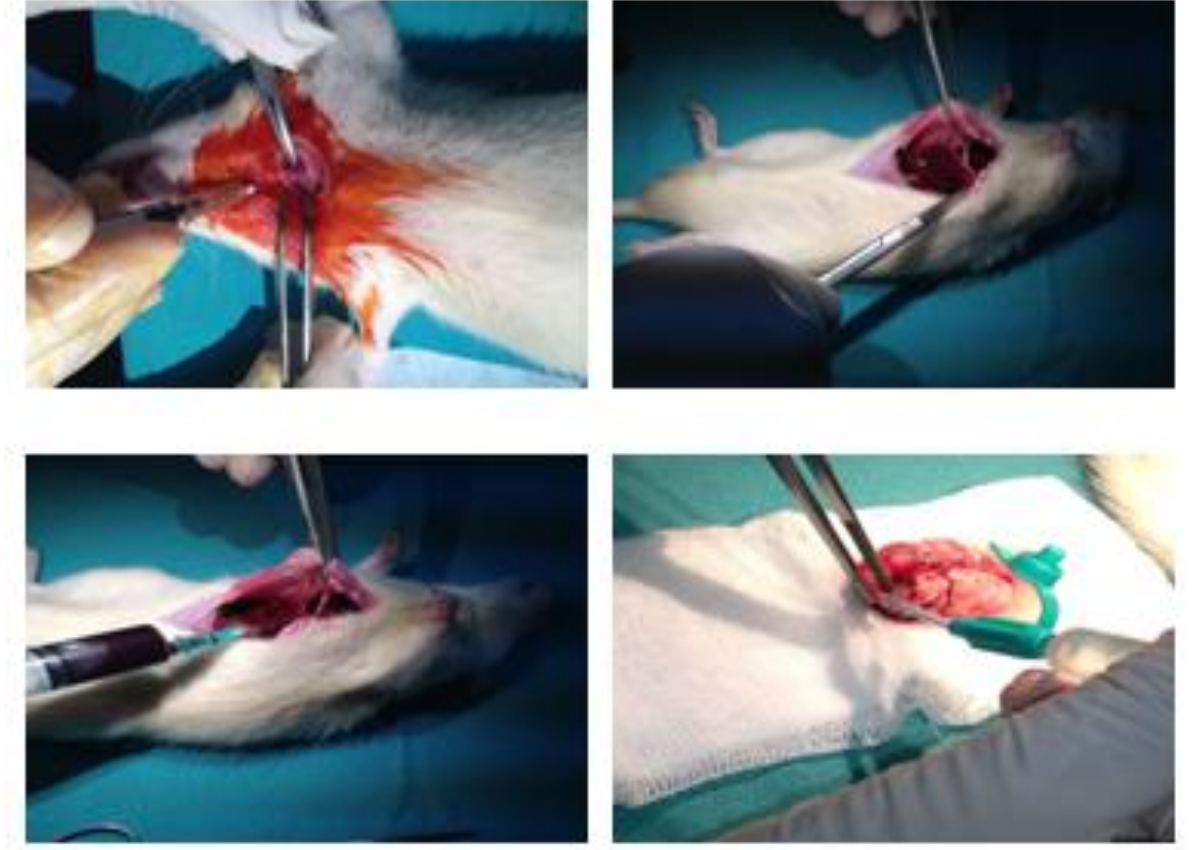
**Grup 5 (n=7, N-Asetil sistein (NAC) grubu):** Bu gruptaki ratlara 0. gün 7.5 Ü/kg dozunda BLM i.t. uygulandı. 15. günden itibaren 3 mmol/kg/gün dozunda NAC (Hüsnü Arsan, Türkiye) distile su ile çözülerek orogastrik sonda ile uygulanmaya başlandı, 29. güne kadar uygulamaya devam edildi.

### 3.1.2. Yapılan işlemler:

Tüm ilaç uygulamaları her gün aynı saatte (08:00) yapıldı. BLM ve PBS uygulaması anestezisi altında yapıldı. Anestezisi için xyalzine (5 mg/kg) ile ketamin (75 mg/kg) aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anestezisiye girmeleri beklendi. Bu sırada BLM'nin 15 U'lık flakon formu PBS içinde çözdürüldü. Anestezisi altındaki ratların boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı, cilt altı dokular klemp yardımı ile dikkatlice ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı. Trakea içerisine 100 u'lık insülin enjektörü ile girilerek BLM uygulaması yapıldı, BLM'nin akciğere tam ulaşabilmesi için ratların kafa kısmı yukarı kaldırılarak 30 sn kadar beklendi. Kontrol grubuna da aynı şekilde PBS

verildi. İşlem bittikten sonra kesi bölgesi suture ile kapatılarak, enfeksiyon gelişmemesi yönünden günlük antiseptik solüsyon ile silinerek yara bakımı yapıldı.

Çalışmanın 14. gününde BLM-I grubundaki ratlar ve 29. günde diğer gruplardaki ratlar anestezik koşullar altında (xyalazine 5 mg/kg, ketamin 75 mg/kg) medyan sternotomi ile toraks kafesi açıldı, sağ ventrikülden (kalp) yaklaşık 10 ml kan alındı, kan alımı ile sakrifiye edilen ratlara trakeal kanül aracılığıyla akciğerlere BAL işlemi yapıldı (5 kez 1 ml PBS verilerek yaklaşık 4 ml (%80) sıvı geri alındı). BAL işlemi yapıldıktan hemen sonra BAL'da hücre sayımı için gerekli işlemler yapılarak yayma hazırlandı. Ratlardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Sol akciğer %10 formaldehit içerisinde fikse edilerek doku kesitleri hazırlandı. Sağ akciğer ise hidrokspirolin ölçümü için kullanıldı. BAL (MDA ölçümü için ayrılan), serum ve akciğer doku örnekleri laboratuvar çalışmasına kadar -80 °C'de saklandı.



**Resim 1:** İntratrakeal uygulama, sağ ventrikülden kan alma ve trakeal kantül aracılığıyla bronkoalveolar lavaj işlemleri görülmektedir.

### 3.2. BAL Malondialdehit (MDA) ölçümü

Malondialdehit ölçümü, MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asitle oluşturduğu rengin 532 nm'de optik dansitesinin ölçülmesi prensibine dayanan Ohkawa ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (102). 0.5 ml BAL sıvısı üzerine % 8.1 sodyum dodesil sülfat 0.2 ml, pH'sı 3.5 olan % 20 asetik asit 1.5 ml ve % 0.8 tiobarbitürik asit solüsyonu 1.5 ml eklenerek 95 °C'de 60 dakika ısıtıldı. Soğutulduktan sonra 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst tabakanın absorbansı 532 nm'de ölçüldü. Standart olarak 1,1,3,3- tetraetoksipropan kullanılarak çizilen kalibrasyon grafiğinden numunedeki MDA miktarı hesaplandı ve  $\mu\text{mol/ml}$  olarak ifade edildi.

### 3.3. Doku hidrokspirolin miktarının tespiti

Derin dondurucudan çıkarılan dokuların buzu çözüldükten sonra NaCl ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdına serilerek kendi halinde kurutuldu ve tartıldı. Kontaminasyon engellenerek cam tüplere konan dokular, 100°C'ye ayarlanmış etüvde 72 saat kurutularak havan içerisinde toz haline getirildi. Toz halindeki kuru dokuların her birinin kuru ağırlıkları hassas terazide ölçülerek kaydedildi. Toz halindeki dokular 15 ml'lik kapaklı cam tüpler içerisine konarak üzerine 2 ml 12 N HCl ilave edildi. Daha sonra etüvde 130°C'de 3 saat kaynatılarak hidrolize edildi. Buharlaşma nedeniyle miktarı 1 ml'nin altına düşenler ölçülerek 12 N HCl ile tekrar 1 ml'ye tamamlandıktan sonra 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatant kısmından 0.5 ml alınıp üzerine 0.5 ml isopropanol eklenerek 2500 rpm'de 10 dk daha santrifüj edildi. Sonra üst fazdan 0.3 ml alınarak çalışıldı. Hidrokspirolin tespiti Woessner'in tarif ettiği yöntemle kısmen modifiye edilerek yapıldı (103).

Deney işlemleri esnasında; OH-P standardı, kloramin-T, P-dimetil amino benzaldehyt, perklorik asit, isopropanol, Na-asetat-3 H<sub>2</sub>O, Na-sitrat-5.5 H<sub>2</sub>O, 12 N HCl, 1mM HCl kimyasalları kullanıldı.

Hidrokspirolin standardı; 1.231 mg OH-P 5 (L-hidrokspirolin (FW;131,13) 10g) ml 0.001 M HCl'de çözümlenerek stok standart çözeltisi hazırlandı. Daha sonra bu stok standart çözeltisi 1/2, 1/4, 1/6, 1/8 oranlarında dilüe edilerek daha düşük konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlandı. Sonra OH-P deney işlemleri bu örneklere de uygulanarak 558nm'de standart körüne karşı okundu. Çıkan absorbans değerleri ile standart grafiği oluşturuldu. Bu grafikten eğim bulunarak hesap işlemlerinde kullanıldı.

Kloramin-T çözeltisi; 70 mg kloramin-T 1 ml bidistile suda çözümlenerek üzerine 4 ml asetat/sitrat tamponu ilave edilerek günlük hazırlandı.

Ehrlich reaktifi; 4 gr P-dimetil amino benzaldehyt 6 ml (% 60'lık) perklorik asitte çözümlenerek üzerine 26 ml isopropanol ilave edilerek günlük hazırlandı.

Asetat/sitrat tamponu; 57 gr Na-asetat-3H<sub>2</sub>O ve 44,47 gr Na-sitrat-5.5H<sub>2</sub>O 400 ml bidistile suda çözüldü. Üzerine 385 ml isopropanol ilave edilerek HCl ile pH 6'ya ayarlandıktan sonra hacmi 1000 ml'ye tamamlandı. Daha sonra deney işlemleri tablo 5'e göre yapıldı.

**Tablo 4:** Hidroksiprolin ölçümü deney yapım tablosu

	<b>KÖR</b>	<b>NUMUNE</b>
Bidistile su	0.3 ml	-
Numune	-	0.3 ml
İsopropanol	0.2 ml	0.2 ml
Kloramin-T	0.1 ml	0.1 ml
Ehrlich reaktifi	2.6 ml	2.6 ml

Numune ve kör tüpleri üzerine reaktifler yukarıdaki sıraya göre eklendikten sonra vorteksle karıştırıldı ve 60°C'de su banyosunda 25 dk inkübe edildikten sonra 585 nm'de köre karşı okundu. Sonuçlar mg/g kuru doku olarak verildi (103).

#### **3.4. Serum Total Antioxidant Status (TAS) düzeylerinin ölçümü**

Rel assay diagnostics marka (Katalog no: RL0017, Mega Tıp San ve Tic Ltd Sti, Turkey), rat total antioxidant status assay kiti, abbot c8000 otoanalizör spectrophotometric yöntemi ile kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.



### **3.5. Serum Total Oxidant Status (TOS) düzeylerinin ölçümü**

Rel assay diagnostics marka (Katalog no: RL0024, Mega Tıp San ve Tic Ltd Sti, Turkey), rat total oxidant status assay kiti, abbot c8000 otoanalizör spectrophotometric yöntemi ile kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.6. Serum Tümör Necrosis Factor-Alfa (TNF- $\alpha$ ) düzeylerinin ölçümü**

Invitrogen (Katalog no: KRC3011, Invitrogen Corporation, USA) marka rat tumor necrosis factor alpha (Rt TNF- $\alpha$ ) kitleri ile ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.7. Serum Transforming Growth Factor-Beta 1 (TGF- $\beta$ 1) düzeylerinin ölçümü**

eBioscience (Katalog no: BMS623/3, eBioscience, Campus Vienna Biocenter 2, Austria) marka rat transforming growth factor -  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) kitleri ile ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.8. Serum Makrofaj İnflamatuar Protein 2 (MİP-2) düzeylerinin ölçümü**

Cusabio (Katalog no: CSB-E07419r, Cusabio Biotech, China) marka rat macrophage inflammatory protein 2 (MIP-2) kitleri ile ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.9. Serum Matrix Metalloproteinase 1 (MMP 1) düzeylerinin ölçümü**

Cusabio (Katalog no: CSB-E07416r, Cusabio Biotech, China) marka rat matrix metalloproteinase 1 (MMP-1) kitleri ile ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.10. Serum Matrix Metalloproteinase 7 (MMP 7) düzeylerinin ölçümü**

Cusabio (Katalog no: CSB-E07408r, Cusabio Biotech, China) marka rat matrix metalloproteinase 7 (MMP-7) kitleri ile ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

### **3.11. Bronkoalveoler lavajda hücre sayımı**

İki ml bronkoalveoler lavaj sıvıları düşük hızda santrifüj edildi (300 rpm/dk; 10 dk). Tüpdeki çökelti kısmından 2 adet sitosipin yayma hazırlandı. Hematoksilen-Eozin (HE) ve May-Grunwald-Giemsma (MGG) ile boyandı. Her yaymada randomize ortalama 300 adet hücre sayılıp yüzdesi alındı.

### **3.12. Histopatolojik inceleme**

Ratların sol akciğerleri histopatolojik değerlendirme için %10 formalin solüsyonunda 24 saat bekletilerek tespit edildi. Tüm akciğeri temsil edecek şekilde sagittal doku örnekleri alındı. Rutin doku takibinden sonra parafin blok haline getirildi ve 4 µ kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ve fibrozisin değerlendirilmesi için Masson Trichrom (MT) boyasıyla boyandı. Fibrozisin derecelendirilmesi; MT ile boyalı kesitlerde 100'lük büyütmede rastgele seçilen 10 alanda Ashcroft skorlamasına (J Clin Pathol 1988;41:467-470) (Tablo 6) göre yapıldı. Mikroskopik inceleme kör olarak yapıldı.

**Tablo 5:** Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi

<b>Derece</b>	<b>Histolojik özellik</b>
Grade 0	Normal akciğer
Grade 1	Alveolar ya da bronşial duvarda minimal fibröz kalınlaşma
Grade 3	Akciğer yapısında hasar olmaksızın duvarda orta derecede fibröz kalınlaşma
Grade 5	Akciğer yapısında hasarla birlikte artmış fibrozis, fibröz bant formasyonu veya küçük fibröz kitleler
Grade 7	Şiddetli hasar ve geniş fibrozis
Grade 8	Total fibröz obliterasyon

### **3.13. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS 15.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak gösterildi. Değişkenler normal dağılım yönünden Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin analizinde One-Way ANOVA testi, normal dağılıma uymayan değişkenlerin analizinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi ve posthoc test olarak LSD testi kullanıldı. Tüm istatistiksel veriler için  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.

## 4.BULGULAR

Tüm gruplarda BAL'da hücre yüzdeleri, akciğer dokusunda fibrozis derecesi ve akciğer hidroksiprolin miktarı, serum TGF  $\beta$ 1, MIP-2, MMP-1, MMP-7, TNF  $\alpha$  düzeyleri, serum TAS, TOS ve BAL MDA düzeyleri ortalama  $\pm$  standart sapma olarak Tablo 6-8'da verilmektedir.

**Tablo 6:** Tüm gruplarda BAL'da hücre düzeyleri, akciğer dokusunda fibrozis derecesi ve akciğer hidroksiprolin miktarı

	<b>Kontrol</b>	<b>BLM I</b>	<b>BLM II</b>	<b>NAC</b>	<b>ERD</b>
<b>Makrofaj (%)</b>	92 $\pm$ 4,04	20,00 $\pm$ 11,42	64 $\pm$ 30,04	57,57 $\pm$ 4,04	93,66 $\pm$ 11,12
<b>Nötrofil (%)</b>	0,57 $\pm$ 0,79	64,80 $\pm$ 20,95	29,33 $\pm$ 32,49	39,17 $\pm$ 30,74	3,00 $\pm$ 6,87
<b>Lenfosit (%)</b>	7,43 $\pm$ 3,50	15,46 $\pm$ 6,66	6,66 $\pm$ 5,92	2,85 $\pm$ 1,86	3,33 $\pm$ 4,32
<b>Fibrozis</b>	0,14 $\pm$ 0,38	6,20 $\pm$ 0,84	5,33 $\pm$ 1,21	5,29 $\pm$ 1,38	2,33 $\pm$ 1,97
<b>Hidroksiprolin (mg/g kuru doku)</b>	4,47 $\pm$ 1,93	9,98 $\pm$ 1,64	6,74 $\pm$ 2,00	6,12 $\pm$ 2,51	5,17 $\pm$ 1,82

**Tablo 7:** Tüm gruplarda serum TGF  $\beta$ 1, MIP 2, MMP1, MMP7, TNF  $\alpha$  düzeyleri

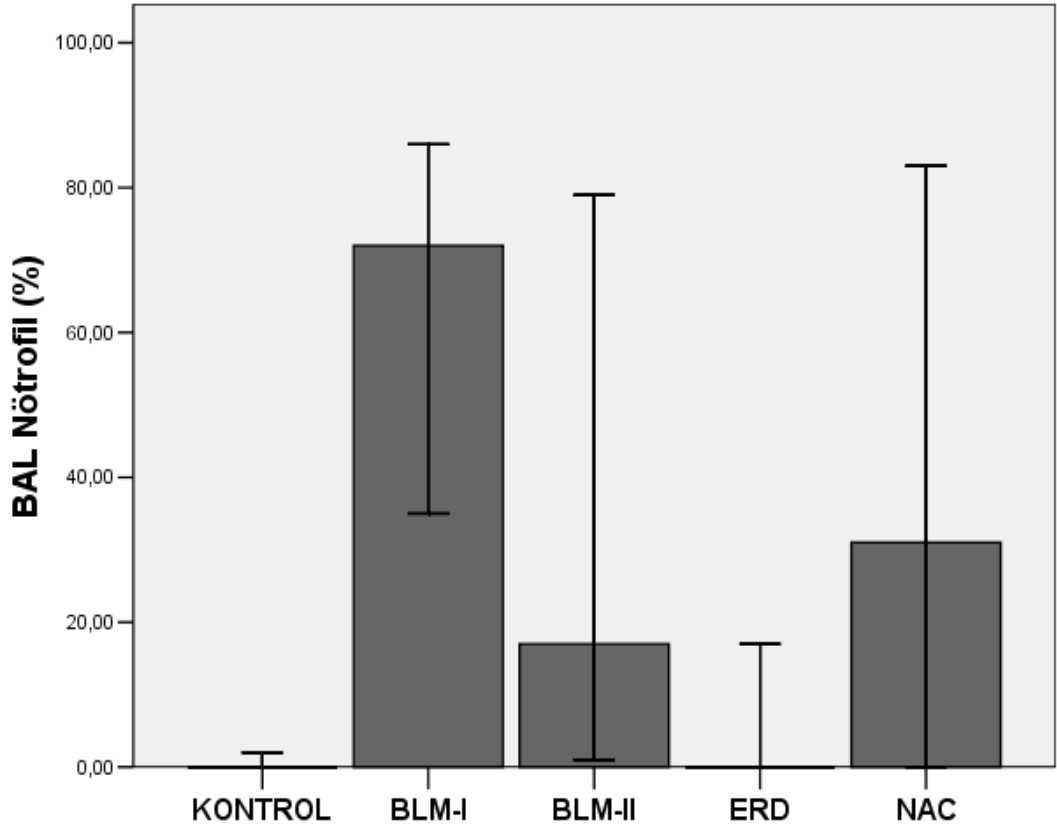
	<b>Kontrol</b>	<b>BLM I</b>	<b>BLM II</b>	<b>NAC</b>	<b>ERD</b>
<b>TGF <math>\beta</math>1 (pg/ml)</b>	210,54 $\pm$ 14,35	237,08 $\pm$ 58,94	246,75 $\pm$ 20,99	225,96 $\pm$ 19,05	231,65 $\pm$ 36,59
<b>MIP-2 (pg/ml)</b>	11,85 $\pm$ 2,18	26,18 $\pm$ 8,58	20,10 $\pm$ 9,72	14,78 $\pm$ 4,33	14,39 $\pm$ 4,55
<b>MMP-1 (pg/ml)</b>	953,62 $\pm$ 314,83	1646,29 $\pm$ 264,83	1530,70 $\pm$ 430,01	1342,75 $\pm$ 264,36	1078,51 $\pm$ 299,85
<b>MMP-7 (pg/ml)</b>	25,39 $\pm$ 10,94	48,24 $\pm$ 12,03	38,35 $\pm$ 6,72	47,60 $\pm$ 29,68	27,37 $\pm$ 24,48
<b>TNF <math>\alpha</math> (pg/ml)</b>	2,01 $\pm$ 0,20	3,72 $\pm$ 2,14	2,67 $\pm$ 0,31	2,45 $\pm$ 0,32	2,47 $\pm$ 0,32

**Tablo 8:** Tüm gruplarda serum TAS, TOS ve BAL MDA düzeyleri

	<b>Kontrol</b>	<b>BLM I</b>	<b>BLM II</b>	<b>NAC</b>	<b>ERD</b>
<b>TAS (mmol/l)</b>	1,08 $\pm$ 0,16	0,39 $\pm$ 0,08	0,69 $\pm$ 0,24	0,46 $\pm$ 0,34	1,15 $\pm$ 0,20
<b>TOS (umol/l)</b>	97,70 $\pm$ 22,00	190,18 $\pm$ 56,17	143,75 $\pm$ 56,57	130,07 $\pm$ 50,36	70,34 $\pm$ 36,13
<b>MDA (<math>\mu</math>mol/ml)</b>	0,11 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,02	0,18 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,12	0,13 $\pm$ 0,06

#### 4.1. BAL nötrofil düzeyleri

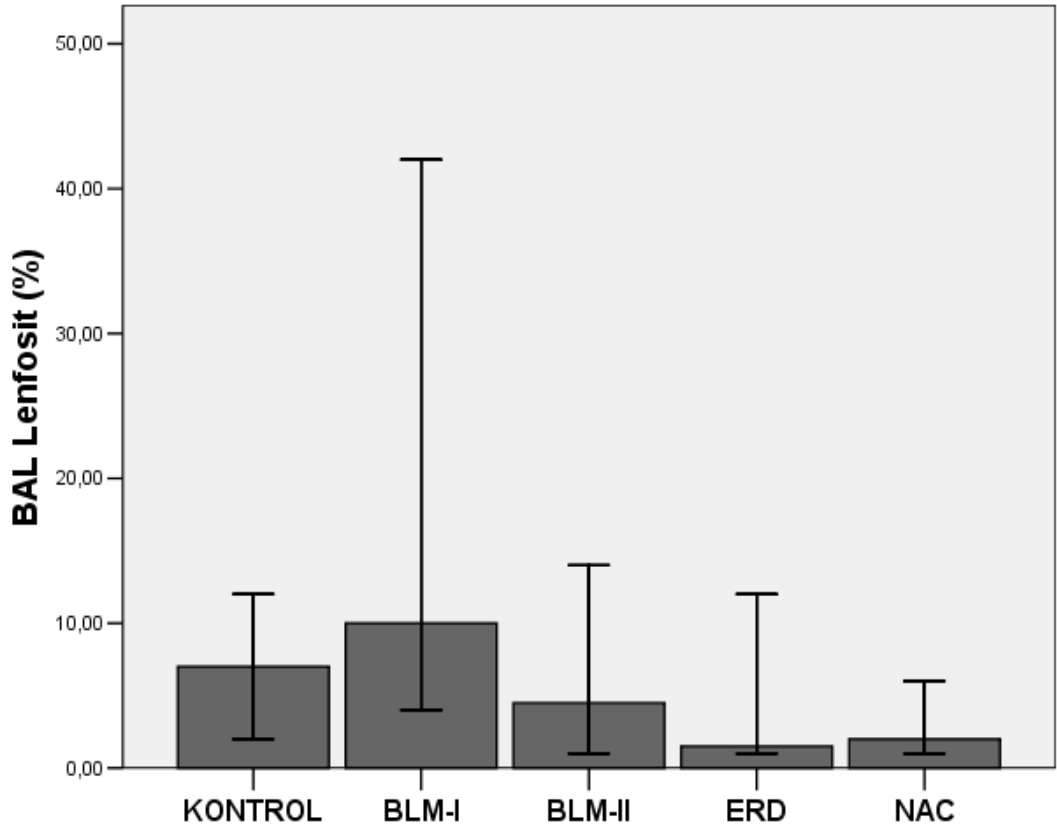
BAL nötrofil düzeyleri, BLM I, BLM II, NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,003$ ,  $p=0,005$ ,  $p=0,011$ ). ERD grubunda BLM I, BLM II ve NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla;  $p=0,004$ ,  $p=0,015$ ,  $p=0,022$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.



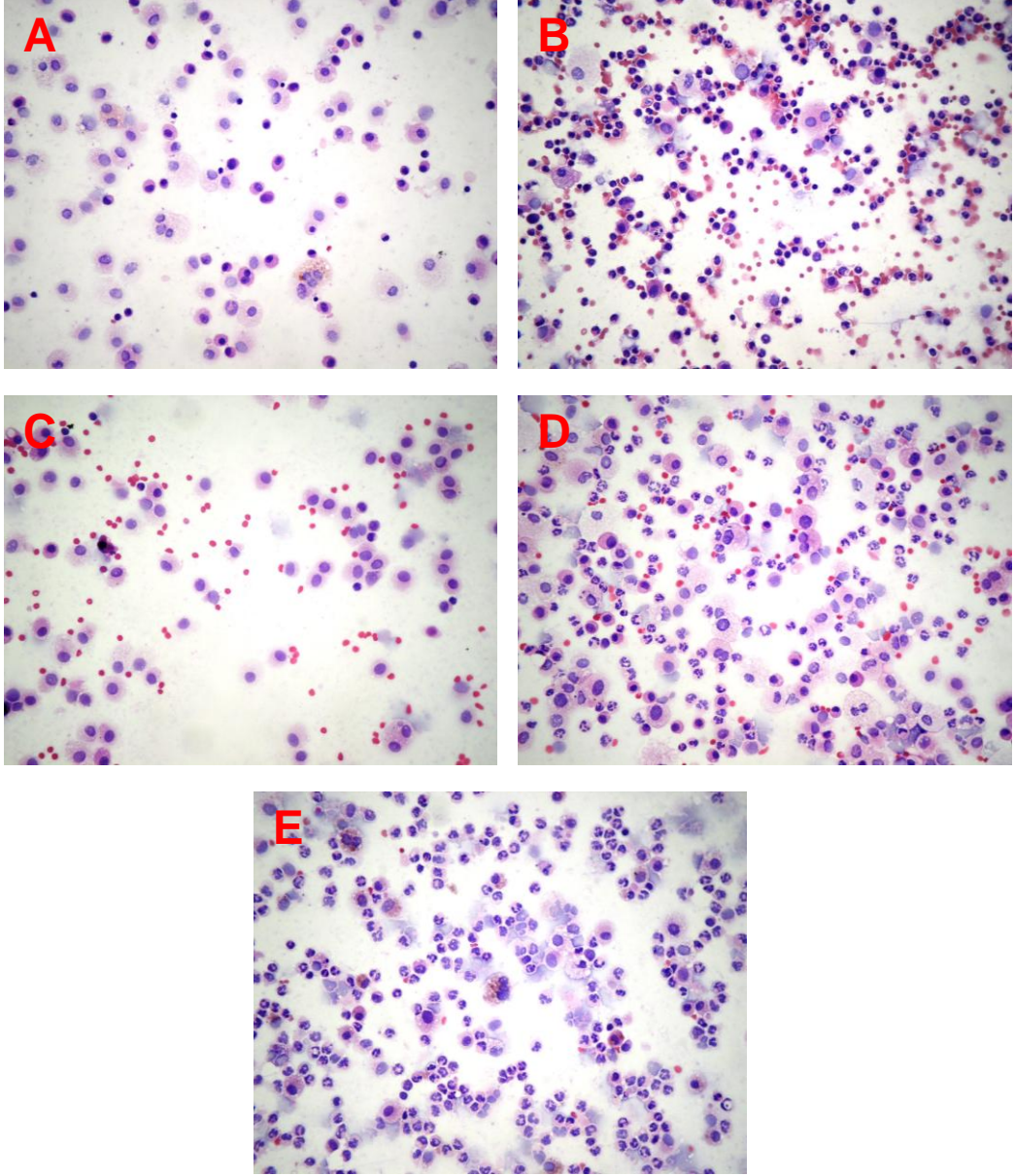
Şekil 3: Tüm gruplarda BAL nötrofil düzeyleri.

#### 4.2. BAL lenfosit düzeyleri

BAL lenfosit düzeyleri, BLM I grubunda ERD ve NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,030$ ,  $p=0,010$ ). NAC grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ( $p=0,017$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.



Şekil 4: Tüm gruplarda BAL lenfosit düzeyleri.



**Resim 2:** Bronkoalveolar lavaj yaymasında hücresel görünüm (H&Ex400)

(A: Kontrol, B: BLM-I, C: BLM-II, D: NAC, E: ERD).

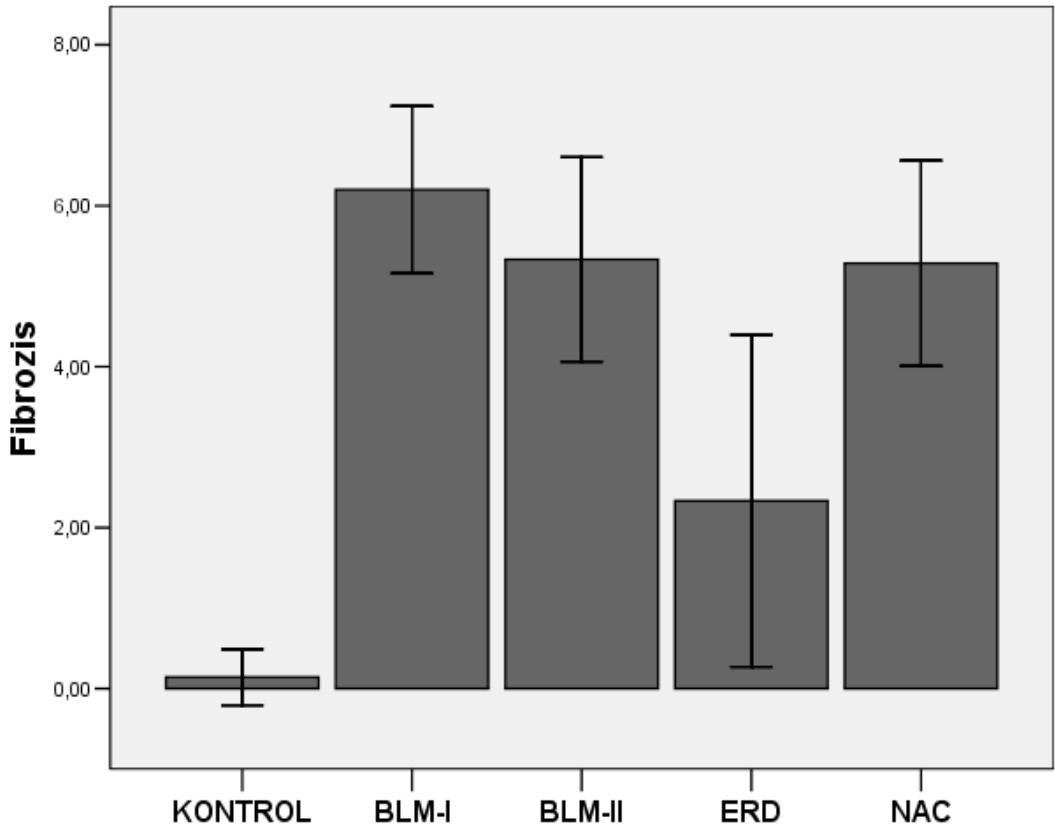
#### 4.3. Serum TNF $\alpha$ düzeyleri

Serum TNF  $\alpha$  düzeyleri BLM I, BLM II ve NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,018$ ,  $p=0,002$ ,  $p=0,011$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

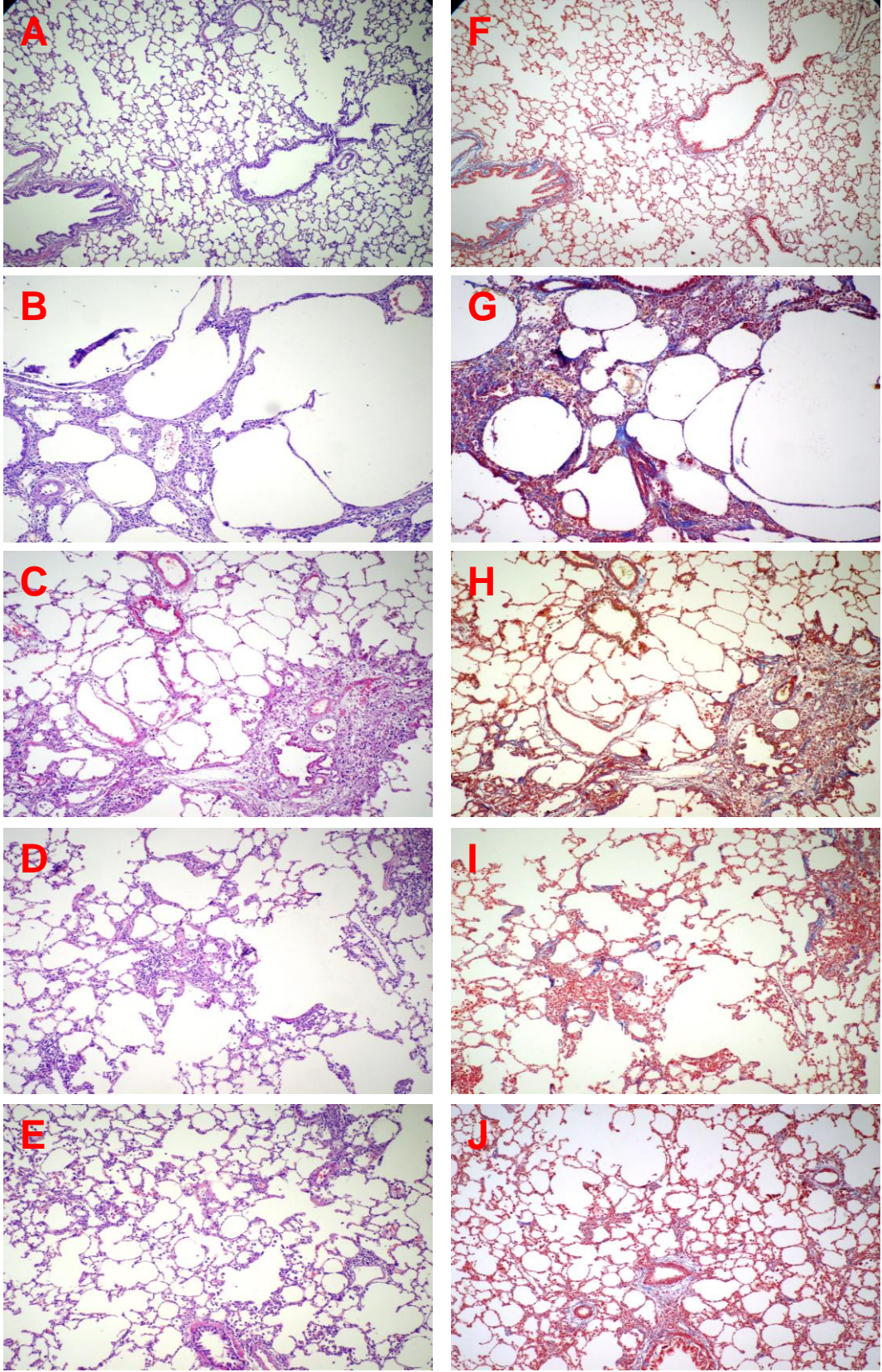


#### 4.4. Akciğer dokusunda fibrozis derecesi

Akciğer dokusu fibrozis derecesi BLM I, BLM II, ERD ve NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (ERD grubu için  $p=0,005$ , diğer gruplar için  $p<0,001$ ). ERD grubunda BLM I, BLM II ve NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu ( $p<0,001$ ). BLM grupları arasında ve NAC ile BLM grupları arasında fibrozis derecesi bakımından anlamlı fark bulunmadı.



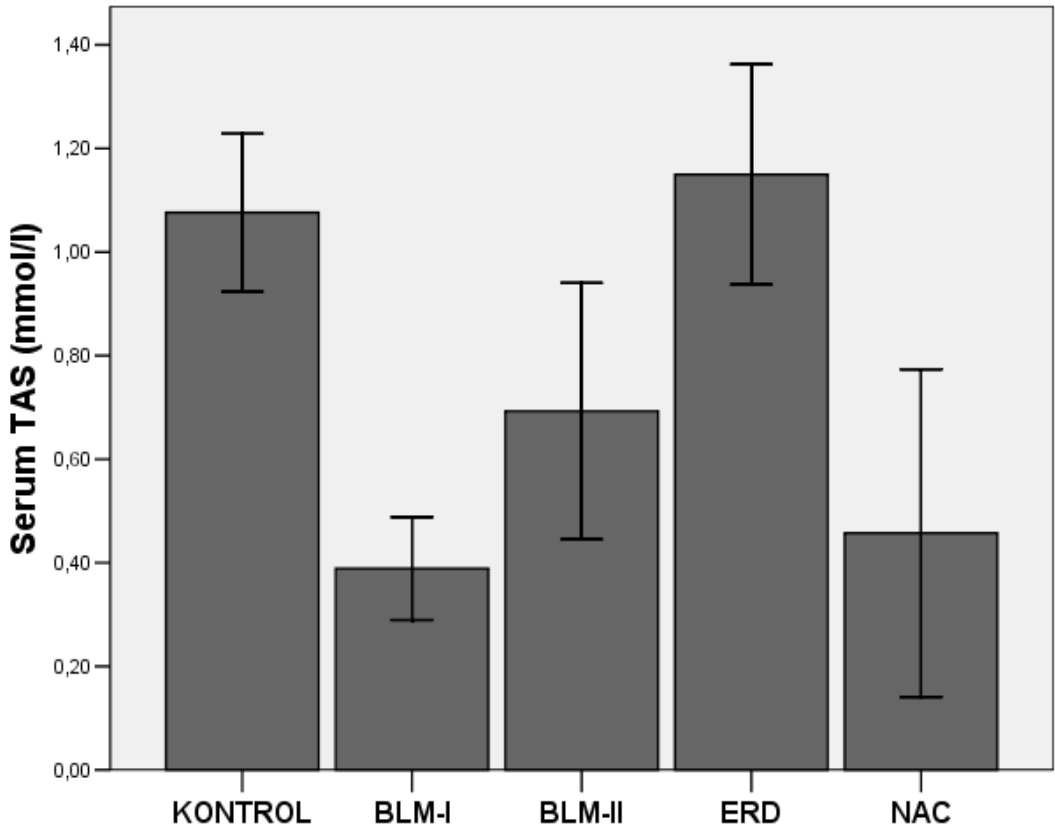
Şekil 5: Tüm gruplarda doku fibrozis dereceleri.



**Resim 3:** Akciğer dokusu histopatolojik görünüm (A,B,C,D,E; H&Ex100, F,G,H,I,J; MTx100) (A-F: Kontrol, B-G: BLM-I, C-H: BLM-II, D-I: NAC, E-J: ERD).

#### 4.5. Serum TAS düzeyleri

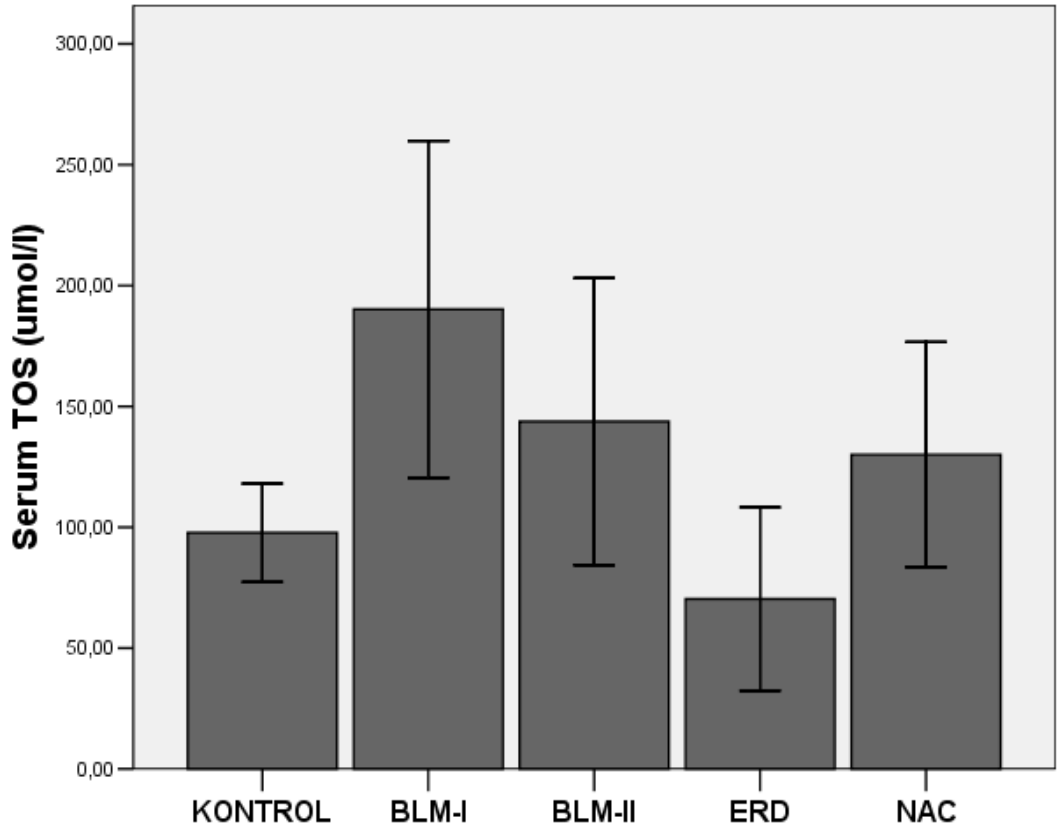
Serum TAS düzeyleri, BLM I, BLM II ve NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu (BLM II grubu için  $p=0,006$ , diğer gruplar için  $p<0,001$ ). ERD grubunda BLM I-II ve NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (BLM II için  $p=0,002$ , diğer gruplar için  $p<0,001$ ). BLM gruplarının karşılaştırmasında BLM I grubunda BLM II grubuna göre anlamlı düşük bulundu ( $p=0,038$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 6: Tüm gruplarda serum TAS düzeyleri.

#### 4.6. Serum TOS düzeyleri

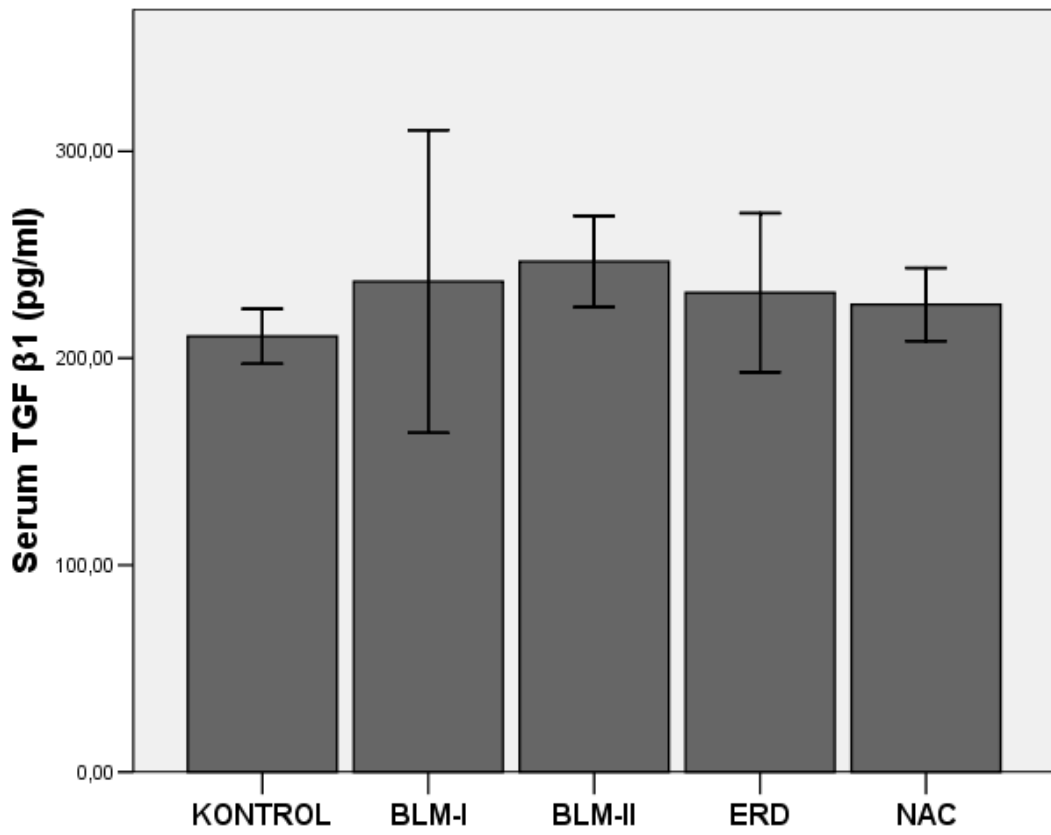
Serum TOS düzeyleri, BLM I grubunda kontrol, ERD ve NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,002$ ,  $p<0,001$ ,  $p=0,032$ ). ERD grubunda BLM II ve NAC gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla;  $p=0,009$  ve  $p=0,025$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 7: Tüm gruplarda serum TOS düzeyleri.

#### 4.7. Serum TGF- $\beta$ 1 düzeyleri

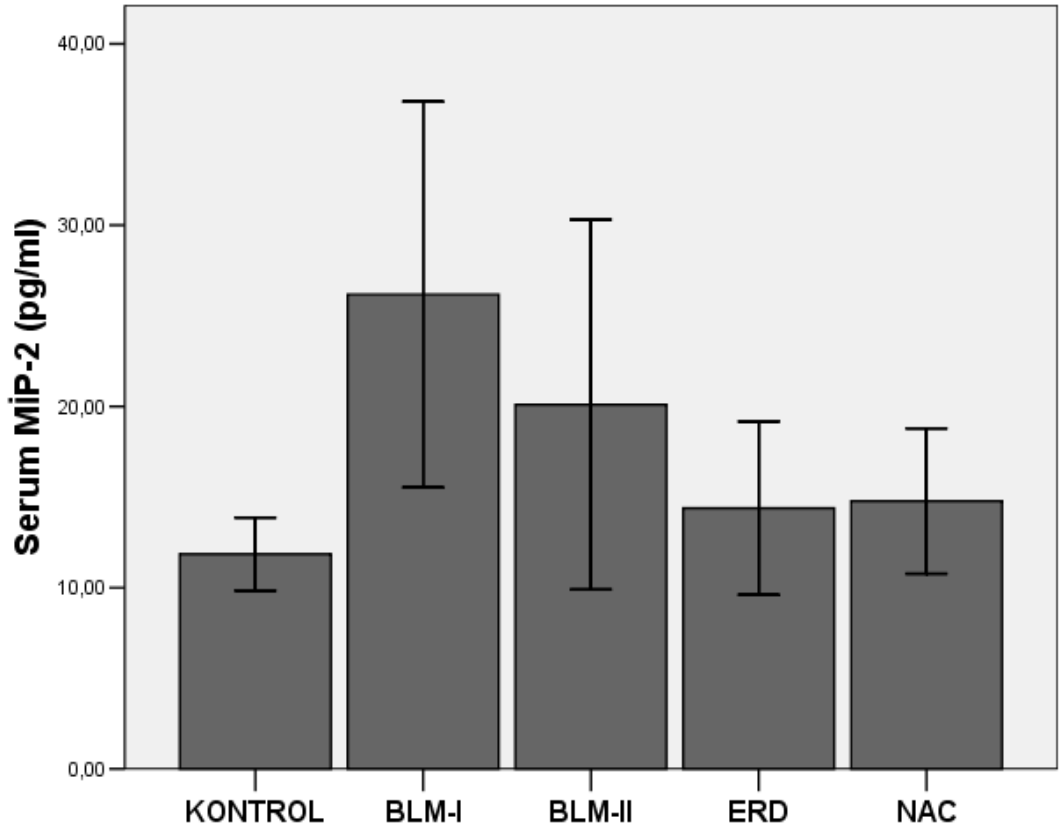
BLM II grubunda ortalama serum TGF- $\beta$ 1 düzeyleri diğ er gruplara göre yüksek olmakla birlikte (BLM II ile Kontrol grubu için  $p=0,051$ ) grupların ikili karşılaşt ırmalarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.



Şekil 8: Tüm gruplarda serum TGF- $\beta$ 1 düzeyleri.

#### 4.8. Serum MİP 2 düzeyleri

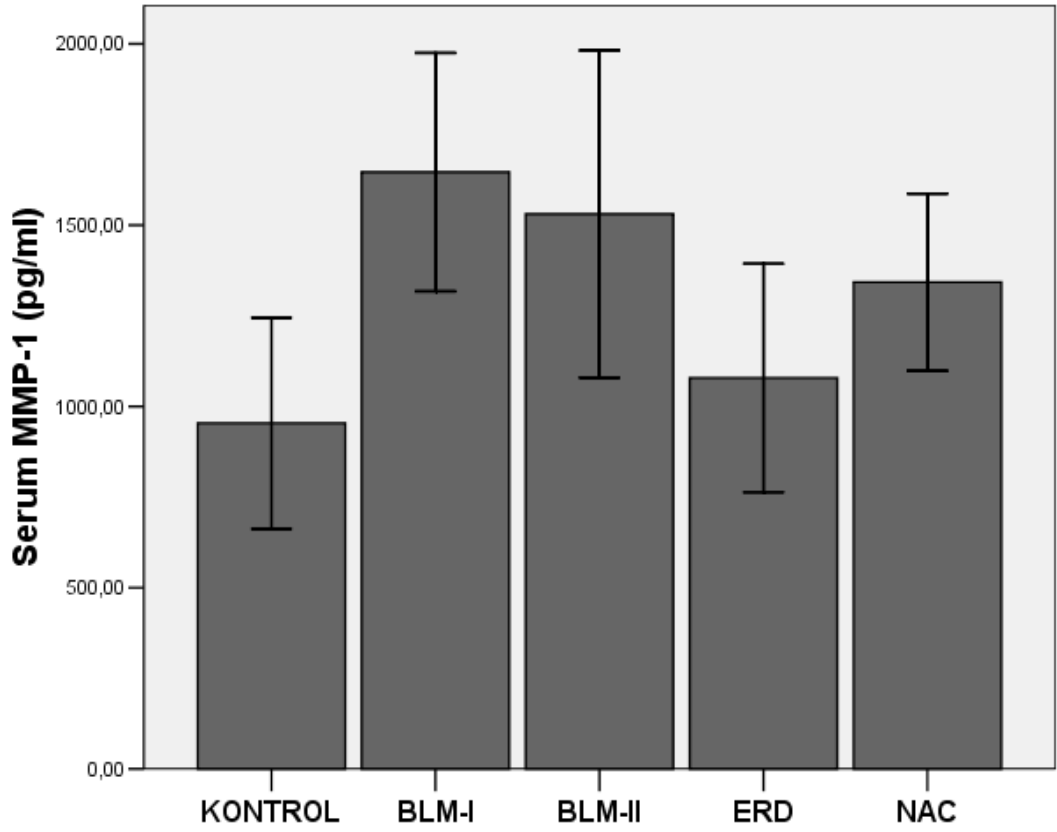
Serum MİP 2 düzeyleri, BLM I grubunda kontrol, ERD ve NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Kontrol grubu için  $p=0,001$ , diğer iki grup için  $p=0,004$ ). BLM II grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu ( $p=0,025$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 9: Tüm gruplarda serum MİP-2 düzeyleri.

#### 4.9. Serum MMP 1 düzeyleri

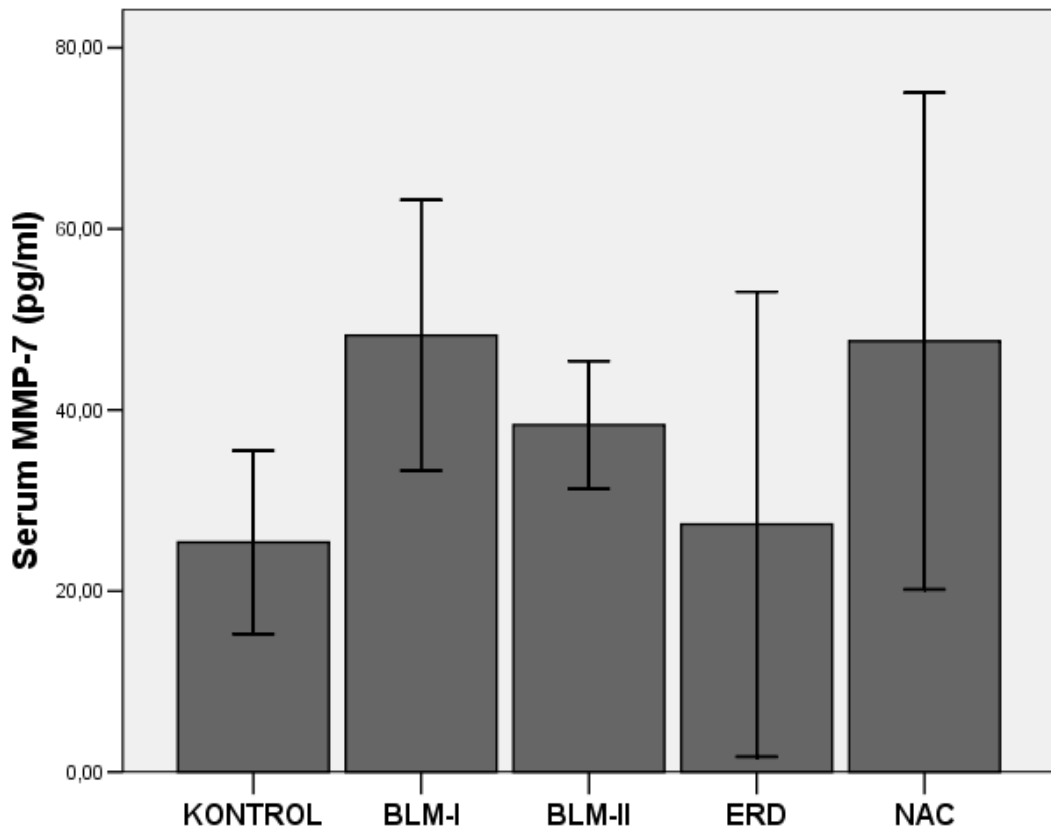
Serum MMP 1 düzeyleri, BLM I-II ve NAC gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,001$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,032$ ). ERD grubunda BLM I-II gruplarına göre anlamlı düşük bulundu (Sırasıyla;  $p=0,007$  ve  $p=0,022$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 10: Tüm gruplarda serum MMP-1 düzeyleri.

#### 4.10. Serum MMP 7 düzeyleri

Kontrol grubu ile NAC grubu Serum MMP 7 düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında; NAC grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ( $p=0.042$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.

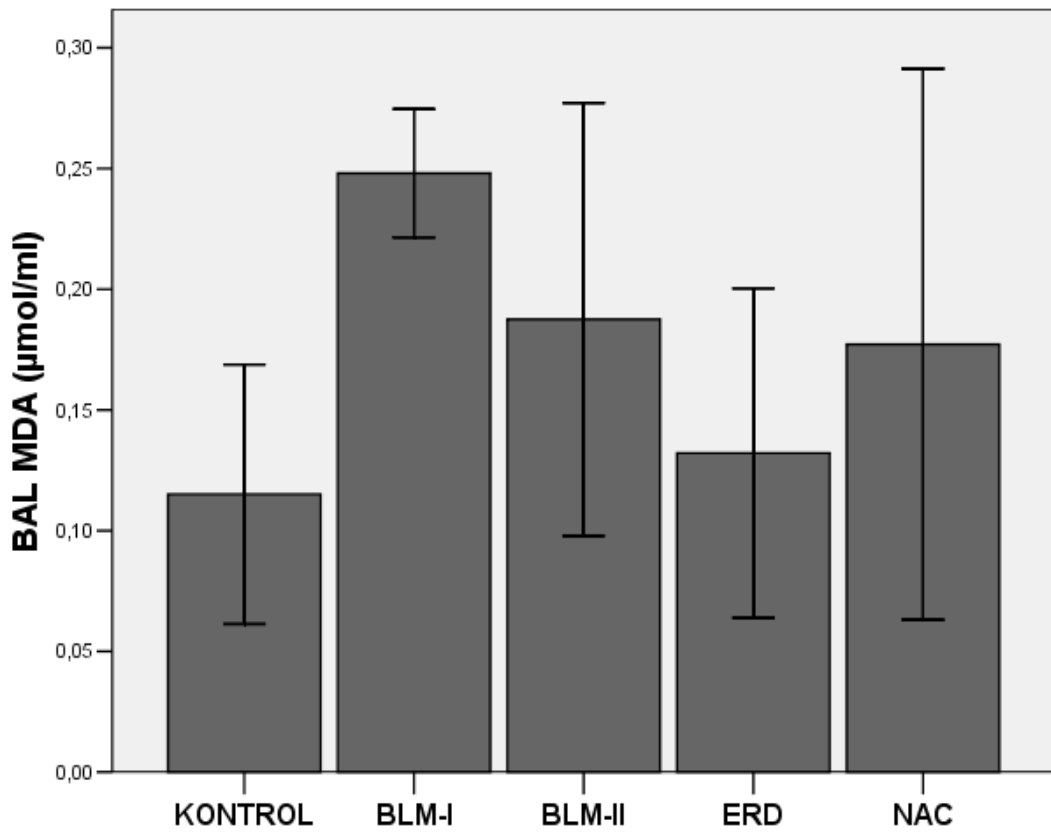


Şekil 11: Tüm gruplarda serum MMP-7 düzeyleri.



#### 4.11. BAL MDA düzeyleri

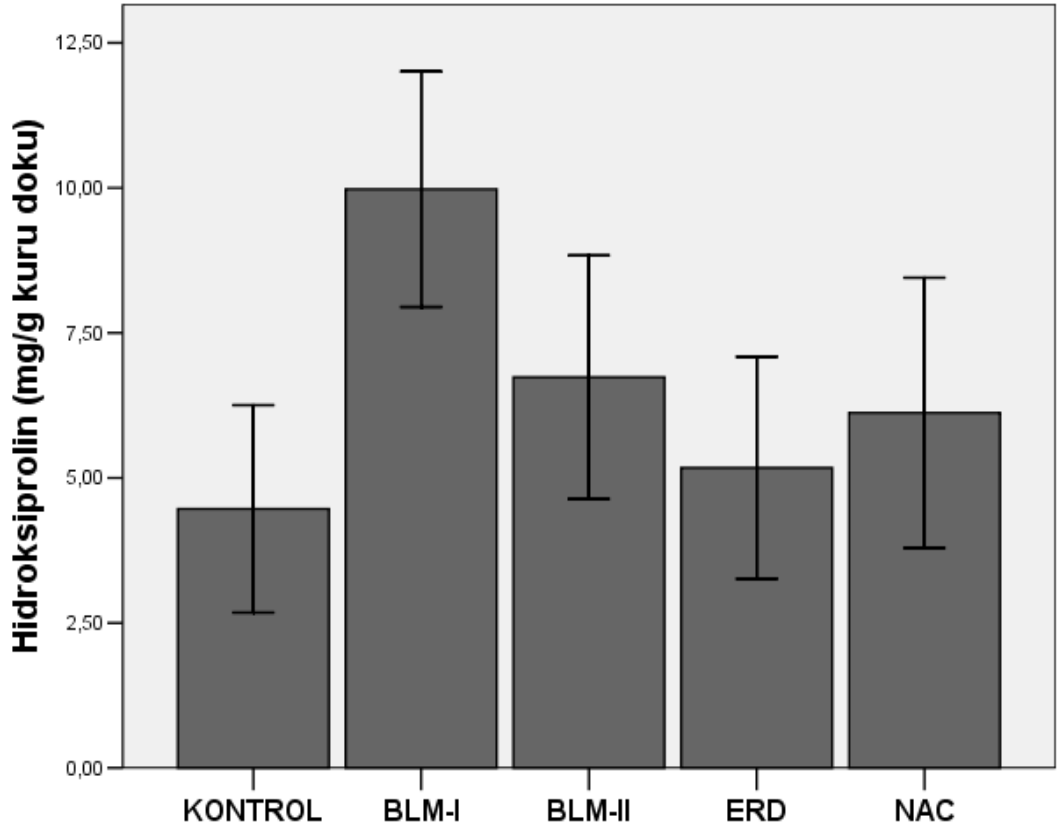
BAL MDA düzeyleri, BLM I grubunda kontrol ve ERD gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p=0,010$  ve  $p=0,026$ ). Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 12: Tüm gruplarda BAL MDA düzeyleri.

#### 4.12. Akciğer doku hidroksiprolin düzeyleri

Akciğer doku hidroksiprolin düzeyleri, BLM I grubunda kontrol, BLM II, ERD ve NAC gruplarına göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla;  $p < 0,001$ ,  $p = 0,014$ ,  $p = 0,001$ ,  $p = 0,003$ ). ERD grubunda ortalama akciğer doku hidroksiprolin düzeyi BLM II ve NAC gruplarından düşük olmakla birlikte istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Grupların diğer ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamlı fark yoktu.



Şekil 13: Tüm gruplarda akciğer doku hidroksiprolin düzeyleri.

## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmada BLM ile oluşturulan deneysel akciğer fibrozis modelinde, akciğerlerde inflamasyon ve fibrozis gelişimini takiben geç fibrotik dönemde ERD ve NAC'ın herhangi bir teröpatik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Bleomisin ile indüklenmiş akciğer fibrozisi hayvanlar üzerinde çok sık çalışılmıştır ancak insan verileri çok azdır. Hayvan modellerinde ilk olarak ödeme bağlı endotelial hasar görülür. Ödem sonrası akciğer parankimine nötrofil, makrofaj, lenfosit gibi inflamatuvar hücrelerin göçü görülür ve bu göç pulmoner fibrozise neden olur (104). Akut inflamasyon hemoraji, alveolar genişleme ve yoğun makrofaj, nötrofil, lenfosit gibi inflamatuvar hücreler ile karakterizedir. Geç dönemde ise alveolar septada genişleme, alveolar kollaps, demet halinde kollejen lifleri, subplevral ve peribronşial alanda bronş genişlemeleri izlenir (105). Son zamanlarda İPF patogenizinde miyofibrositlerin rolü daha fazla dikkati çekmektedir. Tip-II pnömositler, fibroblast aktive eden sitokinler "TGF- $\beta$ 1 ve TNF- $\alpha$ " salgılar. Miyofibroblastlar epitel hücrelerinden farklı olarak apoptozise dirençlidir. Kemik iliği kökenli hücrelerin hasar sonrası akciğere göç edip fibroblast fenotipini aldığı gözlemlenmiştir. Hayvan deneylerinde, hematopoetik orjinli hücrelerden olan fibrositler, hasarı takiben hayvanların akciğerine göç ettikleri gözlemlenmiştir. İPF'de fibrositler, fibroblastlara benzer rol oynamaktadır (106). Boyacı ve ark. (107) ratlara BLM'nin i.t. uygulanmasını takiben BAL sıvısındaki lökosit sayılarında 1. gün belirgin artış olduğunu, 3. gün maksimum düzeye ulaştığını ve 14. günde hala yüksek olduğunu göstermişlerdir. Yıldırım ve ark'nın (13) çalışmasında da i.t BLM verilen ratlarda 14. günde BAL sıvısında total hücre sayısının, nötrofil, makrofaj ve lenfosit sayılarının anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir. NAC ve ERD ile tedavi verilen gruplarda bu artışın baskılandığı görülmüştür. Erden ve ark (11) i.t. BLM uygulamasının BAL nötrofil oranlarında belirgin artışa neden olduğunu ve lenfosit

oranlarında BLM grubu ile kontrol grubu arasında belirgin fark izlenmediğini ve ERD tedavisinin BLM enjeksiyonuna bağlı nötrofil artışını anlamlı derecede baskıladığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada i.t. BLM uygulamasının BAL nötrofil oranlarında belirgin artışa neden olduğu ve nötrofil oranının 29. günde hala yüksek olduğu görüldü. ERD tedavisinin BLM enjeksiyonuna bağlı nötrofil artışını 29. günde anlamlı derecede baskıladığı ve NAC tedavisine anlamlı yanıt olmadığı görüldü. BAL lenfosit oranlarının ise 29. günde bakıldığında NAC ve ERD gruplarında BLM I grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, ERD'nin BLM ile oluşturulan akciğer inflamasyonunu baskıladığını göstermektedir.

Makrofaj inflamatuvar protein 2, akciğer hasarına neden olan nötrofil birikiminin potansiyel bir mediatörüdür (96). BLM'nin uygulamasını takiben fibrotik sürecin gelişiminde akciğerde intertisyel alanda inflamatuvar hücreler birikirler (108, 109). MCP1, MIP-1 $\alpha$  ve RANTES gibi C-C kemokinler monositler ve lenfositler üzerine etkiliyken, MIP-2 ve KC gibi C-X-C kemokinler nötrofiller için kemotaktiktirler. Çoğu araştırmacı BLM'nin indüklediği fibrotik değişikliklerin gelişimi esnasında akciğerde MCP1, MIP 1 $\alpha$  ve MIP-2 üretiminin arttığını ve bu kemokine karşı nötralizan monoklonal antikolar uygulandığı zaman fibroziste azalmayı göstermişlerdir (110, 111). Yara ve ark'ları (112) farelerde BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde MIP-2'nin 3 ve 7. günlerde maksimum düzeye ulaştığını, 14 ve 28. günlerde azaldığını bildirmişlerdir. Hagiwara ve ark'ları (113) sadece BLM verilen ratlarda MIP -2 seviyelerinin 7. günde pik yaptığını ve sonrasında hızlı bir şekilde azaldığını, NAC'in bu artışı engellediğini göstermişlerdir. Erden ve ark. (11) BAL MIP -2 düzeylerinin BLM grubunda anlamlı derecede yükseldiğini 14. günde plato değer yaptığını ve 29. günde de hala yüksek olduğunu, ERD tedavisinin bu yükselmeyi engellediğini saptamıştır. Mevcut çalışmada BLM gruplarında 14. ve 29. günde serum MIP-2 düzeyleri kontrol grubuna göre ve 14. günde ERD ve NAC gruplarına anlamlı yüksek saptandı. Kontrol, ERD ve NAC grupları arasında MIP-2 bakımından anlamlı fark saptanmadı. Bu veriler, ERD'in MIP-2 düzeyini azaltarak inflamasyon alanında inflamatuvar hücre sayısını azaltabileceğini düşündürülebilir.

Malondialdehit biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonunu göstermek için sık kullanılan bir tür aldehittir (114). Lipid peroksidasyonunun indirekt göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA doymamış yağ asitlerinin oksidatif olarak parçalanması sonucu ortaya çıkan bir lipid ürünüdür. Yüksek olarak bulunması o ortamda lipid peroksidasyonu olduğunu gösterir (115). Yıldırım ve ark. (13) yaptığı çalışmada BLM grubunda akciğer dokusunda MDA düzeylerinde belirgin artış olduğu, NAC ve ERD tedavisi verilen gruplarda MDA düzeylerinin baskılandığı görülmüştür. İlhan ve ark'ları (116) fare epilepsi nöbet modelinde PTZ'nin indüklediği oksidatif strese, nöbetlerle indüklenen MDA seviyesindeki artışı ERD'nin engellediğini bildirmişlerdir. Erden ve ark. (11) çalışmasında ERD'nin BLM'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir. Mevcut çalışmada BLM uygulaması 14. günde BAL MDA düzeylerinde anlamlı artışa yol açmıştır. 29. günde 14. güne göre MDA'da bir miktar düşme olmuştur. ERD tedavisi MDA düzeyinde düşmeye neden olmuştur.

Hidroksiprolin kollejenin ön maddesi olan bir amino asiddir. Hidroksiprolin düzeyi dokudaki kollejen miktarın tespiti için kullanılan iyi bir biyokimyasal yöntem olarak kabul edilmektedir (114). Önceki bir çalışmada BLM'nin hidroksiprolin içeriğini ve fibrozis skorunu anlamlı düzeyde arttırdığı, ERD'nin bunları belirgin olarak azalttığı bildirilmiştir (115). Yıldırım ve ark'nın (13) yaptığı çalışmada BLM grubunda akciğer dokusunda hidroksiprolin düzeylerinde belirgin artış olduğu, ERD ve NAC tedavisi verilen gruplarda akciğer fibrozisinin önemli derecede gerilediği belirtilmiştir. Erden ve ark'nın (11) yaptığı bir başka çalışmada BLM uygulamasıyla fibrozis derecesinin kontrol grubuna göre yaklaşık 7 kat arttığı ve ERD tedavisinin bunu anlamlı düzeyde önlediği bildirmiştir, ek olarak BLM'nin akciğer hidroksiprolin içeriğini yaklaşık 2 kat arttırdığı ve ERD tedavisinin bu artışı belirgin olarak engellediği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda da önceki çalışmalara benzer olarak, BLM gruplarında akciğer fibrozisi ve doku hidroksiprolin düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulundu. ERD tedavisi verilenlerde doku hidroksiprolin düzeyi düşük, fibrozis skoru anlamlı derecede düşük bulundu.

Tümör nekrozis faktör- $\alpha$  aktive alveolar makrofajlardan salınan inflamatuvar bir sitokindir. Pulmoner fibrozisin patogenizinden büyük ölçüde sorumlu tutulmuş ve

terapötik müdahaleler için potansiyel hedef olarak kabul edilmiştir (108, 118,119). Serrano-Mollar ve ark'nın (120) çalışmasında; BLM ile akciğer fibrozisi oluşturulan ratlarda 15. günde BAL TNF- $\alpha$  düzeyinin kontrol ve NAC gruplarına göre yüksek, NAC + BLM grubunda ise BLM grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Verma ve ark. (121) çalışmasında kontrol grubu ile BLM ve BLM + sulindac grupları karşılaştırılmış, serum TNF- $\alpha$  değerleri BLM grubunda daha yüksek bulunmuştur. Gao ve ark'nın (122) yaptığı çalışmada, BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde 7. günde serum TNF- $\alpha$  seviyesini kontrol grubuna yüksek bulmuş, 14. günde pik yaptığını tespit etmişlerdir. Verma ve ark'nın (114) yaptığı bir başka çalışmada 21. günde serum TNF- $\alpha$  değerleri bakılmış; BLM grubunda, kontrol grubu ve BLM + Quercetin gruplarına göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Mevcut çalışmada serum TNF- $\alpha$  düzeyleri BLM uygulaması ile anlamlı düzeyde artmıştır. 29. günde 14. güne göre bu düzeylerde hafif düşme olmakla birlikte anlamlı yüksekliğini sürdürmüştür. NAC ve ERD tedavileri verilen gruplarda BLM I grubuna göre düşük olmakla birlikte TNF  $\alpha$  düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

TGF- $\beta$ 1 çeşitli hücreler tarafından üretilir. Fibroblastlar için kemotaktik büyüme faktörüdür. TGF- $\beta$ 1 miyofibroblastların diferansiyonunu ve dokunun yeniden yapılandırılmasında rol oynar. Ayrıca alveolar tip 2 hücrelerin proliferasyonunu inhibe eder, alveolar epitelyal hücrelerde epitelyal mezankimal değişimi indükler (123). TGF- $\beta$ 1 profibrogenik etkisinden dolayı İPF gelişiminde kritik medyatörlerden biri olarak kabul edilir. Kromozom 10q13'te lokalizedir ve bu gende 7 tane polimorfizm saptanmıştır. Xaubet ve ark. İPF'li hastalarda TGF-  $\beta$ 1 polimorfizmi bakılmış ve kodon 10 ile 25'te polimorfizm saptanmıştır (124). Li ve ark'nın çalışmasında (125) BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde BLM gruplarında serum TGF- $\beta$ 1 seviyelerinin 9. günde pik yaptığı ve 35. güne kadar yüksekliğini koruduğu ve NAC verilen gruplarda bu artışın baskılandığı gösterilmiştir. Yao ve ark. (126) BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde BLM gruplarında serum TGF- $\beta$ 1 seviyelerini 14. günde yüksek bulmuşlar, 21. günde pik yaptığını göstermişlerdir. Gao ve ark'nın (122) yaptığı çalışmada BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde 7. günde serum TGF- $\beta$ 1 seviyesinin kontrol grubuna yüksek bulunmuş, 14. günde pik yaptığı tespit edilmiştir. Bizim

çalışmamızda ortalama serum TGF- $\beta$ 1 seviyeleri BLM ve tedavi gruplarında kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte, bu seviyelerde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi.

Kan serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyen birçok antioksidan molekül içermektedir. Vitamin C ve E, albümin, bilirubin, ürik asit gibi antioksidan moleküller ve süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler hücreleri oksidan ajanların zararlı etkilerinden korumaktadır (127). Bu antioksidanların serum konsantrasyonları tek tek ölçülebilir ancak bu zaman alıcı ve pahalı olup daha komplike teknikler gerektirmektedir. TAS son zamanlarda geliştirilen bir ölçüm yöntemi olup, serumdaki enzimatik olan ve olmayan tüm antioksidanların durumunu yansıtabilmektedir (128). Bu yöntem ile özellikle lipid, protein, DNA gibi biyomoleküllerin oksidatif hasarına yol açan serbest radikal reaksiyonlarına karşı olan TAS ölçülmektedir (127). Daha önceki çalışmalarda oksijen radikallerinin akciğer fibrozisine neden olduğu bildirilmiştir (129). Öte yandan BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisinde oksidan/antioksidan dengesizliğinin rol oynadığı savunulmuştur (4). TOS dokuda oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarı yansıtan parametre olarak kullanılmaktadır. Gao ve ark. (130) kontrol, BLM ve BLM+Baicalein gruplarını karşılaştırdığı çalışmada akciğer TAS düzeyini BLM grubunda anlamlı düşük bulmuşlardır. Kılıç ve ark. (131) BLM oluşturulan akciğer fibrozisinde, akciğer dokusunda TOS düzeylerini anlamlı yüksek, TAS düzeylerini anlamlı düşük bulmuşlardır. Mevcut çalışmada, BLM uygulaması 14. günde serum TOS düzeylerinde anlamlı artışa, serum TAS düzeylerinde anlamlı düşüşe yol açmıştır. 29. günde 14. güne göre serum TOS düzeylerinde bir miktar düşme, serum TAS düzeylerinde yükselme olmuştur. NAC tedavisinin serum TAS, TOS düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisi görülmezken; ERD tedavisi serum TAS düzeylerinde anlamlı artışa ve serum TOS düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olmuştur.

İdyopatik Pulmoner Fibrozisde inflamasyon; çeşitli inflamatuvar hücre tiplerinin infiltrasyonu, sitokinlerin, kemokinler ve matriks metalloproteinazların (MMPs) salınımı ile karakterizedir (132). İPF'de fibroblastlar ve miyofibroblastlar subepitelyal alanda lineer şekilde küçük kümeler oluşturur. Bu mesanşimal hücreler tarafından yüksek miktarda kontrolsüz MMP'ler salgılanır. Öncelikle provoke edilen

fibriler kollejen alveolar kapiller yapıyı bozar, daha sonra yerini skar dokusu ve bal peteği görünümü alır (133). MMP'ler her türlü ekstraselüler matriksi parçalama yeteneğine sahip bioaktif moleküllerdir. Hücre yüzeyi reseptöründe ayrılma, apoptotik ligandların serbest kalması ve kemokin/sitokin aktivasyonu gibi birçok olayda rol oynadığı bilinmektedir. Ayrıca MMP'lerin hücre proliferasyonu, migrasyonu, differasyonu, anjiogenez, apoptozis ve konak savunma gibi hücresel davranışlarında major rol oynadığı düşünülmektedir (134). MMPs'nin yapısal ve fonksiyonel olarak farklı tipleri vardır. İntertisyel kollejenazlar tarafından en fazla MMP-1 eksprese edilir. Checa ve ark. (135) 130 İPF'li hastada yaptığı çalışmada MMP-1 gen mutasyonunun İPF gelişimi ile korele olduğunu bildirmiştir. Henry ve ark. BAL'da MMP-1 düzeylerinin İPF'li hastalarda anlamlı yüksek olduğunu bildirmişlerdir (136). Pardo ve ark. (101) İPF hastalarında kontrole göre MMP-1 düzeylerinin belirgin artmış olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda serum MMP-1 düzeyleri BLM uygulaması ile anlamlı düzeyde artmıştır. 29. günde bu düzeylerde bir miktar düşme olmakla birlikte anlamlı yüksekliğini sürdürmüştür. ERD tedavisi serum MMP-1 düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olmuştur. İPF'de çeşitli MMP'lerin özellikle de MMP-1 ve MMP-7'nin kontrol akciğerlere göre belirgin yüksek olduğu gösterilmiştir. Zuo ve ark. (137) MMP-7 düzeylerinin İPF hastalarında belirgin artmış olduğunu belirtmişlerdir. Verma ve ark. çalışmasında (114) ratlarda BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde plazma ve BAL'da MMP-7 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Zuo ve ark. (137) farelerde BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde MMP-7 düzeylerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuştur. Mevcut çalışmada ortalama serum MMP-7 düzeyleri NAC ve BLM gruplarında kontrol ve ERD gruplarına göre yüksek bulundu, kontrol ve ERD gruplarında ortalama serum MMP-7 düzeyi birbirine çok yakın olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

Bizim çalışmamızda BLM ile indüklenen akciğer fibrozisi ile yüksek MMP düzeyleri ilişkili bulunmuştur. ERD tedavisi alan grupta özellikle MMP-1 olmak üzere MMP'ler BLM gruplarından düşük bulunmuştur. Bu bulgular, ERD'nin MMP ekspresyonunu inhibe ederek akciğerde fibrozis gelişimini önleyebileceğini düşündürmektedir.



## 6. SONUÇLAR

Bu deneysel çalışmada i.t. BLM uygulaması ile oluşturulan fibrozis modelinde BLM'ye bağlı gelişen değişiklikler ve ERD, NAC tedavilerinin bu değişiklikler üzerine olan etkileri aşağıda sıralanmıştır.

Bleomisin uygulaması sonrası 14. günde akciğerlerde bir miktar lenfosit ve anlamlı düzeyde nötrofil birikimi olduğu, nötrofil birikiminde 29. günde 14. güne göre azalma olmakla birlikte hala nötrofilik infiltrasyonun sürdüğü görülmüştür. NAC tedavisinin bu infiltrasyona herhangi bir etkisi olmazken, ERD tedavisi nötrofilik infiltrasyonu anlamlı düzeyde baskılamıştır.

Bleomisin uygulaması 14. günde akciğerlerde hidroksprolin düzeylerinde anlamlı artışa ve fibrozise neden olmuştur. 29. günde hidroksprolin düzeylerinde ve fibrozis skorunda düşme olmasına rağmen anlamlı fibrozisin devam ettiği ve NAC'ın etkinliği olmazken, ERD tedavisinin fibrozisi anlamlı düzeyde azalttığı görülmüştür.

Bleomisin uygulaması 14. günde BAL MDA ve serum TOS düzeylerinde anlamlı artışa, serum TAS düzeylerinde anlamlı düşüşe yol açmıştır. 29. günde 14. güne göre MDA ve TOS'ta bir miktar düşme, TAS'ta yükselme olmuştur. NAC tedavisinin bu belirteçler üzerine bir etkisi görülmezken; ERD tedavisi MDA düzeyinde düşmeye, serum TAS düzeylerinde anlamlı artışa ve serum TOS düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olmuştur.

Serum TNF  $\alpha$  düzeyleri BLM uygulaması ile anlamlı düzeyde artmıştır. 29. günde 14. güne göre bu düzeylerde hafif düşme olmakla birlikte anlamlı yüksekliğini sürdürmüştür. NAC ve ERD tedavileri TNF  $\alpha$  düzeylerinde anlamlı değişiklik yapmamıştır.

Bleomisin uygulaması serum MİP 2 düzeylerinde anlamlı artışa neden olmuş ve 29. günde MİP 2 düzeylerinde hafif azalma görülmekle beraber anlamlı yüksekliğini sürdürmüştür. NAC ve ERD tedavileri serum MİP 2 düzeylerinde düşüş yapmıştır.

Serum MMP 1 düzeyleri BLM uygulaması ile anlamlı düzeyde artmıştır. 29. günde bu düzeylerde bir miktar düşme olmakla birlikte anlamlı yüksekliğini sürdürmüştür. ERD tedavisi serum MMP 1 düzeylerinde anlamlı düşüşe neden olmuştur.

Sonuç olarak; NAC tedavisinin BLM'ye bağlı gelişen akciğer inflamasyonu ve fibrozisi üzerine anlamlı bir teröpatik etkisi olmamıştır. Buna karşın bu çalışmanın sonuçları ERD'nin BLM ile oluşturulan akciğer inflamasyonu ve fibrozis üzerine tedavi edici etkisinin olduğunu göstermektedir. ERD, bu etkiyi akciğerde çeşitli kemokin ve kollagenaz düzeylerini ve inflamatuvar hücre birikimini azaltarak, oksidan/antioksidan dengesini düzenleyerek gösterebilir.

Bu çalışmanın sonuçları, ERD'nin İPF'de ileri fibrosis döneminde dahil olmak üzere bir tedavi seçeneği olabileceğini öne sürmektedir. Bununla birlikte bu sonuçları destekleyebilecek kapsamlı çalışmalara, özellikle de klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Goldstein RH, Fine A. Potential therapeutic initiatives for fibrogenic lung diseases. *Chest*. 1995;108(3):848-55.
2. Hunninghake GW, Kalica AR. Approaches to the treatment of pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1995;151(3 Pt 1):915-8.
3. Ommatı R. *Vademecum Modern İlaç Rehberi*, 25.baskı, Ankara, 2004: 383.
4. Moeller A, Ask K, Warburton D, Gauldie J, Kolb M. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2008;40(3):362-82.
5. Naycı SA. İnterstisyel Pnömoni/Fibrozis Deneysel hayvan modelleri In: Bilgiç H, Karadağ M, editörs. *Göğüs Hastalıklarında in vivo ve in vitro Araştırma Yöntemleri Toraks Kitapları*. İstanbul: ADA ofset Matbaacılık; 2011. Sayı 12. P.281-3.
6. Vagliasindi M, Fregnan GB. Erdosteine protection against cigarette smoking-induced functional antiprotease deficiency in human bronchiolo-alveolar structures. *International journal of clinical pharmacology, therapy, and toxicology*. 1989;27(5):238-41.
7. Moretti M, Bottrighi P, Dallari R, et al. 2004. The effect of long-term treatment with erdosteine on chronic obstructive pulmonary disease: the EQUALIFE Study. *Exp Clin Res*, 30:143–52.
8. Inglesi M, Nicola M, Fregnan GB, Bradamante S, Pagani G. Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco*. 1994;40(11):703-8.
9. van Herwaarden CL, Dekhuijzen PN, van Schayck CP, van Weel C, Molema J. Drug treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. 1996;140(14):761-5.
10. Türker H. Kronik obstrüktif akciğer hastalığında mukolitikler ve antioksidanlar. In: Umut S ve Erdinç E; eds. *Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı* İstanbul: 2000;2:124-7.
11. Erden ES, Kirkil G, Deveci F, İlhan N, Cobanoğlu B, Turgut T, et al. Effects of erdosteine on inflammation and fibrosis in rats with pulmonary fibrosis induced by bleomycin. *Tuberkuloz ve toraks*. 2008;56(2):127-38.

12. Mata M, Ruiz A, Cerda M, Martinez-Losa M, Cortijo J, Santangelo F, et al. Oral N-acetylcysteine reduces bleomycin-induced lung damage and mucin Muc5ac expression in rats. *The European respiratory journal*. 2003;22(6):900-5.
13. Yildirim Z, Kotuk M, Iraz M, Kuku I, Ulu R, Armutcu F, et al. Attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis by oral sulfhydryl containing antioxidants in rats: erdosteine and N-acetylcysteine. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2005;18(5):367-73.
14. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;161(2 Pt 1):646-64.
15. Okutan O, Ayten Ö. Tanım ve Sınıflama In: Kartaloğlu Z, Okutan O, editörs. İdiyopatik Pulmoner Fibrozis Güncel Tanı ve Tedavi Rehberi. TÜSAD Eğitim kitapları serisi. İstanbul: G.M. Matbaacılık; 2013.p.2.
16. Flaherty KR, King TE, Jr., Raghu G, Lynch JP, 3rd, Colby TV, Travis WD, et al. Idiopathic interstitial pneumonia: what is the effect of a multidisciplinary approach to diagnosis? *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;170(8):904-10.
17. Hunninghake GW, Lynch DA, Galvin JR, Gross BH, Muller N, Schwartz DA, et al. Radiologic findings are strongly associated with a pathologic diagnosis of usual interstitial pneumonia. *Chest*. 2003;124(4):1215-23.
18. Schraufnagel DE, Blasi F, Kraft M, Gaga M, Finn P, Rabe KF. An official American Thoracic Society and European Respiratory Society policy statement: disparities in respiratory health. *The European respiratory journal*. 2013;42(4):906-15.
19. Xu YD, Hua J, Mui A, O'Connor R, Grotendorst G, Khalil N. Release of biologically active TGF-beta1 by alveolar epithelial cells results in pulmonary fibrosis. *American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology*. 2003;285(3):527-39.
20. Bjraker JA, Ryu JH, Edwin MK, Myers JL, Tazelaar HD, Schroeder DR, et al. Prognostic significance of histopathologic subsets in idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157(1):199-203.
21. Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;183(6):788-824.

22. Ley B, Collard HR, King TE, Jr. Clinical course and prediction of survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;183(4):431-40.
23. Smith M, Dalurzo M, Panse P, Parish J, Leslie K. Usual interstitial pneumonia-pattern fibrosis in surgical lung biopsies. Clinical, radiological and histopathological clues to aetiology. *Journal of clinical pathology*. 2013;66(10):896-903.
24. Nagai S, Kitaichi M, Itoh H, Nishimura K, Izumi T, Colby TV. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis: comparison with idiopathic pulmonary fibrosis and BOOP. *The European respiratory journal*. 1998;12(5):1010-9.
25. Selman M, Carrillo G, Estrada A, Mejia M, Becerril C, Cisneros J, et al. Accelerated variant of idiopathic pulmonary fibrosis: clinical behavior and gene expression pattern. *PloS one*. 2007;2(5):e482.
26. Collard HR, Moore BB, Flaherty KR, Brown KK, Kaner RJ, King TE, Jr., et al. Acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2007;176(7):636-43.
27. Silva CI, Muller NL, Fujimoto K, Kato S, Ichikado K, Taniguchi H, et al. Acute exacerbation of chronic interstitial pneumonia: high-resolution computed tomography and pathologic findings. *Journal of thoracic imaging*. 2007;22(3):221-9.
28. Musellim B, Okumus G, Uzaslan E, Akgun M, Cetinkaya E, Turan O, et al. Epidemiology and distribution of interstitial lung diseases in Turkey. *The clinical respiratory journal*. 2014;8(1):55-62.
29. Thomeer MJ, Costabe U, Rizzato G, Poletti V, Demedts M. Comparison of registries of interstitial lung diseases in three European countries. *The European respiratory journal Supplement*. 2001;32:114-8.
30. Nalysnyk L, Cid-Ruzafa J, Rotella P, Esser D. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: review of the literature. *European respiratory review : an official journal of the European Respiratory Society*. 2012;21(126):355-61.
31. Raghu G. Idiopathic pulmonary fibrosis: guidelines for diagnosis and clinical management have advanced from consensus-based in 2000 to evidence-based in 2011. *The European respiratory journal*. 2011;37(4):743-6.
32. Baumgartner KB, Samet JM, Stidley CA, Colby TV, Waldron JA. Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1997;155(1):242-8.

33. Uçar E, Akgün M. Etiyoloji ve Risk Faktörleri In: Kartaloğlu Z, Okutan O, editörs. İdiyopatik Pulmoner Fibrozis Güncel Tanı ve Tedavi Rehberi, . TÜSAD Eğitim kitapları serisi. İstanbul: G.M. Matbaacılık; 2013.p.11-17. 2013.
34. Miyake Y, Sasaki S, Yokoyama T, Chida K, Azuma A, Suda T, et al. Occupational and environmental factors and idiopathic pulmonary fibrosis in Japan. *The Annals of occupational hygiene*. 2005;49(3):259-65.
35. Taskar VS, Coultas DB. Is idiopathic pulmonary fibrosis an environmental disease? *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2006;3(4):293-8.
36. Egan JJ, Stewart JP, Hasleton PS, Arrand JR, Carroll KB, Woodcock AA. Epstein-Barr virus replication within pulmonary epithelial cells in cryptogenic fibrosing alveolitis. *Thorax*. 1995;50(12):1234-9. Epub 1995/12/01.
37. Idilman R, Cetinkaya H, Savas I, Aslan N, Sak SD, Bastemir M, et al. Bronchoalveolar lavage fluid analysis in individuals with chronic hepatitis C. *Journal of medical virology*. 2002;66(1):34-9. Epub 2001/12/19.
38. Tang YW, Johnson JE, Browning PJ, Cruz-Gervis RA, Davis A, Graham BS, et al. Herpesvirus DNA is consistently detected in lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Journal of clinical microbiology*. 2003;41(6):2633-40.
39. Folcik VA, Garofalo M, Coleman J, Donegan JJ, Rabbani E, Suster S, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis is strongly associated with productive infection by herpesvirus saimiri. *Mod Pathol*. 2013 Nov 15 [Epub ahead of print].
40. Patti MG, Tedesco P, Golden J, Hays S, Hoopes C, Meneghetti A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: how often is it really idiopathic? *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*. 2005;9(8):1053-6.
41. Raghu G, Freudenberger TD, Yang S, Curtis JR, Spada C, Hayes J, et al. High prevalence of abnormal acid gastro-oesophageal reflux in idiopathic pulmonary fibrosis. *The European respiratory journal*. 2006;27(1):136-42.
42. Hubbard R, Venn A, Smith C, Cooper M, Johnston I, Britton J. Exposure to commonly prescribed drugs and the etiology of cryptogenic fibrosing alveolitis: a case-control study. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1998;157(3 Pt 1):743-7.
43. Hodgson U, Pulkkinen V, Dixon M, Peyrard-Janvid M, Rehn M, Lahermo P, et al. ELMOD2 is a candidate gene for familial idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of human genetics*. 2006;79(1):149-54.

44. Taille C, Grootenboer-Mignot S, Boursier C, Michel L, Debray MP, Fagart J, et al. Identification of periplakin as a new target for autoreactivity in idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2011;183(6):759-66.
45. Maher TM, Wells AU, Laurent GJ. Idiopathic pulmonary fibrosis: multiple causes and multiple mechanisms? *The European respiratory journal*. 2007;30(5):835-9.
46. Meltzer EB, Noble PW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Orphanet journal of rare diseases*. 2008;3:8.
47. King TE, Jr., Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*. 2011;378(9807):1949-61.
48. Seibold MA, Wise AL, Speer MC, Steele MP, Brown KK, Loyd JE, et al. A common MUC5B promoter polymorphism and pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2011;364(16):1503-12.
49. Selman M, Pardo A. Update in diffuse parenchymal lung disease 2012. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2013;187(9):920-5.
50. Demedts M, Costabel U. ATS/ERS international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *The European respiratory journal*. 2002;19(5):794-6.
51. McKeown S, Richter AG, O'Kane C, McAuley DF, Thickett DR. MMP expression and abnormal lung permeability are important determinants of outcome in IPF. *The European respiratory journal*. 2009;33(1):77-84.
52. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Galli A, Bochaton-Piallat ML, Gabbiani G. The myofibroblast: one function, multiple origins. *The American journal of pathology*. 2007;170(6):1807-16.
53. Copley SJ, Wells AU, Hawtin KE, Gibson DJ, Hodson JM, Jacques AE, et al. Lung morphology in the elderly: comparative CT study of subjects over 75 years old versus those under 55 years old. *Radiology*. 2009;251(2):566-73.
54. Alder JK, Chen JJ, Lancaster L, Danoff S, Su SC, Cogan JD, et al. Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105(35):13051-6.
55. King TE, Jr., Tooze JA, Schwarz MI, Brown KR, Cherniack RM. Predicting survival in idiopathic pulmonary fibrosis: scoring system and survival model.

- American journal of respiratory and critical care medicine. 2001;164(7):1171-81.
56. Nishiyama O, Taniguchi H, Kondoh Y, Kimura T, Kato K, Kataoka K, et al. A simple assessment of dyspnoea as a prognostic indicator in idiopathic pulmonary fibrosis. *The European respiratory journal*. 2010;36(5):1067-72.
  57. Turner-Warwick M, Burrows B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis: response to corticosteroid treatment and its effect on survival. *Thorax*. 1980;35(8):593-9.
  58. du Bois RM, Wells AU. Cryptogenic fibrosing alveolitis/idiopathic pulmonary fibrosis. *The European respiratory journal Supplement*. 2001;32:43s-55s.
  59. Monaghan H, Wells AU, Colby TV, du Bois RM, Hansell DM, Nicholson AG. Prognostic implications of histologic patterns in multiple surgical lung biopsies from patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Chest*. 2004;125(2):522-6.
  60. Flaherty KR, Travis WD, Colby TV, Toews GB, Kazerooni EA, Gross BH, et al. Histopathologic variability in usual and nonspecific interstitial pneumonias. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2001;164(9):1722-7.
  61. Ohshimo S, Bonella F, Cui A, Beume M, Kohno N, Guzman J, et al. Significance of bronchoalveolar lavage for the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2009;179(11):1043-7.
  62. Gotway MB, Freemer MM, King TE, Jr. Challenges in pulmonary fibrosis. 1: Use of high resolution CT scanning of the lung for the evaluation of patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax*. 2007;62(6):546-53.
  63. Pickett MW, Keech FK, Owen MA, Stachowiak A, Fulk LA, Murphy KH, et al. Position paper on the development of a middle level provider in nuclear medicine: the nuclear medicine practitioner. *Journal of nuclear medicine technology*. 2006;34(4):236-43.
  64. Wells, AU, Hansell DM, Harison NK. Clearance of inhaled Tc99m-DTPA predicts the clinical course of fibrosing alveolitis. *Eur Respir J* 1999;6:797-802.
  65. Meissner HH, Soo Hoo GW, Khonsary SA, Mandelkern M, Brown CV, Santiago SM. Idiopathic pulmonary fibrosis: evaluation with positron emission tomography. *Respiration; international review of thoracic diseases*. 2006;73(2):197-202.



66. Groves AM, Win T, Screaton NJ, Berovic M, Endozo R, Booth H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis and diffuse parenchymal lung disease: implications from initial experience with 18F-FDG PET/CT. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine.* 2009;50(4):538-45.
67. Chetta A, Marangio E, Olivieri D. Pulmonary function testing in interstitial lung diseases. *Respiration.* 2004;71(3):209-13.
68. Lama VN, Martinez FJ. Resting and exercise physiology in interstitial lung diseases. *Clinics in chest medicine.* 2004;25(3):435-53.
69. Collard HR, King TE, Jr., Bartelson BB, Vourlekis JS, Schwarz MI, Brown KK. Changes in clinical and physiologic variables predict survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2003;168(5):538-42.
70. Jegal Y, Kim DS, Shim TS, Lim CM, Do Lee S, Koh Y, et al. Physiology is a stronger predictor of survival than pathology in fibrotic interstitial pneumonia. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2005;171(6):639-44.
71. Hanson D, Winterbauer RH, Kirtland SH, Wu R. Changes in pulmonary function test results after 1 year of therapy as predictors of survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest.* 1995;108(2):305-10.
72. Mogulkoc N, Brutsche MH, Bishop PW, Greaves SM, Horrocks AW, Egan JJ. Pulmonary function in idiopathic pulmonary fibrosis and referral for lung transplantation. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2001;164(1):103-8.
73. Vadas MA, David JR, Butterworth AE, Houba V, Sturrock RF, David L, et al. Functional studies on purified eosinophils and neutrophils from patients with *Schistosoma mansoni* infections. *Clinical and experimental immunology.* 1980;39(3):683-94.
74. Nicholson AG, Colby TV, du Bois RM, Hansell DM, Wells AU. The prognostic significance of the histologic pattern of interstitial pneumonia in patients presenting with the clinical entity of cryptogenic fibrosing alveolitis. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2000;162(6):2213-7.
75. Lynch JP, Wurfel M, Flaherty K, White E, Martinez F, Travis W, et al. Usual interstitial pneumonia. *Seminars in respiratory and critical care medicine.* 2001;22(4):357-86.
76. Maher TM. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathobiology of novel approaches to treatment. *Clinics in chest medicine.* 2012;33(1):69-83.

77. Richeldi L, Davies HR, Ferrara G, Franco F. Corticosteroids for idiopathic pulmonary fibrosis. The Cochrane database of systematic reviews. 2003(3):CD002880.
78. Rossi G, Tironi A, Dore R, Nannini N, Mengoli MC, Bertolani M, et al. Pulmonary eosinophilic infiltrates. *Pathologica*. 2010;102(6):537-46.
79. Hubbard R, Johnston I, Britton J. Survival in patients with cryptogenic fibrosing alveolitis: a population-based cohort study. *Chest*. 1998;113(2):396-400.
80. Raghu G, Depaso WJ, Cain K, Hammar SP, Wetzel CE, Dreis DF, et al. Azathioprine combined with prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *The American review of respiratory disease*. 1991;144(2):291-6.
81. Demedts M, Behr J, Buhl R, Costabel U, Dekhuijzen R, Jansen HM, et al. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2005;353(21):2229-42.
82. Raghu G, Anstrom KJ, King TE, Jr., Lasky JA, Martinez FJ. Prednisone, azathioprine, and N-acetylcysteine for pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2012;366(21):1968-77.
83. Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, Petkov V, Block LH. A preliminary study of long-term treatment with interferon gamma-1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 1999;341(17):1264-9.
84. Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, Starko K, Noble PW, Schwartz DA, et al. A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2004;350(2):125-33.
85. King TE, Jr., Albera C, Bradford WZ, Costabel U, Hormel P, Lancaster L, et al. Effect of interferon gamma-1b on survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (INSPIRE): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009;374(9685):222-8.
86. Uzun O. Medikal Tedavi m: Kartaloğlu Z, Okutan O, editörs. İdiyopatik Pulmoner Fibrozis Güncel Tanı ve Tedavi Rehberi, . TÜSAD Eğitim kitapları serisi. İstanbul: G.M. Matbaacılık; 2013.p.176-178.
87. Raghu G, Brown KK, Costabel U, Cottin V, du Bois RM, Lasky JA, et al. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with etanercept: an exploratory,

placebo-controlled trial. American journal of respiratory and critical care medicine. 2008;178(9):948-55.

88. Orens JB, Estenne M, Arcasoy S, Conte JV, Corris P, Egan JJ, et al. International guidelines for the selection of lung transplant candidates: 2006 update--a consensus report from the Pulmonary Scientific Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation. 2006;25(7):745-55.
89. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Keck BM, Hertz MI. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report--2005. The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation. 2005;24(8):956-67.
90. Grover FL, Barr ML, Edwards LB, Martinez FJ, Pierson RN, 3rd, Rosengard BR, et al. Thoracic transplantation. American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons. 2003;3 Suppl 4:91-102.
91. Flaherty KR, Toews GB, Travis WD, Colby TV, Kazerooni EA, Gross BH, et al. Clinical significance of histological classification of idiopathic interstitial pneumonia. The European respiratory journal. 2002;19(2):275-83.
92. Barlo NP, van Moorsel CH, van den Bosch JM, Grutters JC. Predicting prognosis in idiopathic pulmonary fibrosis. Sarcoidosis, vasculitis, and diffuse lung diseases : official journal of WASOG / World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders. 2010;27(2):85-95.
93. Kliment CR, Englert JM, Crum LP, Oury TD. A novel method for accurate collagen and biochemical assessment of pulmonary tissue utilizing one animal. International journal of clinical and experimental pathology. 2011;4(4):349-55.
94. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. Annals of internal medicine. 1987;107(4):526-45.
95. Torun M, Yardim S, Gonenc A, Sargin H, Menevse A, Simsek B. Serum beta-carotene, vitamin E, vitamin C and malondialdehyde levels in several types of cancer. Journal of clinical pharmacy and therapeutics. 1995;20(5):259-63.
96. Keane MP, Standiford TJ, Strieter RM. Chemokines are important cytokines in the pathogenesis of interstitial lung disease. The European respiratory journal. 1997;10(6):1199-202.

97. Szekanecz Z, Koch AE, Kunkel SL, Strieter RM. Cytokines in rheumatoid arthritis. Potential targets for pharmacological intervention. *Drugs & aging*. 1998;12(5):377-90.
98. Tanoue LT. Pulmonary manifestations of rheumatoid arthritis. *Clinics in chest medicine*. 1998;19(4):667-85.
99. Yagcı R, Özyurt H, Akbaş A, Aydın B, Özlük E, Ekşioğlu M, Totan Y. Total Antioxidant Capacity, Total Oxidant Status and Dehydroepiandrosterone Sulphate Levels in Behcet's Disease. 2007;15:263-266
100. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69(3):562-73
101. Pardo A, Selman M, Kaminski N. Approaching the degradome in idiopathic pulmonary fibrosis. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2008;40(6-7):1141-55.
102. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358, 1979.
103. Woessner JF Jr. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys*. 1961 May;93:440-7.
104. Shi K, Jiang J, Ma T, Xie J, Duan L, Chen R, et al. Pathogenesis pathways of idiopathic pulmonary fibrosis in bleomycin-induced lung injury model in mice. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2014;190:113-7.
105. Bao P, Gao W, Li S, Zhang L, Qu S, Wu C, et al. Effect of pretreatment with high-dose ulinastatin in preventing radiation-induced pulmonary injury in rats. *European journal of pharmacology*. 2009;603(1-3):114-9.
106. Erdoğan Y. İdiyopatik interstisyel pnömoniler In: Özlü T, Metintaş M, Karadağ M, Kaya A. editörs. *Solunum Sistemi ve Hastalıkları* 1 ed. İstanbul: istanbul medikal yayıncılık; 2011.p.1069.
107. Boyacı H, Maral H, Turan G, Basyigit I, Dillioglugil MO, Yildiz F, et al. Effects of erdosteine on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Molecular and cellular biochemistry*. 2006;281(1-2):129-37.
108. Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Lukacs N, Kunkel SL. TNF and IL-6 mediate MIP-1alpha expression in bleomycin-induced lung injury. *Journal of leukocyte biology*. 1998;64(4):528-36.
109. Zhang K, Gharaee-Kermani M, McGarry B, Phan SH. In situ hybridization analysis of rat lung alpha 1(I) and alpha 2(I) collagen gene expression in pulmonary fibrosis induced by endotracheal bleomycin injection. *Laboratory*

- investigation; a journal of technical methods and pathology. 1994;70(2):192-202.
110. Smith RE, Strieter RM, Zhang K, Phan SH, Standiford TJ, Lukacs NW, et al. A role for C-C chemokines in fibrotic lung disease. *Journal of leukocyte biology*. 1995;57(5):782-7.
  111. Keane MP, Belperio JA, Moore TA, Moore BB, Arenberg DA, Smith RE, et al. Neutralization of the CXC chemokine, macrophage inflammatory protein-2, attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Immunol*. 1999;162(9):5511-8.
  112. Yara S, Kawakami K, Kudeken N, Tohyama M, Teruya K, Chinen T, et al. FTS reduces bleomycin-induced cytokine and chemokine production and inhibits pulmonary fibrosis in mice. *Clinical and experimental immunology*. 2001;124(1):77-85.
  113. Hagiwara SI, Ishii Y, Kitamura S. Aerosolized administration of N-acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2000;162(1):225-31.
  114. Verma R, Kushwah L, Gohel D, Patel M, Marvania T, Balakrishnan S. Evaluating the Ameliorative Potential of Quercetin against the Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Wistar Rats. *Pulmonary medicine*. 2013;2013:921724.
  115. Oury TD, Thakker K, Menache M, Chang LY, Crapo JD, Day BJ. Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by a catalytic antioxidant metalloporphyrin. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2001;25(2):164-9.
  116. Ilhan A, Aladag MA, Kocer A, Boluk A, Gurel A, Armutcu F. Erdosteine ameliorates PTZ-induced oxidative stress in mice seizure model. *Brain research bulletin*. 2005;65(6):495-9.
  117. Sogut S, Ozyurt H, Armutcu F, Kart L, Iraz M, Akyol O, et al. Erdosteine prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *European journal of pharmacology*. 2004;494(2-3):213-20.
  118. Piguet PF. Is "tumor necrosis factor" the major effector of pulmonary fibrosis? *European cytokine network*. 1990;1(4):257-8.
  119. Zhang Y, Lee TC, Guillemin B, Yu MC, Rom WN. Enhanced IL-1 beta and tumor necrosis factor-alpha release and messenger RNA expression in macrophages from idiopathic pulmonary fibrosis or after asbestos exposure. *J Immunol*. 1993;150(9):4188-96.

120. Serrano-Mollar A, Closa D, Prats N, Blesa S, Martinez-Losa M, Cortijo J, et al. In vivo antioxidant treatment protects against bleomycin-induced lung damage in rats. *British journal of pharmacology*. 2003;138(6):1037-48.
121. Verma R, Brahmankar M, Kushwah L, Suresh B. Evaluating the inhibitory potential of sulindac against the bleomycin-induced pulmonary fibrosis in wistar rats. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2013;36(3):769-78.
122. Gao J, Huang Y, Li P, Xu D, Li J, Liu Y, et al. Antifibrosis effects of total glucosides of Danggui-Buxue-Tang in a rat model of bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Journal of ethnopharmacology*. 2011;136(1):21-6.
123. Willis BC, Liebler JM, Luby-Phelps K, Nicholson AG, Crandall ED, du Bois RM, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor-beta1: potential role in idiopathic pulmonary fibrosis. *The American journal of pathology*. 2005;166(5):1321-32.
124. Xaubet A, Marin-Arguedas A, Lario S, Ancochea J, Morell F, Ruiz-Manzano J, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms are associated with disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003;168(4):431-5.
125. Li S, Yang X, Li W, Li J, Su X, Chen L, et al. N-acetylcysteine downregulation of lysyl oxidase activity alleviating bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Respiration*. 2012;84(6):509-17.
126. Yao HW, Zhu JP, Zhao MH, Lu Y. Losartan attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Respiration*. 2006;73(2):236-42.
127. Işık A, Koca S: Behçet hastalığında total antioksidan cevap ve oksidatifstres. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006;20:415-421.
128. Erel O: A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 2004;37:277-285.
129. Kliment CR, Oury TD. Oxidative stress, extracellular matrix targets, and idiopathic pulmonary fibrosis. *Free radical biology & medicine*. 2010;49(5):707-17.
130. Gao Y, Lu J, Zhang Y, Chen Y, Gu Z, Jiang X. Baicalein attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats through inhibition of miR-21. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2013;26(6):649-54.
131. Kilic T, Parlakpınar H, Polat A, Taslidere E, Vardi N, Sarihan E, et al. Protective and Therapeutic Effect of Molsidomine on Bleomycin-Induced Lung Fibrosis in Rats. *Inflammation*. 2014.

132. Santangelo S, Scarlata S, Zito A, Chiurco D, Pedone C, Incalzi RA. Genetic background of idiopathic pulmonary fibrosis. Expert review of molecular diagnostics. 2013;13(4):389-406.
133. Pardo A, Selman M. Role of matrix metalloproteases in idiopathic pulmonary fibrosis. Fibrogenesis & tissue repair. 2012;5 Suppl 1:S9.
134. Van Lint P, Libert C. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. Journal of leukocyte biology. 2007;82(6):1375-81.
135. Checa M, Ruiz V, Montano M, Velazquez-Cruz R, Selman M, Pardo A. MMP-1 polymorphisms and the risk of idiopathic pulmonary fibrosis. Human genetics. 2008;124(5):465-72.
136. Henry MT, McMahon K, Mackarel AJ, Prikk K, Sorsa T, Maisi P, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in sarcoidosis and IPF. The European respiratory journal. 2002;20(5):1220-7.
137. Zuo F, Kaminski N, Eugui E, Allard J, Yakhini Z, Ben-Dor A, et al. Gene expression analysis reveals matrilysin as a key regulator of pulmonary fibrosis in mice and humans. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002;99(9):6292-7.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

19.10.1984 tarihinde Kars ilinde doğdum. İlkokulu Arif Nihat Asya ilkokulu'nda, ortaokulu Meryem Abdurrahim Gizer ilköğretim okulu'nda, liseyi ÇEAŞ Seyhan Anadolu Lisesi'nde Adana ilinde okudum. 2003 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 2009 yılında mezun oldum. Diyarbakır Kulp ilçe hastanesinde acil hekimi olarak göreve başladım. 2009 Eylül TUS sınavını kazanarak 12.01.2010'da Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.