

T. C.
Süleyman Demirel Üniversitesi
Tıp Fakültesi

**SIÇANLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER
FİBROZİSİ MODELİNDE NİGELLA SATİVA YAĞININ
İNFLAMASYON, FİBROZİS VE ANTİOKSİDAN ENZİMLER
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Şule KAYA

**UZMANLIK TEZİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Münire ÇAKIR**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 2092-TU-10
proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA-2011

ÖNSÖZ

Ve bazıları ışığın, bazıları da gölgenin peşine düştü...

T.S. Eliot

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalına adım attığım 24 Ekim 2005 tarihinden itibaren ihtisas sürem boyunca, başta Prof. Dr. Ahmet Akkaya olmak üzere, tez hazırlığı, yazım ve düzeltme aşamalarında yardımını hiçbir zaman esirgememiş olan, hatta bu nedenle birçok defalar uykusuz kalan, kendisinden asistanlığım boyunca çok şey öğrendiğim çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Münire Çakır'a; ilk makalemi yazdırması nedeniyle benim için ayrı bir yere sahip olan, daima sabırla ve güleryüzüyle her türlü sorumuza cevap veren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Necla Songür'e; bize hem iyi bir ağabey hem de iyi bir hoca olabilen, sorduğumuz her soruya dair tüm ön tanımlarını ve yapmamız gereken tahlil ve tetkikleri 1 dakikaya sığdırabilen, isminin önünde olan ve ilerde olabilecek ünvanları fazlasıyla hak eden sevgili ağabeyim ve hocam Doç. Dr. H. Ahmet Bircan'a; geldiğim günden itibaren bir ağabey sıcaklığında her türlü problemimize yetişen, bize sürekli cesaret veren ve her durumda asistanının arkasında duran değerli ağabeyim ve hocam Yrd. Doç. Dr. Önder Öztürk'e; güleryüzlü hocam Yrd. Doç. Dr. Rezan Demiralay'a; zamanımın çoğunu birlikte geçirdiğim ve bundan zevk duyduğum değerli asistan arkadaşlarım Dr. Duygu Zorlu Karayığit ve Dr. İlkey Yılmazer'e; ihtisasa başladığım andan itibaren kendisi uzman oluncaya kadar bir defa dahi terslenmeden, gece gündüz hasta danıştığım, öğrendiğim birçok şeyde payı olan değerli arkadaşım Uzm. Dr. Özkan Kılıç'a; kâh beraber üzülüp kâh beraber sevindiğimiz, birlikte güzel zamanlar geçirdiğim arkadaşlarım Uzm. Dr. Nuriye Karadeniz Sarıoğlan ve Uzm. Dr. Zeynep Çınar'a; son dönemde serviste bulunduğum sürece birlikte çok güzel vakit geçirdiğim, bana bir aile ortamı sıcaklığını yaşatan değerli arkadaşlarım Dr. Fatmanur Kayan ve Dr. Oğuz Çelik'e; başkalarını her zaman kendi nefesine tercih eden fedâkar ve iyi kalpli kardeşim Dr. Gülcan Koparan'a; asistan arkadaşım Dr. Seher Karakuş'a; asistanlıklarının başından itibaren iyi niyetli yaklaşımlarını koruyan ve beyefendiliklerini hiç kaybetmeyen kıymetli arkadaşlarım Dr. Taner Gonca ve Dr. Mehmet Has'a; uyku teknisyenimiz sevgili Gülşah Kılınc'a; servis hemşirelerimize, kat ve poliklinik sekreterlerimize,

linik personellerimize, tez çalışmamı birlikte yaptığımız; Patoloji Anabilim Dalından Doç. Dr. Sema Bircan'a, Biyokimya Anabilim Dalından Yrd. Doç. Dr. Duygu Kumbul Doğuç'a, Biyofizik Anabilim Dalından Prof. Dr. Mustafa Nazıroğlu'na, istatistiksel analizlerin yapılması aşamasında emeği geçen Doç. Dr. Handan Ankaralı'ya; kendisini tanıdığım andan itibaren beni bir an olsun hayal kırıklığına uğratmayan, tez dönemim dahil ihtiyacım olduğu her an yanımda olan çok değerli kardeşim Dr. Selçuk Yaşar ve eşi Emine Yaşar'a ve son olarak, yalnızca asistanlığım süresinde değil hayata gözümü açtığım ilk andan itibaren sevgisini, desteğini ve güvenini her zaman yanımda hissettiğim, başarabildiğim her türlü işte emeği herkesten fazla olan sevgili anne ve babama, uzakta da olsalar ilgi ve desteklerini eksik etmeyen sevgili ağabeyim Mücteba Kaya ve eşi Derya Kaya'ya teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Ve yalnızca bir teşekkürle bunca güzelliğin hakkını veremem, bilirim...

Şule KAYA
12 Ocak 2011, Isparta

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Akciğerlerin Yapısı	2
2.1.1. Havayolları	2
2.1.2. Akciğer Parenkimi	2
2.2. İnterstisyel Akciğer Hastalıkları.....	4
2.2.1. İAH'nin Tarihçesi	4
2.2.2. İAH'nin Klinik Sınıflandırması	5
2.2.3. İdiyopatik İnterstisyel Pnömoniler	7
2.3. İdiyopatik Pulmoner Fibrozis	10
2.3.1. Epidemiyoloji	11
2.3.2. İPF Gelişiminde Potansiyel Risk Faktörleri	12
2.3.3. Ailesel İPF	12
2.3.4. İPF'nin Patogenezi.....	13
2.3.4.1. İPF Patogenezinin Tarihçesi	15
2.3.5. İPF'nin Tanısı	16
2.3.5.1. Öykü ve Fizik Muayene	16
2.3.5.2. Laboratuvar ve Serolojik Testler.....	17
2.3.5.3. İPF'nin Radyolojik Bulguları.....	18
2.3.5.4. Solunum Fonksiyon Testleri	19
2.3.5.5. Bronkoalveoler Lavaj.....	19
2.3.5.6. Akciğer Biyopsisi.....	20
2.3.6. İPF ile İlişkili Durumlar.....	21
2.3.6.1. Pulmoner Hipertansiyon ve İPF	21
2.3.6.2. Uyku Bozuklukları ve İPF	21

2.3.6.3. Akciğer Kanseri ve İPF	21
2.3.7. İPF'nin Tedavisi	22
2.3.7.1. Geleneksel Tedavi Seçenekleri	23
2.3.7.2. İPF Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar	28
2.3.7.3. İPF Tedavisinde Etkinliği Araştırılan Diğer Ajanlar	31
2.3.7.4. Farmakolojik Olmayan Tedaviler	33
2.4. <i>Nigella Sativa</i> (Çörek Otu).....	33
2.4.1. <i>N. sativa</i> 'nın Antioksidan Özellikleri	35
2.4.2. <i>N. sativa</i> 'nın Antihistaminik Özellikleri.....	37
2.4.3. <i>N. sativa</i> 'nın Antiinflamatuvar Özellikleri	38
2.4.4. Akciğer Hastalıklarında <i>N. sativa</i>	38
2.4.4.1. <i>N. sativa</i> ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Modeli	39
2.4.4.2. <i>N. sativa</i> ve Pulmoner Aspirasyon Modeli	39
2.4.4.3. <i>N. sativa</i> ve Alerjik Havayolu İnflamasyonu.....	39
2.5. İPF'de Bleomisin Modeli	39
2.5.1. Bleomisin Veriliş Yolu	41
2.5.2. Bleomisin Dozu	41
2.5.3. Bleomisin ve Akciğerde Oluşturduğu Histopatolojik Değişiklikler.....	41
2.6. Oksidan-Antioksidan Sistemi.....	42
2.6.1. Serbest Oksijen Radikalleri	42
2.6.2. Antioksidanlar.....	44
3. MATERYAL ve METOD	46
3.1. İPF Modeli Oluşturulması	46
3.2. Çalışma Grupları	46
3.2.1. Ön Çalışma	46
3.2.2. Ana Çalışma.....	47
3.3. Histopatolojik Değerlendirme	48
3.4. Biyokimyasal Analizler	49
3.5. Akciğer Dokusunda Antioksidan Enzim Düzeylerinin Tayini.....	50
3.5.1. Akciğer Dokusunda Lipit Peroksidasyon (MDA) Tayini.....	50
3.5.2. Akciğer ve BAL'da GSH ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	50

3.6. İstatistiksel Değerlendirme.....	51
4. BULGULAR	52
4.1. Ön Çalışma Sonuçları.....	52
4.2. Ana Çalışma Sonuçları	52
4.2.1. <i>N. sativa</i> 'nın İnflamasyon ve Fibrozis Üzerine Etkisi.....	52
4.2.2. <i>N. sativa</i> 'nın Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi	54
4.2.2.1. Akciğer dokusunda Antioksidan Enzim Aktiviteleri	54
4.2.2.2. BAL Sıvısında Antioksidan Enzim Aktiviteleri	55
4.2.3. Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında MDA Seviyeleri.....	56
4.2.4. <i>N. sativa</i> 'nın Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi.....	57
4.2.4.1. Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında Ölçülen Biyokimyasal Parametreler	57
4.2.5. Akciğer Dokusunda Ölçülen Parametrelerin Korelasyon Analizleri.....	57
4.2.6. Akciğer Dokusunda Ölçülen Parametrelerle İnflamasyon ve Fibrozis Arasındaki Korelasyonlar	58
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	60
ÖZET.....	69
SUMMARY	70
KAYNAKLAR	71

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACEİ	: Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörü
AİP	: Akut interstisyel pnömoni
ALP	: Alkalem fosfataz
ALT	: Alanin amino transferaz
ARDS	: Akut solunum sıkıntısı sendromu
BAL	: Bronkoalveoler lavaj
BM	: Bazal membran
BOOP	: Bronşiyolitisi obliterans organize pnömoni.
CCl₄	: Karbon tetraklorid
CO₂	: Karbondioksit
DAE	: Deneysel alerjik ensefalomyelit
DAH	: Difüz alveoler hasar
DİP	: Deskuamatif interstisyel pnömoni
DL_{CO}	: Karbon monoksit için akciğerin difüzyon kapasitesi
DPAH	: Difüz parenkimal akciğer hastalığı
ECM	: Ekstraselüler matriks
ECSOD	: Ekstraselüler süperoksit dismutaz
ET-1	: Endotelin-1
FEV₁/FVC	: Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümünün zorlu vital kapasiteye oranı
FiO₂	: Solunan havadaki oksijen yüzdesi
FVC	: Zorlu vital kapasitesi
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSSG	: Okside glutatyon
HE	: Hematoksilen-eozin
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
HX	: Pulmoner Langerhans hücreli histiyositoz-X
IFN-γ	: İnterferon-γ
IL	: İnterlökin
i.p	: İnteraperitoneal
İAH	: İnterstisyel akciğer hastalığı

İİP	: İdiyopatik interstisyel pnömoni
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İPF	: İdiyopatik pulmoner fibrozis
İPF-AA	: İdiyopatik pulmoner fibrozisin akut alevlenmesi
KFA	: Kriptojenik fibrozan alveolit
KOP	: Kriptojenik organize pnömoni
KS	: Kortikosteroid
LAM	: Lenfanjiyoleyomyomatoz
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LİP	: Lenfoid interstisyel pnömoni
LT	: Lökotrien
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MDA	: Malondialdehit
N. sativa	: Nigella sativa
NAC	: N-asetilsistein
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	: İndirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: Nitrik oksit
NSİP	: Nonspesifik interstisyel pnömoni
OH⁻	: Hidroksil radikali
OİP	: Olağan interstisyel pnömoni
OP	: Organize pnömoni
O₂	: Oksijen
PaO₂	: Arteryel oksijen basıncı
PCP	: Pneumocystis carinii pnömonisi
PHT	: Pulmoner hipertansiyon
RB-İAH	: Respiratuvar bronşiyolit-interstisyel akciğer hastalığı
REM	: Hızlı göz hareketleri
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikalleri
TBB	: Transbronşiyal akciğer biyopsisi
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü-β

TNF-α	: Tumor nekroz faktör- α
TQ	: Thymoquinone
u-PA	: Plazminojen aktivatörü
VATS	: Video yardımcı torakoskopik cerrahi
YÇBT	: Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. İdiyopatik interstisyel pnömonilerin histolojik ve klinik sınıflaması	8
Tablo 2. İİP'lerin radyolojik özellikleri ve ayırıcı tanıları.....	9
Tablo 3. İİP'nin klinik tanısı için kriterler.	11
Tablo 4. İİP'nin farmakolojik tedavisi ile ilgili kontrollü klinik çalışmalar.	24
Tablo 5. Serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları.	43
Tablo 6. Ashcroft tarafından tanımlanan akciğer fibrozis şiddeti skalası.....	49
Tablo 7. Grupların inflamasyon ve fibrozis skoru açısından karşılaştırılması.	53
Tablo 8. Tüm gruplarda akciğer dokusunda ölçülen antioksidan enzim aktiviteleri. 55	
Tablo 9. Tüm gruplarda BAL sıvısında antioksidan enzim aktiviteleri.....	56
Tablo 10. Tüm gruplarda akciğer dokusu ve BAL sıvısındaki MDA düzeyleri.....	56
Tablo 11. Akciğer dokusunda bakılan parametrelerin korelasyon analizleri.....	58
Tablo 12. Akciğer dokusunda bakılan parametreler ile inflamasyon derecesi ve fibrozis skoru arasındaki korelasyonlar.	59
Tablo 13. <i>N. sativa</i> yağının farklı çalışmalardaki veriliş dozları/yolları.....	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İAH (DPAH)'lerin sınıflandırması.....	6
Şekil 2. İdiyopatik interstisyel pnömonilerin sınıflandırılmasının tarihi geçmişi.....	7
Şekil 3. Enzimatik antioksidanlar ve etki mekanizmaları.....	45
Şekil 4. Kontrol (A), bleomisin (B), <i>N. sativa</i> ile kısa süreli (C) ve uzun süreli (D) tedavi gruplarının akciğer dokularının histolojik değerlendirmesi.....	54

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İdiyopatik pulmoner fibrozis (İPF), interstisyel akciğer hastalıkları içerisinde en sık görülenlerden birisidir. Etyolojisi bilinmeyen İPF, kronik ve ilerleyici bir hastalık olup tanı konduktan sonraki sağkalım süresi 2 ilâ 4 yıl (ortalama 3 yıl) kadardır. Beş yıllık sağkalım ise %20-40 civarındadır. İPF tedavisi, inflamasyonun hasara ve fibroze neden olduğu görüşüne dayanmaktadır. Günümüze kadar, inflamasyonu baskılamaya ya da ortadan kaldırmaya yönelik birçok tedavi stratejileri geliştirilmiş ancak inflamatuvar süreci baskılayacak ya da tersine çevirecek farmakolojik bir tedavi bulunamamıştır (1).

Son yıllarda, doğal ürünlere olan ilginin giderek artması ve geleneksel ilaçların yan etkileri üzerindeki endişe, çeşitli hastalıkların tedavisinde ve iyileştirilmesinde bitkilerin alternatif olarak kullanılmasını gündeme getirmiştir (2). *Nigella sativa* (*N. sativa*), Ranunculaceae ailesine ait bir bitkidir, çok eski zamanlardan beri farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan farmakolojik çalışmalar, bu bitkinin birçok alanda faydalı olduğunu göstermiştir (3). Çalışmaların sonucunda *N. sativa*'nın antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik, antihistaminik, antinosiseptif, hepatoprotektif, gastroprotektif, ürikozürük, koleretik, antidiyabetik, antilipidemik, diüretik ve antihipertansif, bronkodilatör ve kalsiyuma antagonistik, antikanseröz, antihelmintik, antifungal ve antimikrobiyal etkileri gösterilmiştir (4-11).

Hayvan modelleri, hastalıkları araştırmada önemli bir rol oynamaktadır. Yıllar içinde, değişik pulmoner fibrozis modelleri oluşturulmuş, bu modeller içerisinde bleomisin uygulaması standart model olarak kabul görmüştür (12).

İPF tedavisinde geleneksel olarak kortikosteroidler ve immünsupresif ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak, verilen bu tedaviler ile de hastalıkta önemli bir sağkalım avantajı sağlanamamaktadır. Bu nedenle hastalığın tedavisinde, antiinflamatuvar ve antifibrotik özelliği önceki çalışmalarda gösterilmiş olan *N. sativa*'nın etkinliğini değerlendirmek üzere bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akciğerlerin Yapısı

Solunumun esas amacı alveoler ve arteryel kan gazı homeostazının sağlanması ve sürdürülmesi ile organizmanın oksijen (O₂) ihtiyacının karşılanması ve metabolik yan ürünlerle karbondioksitin (CO₂) atılmasıdır. Bu amaca ventilasyon (alveolden gaz değişimini içerir), difüzyon (alveolokapiller membrandan O₂ ve CO₂ geçişini içerir) ve perfüzyon (akciğer içinde, alveolden ve alveole kan transportunu içerir) birlikteliği ile erişilir.

2.1.1. Havayolları

Akciğerlerin hava içeren bölümleri, her biri birbirinden ayrı ancak yapısal ve fonksiyonel özellikleri açısından örtüşen 3 bölüme ayrılabilir. *İletici havayolları*; trakea, bronşlar ve membranöz (alveolize olmayan) bronşiyolları içerir. Hava, bu havayollarının duvarından difüze olamayacağı için bu bölümün asıl görevi havanın alveoler yüzeylere iletimidir. Bu yapılar, pulmoner ve bronşiyal arterler ve venler, lenfatik damarlar, sinirler, peribronşiyal yumuşak doku, perivasküler alan ve interlobüler septalarla birlikte akciğerin parenkim dışı bölümünü oluşturur.

Tranzisyonel havayolları; her biri havanın en periferik alveollere kadar iletimini sağlayan respiratuvar bronşiyoller ve alveoler kanallardan oluşur. Tranzisyonel havayollarından değişen sayıda alveol çıkar; yani tranzisyonel zonun ek olarak gaz değişimi görevi de vardır.

Solunum zonu; başlıca görevi hava ve kan arasında gaz değişimi olan alveol keselerini ve alveollerin kendilerini içerir (13).

2.1.2. Akciğer Parenkimi

Akciğer interstisyumu, pulmoner vasküler yapıları ve hava yollarını destekleyen bağ dokusu çatısıdır. İnterstisyum, alveoler örtücü epitel bazal membranı ve kapiller endotel bazal membranı ile sınırlıdır. Kollajen, proteoglikanlar, glikoproteinler, fibronektin ve laminin gibi bağ doku elemanları ve matriks

bileşenleri ile mezenkimal hücreler ve interstisyel makrofajlar, lenfositler gibi inflamatuvar hücreler, interstisyumunun bileşenleridir (14).

İnterstisyumun;

- a. Alveoler duvar hücreleri için yapısal destek sağlama,
- b. Endotelial ve epitelyal yüzeyler arasında sıvı ve solüt geçişini ayarlayan bariyer olma,
- c. Mekanik bariyer olma ve bünyesinde bulunan inflamatuvar hücrelerle alt solunum sisteminin korunmasına katkı sağlama gibi görevleri vardır.

Pulmoner interstisyum 3 parçaya ayrılabilir:

1. Periferik bağ doku: Plevra ve interlobüler septumları kapsar. İnterlobüler septumlar; segmentler, subsegmentler, lobüller ve asinüsler arasında inkomplet bölmeler oluşturan, akciğerin derinlerine uzanan fibröz yapılardır. Periferik bağ dokunun tutulumu radyolojik olarak genellikle Kerley çizgileri veya subplevral ödem şeklinde görüntü verir.
2. Aksiyel bağ doku: Bronkovasküler yapıların çevresindeki bağ doku tabakasıdır. Bu tabaka hilustan köken alan lifler sistemidir ve bu lifler perifere doğru uzanır. Bu kompartmanı etkileyen hastalıkların radyolojik özellikleri bronkovasküler dallanma artışı ve peribronşiyal kalınlaşmadır.
3. Alveoler duvar: Parenkimatöz bağ dokudur. En uç periferik bölgede, alveol ve kapillerler, gaz difüzyonunun gerçekleştiği çok ince bir membranla ayrılmıştır. Alveol duvarı, alveoler gazı kapillerlerden ayıran bağ dokudur. Duvar, proteoglikanlar, elastik lifler ve kollajen liflerden oluşmuştur. Bu lifler kapillerlerin yalnızca bir tarafında bulunur. Kapiller bazal membran bir tarafta gaz difüzyonunun gerçekleştiği ince bir tabaka oluşturacak şekilde alveoler bazal membranla füzyon yapar. Duvar yüzeyindeki hasarlar alveolit olarak adlandırılır. Alveol interstisyumu enfeksiyöz, neoplastik ya da ne enfeksiyöz ne de neoplastik olmayan kronik hastalıklarla tutulabilir (14).

2.2. İnterstisyel Akciğer Hastalıkları

İnterstisyel akciğer hastalıkları (İAH), pulmoner interstisyumun inflamasyonu ve/veya fibrozisi ile karakterize, benzer klinik, radyolojik, fizyolojik ve patolojik özellikler gösteren heterojen bir grup hastalıktır (14-18). Şimdiye kadar farklı derecelerde pulmoner fibrozisle seyreden akut ve kronik birçok akciğer hastalığı tanımlanmış ve bu hastalıklar çoğunlukla interstisyel akciğer hastalığı olarak anılagelmiştir. Difüz parenkimal akciğer hastalığı (DPAH) terimi, bu heterojen hastalık grubu için muhtemelen daha uygun bir tanımlamadır, çünkü interstisyum terimi aslında, epitelyal ve endotelyal bazal membranlarla sınırlanmış mikroskopik anatomik boşluğa karşılık gelmektedir. Bu interstisyel boşluk içerisinde fibroblast benzeri hücreler (mezenkimal ve bağ dokusu hücreleri) ve ekstraselüler matriks bileşenleri (interstisyel kollajenler, elastin, proteoglikanlar) mevcuttur. Bu grup hastalığın yalnızca interstisyumla sınırlı kalmadığı; beraberinde epitelyal, endotelyal ve mezenkimal hücreler, makrofajlar, toplanan inflamatuvar hücreler, salgılanan proteinler ve matriks bileşenlerinin alveol içine dolmasına yol açtığı açıktır. Hastalık; alveoler boşluk, asinüs, bronşiyoler lümen ve bronşiyollerin içine yayılmaktadır. Başlangıçtaki konakçı yanıtı, alveoler duvarların, hava boşluğunun ve terminal bronşiyollerin inflamasyonu olup bu, bazı hastalarda geri dönüşsüz akciğer fibrozisine neden olur. Sonuç olarak İAH'de akciğer parenkiminin tümü etkilenir. Bu yanlış adlandırmaya rağmen, bu hastalıkların kapsamı anlaşıldığı sürece ve yaygın olarak kullanılmasından ötürü İAH terimini kullanmaya devam etmek daha uygun görünmektedir (19).

2.2.1. İAH'nin Tarihçesi

Hastalık ilk kez 1944'de Dr. Louis Hamman ve Dr. Arnold Rich tarafından tanımlanmıştır. Hamman ve Rich, diğer açılardan sağlıklı olan ve başvurusundan sonraki 1 ilâ 3 ay içerisinde hızlı seyirli bir akciğer hastalığı sonucunda solunum yetmezliği ile kaybedilen 4 vaka bildirmiştir. Yapılan otopside hastaların akciğerlerinde ileri derecede bal peteği görünümü ve fibrozis geliştiği görülmüş olup bu durum Hamman ve Rich tarafından "akut difüz interstisyel fibrozis" olarak adlandırılmıştır (17, 20, 21). Altmışlı yılların başında Scadding, bu hastalıkta hem interstisyel hem intraalveoler değişikliklerin olduğunu ifade ederek "difüz fibrozan

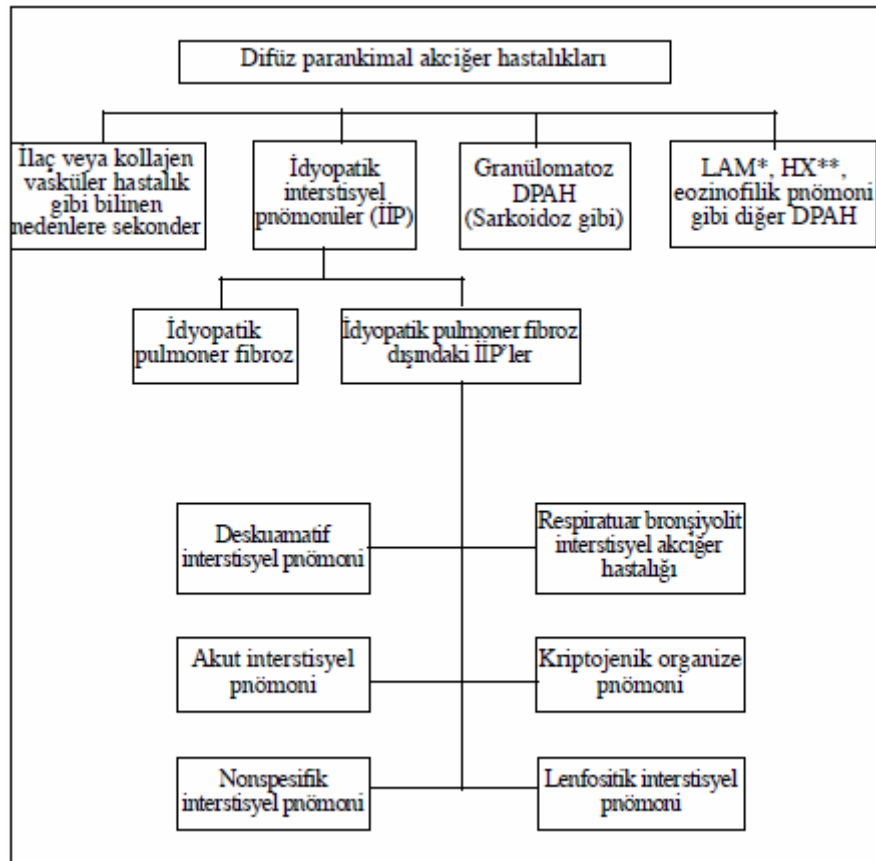
alveolit” kavramını ortaya atmıştır (17). Pulmoner fibrozisi, etyolojisi bilinen ve sebebi bilinmeyip histopatolojik olarak tanımlanan durumlar olmak üzere ikiye ayıran Scadding, ikinci grubu kendi içinde sistemik bir hastalığın parçası (sarkoidozda olduğu gibi) veya yalnızca akciğere sınırlı hastalık olarak tekrar ikiye ayırmıştır. Akciğere sınırlı hastalığı fibrozan alveolit olarak tanımlayan Scadding, şayet etken bilinmiyorsa, bu tanımın başına “kriptojenik” teriminin eklenebileceği önerisinde bulunmuştur (17, 21).

Akciğerden biyopsi almanın giderek kolaylaşması ve yaygınlaşmasıyla birlikte bir pulmoner patolog olan Liebow, 1969’da, infeksiyon veya malignitelerle ilişkisi olmayan difüz interstisyel pnömonileri, ışık mikroskopisi altında görülen spesifik histolojik kriterlere dayanarak 5 gruba ayırmıştır: “Olağan” interstisyel pnömoni, bronşiyolit interstisyel pnömoni, deskuamatif interstisyel pnömoni, lenfoid interstisyel pnömoni ve büyük hücreli interstisyel pnömoni. Histopatolojik görünümde en sık görülmesi ve böylelikle olağan bir görünüm olması nedeniyle “olağan” terimini kullanan Liebow, hastalığa sebep olan etken bilinmediğinden tüm bu hastalıkları “idiyopatik” olarak tanımlamıştır. Katzenstein, 1980’li yıllarda elektron mikroskopisiyle yaptığı araştırmalar neticesinde idiyopatik interstisyel pnömonileri (İİP) 4 gruba ayırmıştır: olağan interstisyel pnömoni, deskuamatif interstisyel pnömoni/respiratuar bronşiyolit ile ilişkili interstisyel akciğer hastalığı, nonspesifik interstisyel pnömoni ve akut interstisyel pnömoni. Lenfoid interstisyel pnömoninin bir lenfoproliferatif bozukluk ve büyük hücreli interstisyel pnömoninin bir ağır metal pnömokonyozu olduğunun anlaşılması nedeniyle bu hastalıklar sınıflandırmadan çıkarılmıştır. Daha önce Hamman-Rich Sendromu olarak bilinen hastalığın akut interstisyel pnömoni olduğu yine bu sınıflandırmada belirtilmiştir (15, 17, 20, 21). İAH’lerin bir alt grubu olan İİP’lerin tanısında klinik, radyolojik ve patolojik yaklaşımın birlikteliğinin önemini vurgulamak amacıyla Amerikan Toraks Derneği ve Avrupa Solunum Derneği 2001 yılında Katzenstein’in sınıflandırmasını yeniden düzenlemiştir (15).

2.2.2. İAH’nin Klinik Sınıflandırması

Klinisyen için İAH, içinden çıkılması zor bir durumdur. İlk olarak, klinisyen İAH’nin sık nedenlerine ilişkin spesifik bilgiler toplamalıdır. Klinisyen, aynı

zamanda İAH ile ilişkili olan en az 150 klinik durumdan haberdar olmalıdır. İkincisi, çok sayıda ayırıcı tanının ve sürekli gelişen invazif ve invazif olmayan çeşitli tanısal tekniklerin var olması nedeniyle spesifik tanıyı koymak için kullanılacak en doğru yaklaşımı belirlemek sıklıkla zordur. Üçüncüsü, en invazif tanısal yöntemler kullanılsa bile hastaların büyük bir kısmında kesin neden tespit edilememektedir. Akciğer biyopsisi sıklıkla nonspesifik inflamasyon ve muhtemelen çeşitli pulmoner inflamatuvar cevapların kronik progresyonuyla açıklanabilen son dönem fibrozisi gösterir. Sonuçta, spesifik bir tanı konulduğu zaman dahi, bu hastalıkların spesifik bir nedeni ve küratif tedavisi henüz belirlenmemiş olduğundan, İAH'li bir çok hasta için etkili bir tedavi rejimi bulunmamaktadır. Şekil 1'de İAH'lerin sınıflandırması görülmektedir.



Şekil 1. İAH (DPAH)'lerin sınıflandırması (22).

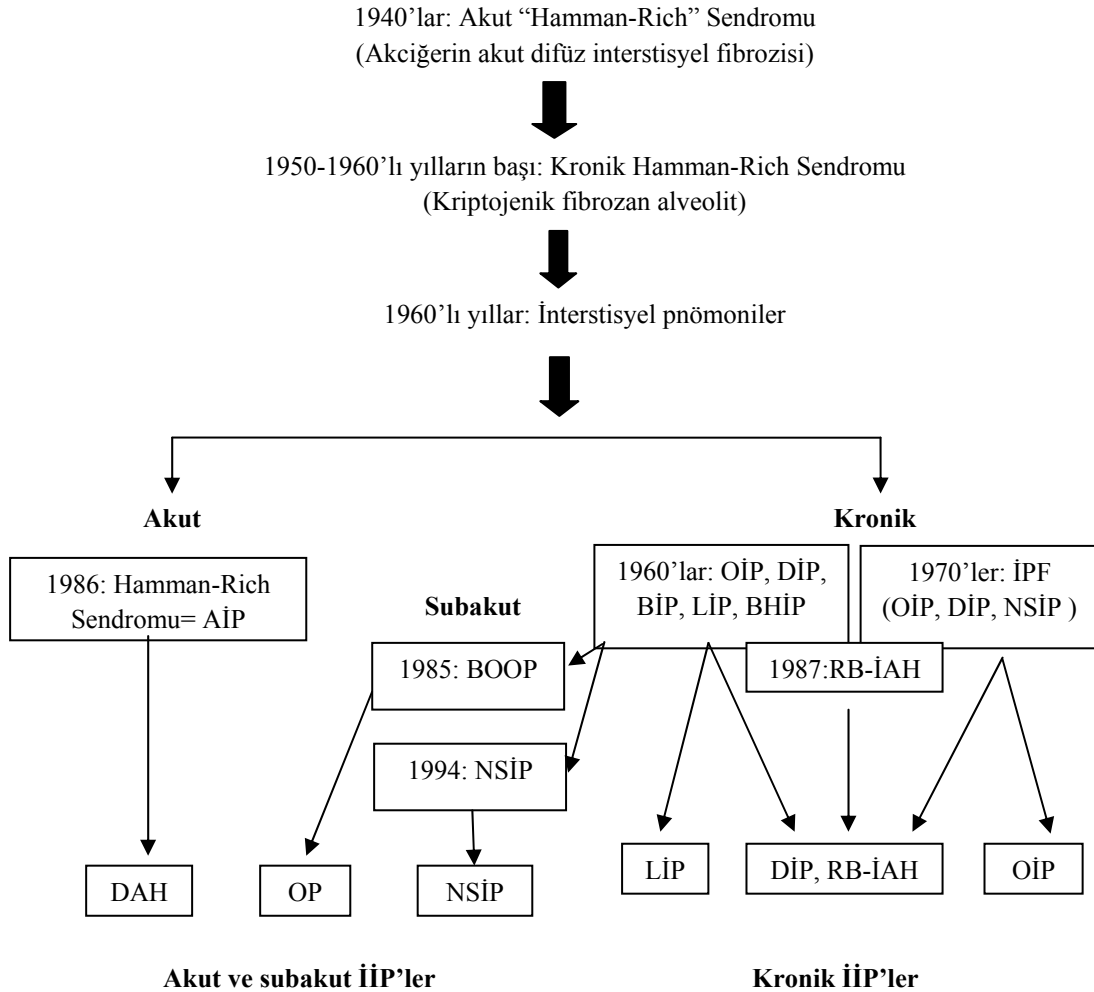
İİP: İdiyopatik interstisyel pnömoni, DPAH: Difüz parankimal akciğer hastalığı

*LAM: Lenfanjiyoleomyomatoz

**HX: Pulmoner Langerhans hücreli histiyositoz-X

2.2.3. İdiyopatik İnterstisyel Pnömoniler

İİP'ler İAH'nin bir alt grubudur. İİP'ler, çeşitli paternlerdeki inflamasyon ve fibrozis sonucu akciğer parenkiminin hasarlanması ile neticelenen heterojen bir hastalık grubudur. Hastalığın tarihsel seyri Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2. İdiyopatik interstisyel pnömonilerin sınıflandırılmasının tarihi geçmişi (17).

AİP = akut interstisyel pnömoni; DAH = difüz alveoler hasar; DİP = deskuamatif interstisyel pnömoni; İPF = idiyopatik pulmoner fibrozis; LİP = lenfoid interstisyel pnömoni; NSİP = nonspesifik interstisyel pnömoni; PCP = *Pneumocystis carinii* pnömonisi; RB-İAH = respiratuvar bronşiyolit-interstisyel akciğer hastalığı; OİP = olağan interstisyel pnömoni; OP = organize pnömoni; BOOP = bronşiyolit-obliterans organize pnömoni.

Son olarak, Amerikan Toraks Derneği ve Avrupa Solunum Derneği'nin 2001 yılında yaptığı sınıflandırma Tablo 1'de görülmektedir. Bu sınıflama, İİP'lerin klinik özelliklerinin yanı sıra histolojik ve radyolojik özellikleri de göz önüne alınarak yapılmıştır. Sınıflamada İİP'ler 7 ayrı alt kategoride toplanmıştır. Tablo 2'de İİP'lerin radyolojik özellikleri ve ayırıcı tanıları yer almaktadır.

Tablo 1. İdiyopatik interstisyel pnömonilerin histolojik ve klinik sınıflaması (15).

Histolojik Patern	Klinik-Radyolojik-Patolojik Tanı
Olağan interstisyel pnömoni	İdiyopatik pulmoner fibrozis/kriptojenik fibrozan alveolit
Nonspesifik interstisyel pnömoni	Nonspesifik interstisyel pnömoni (geçici tanı) ^b
Organize pnömoni	Kriptojenik organize pnömoni ^c
Difüz alveoler hasar	Akut interstisyel pnömoni
Respiratuar bronşiyolit	Respiratuar bronşiyolit interstisyel akciğer hastalığı
Deskuamatif interstisyel pnömoni	Deskuamatif interstisyel pnömoni
Lenfoid interstisyel pnömoni	Lenfoid interstisyel pnömoni

^a *Sınıflandırılmayan interstisyel pnömoni*: Çeşitli nedenlerden dolayı bazı vakalar sınıflandırılmamaktadır.

^b Bu grup, klinik ve radyolojik özellikleri yeterince iyi belirlenememiş heterojen bir grubu göstermektedir.

^c Tercih edilen terim KOP olmakla birlikte idiyopatik bronşiyolit obliterans organize pnömoni de eşanlamlı olarak kullanılmaktadır.

Tablo 2. İİP'lerin radyolojik özellikleri ve ayırıcı tanıları (15).

Klinik tanı/ Histolojik patern	Genel radyografik özellikler	BT'de tipik dağılım	Tipik BT bulguları	Radyolojik ayırıcı tanı
İPF/ KFA	Hacim kaybıyla birlikte özellikle bazallerde retiküler anormallikler	Periferel, subplevral, bazal	Retiküler, balpeteği, traksiyon bronşektazisi/ bronşiolektazi; yapısal distorsiyon, fokal buzlu cam	Asbestoz, Kollajen doku hastalığı Hipersensitivite pnömonisi Sarkoidoz
NSİP/ NSİP	Buzlu cam ve retiküler opasiteler	Periferel, subplevral, bazal, simetrik	Buzlu cam dansitesi, düzensiz çizgiler, konsolidasyon	OİP, DİF, KOP Hipersensitivite pnömonisi
KOP/ OP	Bilateral yamalı konsolidasyon	Subplevral/ peribronşiyal	Yamalı konsolidasyon ve/veya nodüller	İnfeksiyon, Vaskülit, Sarkoidoz, Alveoler karsinom, Lenfoma, Eozinofilik pnömoni, NSİP
AİP/ DAH	Progresif difüz buzlu cam dansitesi/ konsolidasyon	Difüz	Konsolidasyon ve buzlu cam dansitesi, lobüllerde sıklıkla hafif etkilenme	Hidrostatik ödem Pnömoni Akut eozinofilik pnömoni
DİP/ DİP	Buzlu cam dansitesi	Alt zonda, çoğunlukla periferel tutulum	Buzlu cam dansitesi, retiküler çizgiler	RB-İAH Hipersensitivite Pnömonisi, Sarkoidoz, PCP
RB-İAH/ RB	Bronş duvarında kalınlaşma; buzlu cam dansitesi	Difüz	Bronş duvarında kalınlaşma, sentrilobüler nodüller, yamalı buzlu cam opasitesi	DİP, NSİP, Hipersensitivite pnömonisi
LİP/ LİP	Retiküler opasiteler, nodüller	Difüz	Sentrilobüler nodüller, buzlu cam görünümü, septal ve bronkovasküler kalınlaşma, ince duvarlı kistler	Sarkoidoz, Lenfanjitik karsinom, Langerhans hücreli histiyositoz

AİP = akut interstisyel pnömoni; KFA = kriptojenik fibrozan alveolit; OP = organize pnömoni; KOP = kriptojenik OP; DAH = difüz alveoler hasar; DİP = deskuamatif interstisyel pnömoni; İPF = idiyopatik pulmoner fibrozis; LİP = lenfoid interstisyel pnömoni; NSİP = nonspesifik interstisyel pnömoni; PCP = *Pneumocystis carinii* pnömonisi; RB-İAH = respiratuvar bronşiyolit-interstisyel akciğer hastalığı; OİP = olağan interstisyel pnömoni.

2.3. İdiyopatik Pulmoner Fibrozis

İdiyopatik pulmoner fibrozis (İPF), inflamatuvar bir interstisyel akciğer hastalığıdır. Kriptojenik fibrozan alveolit ve difüz interstisyel fibrozis, İPF için kullanılan diğer isimlerdir. İPF, kronik fibrozan interstisyel pnömoninin, cerrahi akciğer biyopsisinde (torakoskopik veya açık) histolojik görünümü “olağan interstisyel pnömoni” (OİP) ile uyumlu olan ve akciğere sınırlı özgün bir şekli olarak tanımlanır (1). İİP’lerin arasında en sık görülen alt tiptir. İPF ile OİP, çoğunlukla aynı anlamda kullanılırlar ancak OİP, İPF’nin ışık mikroskopisindeki histolojik görünümüdür (20). OİP’deki “pnömoni” terimi, infeksiyondan ziyade inflamasyonu tarif etmek için; “olağan” terimi ise mevcut histolojik paternin en sık görülen, yani olağan bir patern olduğunu vurgulamak için kullanılmıştır (21, 22).

Hastalığın erken safhalarında alveolün içine ve alveoler septaların arasında inflamatuvar hücrelerin toplanmasının (bu durum alveolit olarak tanımlanır) alveoler epitele ve interstisyuma hasar verdiği kabul edilmektedir. Bu alveolit durumunun devam etmesi alveoler yapıda harabiyete neden olur; bu da son dönem fibrozis ve bal peteği akciğer ile sonuçlanır (19).

Cerrahi biyopsi materyalinde OİP paterni varlığında İPF’nin kesin tanısı için şu kriterler gereklidir:

1. İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve kollajen vasküler hastalıklar gibi İAH’ye yol açtığı bilinen nedenlerin dışlanması,
2. Restriktif solunum fonksiyon bozukluğu [sıklıkla birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümünün zorlu vital kapasiteye oranı (FEV_1/FVC) artmıştır ve birlikte vital kapasitede azalma mevcuttur] ve/veya bozulmuş gaz alışverişi [istihatte veya egzersizde alveolo-arteriyel O_2 gradiyentinde artış veya azalmış DL_{CO} (karbon monoksit için akciğerin difüzyon kapasitesi)],
3. Akciğer grafisinde veya yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografide (YÇBT) İPF için tipik bulguların olması (1).

İPF’nin erken döneminde, solunum fonksiyonları veya akciğerin radyolojik görünümü normal veya çok hafif bozulmuş olabilir. Sigara içme öyküsü olan

hastalarda aynı zamanda kronik obstrüktif akciğer hastalığı da bulunabilir. Bu durumda akciğer fonksiyonları ve göğüs radyografisindeki bulgular değişebilir.

Cerrahi akciğer biyopsisinin olmadığı durumlarda İPF tanısı kesin değildir. Bununla birlikte, bağışıklık sistemi baskılanmamış yetişkinlerde Tablo 3'deki tüm major kriterlerle birlikte en az 3 minör kriterin bulunması İPF'ye doğru klinik tanı konma olasılığını artırır.

Tablo 3. İPF'nin klinik tanısı için kriterler (1,24).

Majör kriterler

1. İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve bağ doku hastalığı gibi interstisyel akciğer hastalığının diğer nedenlerinin olmaması
2. Restriktif solunum fonksiyon bozukluğu (vital kapasitede azalma, FEV₁/FVC oranında artma) ve bozulmuş gaz alışverişi (istirahatte veya egzersizle alveoloarteriyel O₂ gradiyentinde artış veya azalmış DL_{CO})
3. YÇBT'de minimal buzlu cam görünümü ile birlikte bibaziler retiküler gölgeler
4. Transbronşiyal akciğer biyopsisinde veya bronkoalveoler lavajda alternatif bir tanıyı destekleyecek özelliklerin olmaması

Minör kriterler

1. Yaş > 50
2. Başka bir nedenle açıklanamayan sinsi başlangıçlı efor dispnesi
3. Hastalığın süresinin 3 ay veya daha fazla olması
4. Bibaziler inspiratuvar raller (kuru raller veya "Velcro" ralleri)

İPF tanısı için 4 majör ve en az 3 minör kriter gereklidir.

2.3.1. Epidemiyoloji

İPF'nin kesin insidans ve prevalansı bilinmemekle birlikte yapılan araştırmalar neticesinde prevalansın genel popülasyonda 3-6/100 000 olduğu tahmin edilmektedir. Son zamanlarda, New Mexico Bernalillo şehir popülasyonunda tüm interstisyel akciğer hastalıkları için yapılan popülasyon bazlı bir çalışmada prevalansın erkeklerde 20,2/100 000, kadınlarda ise 13,2/100 000 olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada insidansın erkekler için 10,7/100 000, kadınlar için 7,4/100 000 olduğu tahmin edilmiştir (23). Bununla birlikte bu bilgilere kaynak olan kriterler kesin olarak tanımlanmamıştır ve olasılıkla İPF'nin yeni tanı kriterlerinden farklıdır (1, 23, 24). Ülkemizde ise hastalığın kesin insidansı bilinmemektedir.

Dünya genelinden gelen veriler İPF'nin belirli bir ırk, etnik grup veya sosyal bir çevre farkı gözetmediğini göstermektedir. Hastalığın tüm dünyada en az 5 milyon insanı etkilediği tahmin edilmektedir (22). Erkeklerde, kadınlardan daha sık görülür. İPF'li hastalar çoğunlukla 40-70 yaşları arasında olup orta yaşlı hastalardır. Başvuru sırasında hastaların 2/3'ü 60 yaşın üzerindedir; tanı yaşı ortalama 66'dır (1). Hastalığın çocuklarda görülmesi nadirdir, insidansı yaşla artar; 35-44 yaşları arasında insidans 2,7/100 000 iken bu oran 75 yaşın üzerinde 175/100 000'i geçmektedir (23).

İPF genellikle fatal seyirli bir hastalıktır; tanıdan sonraki ortalama sağkalım süresi yaklaşık olarak 3 yıldır (1, 22, 25). Ölümler, yaşla birlikte artmaktadır.

2.3.2. İPF Gelişiminde Potansiyel Risk Faktörleri

Sigara içiminin İPF gelişiminde potansiyel bir risk faktörü olduğu vaka-kontrol çalışmalarında gösterilmiştir (1, 26-28). İPF'li hastalarda gastroözefagiyal reflüye sekonder kronik aspirasyonun sık görüldüğü bildirilmekle birlikte kronik aspirasyonun İPF gelişimindeki rolü açık değildir (1, 29). Pnömonokonyoz tanısı konulmamış olan ve pulmoner fibrozis gelişmiş kişilerde, görülen fibrozisin kırsal veya tarımsal alanlarda, kentlerde ve imalathanelerde çeşitli çevresel etkenlere maruz kalmayla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (1, 26, 27, 30, 31). Sigara içiminden bağımsız olarak, pulmoner fibrozis gelişiminde etken olabilecek maruziyetler metal ve kereste tozuna maruziyettir. (1, 27, 30, 31). Bunlar içinde de en fazla çelik, pirinç, kurşun ve çam kerestesi tozuna maruziyetin hastalık gelişimi riskiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (1). Fibrozis gelişim riski, toza maruziyetle geçen yılların sayısı ile artmaktadır. İPF patogenezinde çok sayıda virüsün adı geçmekle birlikte bunların patogenezdaki rolünü doğrulayacak kesin bir delil yoktur. Bununla birlikte İPF'li hastalarda *Epstein-Barr virus*, *influenza*, *Cytomegalovirus* ve *Hepatit C* virüs enfeksiyonlarının insidansının yüksek olduğu bildirilmiştir (1).

2.3.3. Ailesel İPF

Ailesel İPF, çekirdek ailenin (ebeveyn, çocuk, kardeş) en az 2 bireyinde, İPF'ye bağlı klinik bulguların görülmesi ve bunun histolojik olarak doğrulanmasıdır. Otozomal dominant geçişin gösterildiği ailesel İPF, tüm İPF vakalarının %0,5 ilâ %2'sini oluşturmaktadır (22). Her iki cinsi eşit olarak etkiler (1). Klinik özellikleriyle

sporadik vakalardan ayrılamayan ailesel İPF, daha genç yaşlarda başlamaktadır. Son zamanlarda ailesel İPF’li hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, hTERT ve hTR gen polimorfizmi olduğu bildirilmiştir. Bu iki gen, telomer uzunluğunu düzenlemede, dolayısıyla hücre yaşlanması ve ölümünde hayati rol oynamaktadır (22).

2.3.4. İPF’nin Patogenezi

İPF’de ve genel olarak da tüm interstisyel akciğer hastalıklarında etkilenme başlıca, akciğerlerin gaz değişim fonksiyonunun gerçekleştiği alveolo-kapiller bariyerdedir. Bu bariyer, tip I alveoler epitel hücresi, kapiller endotel hücresi ve bunların bazal membranlarından (BM) oluşur. Bariyerin yarısından fazlasında iki BM yapıştıktır; kalan kısımda ise ince bir interstisyum tabakasıyla BM’ler birbirinden ayrılmaktadır. Akut akciğer hasarı ve alveolo-kapiller bariyerin normal tamiri, doku bütünlüğünün hızlı bir şekilde yeniden inşasıyla sonuçlanır. Bu bariyerin hasarlanmasını takiben gelişen süreç, hemoraji ve plazmanın akciğer dokusuna ekstrasvazasyonu ile derhal başlar. Koagülasyon sırasında, bir dizi lipit mediyatörün ve sitokinin geçici matrikse salınımına neden olan trombosit aktivasyonu ve degranülasyonu gerçekleşir. Bu lipit mediyatörler ve sitokinler ya önemli büyüme faktörleri ya da kemotaksinlerdir ve lökosit, endotel hücresi, fibroblast/myofibroblast ve epitel hücre aktivasyonuna neden olurlar. Alveolo-kapiller bariyerin tamiri her zaman akut inflamasyonla başlayıp ekstraselüler matriks (ECM) depolanmasıyla devam eder. Şayet BM sağlam ise ve orijinal hasara neden olan uyarı ortadan kalkmışsa, ECM yeniden şekillenir/emilir ve alveolo-kapiller bariyerin yeniden epitelizasyonu ve endotelizasyonu eşzamanlı olarak gerçekleşir. BM üzerinde epitel ve endotel yapısı normal uzaysal yerleşiminde yeniden düzenlendiğinde normal tamir süreci de tamamlanır.

İPF’nin nedeni bilinmemektedir. Etyolojide; virüsler, mantarlar, çevresel ve toksik ajanlar suçlanmaktadır. Bu ajanların inflamatuvar veya immün yanıtları oluşturmak üzere akciğerin immün hücreleriyle etkileşime girdiği sanılmaktadır. Bununla birlikte doğrudan da epitelyal veya endotelial hücreleri hasarlayabilirler. Pulmoner fibrozisli hastalarda patogenez özetle şu olaylarla ilişkilidir: 1) tip I epitel hücrelerinin ve endotel hücrelerinin kaybı; 2) alveoler yapıların kollapsı ve BM’lerin

füzyonu ile alveolo-kapiller bariyerin BM'sinin bütünlüğünün kaybı; 3) normal alveoler yapılarla yeniden düzenlenmemiş uygunsuz bir ECM üzerinde tip II alveoler epitel hücrelerinin ve endotel hücrelerinin çoğalması; ve 4) olgun ECM depolanmasıyla birlikte fibroblastların ve myofibroblastların toplanması ve çoğalması neticesinde son dönem alveoler fibrozisin oluşması (32).

Üst üste gelen inflamasyon, doku hasarı ve tamirinin bir sonucu olduğu düşünülen İPF'nin patogenezi aşağıda bu başlıklar altında incelenecektir.

İnflamasyon ve immün yanıt

Alt solunum yolu inflamatuvar cevabı, İPF'de en erken saptanabilen bozukluktur. İnterstisyumda ve alveol içinde artmış sayıda lenfosit, makrofaj ve nötrofil mevcuttur. Spesifik immün yanıt, dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerin lokal lenf nodlarına göçü, spesifik lenfositlerin klonal çoğalması ve aktive olan lenfositlerin tekrar dolaşıma katılarak akciğere ulaşmalarını takiben başlar. Aktive lenfositler, alveoler makrofajlar ve parenkimal hücreler, lökositlerin parenkime ve alveoler boşluğa göçüne neden olan kemokinleri salgılar. Bu hücreler aynı zamanda dendritik hücre farklılaşması ve makrofaj aktivasyonunda önemli bir role sahip olan granülosit-makrofaj koloni stimülan faktörünü üretirler. Makrofaj aktivasyonu, erken yanıt sitokinleri olan interlökin (IL)-1 ve tümör nekroz faktörü (TNF)- α üretimine yol açmak suretiyle bu yanıtı daha da güçlendirir.

Hasarlanma

Toplanan inflamatuvar hücreler epitelyal hücre hasarı, epitelyal hücre kaybı ve bazal lamina yıkımına yol açar. Proteazlar ve oksidanlar bu hasarın oluşumunda başlıca rolü oynarlar. Sonuçta alveoler boşluklar içerisinde fibrinden zengin bir eksuda oluşur.

Tamir ve yeniden epitel oluşumu

İnflamatuvar yanıtı takiben hasarlanmış alveollerin başarılı bir şekilde tamiri için alveoler boşluğa sızan ve hasarlanmış alveoler hücrelerle yer değiştiren plazma proteinlerinin temizlenmesi gerekmektedir. Epitel hücrelerinden ve alveoler makrofajlardan plazminojen aktivatörü (u-PA) salgılanır. Aktive u-PA, fibroblastların göç ettiği ve interstisyel kollajenleri salgıladığı geçici matriksin

ortadan kaldırılmasıyla skar oluşumunu sınırlar. Şayet fibrinden zengin eksuda alveoler boşluktan temizlenemezse, fibroblastlar matrikse geçer ve çoğalırlar ve skar oluşumuna neden olan matriks moleküllerini üretirler. Skar oluşumunun hızı ve miktarı, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, insülin benzeri büyüme faktörü-1 ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF)- β 1 gibi profibrotik sitokinler tarafından düzenlenir. Son olarak alveoler tip II epitel hücre göçü ve çoğalmasıyla tamir edilmiş bazal membran ve skarlaşmış intraalveoler trombüsün yüzeyi kaplanır; böylelikle intra-alveoler fibrozis süreci tamamlanmış olur (19).

2.3.4.1. İPF Patogenezinin Tarihçesi

Çeşitli interstisyel akciğer hastalığı olan hastalardan elde edilen verilerin çoğu fiberoptik bronkoskop ve bronkoalveoler lavaj (BAL) tekniğinin kullanılması sayesinde olmuştur. İPF'li hastalardan alınan BAL sıvılarında artmış sayıda inflamatuvar hücre olması, İPF'nin "alveolit" ile başladığı ve interstisyel fibrozise ilerlediği hipotezini doğrumuştur. İPF'deki alveolit, alveol içinde fazla sayıda nötrofil toplanmasıyla karakterizedir. Yetmişli yıllarda deskuamatif interstisyel pnömoni (DİP) ve olağan interstisyel pnömoninin (OİP) farklı hastalıklardan ziyade aynı hastalığın parçaları olduğu düşünülmekteydi. DİP daha çok erken İPF'yi, bunun yanı sıra OİP hastalığın daha sonraki evrelerini göstermekteydi. Bu fikirde olan araştırmacılar, tedavi girişiminin fibrotik süreci baskılamaktan ziyade inflamatuvar ve immün cevabı baskılamaya yönelik olması gerektiğini düşünüyorlardı. Bu fikir bir antiinflamatuvar ajan olan kortikosteroidlerin (KS) İPF tedavisinde kullanılabilirliği düşüncesini desteklemiştir. Ancak İPF'li hastalarda henüz randomize, plasebo-kontrollü klinik bir çalışmanın yapılmamış olması nedeniyle İPF tedavisinde steroidlerin plasebodan daha etkili olup olmadığı bilinmemektedir. Çeşitli nedenlerden dolayı bu inflamatuvar hipotez gözden düşmüştür. Bunun başlıca nedeni, klinik açıdan ileri hastalığı olmayan İPF'li hastalardaki OİP paterninin incelemesinde belirgin bir interstisyel veya alveoler inflamasyona ait kanıt gösterilmesindeki yetersizliktir. Bu durum İPF/OİP'li hastalarda KS tedavisinin etkinliğindeki yetersizlik ile birleştiğinde araştırmacıları İPF'de BAL verilerini yeniden gözden geçirmeye yönlendirmiştir. Şu anda İPF/OİP'de, özellikle hastalığın ileri evresinde, nötrofil toplanmasının dokuda yaygın remodelinge ve traksiyon

bronşektazisine bağlı olduğuna inanılmaktadır. Bu nötrofil toplanması bir sonuçtur; İPF/OİP'in bir nedeni değildir (21).

Yetmişli yıllardan itibaren İPF'nin en belirgin özelliği akciğer inflamasyonu olmasına rağmen KS'lerin neden etkisiz olduğu sorusuna cevap aranmaya başlanmıştır. Witschi ve ark.'nın 1980 yılında yaptığı bir hayvan deneyinde alveoler epitelyal hasarlanma modeli kullanılmış ve epitelyal yüzey tabakası başarılı bir şekilde onarılmadığından İPF'nin ortaya çıktığı görüşü öne sürülmüştür. Yeniden epitel oluşumunda bir aksaklık olduğunda interstisyel fibroblastlar kontrolsüz bir şekilde çoğalmaktadır. Bu potansiyel mekanizmanın detayları açıklanmasa da bu çalışma, İPF'de patojenik bir yolak olarak epitelyal mezenkimal hipotezi doğurmuştur. Katzenstein ve ark.'nın elektron mikroskopisiyle yaptığı çalışmalar, İPF patogeneğinde epitelyal hücrelerin potansiyel rolünü desteklemiştir. Bu çalışmalar alveoler epitelyal hücrelerin nekrozunun alveoler kollapsa neden olabileceği fikrine yol açmıştır. Epitelyal nekroz dağınık yerleşimli ve histolojik olarak kabaca bir araya gelmiş interstisyel fibroblastların varlığıyla tanınan küçük odaklarla sınırlanmıştır. Katzenstein, nekroz terimini alveoler epitelyal hücrelerin yokluğunu ifade etmek için kullanmıştır. Son zamanlarda yapılan gözlemler ise hücrelerin nekroza çok programlı hücre ölümüne (apoptozis) gittiğini düşündürmektedir (21).

2.3.5. İPF'nin Tanısı

2.3.5.1. Öykü ve Fizik Muayene

İPF'nin tipik semptomları kronik progresif egzersiz dispnesi ve kuru öksürüktür. Dispne genellikle daha ön plandadır. Hastaların çoğunda dispnenin en az 6 aydır var olduğu bildirilmiştir. Öksürük antitusif ajanlara dirençlidir (1). Ekstrapulmoner tutulum görülmez ancak kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk görülebilir. Ateş nadirdir; varlığı klinisyeni, pulmoner fibrozisin sekonder nedenlerini araştırmaya yönlendirmelidir (1, 22). Gastroözefagiyal reflü hastaların %90'ına yakınında mevcuttur fakat genellikle semptomatik değildir (22, 33).

İPF'de akut alevlenme (İPF-AA), respiratuvar semptomlarda ani kötüleşme ile buna eşlik eden hipoksemi ve yeni radyografik infiltrasyonların ortaya çıkmasıyla karakterizedir. Patolojik olarak difüz alveoler hasar (DAH) bulgusu, akut hasarlayıcı

bir travmayı işaret etmektedir fakat İPF-AA için henüz spesifik bir neden tanımlanmamıştır. Birçok hastada ateş, grip-benzeri semptomlar ve BAL sıvısında nötrofili bulunması, bilinmeyen bir infeksiyöz ajanın varlığını düşündürmektedir. Kronik İPF’de öne sürülen rolüne rağmen *Epstein-Barr virus*, *Cytomegalovirus* veya *Human herpes virus-8* ile İPF-AA arasında bir ilişki gösterilememiştir (34). İPF-AA’yı pulmoner embolizm, pnömotoraks, infeksiyon ve konjestif kalp yetmezliğinden ayırmak önemlidir. İki büyük randomize, plasebo kontrollü çalışmanın verilerine göre risk altındaki hastalarda akut alevlenmenin yıllık insidansı tahmini olarak %10-15 arasındadır (22). İPF hastalığı olduğu bilinen kişilerde aşağıdaki tüm kriterlerin varlığıyla İPF-AA tanısı konur: a) son 1 ay içinde dispne akut kötüleşme; b) ya vital kapasitede ya da gaz değişiminde bozulma (çoğunlukla alveolo-arteryel O₂ gradiyentinde artış ile gösterilir); c) yeni radyografik infiltratların ortaya çıkması; ç) klinik kötüleşmeyi açıklayacak başka bir nedenin olmayışı. İPF-AA’nın radyografik özellikleri tipik interstisyel çizgilerin üzerine eklenmiş buzlu cam dansiteleridir. Akut kötüleşmede altta yatan patoloji genellikle difüz alveoler hasarlanmadır. İPF-AA’nın prognozu kötüdür; İPF-AA’lı hastalardan oluşan birkaç küçük seride mortalitenin %78 ile %96 arasında olduğu bildirilmiştir. Birbirini takip eden 3 ay içerisinde hızlı progresyon ve hastaneye yatış, mortalite için bağımsız belirleyici faktörlerdir. İPF-AA tedavisindeki genel yaklaşım KS kullanımındır ancak bu tedavinin yararı gösterilememiştir (22).

Fizik muayenede oskültasyonda hastaların %80’inden fazlasında ral duyulur. Bu raller tipik olarak kuru, inspirasyon sonunda ve “Velcro” vasfında olup çoğunlukla akciğer bazallerinde işitilir. Hastalığın progresyonuyla birlikte raller, daha üst akciğer alanlarında da duyulur. Çomak parmak İPF’li hastaların %25 ilâ %50’sinde bulunur (1). Hastalığın ileri safhalarında gelişen kor pulmonale ile birlikte sağ kalp yetmezliğine ait bulgular görülebilir (1, 22).

2.3.5.2. Laboratuvar ve Serolojik Testler

İPF’ye özgü bir laboratuvar bulgusu yoktur. Eritrosit sedimentasyon hızında artış ve hipergamaglobulinemi saptanabilir ancak tanısız değildir. Laktat dehidrogenaz artmış olabilir ancak bu artış, akciğer hastalıklarında sıklıkla saptanan özgül olmayan bir bulgudur. İPF’li hastalarda kronik hipoksemi sık olmasına rağmen

polisitemi nadirdir. Anti-nükleer antikor ve romatoid faktör %10-20 olguda pozitif olabilir ancak nadiren yüksek titrelerde pozitiflik görülür. Yüksek titrelerdeki pozitiflik (>1/160) bağ doku hastalığı varlığını düşündürür. Pulmoner hipertansiyon veya eşlik eden kardiyak hastalık olmadığı müddetçe elektrokardiyogram genellikle normaldir (1).

2.3.5.3. İPF'nin Radyolojik Bulguları

Akciğer grafisi

Başvuru sırasında İPF'li hastaların neredeyse tümünde akciğer grafisi anormaldir. Aslında, semptomlar gelişmeden yıllar önce çekilen grafilere bakıldığında bazalarda retiküler opasiteler sıklıkla görülebilmektedir. Bu şekilde asemptomatik olup akciğer grafisinde anormallik bulunan kişilerin fizyolojik değerlendirme veya YÇBT ile tetkik edilmesi, hastalığa daha erken tanı konup tedavinin başlanmasına yardımcı olabilir. Ayrıca, akciğer grafisinin normal olması hastalığı dışlamaz, zira İPF'li hastaların %10 kadarında grafi normal olmasına karşın YÇBT'de İPF'yi düşündüren bulgular olabilir (1).

Yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi

YÇBT, interstisyel akciğer hastalıklarının tanısal değerlendirmesinde devrim yapmıştır. Bu teknoloji ile gözlemciler arasındaki görüş birliği ve böylelikle tanısal doğruluk artmıştır. YÇBT'nin interstisyel akciğer hastalıklarının değerlendirme sürecindeki başlıca rolü, tipik radyografik İPF'yi diğer İAH'den ayırt etmektir (1, 22)

Yamalı, çoğunlukla periferik, subplevral ve bibaziler retiküler anormallikler, İPF'nin YÇBT'deki tipik görünümüdür. Farklı oranlarda buzlu cam opasiteleri de görülebilir ancak bunların yaygınlığı sınırlıdır. Yoğun retikülyasyon bölgeleri, orta çaplı havayollarının tutulumuna sekonder olarak görülür; buna traksiyon bronşektazisi denir. Subplevral balpeteği görünümü, traksiyon bronşektazisi ve interlobüler septalarda kalınlaşma İPF tanısı için özgüllüğü artırır. Deneyimli bir gözlemci tarafından YÇBT ile OİP'e doğru tanı koyma başarısı %90 civarındadır (1). Bu nedenle uygun klinik bulgular varlığında, İPF'ye tek başına YÇBT ile tanı koymak mümkündür. Mediastinal lenfadenopati, yaygın buzlu cam görünümü, kist varlığı, üst lop hakimiyeti, plevral plaklar ve efüzyon varlığında alternatif tanılarını

olma ihtimali yüksektir (1,22,25). YÇBT’de fibrozis yaygınlığı, sağkalımın önemli bir göstergesidir (1).

2.3.5.4. Solunum Fonksiyon Testleri

Spirometride tipik olarak restriktif patern gözlenir. Restriktif fizyoloji, azalmış kompliyansın bir sonucudur. Vücut pletismografisinde vital kapasite ve total akciğer kapasitesi azalmıştır. Erken dönemde veya beraberinde eşlik eden kronik obstrüktif akciğer hastalığı varlığında akciğer volümleri normal olabilir. Hemoglobinin ile düzeltilmiş karbon monoksit difüzyon kapasitesi (DL_{CO}) sıklıkla azalmıştır. DL_{CO} ’daki azalma muhtemelen ventilasyon-perfüzyon anormalliğine ve pulmoner kapiller hacmin azalmasına bağlıdır. Başlangıçta istirahatte arter kan gazları normal olabilir veya hipoksemi, respiratuvar alkaloz görülebilir. Hipoksemi, bozulmuş O_2 difüzyonuna veya anatomik şantlara bağlı olmayıp asıl nedeni ventilasyon-perfüzyon dengesizliğidir (1). Egzersizle alveolo-arteryel O_2 gradiyenti artar ve arteryel O_2 basıncı (PaO_2) ve arteryel O_2 saturasyonu düşer.

İPF’li hastalar takipneiktir, hastalık ilerledikçe solunum hızı artar; bu nedenle de solunum işi artmıştır. Solunum hızındaki bu artış, elastik yükün artması ve/veya vagal mekanizmalar nedeniyle değişen mekanik reflekslere bağlı gibi gözükmektedir. Zira henüz mevcut hiperventilasyonu açıklayacak kimyasal bir neden tanımlanmamıştır (1).

2.3.5.5. Bronkoalveoler Lavaj

İPF’li hastaların BAL sıvısında polimorfonükleer lökositler, nötrofil ürünleri, eozinofiller, eozinofil ürünleri, aktive alveoler makrofajlar, alveoler makrofaj ürünleri, sitokinler, fibroblastlar için büyüme faktörleri ve immün kompleksler gösterilmiştir. İPF’li hastaların %70 ilâ %90’ında BAL sıvısında nötrofillerin arttığı saptanmaktadır. Yalnızca lenfositlerde artış İPF’de nadirdir (<%10). Araştırma için değerli bir yöntem olmasına karşın BAL’ın tanısal yararlılığı sınırlıdır. Sonuçta, inflamatuvar hücrelerin paterni, fibrozan interstisyel pnömonilerin ayırıcı tanılarını daraltmaya yardımcı olabilir ancak BAL, İPF için tanısal değildir (1).

2.3.5.6. Akciğer Biyopsisi

İPF'li hastalarda görülen histopatolojik patern OİP'dir. OİP'nin başlıca histolojik özellikleri içerisinde yapısal destrüksiyon, sıklıkla balpeteği ile birlikte olan fibrozis, dağınık fibroblastik odaklar, yamalı dağılım, asinüs veya lobülün periferinin tutulumu sayılabilir. OİP'nin başlıca tanısal kriteri ve ana histolojik özelliği küçük büyütmede yer yer normal akciğer alanları, interstisyel inflamasyon, fibrozis ve balpeteği değişikliklerinden oluşan heterojen bir görünümdür. Histolojik değişiklikler periferik subplevral parenkimi daha şiddetli bir şekilde etkiler. İnterstisyel inflamasyon genellikle yamalıdır ve tip 2 pnömositlerin hiperplazisiyle birlikte histiyositler, plazma hücreleri ve lenfositlerin alveoler septal infiltrasyonundan oluşur. Fibrotik alanlar başlıca yoğun kollajenden oluşmaktadır ancak çoğalan fibroblastları içeren dağınık odaklar da (bunlar fibroblastik odak olarak adlandırılır) sık görülen bir bulgudur. Balpeteği alanları, sıklıkla bronşiyoler epitel ile sınırlı ve müsinle dolu kistik fibrotik hava boşluklarından oluşmaktadır. Düz kas hiperplazisi, fibrozis ve balpeteği alanlarında sıktır (1,15).

OİP paterni İPF'ye özgü olmayıp bağ dokusu hastalığı, asbestoz, hipersensitivite pnömoniti, Hermansky-Pudlak sendromu ve ilaç toksisiteleri (bleomisin, adriyamisin ve nitrofurantoin toksisitesi) gibi hastalıklarda gözlenebilir. İPF'yi, OİP paterni gösteren diğer hastalıklardan ayırmak için klinik hikaye ile birlikte değerlendirmek gerekir (22).

İPF'de biyopsi için optimal yaklaşım tartışmalıdır. Tanı için neredeyse altın standart olarak kabul edilen cerrahi (açık veya torakoskopik) akciğer biyopsisi, İPF'den şüphelenilen tüm olgulara, tanıyı doğrulamak için önerilmektedir. İPF ile uyumlu klinik, radyolojik ve fizyolojik özelliklerin tümünün var olduğu bazı durumlarda, transbronşiyal akciğer biyopsileri (TBB) kabul edilebilir. Fiberoptik bronkoskop kanalıyla alınan TBB'ler, düşük morbidite oranlarıyla ayaktan gelen hastalara uygulanabilir. TBB'ler tek başına bir takım spesifik tanıları (eozinofilik granülom, sarkoidoz, malignite, hipersensitivite pnömoniti, infeksiyonlar, bronşiyolitisi obliterans, eozinofilik pnömoni, pulmoner alveoler proteinoz, vs.) doğrulayabildiği için İAH olan hastalara, açık veya torakoskopik akciğer biyopsi öncesinde mutlaka uygulanmalıdır. Örneklem büyüklüğünün küçük olması (2-5 mm)

nedeniyle TBB'ler, fibrozis ve inflamasyon derecesini değerlendirmede veya İPF'de prognozu tayin etmede kullanılamaz. TBB tanısız değilse, spesifik kontrendikasyonlar olmadıkça video yardımcı torakoskopik cerrahi (VATS) mutlaka yapılmalıdır (19). Cerrahi akciğer biyopsisi, sağladığı doku örneği sayesinde OİP'yi diğer İİP formlarından ayırmaya ve etyolojisi bilinmeyen bir İAH varlığında İPF'yi taklit eden diğer durumları dışlamaya yarar. Ancak YÇBT'deki bulguları İPF ile uyumlu olan vakalarda, uygun klinik bulgular varlığında cerrahi biyopsiden kaçınılabılır. Cerrahi akciğer biyopsisini yapma kararı oldukça dikkatle alınmalıdır. İlerlemiş akciğer hastalığı, kötü fonksiyonel durum ve ileri yaş, cerrahi için rölatif kontrendikasyonlardır (1).

2.3.6. İPF ile İlişkili Durumlar

2.3.6.1. Pulmoner Hipertansiyon ve İPF

İPF'nin erken safhasında istirahatte pulmoner hipertansiyon (PHT) nadiren görülür. Ancak egzersiz sırasında, erken safhalarda dahi PHT sıktır. Vital kapasite, beklenen değer %50'sinden az olduğu ve DL_{CO} beklenenin %45'inin altına düştüğü zaman istirahatte dahi PHT beklenebilir. Difüzyon kapasitesi ile PHT arasında güçlü bir ilişki mevcut olup bu ilişki ters orantılıdır. Ortalama pulmoner arter basıncının 30 mmHg'dan fazla olması kötü prognoz göstergesidir (1).

2.3.6.2. Uyku Bozuklukları ve İPF

Özellikle gündüz O₂ saturasyonu %90'ın altında olan ve/veya horlama hikayesi olan İPF'li hastalarda uyku bozuklukları geliştiği gözlenmiştir. Bu hastalarda REM (hızlı göz hareketleri) uykusunda azalma olduğu, uykunun daha yüzeysel ve parçalı olduğu ve REM uykusu süresince hipoksemi olduğu gösterilmiştir (1, 35, 36).

2.3.6.3. Akciğer Kanseri ve İPF

Geçmiş yıllarda yapılan otopsi çalışmalarında akciğer kanseri ve İPF'nin eşzamanlı olarak bulunması, araştırmacıları bu ikisi arasında bir ilişki olabileceği hipotezine yönlendirmiştir. Az sayıdaki epidemiyolojik çalışma, İPF'nin akciğer

kanseri için bağımsız bir risk faktörü olduğu yönündeki bilgiyi pekiştirmiştir (37, 38).

2.3.7. İPF'nin Tedavisi

İPF'nin tedavisi, inflamasyonun hasara ve fibroze öncülük ettiği görüşüne dayanmıştır (1). Başlangıçta inflamatuvar ve immün efektör hücrelerin akciğer parenkimine toplandığı varsayılmaktadır. Bu alveoler ve interstisyel reaksiyon devam ederken alveoler duvar hasarı, vasküler hasara ve havayolu hasarı ortaya çıkar; tamir süreci yetersiz veya bozulmuştur ve fibrozis gelişir. Sonuç olarak akciğer parenkimi geri dönüşsüz olarak hasarlanır ve gaz değişim fonksiyonu bozulur. Solunum rezervi yeterince azaldığında ise solunum yetmezliği semptomları ortaya çıkar. Patogenetik sürecin bu şekilde kavramsallaştırılması, teorik olarak tedavi girişimi yapılabilecek birçok noktayı akla getirir de pratikte tedavi seçenekleri çoğunlukla antiinflamatuvar ilaçlar ve yakın zamanda uygulanmaya başlanan akciğer trasplantasyonu ile sınırlıdır (1).

Bugüne dek tedavi stratejilerinin çoğu inflamatuvar komponenti baskılamaya veya ortadan kaldırmaya dayanmıştır. Farmakolojik tedavilerden hiçbirinin İPF'deki inflamatuvar süreci değiştirdiği veya tersine çevirdiği kesin olarak kanıtlanamamıştır. Daha da önemlisi fibrotik sürecin tersine çevrilebileceği teorisini destekleyen sınırlı bilgi bulunmaktadır (1). Hastaların yalnızca %10-30'u mevcut tedavilere cevap vermekte; bu cevap da çoğu zaman kısmî ve geçici olmaktadır. Kür (tam remisyon) hastaların %5'inden azında elde edilmektedir. Tedaviye bağlı toksisite önemli bir sorundur. Hastalığın henüz başında, geri dönüşsüz olan fibrozis gelişmeden önce tedaviye başlanırsa yanıt oranlarının daha yüksek olması beklenebilir. Kadın cinsiyet, genç yaş, daha az fizyolojik veya radyolojik bozukluk, semptomların kısa süreli olması, BAL'da lenfosit yüzdesinin fazla olması, akciğer grafisi veya YÇBT'de buzlu cam görünümünün olması prognoz ve tedaviye cevabı olumlu yönde etkileyen faktörlerdir (19).

İPF'de şu an için mevcut olan terapötik çalışmalar; hastalığın doğal gelişiminin anlaşılmasındaki yetersizlik, birbirinden farklı çok sayıda çalışma dizaynının olması, hasta gruplarının heterojen oluşu, tanısal kesinlik konusundaki şüpheler, çalışma sürelerindeki değişkenlik, tedavi düzenlenmesindeki farklılıklar

(ilacın dozu, uygulanma şekli ve tedavi süresi), plasebo kontrol deneklerin olmaması, kantitatif olmayan veya farklı tiplerde değerlendirme kriterlerinin varlığı ve değerlendirmeler arasındaki zaman aralıklarının değişken olması nedeniyle ciddi kısıtlamalar taşımaktadır (1).

2.3.7.1. Geleneksel Tedavi Seçenekleri

İPF’de spontan remisyon gözlenmez. Az sayıda veri destekliyor olsa da İPF’de geleneksel tedavi immüsupresyon temeline dayanır. Tedavi yöntemleri içerisinde kortikosteroidler, immüsupresif/sitotoksik ajanlar (örneğin azotiyopürin, siklofosfamid) ve tek başına veya kombine olarak kullanılan antifibrotik ajanlar (örneğin kolşisin veya D-penisilamin) bulunmaktadır (1) (Tablo 4).

Tablo 4. İPF'nin farmakolojik tedavisi ile ilgili kontrollü klinik çalışmalar (39).

Tedavi	Çalışma Dizaynı	Sonuçlar
Yüksek doz prednizolona karşı siklofosfamid+düşük doz prednizolon	Randomize, açık, prospektif, İİP'li 43 hasta (heterojen bir grup)	Benzer etkinlik (%32'ye karşı %24; anlamlı değil)
Yüksek doz prednizolon ± azotiyopurin	Randomize, çift kör, plasebo kontrollü, prospektif bir çalışma; İPF/OİP'li 27 hasta	Yaşa göre düzeltildiğinde kombine tedavi grubunda anlamlı sağkalım. Başka anlamlı fark yok.
Yüksek doz prednizolon ± azotiyopurin	Prospektif, randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma; İPF'li 27 katılımcı	Azotiyopurinle belli belirsiz bir iyileşme. Tanısal metodlar ve çalışma metodolojisine dair detaylara ulaşılamadı.
Prednizon (başlangıçta 60 mg/gün, giderek azaltılarak 1 yılın üzerinde tedavi) veya kolşisin (0,6-1,2 mg/gün)	Randomize, açık, çok merkezli prospektif bir çalışma; 12 aydan fazla süreyle uzun dönemli takip; İPF/OİP'li 26 erişkin	Tedavi grupları arasında sağkalım, akciğer fonksiyonları, yan etkiler, tedavi başarısızlığı arasında fark yok (kontrol grubu yok)
Prednizon ± IFN- γ -1b (3 haftada bir 200 μ g)	Randomize, açık, prospektif bir çalışma; İPF/OİP'li 18 erişkin (son dönem hastalık dışlandı)	IFN kolunda akciğer fonksiyon testlerinde, oksijenasyonda, gen transkripsiyonunda anlamlı iyileşme. IFN iyi tolere edildi.
Prednizon ± IFN- γ -1b (3 haftada bir 200 μ g)	Prospektif, randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma; İPF'li 330 katılımcı	IFN- γ -1b progresyondan bağımsız sağkalımı, akciğer fonksiyon testlerini ve yaşam kalitesini etkilemedi
IFN- γ -1b'ye (3 haftada bir 200 μ g) karşı kolşisin (1m g/gün)	Açık, prospektif, randomize bir çalışma; 14 İPF'li hasta	IFN- γ -1b grubunda PaO ₂ stabil kaldı ve DL _{CO} 'da anlamlı değişiklik saptandı.

İİP = idiyopatik interstisyel pnömoni; İPF = idiyopatik pulmoner fibrozis; OİP = olağan interstisyel pnömoni; IFN = interferon; PaO₂ = arteriyel O₂ basıncı; DL_{CO} = karbon monoksit için difüzyon kapasitesi.

Antiinflamatuvar İlaçlar

Kortikosteroidler

Yaygın kullanımına rağmen KS'lerin İPF tedavisindeki etkinliğini değerlendiren prospektif, randomize, çift-kör, plasebo kontrollü çalışma yoktur. KS'ler ile tedavisizliği karşılaştıran üç çalışmada, tedavi verilmeyen İPF'li hastaların hiçbiri iyileşmemiştir. Bu çalışmalardan belirli kantitatif değerlendirme kriterlerine dayananların kısıtlamaları göz önünde bulundurulduğunda, KS ile tedavi edilen İPF'li hastaların %10-30'u iyileşmiştir; %40'lara varan cevap oranı ise subjektif veya tanımlanmamış değerlendirme kriterlerine bağlıdır. Cevaplar genellikle kısmi ve geçici olup az sayıda hastada kür elde edilmiştir. Yanıt verenler arasında, başlangıçtaki cevaptan sonra hastalığın progresyonu ve nüksler, uzun süreli tedavi ihtiyacını düşündürmektedir (1).

İPF tedavisinde tek başına KS'lerin kullanıldığı kontrollü çalışmalar bulunmamaktadır. Kontrollü olmayan çalışmalarını değerlendiren bir derlemede, akciğer fonksiyonlarındaki kısa süreli iyileşmenin 3-5 yıllık sağ kalımı etkilemediği belirtilmiştir (39). KS'lerin tek başına veya immüsupresiflerle birlikte verildiği ve %10-30 oranında cevap alındığının bildirildiği bu ilk çalışmalarda, kortikosteroidlere yanıt veren NSİP, deskuamatif intersitisyel pnömoni, respiratuvar bronşiolit ile ilişkili intersitisyel akciğer hastalığı veya kriptojenik organize pnömoni gibi İİP vakalarının yer alması muhtemeldir. Saf İPF vakaları antiinflamatuvar ajanlar ile tedavi edildiğinde anlamlı yanıt alındığına dair bir kanıt yoktur (40).

Geçmişte çoğu araştırmacı tedaviye yüksek doz KS ile (40-100 mg/gün prednizolon veya prednizon) başlayıp 2 ilâ 4 ay içerisinde kademeli olarak KS dozunu azaltmıştır. Bununla birlikte uygun olarak eşleştirilmiş veya randomize edilmiş hastalarda, KS'lerin farklı süre veya dozlarının karşılaştırıldığı bir çalışma yoktur. Şayet KS'lerle yanıt ortaya çıkıyorsa iyileşme genellikle ilk 3 ay içerisinde görülmektedir. KS tedavisinin üçüncü ayının sonunda cevabı ölçmek için objektif klinik parametreler (örneğin; dispne skorları, fizyolojik çalışmalar, göğüs radyografileri, YÇBT) gerekmektedir. KS'lerin plasebo etkileri veya duyu durumunu iyileştirici etkileri nedeniyle cevabı ölçmek için subjektif iyileşme yeterli değildir (1).

KS tedavisinin idamesi, stabil kalan veya objektif iyileşme gösteren hastalar için saklanmalıdır. KS'ye cevap veren hastalarda uzun süreli (bazen süresiz) prednizon tedavisine devam edilmeli ancak doz kademeli olarak azaltılmalıdır. Nüks veya kötüleşme durumunda dozun artırılması veya immüsupresif bir ajanın eklenmesi gerekir. KS dozu ve azaltma hızı klinik ve fizyolojik parametrelere göre ayarlanmalıdır. KS'lerin hastalığı tam olarak ortadan kaldırması beklenmediğinden, KS'ye olumlu cevap veren hastalarda tedaviye en az 1-2 yıl (bazen kesilmeksizin) devam edilmesi önerilmektedir. Bu durumda kronik düşük doz prednizon (15-20 mg, gūnaşırı) tedavisi idamede yeterli olabilir (1).

KS tedavisinin yan etkileri sık ve ciddidir. Peptik ülser hastalığı, posterior kapsüler katarakt, endokrin ve metabolik değişiklikler (hiperglisemi, hipokalemi, metabolik alkaloz, sekonder böbrek yetmezliği, impotans, menstrüel düzensizlikler, trunkal obezite, aydede yüzü) görülebilir. Kas-iskelet sistemine ait komplikasyonlar arasında osteoporoz, vertebral kompresyon fraktürleri, femur ve humerus başının aseptik nekrozu ve miyopati sayılabilir. KS'ye bağlı miyopatiler diyafragma kas gücünü azaltabilir ve bu durum, tedavinin etkinliğini değerlendirmeyi güçleştirebilir. Psikiyatrik yan etkileri içerisinde depresyon, psikozlar, uygunsuz öfori bulunmaktadır. Bu yan etkiler genellikle ileri yaştaki hastalarda görülür. Sonuç olarak, KS tedavisi mikroplara karşı immün ve inflamatuvar cevabı baskıladığından hem T hücre hem de nötrofil fonksiyonlarındaki bozulmayla ilişkili infeksiyöz ajanların yol açtığı fırsatçı infeksiyonlar görülebilir (19).

Sitotoksik ve immüsupresif ajanlar

Steroide cevap vermeyen, KS'lerin ciddi yan etkilerine maruz kalan ve KS komplikasyonları açısından yüksek risk altında olan hastalarda (yaş > 70, kontrolsüz diabetes mellitus veya hipertansiyonu, ciddi osteoporozu veya peptik ülseri olanlar) immüsupresif veya sitotoksik ajanlar kullanılmaktadır (1).

Azotiyopürin

Mevcut çalışmalar İPF tedavisinde azotiyopürinin tek başına veya KS'lerle kombinasyonunun etkinliğini değerlendirmede yetersizdir (19). Azotiyopürin KS'ye yanıt vermeyen veya KS'nin yan etkilerine maruz kalan hastalarda siklofosamid tedavisine bir alternatif olarak düşünülebilir. Hastaların ilk 6 hafta iki haftada bir,

daha sonra ayda bir kan sayımı yapılmalıdır (19). Azotiyopürin ve KS kombinasyonunun bazı hastalarda orta düzeyde bir iyileşme ve sağkalımda artış sağladığı bildirilmiştir (1,19).

Siklofosfamid

Siklofosfamidin, İPF'yi tedavi etmede KS'lerden üstün olduğunu gösteren bir veri mevcut değildir. Sonuçta siklofosfamid tedavisiyle diğer immünespresif veya sitotoksik tedavileri doğrudan karşılaştıran bir çalışma yoktur. Tedaviye dirençli İPF'si olan hastalarda 2-4 haftada bir yüksek doz intravenöz hücum siklofosfamid tedavisi denenmiştir ancak sonuçlar pek olumlu değildir. Siklofosfamid toksisitesi, bu ajanın İPF tedavisinde rutin olarak kullanımını kısıtlayan en önemli problemdir (1). Hematolojik değişiklikler siktir ve genellikle doz ayarlamasını gerektirir. Lökopeni, anemi ve trombositopeni en sık görülen hematolojik anormalliklerdir. Bakteriyel ve fırsatçı enfeksiyonlar görülebilir. Ürolojik komplikasyonlar içerisinde hemorajik sistit ve mesane kanseri bulunmaktadır. Erkeklerde infertilite; kadınlarda overyan fibrozis, foliküler destrüksiyon, overyan yetmezlik ve amenore görülebilir. Stomatit, bulantı ve diare ortaya çıkabilecek gastrointestinal semptomlardır. Siklofosfamid tedavisi ile lösemiler ve diğer hematolojik neoplazmların gelişme riski artmaktadır (19).

Siklosporin A

Siklosporin İPF tedavisinde ve akciğer transplantasyonunu bekleyen adayların oral KS dozunu azaltmada nadiren kullanılmıştır. Siklosporin tedavisinin faydasını gösteren iyi bir kanıt yoktur (41). Bu ajanla remisyon çok nadir görülmüştür; toksisitesi ise fazladır (1).

Mikofenolat mofetil

Bu ilaç güçlü bir immünespresif olmasına ve İPF'deki aktivitesi için makul bir hipotez bulunmasına rağmen henüz değerlendirilmemiştir (41).

Metotreksat

Bu ajan çeşitli immün aracılı pulmoner hastalıkların tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Ancak mevcut veriler İPF tedavisindeki yerini değerlendirmede yetersizdir (1).

Klorambusil

Bazı araştırmacılar tarafından İPF'li hastalarda siklofosfamid yerine denenmiş olup ciddi toksisitesi ve verilerin yetersiz olması nedeniyle İPF tedavisinde düşünülmemelidir (1).

2.3.7.2. İPF Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar

İmmünmodülatörler

Son zamanlardaki inflamatuvar yolak yerine fibroproliferatif süreci hedefleyen klinik çalışmalar, daha ümit verici olabilir. İnterferon (IFN)- γ -1b gibi yeni biyolojik antifibrotik ilaçlar bir grup hastada etkili gibi gözükmektedir (41).

İnterferon- γ

Genel olarak faz II çalışmalarında bir ilaç faydalı gibi görünüyorsa dahi etkinliği değerlendirmede daha önemli olan büyük çalışmalarda, ilacın aslında faydasız olduğu görülebilmektedir. Bu durum, yakın zamanda IFN- γ 'yı araştıran çalışmalarda görülmüştür. IFN- γ ile ilgili olarak yapılan ilk çok merkezli çalışmada, İPF'li 330 hasta IFN- γ veya plasebo almak üzere randomize edilmiştir. Hastalar 48 hafta boyunca çalışma ilacı ile tedavi edilmiş ve çalışmanın primer sonlanım noktası progresyondan bağımsız sağkalım süresi olarak belirlenmiştir. Çalışmada primer sonlanım noktası açısından IFN- γ 'dan bir yarar görülmemiştir. Bununla birlikte sekonder sonlanım noktaları değerlendirildiğinde IFN- γ alan grupta sağkalımda iyileşmeye meyil gözlenmiş fakat aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yapılan bu çalışma, ilacın sağkalım üzerine etkisini saptayacak kadar geniş bir hasta popülasyonunda yapılmamış olduğundan, özellikle sağkalımı değerlendirmek amacıyla 800'den fazla İPF hastasının dahil edilmesi planlanan ikinci bir çalışma düzenlenmiştir. Ancak yapılan bu ikinci çalışma da, plaseboya kıyasla IFN- γ 'nın faydasının olmadığını ortaya koyan bir ara dönem analizinden sonra erken sonlandırılmıştır (42).

Tümör nekroz faktör- α blokajı

Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinde tümör nekroz faktör (TNF)- α 'nın anlamlı ölçüde arttığı bulunmuştur. TNF- α nötralizasyonu akciğer

parenkim selülaritesinde azalma, alveoler septal kalınlaşmada ve alveoler yapıdaki bozulmada azalma ve sonuçta fibroziste azalma ile sonuçlanır. Randomize, prospektif, çift kör, plasebo kontrollü çok merkezli bir çalışma, klinik olarak progresif seyirli olan 88 İPF'li hastada etanerseptin etkinliğini araştırmıştır. Hastalara haftada iki kez subkutan etanersept veya plasebo uygulanmıştır. Çalışmanın primer sonlanım noktaları; bazal değerler ile 48 haftalık tedavi sonrasındaki hemoglobine göre düzeltilmiş DL_{CO}'da ve beklenen zorlu vital kapasite (FVC) yüzdesinde ve istirahatte alveolo-arteriyel O₂ basınç farkındaki değişiklik olarak belirtilmiştir. Tanımlanan sonlanım noktaları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamış; etanersept alan hastalarda çeşitli fizyolojik, fonksiyonel ve yaşam kalitesi sonlanım noktalarında hastalığın progresyonunda anlamlı olmayan bir azalma görülmüştür (43).

Antifibrotik ajanlar

İPF'de immünsupresiflerle veya antiinflamatuvar ajanlarla elde edilen sonuçlar ümit kırıcı olduğundan antifibrotik ajanların kullanıldığı yeni stratejiler savunulmuş fakat bu ajanların da etkinliği kanıtlanamamıştır (1).

Pirfenidon

Gelecek vadeden ilaçlardan bir tanesi olup Amerika ve Japonya'da faz I ve faz II çalışmaları yapılmıştır. Pirfenidon kullanımının 105 İPF hastası üzerinde denendiği bir çalışmada hastalara ya çalışma ilacı ya da plasebo verilmiştir. Çalışmanın primer sonlanım noktası 6 dakika yürüme testi sırasında puls oksimetre cihazı ile ölçülen O₂ saturasyonu olarak belirlenmiştir. Çalışma, plasebo grubunda mortalitenin fazla olması nedeniyle erken sonlandırılmıştır. Primer sonlanım noktası açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamış ancak pirfenidon'un FVC ölçümlerinde ve sağkalımda yarar sağladığı gösterilmiştir (22).

Kolşisin

Kolşisin, kollajeni ve fibroblast çoğalması için gerekli bir dizi önemli büyüme faktörünün salgılanmasını, ayrıca fibrozis gelişiminden sorumlu fibronektin ve alveoler makrofaj kaynaklı büyüme faktörü gibi mediatörlerin salınımını inhibe eder. Bu etkileri, İPF'li hastalarda yapılacak birtakım klinik çalışmalara temel teşkil etmiştir (41). Kolşisin hayvan modellerinde ve in vitro ortamda, ekstraselüler alanı

ayarlar ve kollajen oluşumunu inhibe eder. Ayrıca sarkoidozlu veya İPF'li hastalardan alınan ve in vitro kültürde çoğaltılan alveoler makrofajlardan fibronektin ve alveoler makrofaj kaynaklı büyüme faktörü salınımını baskılar. Yapılan tek randomize, kontrollü, açık çalışmada İPF'li 26 hasta 12 ay boyunca kolşisin ya da prednizon ile tedavi edilmiştir. İki buçuk yıllık takip sonrasında hastaların çoğu ne kolşisine ne prednizona cevap vermiş ve hastalık çoğunlukla ilerlemeye devam etmiştir (41). Bu nedenle günde bir ya da iki defa 0,6 mg oral kolşisin birinci basamak tedavide veya KS'lere dirençli olan hastalarda tek başına veya immünesupresif/sitotoksik ajanlarla birlikte kullanılabilir (1).

D-penisilamin

D-penisilamin kollajen moleküllerinin çapraz bağlarını keserek kollajen depolanmasını azaltır ve kollajen sentezini ve döngüsünü inhibe eder. D-penisilamin İPF tedavisinde yaygın olarak kullanılmış olmasına rağmen, kaliteli kontrollü çalışmalar mevcut değildir. Yararına dair mevcut kanıtlar ve sık görülen yan etkiler nedeniyle D-penisilamin İPF'de bir tedavi seçeneği olarak görülmemektedir (41).

Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri ve statinler

Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEİ) ve statinlerin in vivo ve in vitro deneysel modellerde antifibrotik özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. ACEİ alan 52 hasta ve statin alan 35 hastanın sağkalımının değerlendirildiği bir retrospektif derlemede ACEİ veya statin alanlar ile hiçbir tedavi almayan İPF'li hastalar arasında sağkalım açısından anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla 2,5 yıla karşı 3 yıl; $p=0,066$) (41).

Akciğer fibrozisinin tedavisinde denenen diğer antifibrotik ajanlar arasında relaksin (prokollajenazı artırır), halfuginon (kollajen sentezini inhibe eder), suramin (profibrotik sitokin inhibisyonu) ve prostaglandin E2 (kollajen üretimini inhibe eder) bulunmaktadır (1).

Antioksidanlar

İPF'deki epitelyal hasarlanmaya oksijen radikallerinin aracılık etme ihtimali göz önüne alındığında antioksidan stratejilerin yararlı olabileceği düşünülmüştür.

N-asetilsistein

Glutasyon (toksik oksijen radikallerinin etkili bir temizleyicisi olup mitojenlere cevap olarak oluşan akciğer fibroblast proliferasyonunu baskılar), taurin (doğal bir serbest aminoasittir) ve niasin, üçü birlikte hayvan modellerinde deneysel fibrozis gelişimini inhibe etmektedir. İPF'li hastaların akciğerinde glutasyonun azaldığı bilinmektedir. Glutasyonun doğal bir prekürsörü olan N-asetilsistein (NAC), İPF için bir başka potansiyel tedavidir. Teorik olarak, verilen oral NAC, glutasyon depolarını doldurmalı ve doğal oksidan/antioksidan dengesini yeniden sağlayarak fibroproliferasyonla neticelenen oksidatif hasarlanmayı önlemelidir. Prospektif, kontrollü olmayan, 18 hastadan oluşan küçük bir çalışmada NAC alan hastaların akciğer fonksiyon ölçümlerinde ve glutasyon düzeylerinde iyileşme olduğu gösterilmiştir. Bu pilot çalışma 184 İPF hastasından oluşan randomize, çift kör, plasebo kontrollü büyük bir çalışmaya öncülük etmiştir. Bu çalışmada prednizon/azotiopürin/NAC rejimine karşı yalnızca prednizon/azotiopürin tedavisi karşılaştırılmıştır. Çalışmanın primer sonlanım noktası zorlu vital kapasite ve DL_{CO}'da değişikliklidir. Her iki parametrenin azalma oranında NAC grubu lehine anlamlı farklılık saptanmıştır. Bununla birlikte mortalite açısından iki grup arasında fark bulunmamıştır (41).

2.3.7.3. İPF Tedavisinde Etkinliği Araştırılan Diğer Ajanlar

İmatinib mesilat

Daniels ve ark.nın yaptığı çok merkezli, çok uluslu, çift kör, plasebo kontrollü randomize bir çalışmada İPF'li 119 hastaya, 96 hafta boyunca bir tirozin kinaz inhibitörü olan imatinib veya plasebo verilmiştir. Çalışmanın primer sonlanım noktası progresyona veya ölüme kadar geçen zamandır. Çalışmanın sonunda, hem primer sonlanım noktası hem de akciğer fonksiyonları açısından her iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (44).

FG-3019

Bağ doku büyüme faktörü, İPF patogeneğinde önemli bir role sahip olup akciğerin fibrozisi ve skarlaşmasına neden olan kollajen ve fibronektin üretimini tetikler. FG-3019, bağ doku büyüme faktörünün profibrotik aktivitesini engellemek

için tasarlanmış terapötik bir antikor olup 2003 yılında faz I, açık uçlu, ilacın İPF'li hastalardaki güvenilirliği ve tolere edilebilirliğinin denendiği bir çalışma planlanmıştır. Çalışmanın sonuçları henüz yayınlanmamıştır (41).

Rapamisin

Rapamisin (sirolimus olarak da bilinir), sıçanlarda bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde bazal kollajen düzeyleri üzerinde bir yan etki oluşturmaksızın akciğerde kollajen birikimini inhibe etmiştir. Bu etkisinden yola çıkılarak Avustralya'da ilacın standart tedaviyle karşılaştırıldığı açık, randomize, çok merkezli klinik bir çalışma planlanmıştır. Çalışmanın sonuçları henüz yayınlanmamıştır (41).

Endotelin reseptör 1 antagonisti

Endotelyal hücre kaynaklı endotelin (ET)-1, endotelyal hücreler, vasküler düz kas hücreleri ve tümör hücreleri için kuvvetli bir mitojendir. ET-1, başlıca epitelyal hücrelerin yüzeyinde bulunur ve İPF'li akciğerlerde ekspresyonu artmıştır. Bazı çalışmalar, bu mediyatörün inhibisyonunun antifibrotik etkileri olacağını göstermiştir. Bosentan, ET A ve B reseptörlerinin selektif olmayan bir inhibitörü olup primer pulmoner hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bosentanın İPF'nin progresyonunu geciktireceği düşünülerek randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma (BUILD-1) planlanmıştır. Çalışmanın primer sonlanım noktası birinci yılın sonunda 6 dakika yürüme testindeki değişiklik; sekonder sonlanım noktaları ise hastalığın progresyonuna veya ölüme kadar geçen süre, solunum fonksiyon testlerinde değişiklik ve St. George solunum anketi kullanılarak yaşam kalitesinin değerlendirilmesiydi. Çalışmaya toplam 158 hasta alınmış; hastalara randomize olarak bosentan veya plasebodan biri verilmiştir. Çalışmanın sonunda, 6 dakika yürüme testi üzerinde bosentan tedavisinin plaseboya üstünlüğü gösterilememekle birlikte bosentan kolunda yaşam kalitesinde iyileşme ve hastalığın progresyonuna veya ölüme kadar geçen sürede gecikme eğilimi olduğu gözlenmiştir (45).

Antilökotrien ilaçlar

Lökotrienler (LT) fibroblast göçünü, çoğalmasını ve matriks protein sentezini indükleyerek profibrotik özellik gösterirler. İPF'li hastaların akciğerlerindeki artmış

LTB₄ ve LTB₅ seviyeleri, bu hastalıkta esas olarak 5-lipooksijenaz yolağının aktive olduğunu düşündürmüştür. Bir 5-lipooksijenaz inhibitörü olan zileutonun, prospektif, randomize, kontrollü bir çalışmada İPF'li hastalardaki etkinliği araştırılmıştır. Çalışmaya hasta alımı bitmiş ancak çalışma halen devam etmektedir (41).

2.3.7.4. Farmakolojik Olmayan Tedaviler

Akciğer transplantasyonu

Akciğer transplantasyonu optimal tedaviye rağmen fizyolojik olarak giderek kötüleşen ve cerrahi kriterleri karşılayan hastalarda düşünülmelidir. Günümüzde önerilen cerrahi operasyon tek akciğer transplantasyonudur. Ciddi fonksiyon kaybı olan, oksijene bağımlı ve giderek kötüleşen hastalar, özel kontrendikasyonları olmadıkça sıraya alınmalıdır. Akciğer transplantasyonun rölatif kontrendikasyonları arasında sağkalımı negatif yönde etkileyebilecek anstabil veya uygunsuz psikososyal durum veya önemli ekstrapulmoner hastalıklar (karaciğer, renal veya kardiyak fonksiyon bozukluğu) bulunmaktadır. Birçok merkez akciğer transplantasyon adaylarına 60 yaş sınırlaması getirmektedir. Sınırlı donör imkanı olması nedeniyle hastaların erkenden listeye alınmaları önemlidir; uygun donör organ bekleme süresi genellikle 2 yılı aşmaktadır. Maalesef ciddi düzeyde İPF'si olan ya da hızlı progresyon gösteren hastalar transplantasyonu beklerken kaybedilmektedir. Başarılı bir transplantasyondan sonra arteriyel oksijen basıncı sıklıkla ek oksijen ihtiyacını ortadan kaldıracak şekilde düzeler, akciğer hacimleri ve DL_{CO} artar, pulmoner hipertansiyon ve sağ ventriküler disfonksiyon geriye döner. Transplantasyondan sonra ortalama sağ kalım %50 ila %60 civarındadır. Greft kaybı, infeksiyon ve kalp yetmezliği erken mortalitenin en sık nedenleri iken bronşiyolitis obliterans, infeksiyon ve malignensi geç mortalitenin çoğundan sorumludur (1).

2.4. *Nigella Sativa* (Çörek Otu)

Son yıllarda, doğal ürünlere olan ilginin giderek artması ve geleneksel ilaçların yan etkileri hakkındaki endişe, çeşitli hastalıkların tedavisinde ve iyileştirilmesinde bitkisel ilaçların alternatif olarak kullanılmasını gündeme getirmiştir. Aslında bitkisel tedavi, çok eski zamanlardan beri kullanılagelen bir

yöntem olup farklı kültürlerde ve farklı coğrafyadaki insanların, benzer hastalıklar için aynı bitkiyi kullandıkları bilinmektedir (2).

Gelecek vadeden medikal bitkiler arasında olan *Nigella sativa* (*N. sativa*), zengin tarihi geçmişi ile enteresan bir bitkidir. Ranunculaceae ailesinden çift çenekli bir bitki olan *N. sativa*, Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Asya’da yetişmektedir. *N. sativa* gür, kendinden dallanan, beyaz veya soluktan koyuya doğru mavi yaprakları olan bir bitkidir. Meyve kapsülü çok sayıda beyaz, trigonal tohumlardan oluşmaktadır. Meyve kapsülü olgunlaştığı zaman açılır ve içindeki tohumlar havayla temas ederek siyahlaşır. Bu bitkinin aktif bileşenlerinin kaynağı, tohumudur.

N. sativa tohumları eski Mısır ve Yunan doktorları tarafından baş ağrısı, diş ağrısı, nazal konjesyon ve barsak kurdu tedavisinde, menstrüasyonu desteklemek amacıyla, diüretik olarak ve postpartum dönemde süt yapımını artırmak amacıyla; Orta ve Doğu Asya’da bronşiyal astım, baş ağrısı, dizanteri, infeksiyonlar, obezite, sırt ağrısı, hipertansiyon ve gastrointestinal problemler gibi çok sayıdaki hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Dünya genelinde egzema gibi cilt hastalıklarında kullanımı oldukça kabul görmektedir. Toz haline getirilen tohumlar doğrudan, apse ve nazal ülserler, orşit ve romatizmal hastalıkların tedavisinde uygulanmıştır. *N. sativa* yağının başlıca aktif bileşenleri “thymoquinone (TQ)”, “dithymoquinone (nigellone)”, “thymohydroquinone” ve “thymol”dür.

N. sativa Türkiye’de Afyon, Burdur ve Isparta’da yetişmektedir (46). Nergiz ve ark.nın Türkiye’de yetişen *N. sativa*’nın kimyasal bileşenlerini araştırdıkları çalışmada *N. sativa* tohumunda yüksek oranda protein (%20), yağ (%30), karbonhidrat (%37) ve potasyum (1180 mg/100 gr) tespit edilmiştir. Dokuz esansiyel aminoasitin sekizini içeren proteinleri bünyesinde barındıran *N. sativa* yağının, esansiyel doymamış bir yağ asidi olan linoleik asidi yüksek oranda (%61) ihtiva ettiği bulunmuştur. Buna ilave olarak diğer yemeklik yağlarda bulunmayan bir yağ asidi olan ve prostaglandinlerin üretiminde kullanılan eikosadienoik asidin de *N. sativa* yağında bulunduğu tespit edilmiştir (% 17). Yine *N. sativa* yağında, E-vitamini aktivitesi ve antioksidan etki gösteren tokoferollerin bulunduğu ve bunların toplam miktarının 340 mg/kg gibi önemli seviyede olduğu saptanmıştır. Buna ek olarak, B-grubu vitaminlerden B1, B2, B6, niasin ve folik asidin bulunduğu,

bunlardan özellikle B1, B6 ve niasinin çok yüksek oranlarda olduğu tespit edilmiştir. Mineral maddelerden potasyumun yanında, önemli miktarlarda kalsiyum, sodyum ve demir elementlerini de ihtiva etmektedir. Yemelik yağlardan sadece doğal zeytinyağında önemli miktarlarda bulunan fenolik bileşiklerinin *N. sativa*'da, zeytinyağındakinden 4-5 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin değişik tiplerde olabileceği ve buna bağlı olarak farklı tesirlere sahip oldukları bildirilmektedir (46).

Altmışlı yıllardan bu yana yapılan farmakolojik çalışmalar, bu bitkinin birçok alanda faydalı olduğunu göstermiştir (3). Çalışmaların sonucunda *N. sativa*'nın antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik, antihistaminik, antinosiseptif, hepatoprotektif, gastroprotektif, ürikozürük, koleretik, antidiyabetik, antilipidemik, diüretik ve antihipertansif, bronkodilatör ve kalsiyuma antagonistik, antikanseröz, antihelmintik, antifungal ve antimikrobiyal etkileri gösterilmiştir (4-11).

2.4.1. *N. sativa*'nın Antioksidan Özellikleri

Biyolojik yapılardaki oksidatif hasarın, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalığın patofizyolojisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu oksidatif hasarın nedeninin, aşırı oksidatif stres nedeniyle serbest radikallerin oluşumundaki artış veya vücuttaki radikal temizleyici kapasitesindeki azalma sonucu prooksidan durumların baskın hale gelmesi ve böylelikle prooksidan (serbest radikaller) ve antioksidan (radikal temizleyici) mediyatörler arasındaki dengenin prooksidan mediyatörler lehine değişmesi olduğu bildirilmiştir. Elektriksel olarak yüklü moleküller olan O₂, hidroksil radikali (OH⁻) ve nitrik oksiti (NO) içeren serbest radikaller (bunlar toplu halde oksidatif stres olarak bilinir) hücelere saldırır, hücresel membranı yırtarak vücuttaki nükleik asit, protein ve enzimlerle reaksiyona girerek hasar oluştururlar. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) saldırısı hücre yapısında ve fonksiyonunda hasarlanmaya neden olabilir ve sonunda hücreleri yok edebilir. ROS'lar başlıca makrofajlar ve nötrofiller gibi immün sistemin belirli hücreleri tarafından üretilir.

İn vitro çalışmalar *N. sativa* tohumu özütünün, eritrositleri hidrojen peroksitin (H₂O₂) neden olduğu lipid peroksidasyonundan, protein yıkımından, şekil değiştirebilme özelliğini kaybetmekten ve artmış osmotik frajiliteden koruduğunu

göstermiştir. *N. sativa* tohumu özütünün laringeal karsinoma hücrelerini lipopolisakkarit veya kortizol tarafından indüklenen programlı hücre ölümünden (apoptozis) koruduğu bildirilmiştir. Bir başka çalışmada TQ, in vitro ortamda, konsantrasyona bağımlı olarak demir bağımlı mikrozomal lipit peroksidasyonunu etkili bir şekilde inhibe etmiştir. TQ izole edilmiş hepatositleri terbutil hidroperoksit bağımlı toksisiteye karşı anlamlı ölçüde korumuş ve bu koruma L-alanin aminotransferaz (ALT) ve alkalin fosfatazın (ALP) seviyelerinde azalma ile kanıtlanmıştır (8). Sonuçta doz ve zaman bağımlı bir davranış gösteren TQ, NO sentezi için bir parametre olan nitrit üretimini azaltır ve hücre canlılığını etkilemeksizin lipopolisakkaritle uyarılmış makrofajların süpernatandaki indüklenebilir nitrik oksit sentazın (iNOS) hem protein sentezi seviyelerini hem gen ekspresyonunu azaltır. Polimorfonükleer lökositlerin TQ ile uyarılması, süperoksit anyon radikale karşı koruyucu etki göstermiş olup bu durum TQ'nun etkin bir radikal temizleyicisi olduğunu göstermektedir (2).

Hem hepatotoksisite hem de nefrotoksisite; ALT, ALP, lipit peroksit gibi bazı mediyatörlerin düzeylerinde ve aktivitelerinde ve indirgenmiş glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi oksidan kovucu enzimlerin aktivitelerinde değişimle ilişkilidir. İn vivo fare-sıçan modellerinde *N. sativa*'nın tert-butil hidroperoksit, karbon tetraklorid (CCl₄), doksorubisin, gentamisin, metyonin, potasyum bromat, sisplatin veya *Schistosoma mansoni* enfeksiyonuna bağlı gelişen toksisite üzerine antioksidan özellikleri olduğu gösterilmiştir (2). CCl₄ bağımlı toksisitede *N. sativa* yağı serum lipit profilinde iyileşmeyle birlikte; artan serum potasyum ve kalsiyum seviyelerini düşürmüştü; azalmış eritrosit, lökosit ve hemoglobin seviyelerini iyileştirmiş; artmış lipit peroksit ve enzim seviyelerini düşürmüştü ve azalmış antioksidan enzim seviyelerini arttırmış; sonuçta hepatotoksisiteye karşı koruyucu etki göstermiştir (47-51). Bunun ötesinde *N. sativa* yağı ile tedavi, tavşanlarda CCl₄ bağımlı karaciğer fibrozisini önlemiş, beraberinde antioksidan durumunda iyileşme sağlamıştır (52). Gentamisine bağlı toksisitede *N. sativa* yağı ile tedavi, nefrotoksisitenin biyokimyasal ve histolojik göstergelerinde doza bağımlı bir düzelme ile birlikte GSH konsantrasyonunda ve renal korteksin total antioksidan durumunda artış sağlamıştır (53). Sıçanlarda potasyum bromat bağımlı renal oksidatif stres profilaksisinde verilen oral *N. sativa* özütü ile renal LPD ve

oksidatif strete anlamlı ölçüde azalma ile birlikte renal glutasyon içeriği ve antioksidan enzimlerde belirgin bir artış sağlamıştır (54). Sıçanlarda oral etanol uygulanması ile oluşturulan ve serbest asiditede ve glutasyon seviyesinde anlamlı ölçüde azalmaya neden olan gastrik ülser modelinde, ülser oluşturulmadan önce *N. sativa* ile 3 gün boyunca tedavi edilen sıçanlarda glutasyon seviyesinde, müsin içeriğinde ve serbest asiditede artış saptanmıştır. Farelerin CCl₄ enjeksiyonundan bir saat önce TQ ile profilaktik tedavisi, CCl₄'e bağlı gelişen hepatotoksisiteyi iyileştirmiş; bu iyileşme artmış serum enzim düzeylerinde anlamlı oranda azalma ve hepatik GSH içeriğinde anlamlı artış ile gösterilmiştir (55, 56).

Sıçanlarda doksorubisin ile oluşturulan nefrotoksisite, kardiyotoksisite ve oksidatif stres üzerine TQ'nun etkisi, sonuçta oluşacak nefrotik hiperlipidemi ve hiperproteinürinin önlenmesi ve oksidatif stres biyomarkırlarının değerlerinin normale dönmesi şeklinde olmuştur (57). Sıçanlar iskemi/reperfüzyon hasarına maruz bırakıldığında *N. sativa* yağı veya TQ'nun enjeksiyonu laktat dehidrogenaz (LDH), GSH ve SOD düzeylerini normale getirme eğilimindedir (58). *Schistosoma mansoni* infeksiyonu, karaciğerde yoğun miktarda kurt ve yumurta depolanmasına bağlı olarak karaciğer fonksiyonlarında belirgin bozulmaya yol açar. *N. sativa* yağının uygulanması kurt ve yumurta yükünü anlamlı ölçüde azaltmış; beraberinde şistozoma'ya bağlı karaciğer fibrozisinde kısmi düzelme ve serum ALT, GSH ve ALP aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. Bu anti-şistozomal etki, *N. sativa*'nın antioksidan etkilerine bağlı gibi gözükmetedir (59). Türkdoğan ve ark., tavşanlarda CCl₄ bağımlı karaciğer fibrozisinde *N. sativa* yağı ile tedavinin hepatoselüler nekrozu, dejenerasyonu ve ilerlemiş fibrozisi azalttığını göstermiştir (52).

2.4.2. *N. sativa*'nın Antihistaminik Özellikleri

Halk arasında *N. sativa* tohumlarının histamin aracılı inflamatuvar hastalıklara faydalı olduğuna inanılmaktadır. *N. sativa* tohumundan izole edilen uçucu bir yağ olan "nigellone", bronşiyal astımı olan hastalara verildiğinde hastaların çoğunda semptomları büyük oranda baskıladığı görülmüştür (60). Bu çalışmayı takiben "nigellone", bronşiyal astımı olan çocuk ve yetişkinlere verilmiş ve herhangi bir toksisite emaresi olmadan etkili sonuçlar elde edilmiştir. Bir klinik çalışmada

alerjik rinit, bronşiyal astım, atopik egzemadan oluşan alerjik hastalığı olan hastalarda *N. sativa* yağı tedavisi immünglobulin E, eozinofil sayısı, plazma ve idrarda endojen kortizol düzeylerini düşürmüştür (61).

2.4.3. *N. sativa*'nın Antiinflamatuvar Özellikleri

N. sativa bileşenlerinin antiinflamatuvar etkileri deneysel alerjik ensefalomyelit (DAE), kolit, artrit gibi çeşitli inflamatuvar hastalıklarda gösterilmiştir. santral sinir sisteminin otoimmün demiyelinizan bir hastalığı olan DAE, insanlardaki multipl skleroz hastalığının hayvanlardaki modeli olarak kabul görmüştür. Bu hastalığın başlangıcında ve progresyonunda oksidatif stres merkezi bir rol oynamaktadır. DAE'si olup TQ verilen sıçanlarla verilmeyen sıçanlar karşılaştırıldığında TQ alan grupta glutasyon düzeyinin daha yüksek olduğu, perivasküler inflamasyon ve hastalığa ait semptomların olmadığı görülmüştür (62). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada sıçanlarda kolon içine %3'lük asetik asit enjeksiyonu ile kolit oluşturulduğunda, hayvanların 3 gün öncesinde TQ ile profilaktik tedavisi asetik asite bağlı kolite karşı tam koruma sağlamıştır. Üstelik bu etkinin, bir antikolit ilaç olan sülfasalazinin etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür. TQ'nun antikolit etkileri biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri normale çevirmesi ile ilişkili bulunmuştur (63).

Uzun zamandan beri *N. sativa* yağının artrit etkilerini hafifletici antiinflamatuvar bir etkinliği olduğu bilinmektedir. Merhem şeklinde harici olarak kullanıldığında *N. sativa*'nın antiinflamatuvar aktivitesinin diğer benzer ticari ürünlerin etkisiyle aynı oranda olduğu; ek olarak *N. sativa* yağının cilt alerjisine yol açmadığı bildirilmiştir (64).

2.4.4. Akciğer Hastalıklarında *N. sativa*

N. sativa'nın akciğer hastalıklarındaki etkisi, 2000'li yılların başından beri birçok araştırmacı tarafından çalışma konusu olmuş ve yapılan çalışmaların çoğunda olumlu sonuçlar elde edilmiştir (65-67).

2.4.4.1. *N. sativa* ve Akut Solunum Sıkıntısı Sendromu Modeli

Işık ve ark., gastrik asit vererek sıçanlarda deneysel akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) modeli oluşturmuş ve *N. sativa*'nın aktif maddelerinden biri olan thymoquinone'nun ARDS üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda TQ kolunda oksijenasyonun ve kompliyansın düzeldiği ve kontrol grubuna göre daha az akciğer alanının etkilendiği bildirilmiştir ($p<0,05$). Mikroskopik incelemede ise etkilenen akciğer alanlarında bile intraalveoler hemoraji, nötrofil migrasyonu, interstisyel ödem ve hyalin membran oluşumunun daha az olduğu görülmüş, ancak bu açıdan değerlendirmek amacıyla bir ölçek oluşturulmadığından bu sonuç yalnızca gözleme dayanmıştır (65).

2.4.4.2. *N. sativa* ve Pulmoner Aspirasyon Modeli

Kanter'in yaptığı bir çalışmada ise deneysel pulmoner aspirasyon modeli oluşturulan sıçanlarda *N. sativa* tedavisinin, hidroklorik asit kolunda peribronşiyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler septal infiltrasyon, alveoler ödem, alveoler eksuda, alveoler makrofajlar, interstisyel fibrozis, granülom ve nekroz oluşumunu azalttığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna ek olarak iNOS aktivitesinde azalma ve sürfaktan protein D'de artış olduğu bildirilmiştir ($p<0,05$) (66).

2.4.4.3. *N. sativa* ve Alerjik Havayolu İnflamasyonu

Bir başka çalışmada, sıçanlarda oluşturulan alerjik havayolu hastalığında *N. sativa* yağının verilmesiyle IL-4, IL-5, IL-6 ve TGF- β 1 seviyelerinde belirgin azalma olduğu, bronkoalveoler lavaj sıvısında eozinofillerin, makrofajların ve lenfositlerin sayısında azalma görüldüğü ($p<0,05$); *N. sativa* yağının, inflamatuvar hücre infiltrasyonunu en aza indirmek suretiyle akciğer inflamasyonunu inhibe ettiği, hiç goblet hücresi veya kollajen lif oluşumu görülmeden bronşiyal ve alveoler epitel hiperplazisini azalttığı görülmüştür (67).

2.5. İPF'de Bleomisin Modeli

Hayvan modelleri, hastalıkları araştırmada önemli bir rol oynamaktadır. Kronik hastalık modeli oluşturmak ise oldukça güçtür. Yıllar içinde, değişik

pulmoner fibrozis modelleri oluşturulmuş; bu modeller içerisinde bleomisin uygulaması standart model olarak kabul görmüştür.

Bleomisin, *Streptomyces verticillus* adlı bakteri tarafından üretilen bir kemoterapötik ajandır. Hayvan modellerinde kullanımı, insanlarda kanser tedavisi sırasında önemli bir yan etkisi olan pulmoner fibrozis oluşumuna neden olmasına dayanmaktadır. Lenfoma, skuamöz hücreli karsinomlar, germ hücreli tümörler ve malign plevral efüzyonların tedavisinde (intraplevral uygulama ile) önemli bir rol oynayan bleomisin, etkisini, tümör hücrelerinde tek ve çift sarmallı DNA kırıklarına yol açmak suretiyle hücre siklusunu kesintiye uğratarak gösterdiğine inanılmaktadır. Bu, metal iyonların şelasyonu ve oluşmuş psödoenzimin oksijenle reaksiyonu sonucu oluşur ve bunlar da DNA kırıcı süperoksit ve hidroksil serbest radikallerinin üretimine yol açar. ROS'un normalden fazla üretimi pulmoner toksisiteye, fibroblastların aktivasyonuna ve akabinde fibrozise yol açan inflamatuvar bir cevaba neden olabilir. Bleomisini inaktive eden bir enzim olan bleomisin hidrolaz, farklı dokularda bu ilacın etkilerini ciddi şekilde etkilemektedir. Bu enzim akciğerlerde düşük miktarda bulunmaktadır, bu nedenle akciğerler bleomisinle oluşan doku hasarlanmasına yatkındır. İlacın hastalardaki yan etkileri doza bağımlı ve yaşla ilişkilidir ve çoğunlukla sigara öyküsü veya öncesinde bir akciğer hastalığı varlığında ortaya çıkmaktadır. Akciğer toksisitesi bleomisin alan hastaların yaklaşık %10'unda gelişmektedir ve klinik olarak öksürük, dispne, ateş, siyanoz ve solunum fonksiyon parametrelerinde kötüleşme ile ilişkilidir. Bu yanıt, hastaların yaklaşık %1'inde haftalar ve aylar içerisinde pulmoner fibrozise ilerleyebilmektedir (12).

Bleomisin, deneysel pulmoner fibrozis oluşturulması amacıyla ilk defa 1971'de köpekler üzerinde denenmiştir (68). Daha sonra farelerde, hamstırlarda, sıçanlarda ve tavşanlarda da kullanılmıştır (12). Başlangıçtaki proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ) artışını takiben 14. gün civarında profibrotik mediyatörlerin ekspresyonu (TGF- β 1, fibronektin, prokollajen-1) zirve yapar. İnflamasyondan fibrozise geçiş, bleomisinden sonraki 9. gün civarında meydana gelmektedir.

2.5.1. Bleomisinin Veriliş Yolu

Bleomisinin standart uygulaması intratrakeal yoldan verilmesidir. Onun dışında oral, subkutan, intraperitoneal veya intravenöz olmak üzere farklı uygulama yolları denenmiştir. Fare ve sıçanlar en çok kullanılan türlerdir; bunları hamstırlar, tavşanlar ve köpekler takip eder. Sonlanım noktaları 1. günden 80. güne kadar değişebilmekle birlikte sıklıkla 14. ve 28. günler arasındadır. Özellikle 21. günden sonra standart sonuç parametreleri oldukça değişken olduğundan ve hatta bazal düzeye geri dönebileceğinden bleomisin modelinde doğru sonlanım noktasını seçmek çok önemlidir (12). Moeller ve ark.nın, bleomisinle pulmoner fibrozis modeli oluşturulmuş çalışmaları değerlendirdikleri derlemede; 221 çalışmanın 211'inde inflamasyonu önleyici tedavilerin denendiği, 10 çalışmada ise fibrozis gelişiminin önlenmesine yönelik düzenleme yapıldığı görülmüştür (12). Oluşturulan hastalığın erken fazında (≤ 7 gün) inflamasyon baskın olduğundan, verilen maddenin antiinflamatuvar özelliğinin değerlendirilmesi için erken fazda, antifibrotik özelliğinin değerlendirilmesi için ise geç fazda (>7 gün) uygulanması daha doğru olacaktır. Çalışmaların tümünde, uygulanan ajanların başarılı olduğunun ve antifibrotik etkinliğinin bildirilmesine karşın gerçekten antifibrotik olarak etkin diyebilmek için uygulanan maddenin veriliş zamanından bağımsız olarak bu etkiyi göstermesi beklenir.

2.5.2. Bleomisin Dozu

Pulmoner fibrozis oluşturmada birçok çalışmada farklı dozlar kullanılmıştır (69-72). Yakın zamanda Chaudhary ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, pulmoner fibrozis oluşumunda optimal dozu bulmak amacıyla sıçanlara verilen farklı bleomisin dozları karşılaştırılmış ve 2,2 mg/kg dozunun, fibrozis oluşturmada en etkin doz olduğu ve bleomisin bu dozda sağkalım ya da vücut ağırlığı üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (73).

2.5.3. Bleomisin ve Akciğerde Oluşturduğu Histopatolojik Değişiklikler

Bleomisinle tedavi edilen hayvanların akciğerlerinde alveoler boşluğun obliterasyonu, kollajenin mural birikimi ve intraalveoler tomurcuklanma gibi

histolojik değişikliklerin İPF'li hastaların akciğerlerindeki değişikliklere benzediği bildirilmiştir. Bu gözlem, bleomisinin insanlardaki hastalığın tipik özelliklerini oluşturabileceği hipotezine öncülük etmiş, bu nedenle bu modelin kullanılması çok yaygın hale gelmiştir. Ayrıca, bleomisin modeli oldukça kolay yapılabilme, kolay ulaşılabilme ve tekrar edilebilme avantajlarına sahip olduğundan iyi bir hayvan modelinden beklenen önemli kriterleri karşılamaktadır. Her bir türde fibrotik bir cevabı elde etmek için uygun dozlar belirlenmiş olup uygulama yoluna bağlı olarak farklı fibrotik paternler gelişmektedir. Bleomisin, standart uygulama olan intratrakeal yoldan verilmesi özellikle bronkosentrik fibrozisle sonuçlanır; intravenöz veya intraplevral verilmesi ise insanlardakine benzer şekilde subplevral skarlaşmaya neden olur.

Bununla birlikte histolojik değişikliklerdeki benzerlik ve tartışma götürmeyen özelliklerine rağmen bleomisin modelinin, insanlardaki İPF'nin progresif mahiyetini anlamada önemli kısıtlılıkları mevcuttur. Bahsedildiği üzere bleomisin, serbest radikallerin normalden fazla üretilmesi, proinflamatuvar sitokinlerin indüksiyonu ve makrofaj ve nötrofillerin aktivasyonu ile tetiklenen; böylece bazı açılardan akut akciğer hasarına benzeyen inflamatuvar bir cevaba neden olmaktadır. Ardından gelişen, hiç değilse kısmi olarak geri dönüşlü olan fibrozis, herhangi bir müdahaleden bağımsızdır. İPF'li hastalardaki yavaş ve geri dönüşsüz progresyon hali, bleomisin modelinde oluşturulamamaktadır.

2.6. Oksidan-Antioksidan Sistemi

2.6.1. Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri (SOR), dış orbitalarında bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküler yapılar olarak tanımlanır. Serbest radikaller biyolojik sistemlerde radyoliz, fotoliz, organik materyalin termal yıkımı, metal iyonlarının ve enzimlerin katalize ettiği redoks reaksiyonu gibi çeşitli reaksiyonlar sonucu oluşur. Tablo 5'de SOR'u oluşturan çeşitli endojen ve ekzojen faktörler yer almaktadır.

Tablo 5. Serbest radikallerin endojen ve ekzojen kaynakları.

Endojen Kaynaklar	Ekzojen Kaynaklar
a. Mitokondriyal/mikrozomal elektron transport zinciri b. Oksidan enzimler 1. ksantin oksidaz 2. indolamin dioksijenaz 3. triptofan dioksijenaz 4. Siklooksijenaz 5. Lipooksijenaz 6. Monoaminooksidaz c. Fagositik hücreler: nötrofiller, monosit ve makrofajlar, eozinofiller, endotelial hücreler d. Otoksidasyon reaksiyonları	a. Diyetsetel 1. doymamış yağ asitleri ve hayvansal proteinler bakımından zengin sebze ve meyve bakımından fakir beslenme 2. Obezite 3. aşırı demir ve bakır alımı 4. gıdaların uygun olmayan koşullarda hazırlanması ve saklanması 5. Alkol b. Çevresel 1. iyonize radyasyon 2. hava kirliliği 3. Sigara 4. asbest, pestisitler gibi kirleticiler 5. güneş ışığı 6. Stres c. İlaçlar 1. antineoplastik ajanlar (adriyamisin) 2. glutasyon tüketen ilaçlar (asetaminofen)

Oksijen bir oksidan ajandır. Normal koşullarda moleküler oksijenin çoğu sitokrom sistemi gibi hücre içi sistemler içinde redüksiyona uğrar. Bununla beraber %1-2 oranında bu yoldan sızan oksijenin biyolojik yapılarda indirgenmesi sonucu, SOR denen birçok reaktif ürün açığa çıkar. SOR'un oluşum basamaklarında öncelikle tek elektron transferi ile moleküler oksijen, süperoksit serbest radikaline dönüşür. Süperoksite iki elektron eklenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Hidrojen peroksit, univalan redüksiyon ile diğer bir protonun eklenmesi sonucu su ve hidroksil radikaline dönüşür. Hidroksil radikali de univalan redüksiyon ile suya dönüşür. NO ise fizyolojik bir serbest radikal olup gevşetişi bir ajan olarak damar endotelinde, fagositlerde ve beyinde üretilir.

Serbest radikaller yüksek reaktiviteye sahip çok kısa yarı ömürleri bulunan yapılar olup, hızla doku bileşenleri ile reaksiyona girebilirler. En reaktif radikal, hidroksil radikalidir. Teorik olarak serbest radikaller sonsuz sayıda reaksiyona neden olabilir. Bu ajanlar redükte edici veya oksitleyici olabilirler. Organizmada SOR'un oluşturduğu reaksiyonlar, radikalın bir diğer radikalle veya radikal olmayan ajanlarla karşılaşması ile oluşur. Serbest radikaller birbiri ile karşılaştığında kovalan bir molekül oluşturacak şekilde reaksiyona girerler. Organizmada radikal olmayan

birçok hücre bileşeni ile de reaksiyona girebilen serbest radikaller bu bileşenlerin yapı ve işlevlerini değiştirir (74). Böylece serbest radikaller organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur:

1. DNA yıkımı
2. Proteinlerin yıkımı ve enzim aktivitelerinde değişiklik
3. Hücre membran lipitleri ve hücre organellerinin yıkımı

2.6.2. Antioksidanlar

ROS oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidanlar olarak bilinirler.

Antioksidanlar 4 ayrı şekilde etki ederler.

1. Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme *toplayıcı* etkidir. Antioksidan enzimler, trakeobronşiyal mukus ve küçük moleküller bu tip etki gösterirler.
2. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme *bastırıcı* etkidir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
3. Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki *zincir kırıcı* etkidir. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.
4. Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması *onarıcı* etkidir.

Antioksidanlar, *endojen kaynaklı* veya *eksojen kaynaklı* olabilirler.

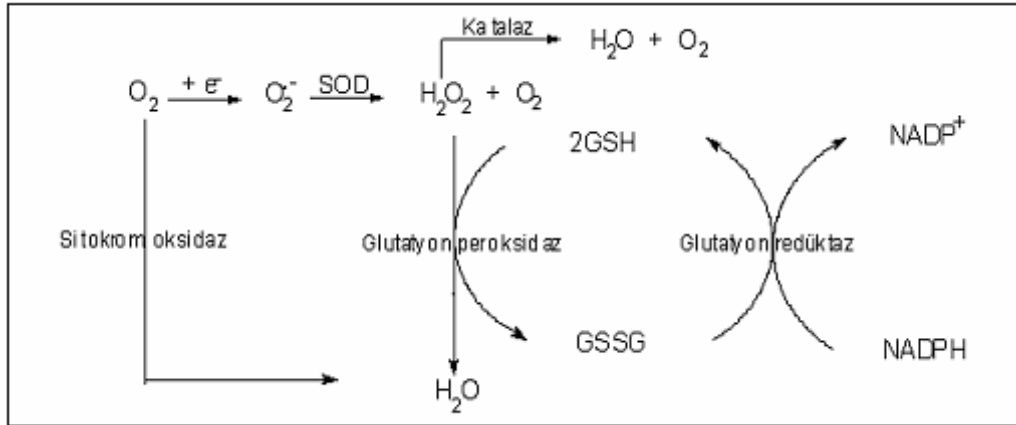
Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

Enzim olan endojen antioksidanlar şunlardır:

1. Süperoksit dismutaz (SOD)
2. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)
3. Glutatyon S-Transferazlar

4. Katalaz
5. Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi
6. Hidroperoksidaz

Şekil 3'de enzimatik antioksidanlar ve onlara ait etki mekanizmaları görülmektedir.



Şekil 3. Enzimatik antioksidanlar ve etki mekanizmaları.

O_2 = oksijen; e^- = elektron; H_2O_2 = hidrojen peroksit; GSH = indirgenmiş glutatyon; GSSG = okside glutatyon; NADP = nikotinamid adenin dinükleotid fosfat; NADPH = indirgenmiş NADP.

Malondialdehit (MDA) kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir göstergesi olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin göstergesi olarak kullanılır (74).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmada, 12-18 haftalık, 262-411 g (ortalama $333,5 \pm 38,7$) ağırlığında, 52 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Öncelikle bir ön çalışma ile sıçanlarda bleomisin ile İPF modeli oluşturulması (75-77) ve *N. sativa*'nın oluşan fibrozisi önlemede etkili olup olmadığının histopatolojik olarak değerlendirilmesi planlandı (78). Ardından *N. sativa*'nın antiinflamatuvar, antifibrotik ve antioksidan etkilerinin araştırılacağı ana çalışmanın yapılması kararlaştırıldı.

3.1. İPF Modeli Oluşturulması

Intratrakeal bleomisin (Bleomisin sülfat, Nippon Kayaku Co., Tokyo, Japonya) uygulaması, i.p yoldan 0,5 mg/kg ketamine + 1 mg/kg xylazine verilmesiyle oluşturulan anestezi altında, boyun orta hattına bir insizyon yapıp trakeayı diseksiyon yoluyla görünür hale getirdikten sonra trakeaya bir kanül (iç çapı 0,9 mm; uzunluğu 25 mm) yerleştirilerek yapıldı. Bleomisin (2,2 mg/kg dozunda), salin solüsyonu (0,25 ml) içinde çözülerek trakeal kanülden akciğere yavaşça verildi. İşlem sonrasında analjezi için tek doz 10-20 mg/kg Pethidine (Aldolan®) subkutan olarak uygulandı.

3.2. Çalışma Grupları

3.2.1. Ön Çalışma

Ön çalışmada sıçanlar 2 gruba ayrıldı. Bleomisin grubuna (n=6) yalnızca tek doz intratrakeal bleomisin (2,2 mg/kg dozunda, 0,25 ml salin ile) verildi ve sıçanlar 16 gün boyunca izlendi. Tedavi grubuna ise, aynı şekilde intratrakeal bleomisin uygulandıktan sonra, 0. günden itibaren 16. güne kadar, günde tek doz oral (gavaj ile) 2 ml/kg *N. sativa* yağı (Nigella sativa yağı %100 saf, soğuk pres yağı, 250 mL, Manolya Doğal ve Aromatik Ürünler Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti., Türkiye) verildi. On altıncı günün sonunda sıçanlara, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulanan 90 mg/kg ketamine HCl + 10 mg/kg xylazine HCl anestezisi altında, kalpten kan alınması

suretiyle ötenazi yapıldı. Patolojik olarak akciğer dokusunda hematoksil-eozin (HE) ve Masson trikrom boyasıyla inflamasyon ve fibrozis değerlendirmesi yapıldı.

3.2.2. Ana Çalışma

Sıçanlar her grupta 8'er adet olmak üzere toplam 5 gruba ayrıldı.

Grup 1 (Kontrol grubu): 0. günde tek doz intratrakeal salin (0,25 ml) verildi.

Grup 2 (Bleomisin grubu): 0. günde tek doz intratrakeal bleomisin (2,2 mg/kg) verildi.

Grup 3 (*N. sativa* grubu): Bu gruba, 0-16. günler arasında, günde tek doz, oral gavaj ile *N. sativa* yağı (2 ml/kg) verildi.

Grup 4 (Bleomisin + uzun süreli tedavi grubu): 0. günde tek doz intratrakeal bleomisin (2,2 mg/kg) uygulamasından sonra, 0-16. günler arasında, günde tek doz, oral gavaj ile *N. sativa* yağı (2 ml/kg) verildi.

Grup 5 (Bleomisin + kısa süreli tedavi grubu): 0. günde tek doz intratrakeal bleomisin (2,2 mg/kg) uygulamasından sonra, 8-16. günler arasında, günde tek doz, oral gavaj ile *N. sativa* yağı (2 ml/kg) verildi.

Sıçanlar, 12 saat gece-12 saat gündüz ayarlı ortamda yeteri kadar (ad libitum) yem (Yem Kurumu Standart Pellet Sıçan Yemi) ve musluk suyu ile beslendi; normal oda sıcaklığı ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) ve neminde tutuldu. Çalışmanın başlangıcında, 7. günde ve çalışma sonunda sıçanlar tartıldı.

Tüm sıçanlara, 16. günün sonunda i.p yoldan uygulanan 90 mg/kg ketamine HCl + 10 mg/kg xylazine HCl anestezisi altında, kalpten kan alınması suretiyle ötenazi uygulandı. Ötenazi sonrasında trakeaya kanül konularak, 4 ml salin ile bronkoalveoler lavaj (BAL) yapıldı. Patolojik olarak akciğer dokusunda HE ve Masson trikrom boyasıyla inflamasyon ve fibrozis değerlendirmesi yapıldı; ayrıca dokuda ve BAL sıvısında, ELISA yöntemi ile (ticari kit kullanılarak) IL-6, TNF- α , TGF- β düzeyi ve SOD enzim aktivitesi ölçüldü. Hem akciğer dokusunda hem de BAL sıvısında MDA, GSH, GSH-Px spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.

3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra sağ akciğer orta ve alt loplari formaldehitli solüsyon içeren kaplara konarak saklandı. Akciğer dokularının histopatolojik incelemesi Ashcroft metoduna göre yapıldı (77). Bu metoda göre hematoxilen eozin ve Masson trikrom ile boyanmış akciğer parafin kesitleri mikroskop altında $\times 10$ 'luk büyütme ile sistematik olarak tarandı. Her bir alan interstisyel fibrozisin şiddeti açısından tek tek değerlendirildi ve daha önceden Ashcroft tarafından tanımlanmış olan ve Tablo 6'da görülen fibrozis şiddeti skalası kullanılarak her bir alana 0 ile 8 arasında bir skor verildi (78). Kesitin tamamı incelendikten sonra, tüm alanların fibrozis skoru toplanıp bakılan alan sayısına bölünerek ortalaması hesaplandı ve bulunan değer, kesitin fibrozis skoru olarak kabul edildi.

Her alanda, baskın olan (alanın %50'sinden fazlasını kaplayan) fibrozis derecesi kaydedildi. Dairesel mikroskop görüntüsünün tümü göz önüne alındı ve patolog tarafından ilk olarak kesitteki parenkim alanının normal veya fibrotik olduğuna karar verildi. Alanda normal doku baskınsa skor 0 olarak verildi. Eğer fibrotik doku baskınsa patolog, alanı yukarıda sözedilen kategorilerden birine yerleştirmeye çalışarak alandaki baskın olan fibrozis derecesine karar verdi. İki tek sayılı kategori arasında karar vermede güçlük olduğunda o alana aradaki çift sayılı skor verildi. Baskın olarak büyük bronş ve damarların olduğu alanlar hesaba katılmadı; bu gibi yapılarla kısmen kaplanmış alanlarda ise geriye kalan alanda baskın olan fibrozisin derecesi değerlendirildi.

Tablo 6. Ashcroft tarafından tanımlanan akciğer fibrozis şiddeti skalası.

Fibrozisin derecesi	Histolojik özellikler
0	Normal akciğer
1	Alveoler veya bronşiyoler duvarda minimal fibröz kalınlaşma
2	Akciğer mimarisinde aşikar hasarlanma olmaksızın ılımlı duvar kalınlaşması
3	
4	
5	Akciğer yapısında belirgin hasarlanmayla birlikte artmış fibrozis ve fibröz bantların ya da küçük fibröz kitlelerin oluşumu
6	Akciğer yapısının ciddi distorsiyonu ve geniş fibröz alanlar; bal peteği akciğer bu kategoridedir.
7	
8	Alanın total fibröz obliterasyonu

3.4. Biyokimyasal Analizler

Çalışma bitiminde i.p yoldan uygulanan 90 mg/kg ketamine HCl + 10 mg/kg xylazine HCl anestezisi altında BAL sıvısı alınan sıçanlar sakrifiye edildi. Sol akciğer üst ve alt lobun yarısı ile sağ akciğer üst lobun yarısı alındı ve akciğer dokuları pH 7,4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Her bir sıçanın akciğer örnekleri tartılarak fosfat tamponu (100 mmol/L, pH 7,4) ile 10 kat seyreltildi. Doku parçalayıcı (Janke & Kunkel Ultraturax T-25, Almanya) ile 10 000 devirde 3 dk süreyle ve daha sonra 30 sn süreyle sonifikiye edilerek (UW-2070 Bandeun Electronic, Almanya) akciğer dokularının homojenizasyonu tamamlandı. Doku örnekleri, soğutmalı santrifüj (Eppendorf 5415-R, Almanya) ile +4°C'de 10 000 devirde 15 dk santrifüj edildi ve süpernatanı alınarak ependorf tüplere aktarıldı. Homojenize edilen örneklerin süpernatanlarında Lowry yönteminin esas alındığı DC Protein Assay (Bio-Rad, Amerika) kullanılarak protein tayini yapıldı (79).

Daha sonra doku homojenatları yedeklenerek çalışılncaya kadar -80°C'de saklandı. Her bir parametre öncesi bir örnek çıkarılarak çözdürüldü.

Akciğer dokusunda ve BAL sıvısında TNF- α , IL-6, TGF- β 1 parametreleri rat spesifik ELISA kitleri ile (TNF- α , Invitrogen marka ELISA kiti ile; IL-6, RayBio ELISA kiti ile ve TGF- β 1, Invitrogen marka ELISA kiti ile); SOD aktivitesi ise Cayman marka ticari kit ile spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

3.5. Akciğer Dokusunda Antioksidan Enzim Düzeylerinin Tayini

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra sol akciğer üst ve alt lopun yarısı ile sağ akciğer üst lobun yarısı alındı. Filtre kağıtları soğuk fosfat tamponuyla ıslatılıp buz paketleri üzerine konarak akciğer dokuları önceden hazırlanmış fosfat tamponu içeren ependorf tüplerine konuldu ve analizin yapılacağı tarihe kadar -80°C'de muhafaza edildi.

Akciğer doku örnekleri tartıldıktan sonra fosfat tamponu (50 mM, pH 7,4) ile sulandırıldı. Daha sonra cam-cam homojenizatör ile parçalanarak doku homojenatları hazırlandı. Bu doku homojenatları lipit peroksidasyon, MDA, GSH-Px ve indirgenmiş GSH analizlerinin yapılması için 1 ay süre ile -26°C'de donduruldu.

3.5.1. Akciğer Dokusunda Lipit Peroksidasyon (MDA) Tayini

Akciğer dokusu homojenatlarında lipit peroksidasyon düzeylerinin belirlenmesi Placer ve ark.nın bildirdiği yöntemle yapıldı (80). Örnekler ile tiyobarbitürik asidin 100°C'de verdiği reaksiyon, 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Schimadzu, UV-1800, Japonya) köre karşı okundu. Değerler μ mol/g protein olarak kaydedildi.

3.5.2. Akciğer ve BAL'da GSH ve GSH-Px Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

GSH enzim aktivitesi Sedlak ve Lindsay'in bildirdikleri yöntemle göre spektrofotometre cihazı ile belirlendi (81). Doku homojenatı ile triklorikasetik asit solüsyonunun oluşturduğu reaksiyon, 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Değerler μ mol/g protein olarak kaydedildi.

GSH-Px enzim aktivitesi Lawrence ve Burk'un bildirdikleri yöntemle göre spektrofotometrede ölçüldü (82). Değerler IU/g protein olarak kaydedildi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Veriler kodlandı ve bilgisayar ortamına aktarılarak SSPS for Windows 15,0 (SPSS Inc. Headquarters, 233 S. Wacker Drive, 11th flor Chicago, Illinois 60606, USA) istatistik programı aracılığıyla istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

Ön çalışmada ilk ağırlık, son ağırlık, ilk ve son ağırlık farkı, inflamasyon ve fibrozis skoru açısından iki grup arasındaki farklılıkların incelenmesinde Mann-Whitney testi kullanıldı.

Ana çalışmada ilk ağırlık, son ağırlık, ilk ve son ağırlık farkı, inflamasyon ve fibrozis skoru açısından iki grup arasındaki farklılıkların incelenmesinde Kruskal-Wallis testi ve farklı grupların belirlenmesinde parametrik olmayan post-hoc Tukey testi kullanıldı. Biyokimyasal değişkenler normal dağılım gösterdiği için grupların karşılaştırılmasında basit varyant analizi ve farklı grupların belirlenmesinde parametrik post-hoc Tukey testi kullanıldı. Korelasyon analizleri için ise Pearson korelasyon testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Ön Çalışma Sonuçları

Ön çalışmada her grupta 6'şar adet olmak üzere toplam 12 sıçan mevcuttu. Sıçanların çalışmanın başlangıcındaki, bitimindeki ağırlıkları, bu ağırlıklar arasındaki fark ve bu iki grubun inflamasyon ve fibrozis skorları arasındaki fark araştırıldı.

Sıçanların çalışma boyunca kaybettikleri ağırlık iki grupta karşılaştırıldığında farklı bulunmadı. Hem yalnızca bleomisin, hem de bleomisin + *N. sativa* verilen grupta akciğer dokusunda inflamasyon ve fibrozis oluşumu gözlemlendi. İnflamasyon ve fibrozisin derecesi açısından da iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

4.2. Ana Çalışma Sonuçları

Çalışmanın başlangıcında tüm grupların ölçülen ilk ağırlıklarının ortalaması 331,6 g, son ağırlıklarının ortalaması 323,2 g olup gruplar arasında çalışma öncesi ağırlık açısından anlamlı farklılık yoktu ($p=0,528$). İlk ve son ağırlık farkına bakıldığında bleomisin grubunun ağırlık kaybettiği, kontrol grubunun kilo aldığı; aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p=0,0001$). Kontrol grubu ile uzun ve kısa süreli tedavi grupları arasındaki ilk ve son ağırlık farkları da istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla $p=0,011$; $p=0,05$). Bleomisin alan tüm grupların kontrol grubuna göre kilo kaybettiği; *N. sativa* yağı eklendiğinde kilo kaybının daha az olduğu görülmüş olup bu durumun *N. sativa* yağının besleyici özelliğinden kaynaklanabileceği düşünüldü.

4.2.1. *N. sativa*'nın İnflamasyon ve Fibrozis Üzerine Etkisi

Yapılan histolojik değerlendirmede intratrakeal salin uygulanan kontrol grubu ile yalnızca *N. sativa* verilen grup arasında inflamasyon ve fibrozis açısından bir fark gözlemlenmedi. Bleomisin verilen grupta akciğer dokusunda ciddi bir hasarlanma olup bu grupta önemli düzeyde bir inflamasyon ve fibrozis gözlemlendi. İnflamasyon, bleomisin grubunda %45,6, uzun tedavi kolunda %19,3 ve kısa tedavi kolunda %14,1 oranında görüldü. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bleomisin grubunda yoğun inflamasyon olduğu ($p=0,0001$); hem uzun hem kısa süreli tedavi kolunda

inflamasyonun, bleomisin verilen gruba göre anlamlı oranda daha az olduğu izlendi (sırasıyla $p=0,019$; $p=0,003$) (Tablo 7).

Yapılan histolojik değerlendirmede bleomisin grubunda fibrozis skoru (1,6) kontrol grubundan (0,005) anlamlı oranda fazlaydı ($p=0,0001$). Hem uzun hem de kısa süreli tedavi gruplarında fibrozisin (fibrozis skorları sırasıyla 0,788 ve 0,352) bleomisin grubuna göre daha az olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (sırasıyla $p=0,004$; $p=0,0001$) (Tablo 7).

Kısa süreli tedavi grubunda hem inflamasyon hem de fibrozis, uzun süreli tedavi grubuna göre daha fazla azalmış olarak izlendi ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü.

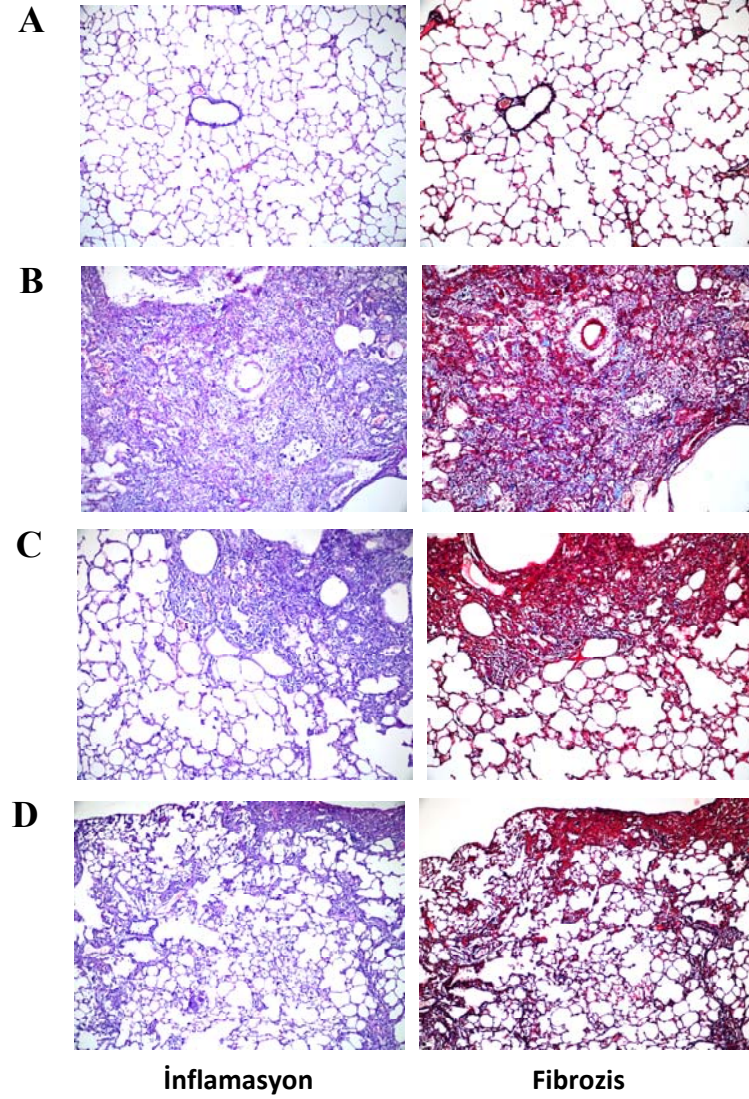
Tablo 7. Grupların inflamasyon ve fibrozis skoru açısından karşılaştırılması.

Gruplar	İnflamasyon skoru (%)	Fibrozis skoru
Kontrol	0,63 ± 1,76	0,005 ± 0,014
Bleomisin	45,63 ± 30,17	1,618 ± 0,536
<i>N. sativa</i>	0	0
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (0-16 gün)	19,38 ± 17,81*	0,788 ± 0,753 [#]
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (8-16 gün)	14,13 ± 7,68*	0,352 ± 0,227 [#]

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

*Bleomisin grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında $p<0,05$.

[#] Bleomisin grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında $p<0,005$.



Şekil 4. Kontrol (A), bleomisin (B), *N. sativa* ile kısa süreli (C) ve uzun süreli (D) tedavi gruplarının akciğer dokularının histolojik değerlendirmesi. Akciğer kesitleri hematoxilen-eozin ve Masson trikrom ile boyanmıştır (x100).

4.2.2. *N. sativa*'nın Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

4.2.2.1. Akciğer dokusunda Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Dokularda antioksidan enzim aktivitelerindeki azalma, dolaylı olarak serbest radikal oluşumunu göstermektedir. Çalışmamızda intratrakeal bleomisin verilmesi sonucunda akciğer dokusu GSH-Px ve GSH aktivitelerinde kontrol grubuna göre belirgin bir azalma görüldü (sırasıyla $p=0,026$; $p=0,031$). Bleomisin grubu ile karşılaştırıldığında uzun ve kısa süreli tedavi kollarında enzim aktiviteleri daha yüksek saptanmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Bununla birlikte yalnızca *N. sativa* verilen grupta, kontrol grubuna göre GSH enzim aktivitesinde anlamlı artış olduğu gözlemlendi ($p=0,023$).

Tablo 8. Tüm gruplarda akciğer dokusunda ölçülen antioksidan enzim aktiviteleri.

Gruplar	GSH-Px (IU/g protein)	GSH ($\mu\text{mol/g protein}$)	SOD (U/mg protein)
Kontrol	8,05 \pm 1,18	7,59 \pm 1,08	0,29 \pm 0,06
Bleomisin	6,12 \pm 1,24*	6,29 \pm 0,55*	0,39 \pm 0,24
<i>N. sativa</i>	7,95 \pm 0,68	8,94 \pm 0,54 [#]	0,39 \pm 0,16
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (0-16 gün)	6,76 \pm 1,58	6,60 \pm 1,03	0,39 \pm 0,25
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (8-16 gün)	7,68 \pm 1,26	7,09 \pm 0,85	0,35 \pm 0,25

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

*Bleomisin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında $p<0,05$.

[#] Kontrol grubu ile yalnızca *N. sativa* verilen grup karşılaştırıldığında $p<0,05$.

4.2.2.2. BAL Sıvısında Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Bleomisin verilen grupta GSH-Px enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı oranda azaldığı ($p<0,01$), her iki tedavi kolunda ise bleomisin grubuna göre enzim aktivitesinin arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,01$). Her iki tedavi kolu karşılaştırıldığında GSH-Px enzim aktivitesindeki artış kısa tedavi kolunda daha belirgindi ($p<0,01$). Bleomisin verilen grupta GSH enzim aktivitesi de kontrol grubuna kıyasla azalmıştı ($p=0,05$). Enzim aktivitesi yine kısa süreli tedavi kolunda bleomisin grubuna göre daha yüksekti ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,0001$).

Akciğer dokusu ve BAL sıvısındaki SOD enzim aktivitesi ise, gruplar arasında farklılık göstermedi. SOD enzim aktivitesinin GSH-Px ve GSH ölçümleri ile paralellik göstermesi beklendiğinden bu ölçüm sonuçları kuşku olarak değerlendirildi.

Tablo 9. Tüm gruplarda BAL sıvısında antioksidan enzim aktiviteleri.

Gruplar	GSH-Px (IU/g protein)	GSH (μ mol/g protein)	SOD (U/mg protein)
Kontrol	8,08 \pm 0,95	0,96 \pm 0,12	0,68 \pm 0,20
Bleomisin	4,51 \pm 0,60	0,78 \pm 0,09	0,77 \pm 0,24
<i>N. sativa</i>	8,12 \pm 0,75	1,19 \pm 0,10 ^u	0,56 \pm 0,15
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (0-16 gün)	6,33 \pm 0,58*	0,90 \pm 0,07	0,57 \pm 0,11
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (8-16 gün)	7,74 \pm 0,92* [±]	1,06 \pm 0,05 [#]	0,65 \pm 0,30

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

*Bleomisin grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında $p < 0,01$.

[±] Kısa süreli tedavi grubu ile uzun süreli tedavi grubu karşılaştırıldığında $p < 0,01$.

[#] Bleomisin grubu ile kısa süreli tedavi grubu karşılaştırıldığında $p = 0,0001$.

^uKontrol grubu ile yalnızca *N. sativa* verilen grup karşılaştırıldığında $p = 0,001$.

4.2.3. Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında MDA Seviyeleri

Lipit peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA düzeyi bleomisin grubunda, hem akciğer dokusu hem de BAL sıvısında anlamlı olarak artmış ($p < 0,01$), *N. sativa* ile tedavi edilen her iki grupta da azalmıştı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,01$). Ek olarak BAL sıvısında kısa süreli tedavi kolundaki azalma uzun süreli tedavi kolundan daha belirgindi ($p < 0,01$).

Tablo 10. Tüm gruplarda akciğer dokusu ve BAL sıvısındaki MDA düzeyleri.

Gruplar	MDA (Akciğer dokusu) (μ mol/g protein)	MDA (BAL sıvısı) (μ mol/g protein)
Kontrol	6,71 \pm 0,86	0,43 \pm 0,06
Bleomisin	15,75 \pm 2,60	0,95 \pm 0,06
<i>N. sativa</i>	6,27 \pm 0,63	0,37 \pm 0,06
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (0-16 gün)	10,53 \pm 0,76*	0,78 \pm 0,04*
Bleomisin + <i>N. sativa</i> (8-16 gün)	9,14 \pm 0,94*	0,53 \pm 0,08* [#]

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

*Bleomisin grubu ile tedavi grupları karşılaştırıldığında $p < 0,01$.

[#] Kısa süreli tedavi grubu ile uzun süreli tedavi grubu karşılaştırıldığında $p < 0,01$.

4.2.4. *N. sativa*'nın Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

4.2.4.1. Akciğer Dokusunda ve BAL Sıvısında Ölçülen Biyokimyasal Parametreler

Akciğer dokusunda ve BAL sıvısında beklenenin tersine TNF- α seviyesi bleomisin grubunda, kontrol ve *N. sativa* kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu. Tedavi gruplarında ise TNF- α seviyesi kontrol gruplarıyla benzerdi. IL-6 düzeyi akciğer dokusunda gruplar arasında farklılık göstermezken, BAL sıvısında bleomisin ve kontrol grubunda benzer fakat kısa süreli tedavi grubunda, beklenmedik bir şekilde, bleomisin ve kontrol gruplarına göre anlamlı olarak artmış bulundu (sırasıyla, $p=0,038$; $p=0,004$).

Fibrozis oluşumunda önemli rol oynadığı düşünülen TGF- β düzeyi, akciğer dokusunda fibrozisin belirgin olarak arttığı bleomisin grubunda, bu artışla paralellik gösterecek şekilde kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış bulundu ($p=0,0001$). TGF- β , tedavi gruplarında ise bleomisin grubuna oranla bir miktar azalmıştı ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

4.2.5. Akciğer Dokusunda Ölçülen Parametrelerin Korelasyon Analizleri

Çalışmamızda, akciğer dokusunda, lipit peroksidasyonunun, dolayısıyla inflamasyonun bir belirteci olan MDA düzeyi ile antioksidan enzimler olan GSH-Px ve GSH düzeyleri arasında ters yönlü; MDA düzeyi ile fibrozis markırını olan TGF- β düzeyi arasında ise pozitif yönlü bir korelasyon olduğu saptandı. Antioksidan enzim düzeyleri azalırken, lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyinin artması oksidatif stresin göstergesi olarak kabul edildi. MDA düzeyi ile TGF- β düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunması da pulmoner fibrozis oluşumunda lipit peroksidasyonunun oynadığı rolün kanıtı olarak değerlendirildi.

Ayrıca, inflamasyon sırasında artması muhtemel sitokinlerden IL-6 düzeyleri ile ölçülen TNF- α düzeyleri arasında, beklendiği şekilde pozitif yönlü bir korelasyon mevcuttu. Akciğer dokusunda ölçülen tüm parametrelerin korelasyon analizleri Tablo 11'de görülmektedir.

Tablo 11. Akciğer dokusunda bakılan parametrelerin korelasyon analizleri.

		MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	GSH-Px (IU/g protein)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	IL-6 (pg/mg protein)	TNF- α (pg/mg protein)	TGF- β (pg/mg protein)	SOD (U/mg protein)
MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	1	-,423** ,006	-,518** ,001	-,014 ,929	-,481** ,002	,657** ,000	,112 ,493
GSH-Px (IU/g protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,423** ,006	1	,537** ,000	,043 ,790	,484** ,002	-,542** ,000	-,134 ,408
GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,518** ,001	,537** ,000	1	,052 ,750	,407* ,010	-,470** ,002	-,063 ,702
IL-6 (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,014 ,929	,043 ,790	,052 ,750	1	,383* ,016	,173 ,287	,277 ,083
TNF- α (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,481** ,002	,484** ,002	,407* ,010	,383* ,016	1	-,439** ,005	,062 ,707
TGF- β (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	,657** ,000	-,542** ,000	-,470** ,002	,173 ,287	-,439** ,005	1	,313* ,049
SOD (U/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	,112 ,493	-,134 ,408	-,063 ,702	,277 ,083	,062 ,707	,313* ,049	1

***. Korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).*

**. Korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).*

4.2.6. Akciğer Dokusunda Ölçülen Parametrelerle İnflamasyon ve Fibrozis Arasındaki Korelasyonlar

Çalışmamızda hem inflamasyon derecesi hem de fibrozis skorları ile lipit peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon; bu parametrelerle antioksidan enzimlerin (GSH-Px, GSH) düzeyleri arasında ise negatif bir korelasyon saptandı. Bu durum, inflamasyon ve fibrozis oluşumunun, antioksidan enzimlerin tüketilmesi ve lipit peroksidasyon ürünlerinin ortaya çıkışıyla ilişkili olduğunu göstermekteydi. Yine özellikle fibrozis gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülen TGF- β düzeyleri ile hem inflamasyon derecesi, hem de fibrozis skorları arasında pozitif bir korelasyon mevcuttu.

Çalışmamızda özellikle inflamasyon sırasında artması beklenen TNF- α düzeylerinin, inflamasyon derecesi ile negatif korelasyon göstermesi, beklenmeyen bir sonuç olup, daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumlu olmayan bir bulgu idi. Çalışma gruplarından yalnızca bleomisin uygulanan grupta TNF- α

düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük bulunmasının da şaşırtıcı bir durum olduğu daha önce belirtilmişti. Özellikle bu grupta yapılan ölçümlerde, laboratuvar şartlarından veya ölçüm yapılan kitlerden kaynaklanan bir problem olduğu düşünüldü.

İnflamasyon derecesi ve fibrozis skoru ile akciğer dokusunda ölçülen tüm biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon analizlerinin sonuçları Tablo 12’de görülmektedir.

Tablo 12. Akciğer dokusunda bakılan parametreler ile inflamasyon derecesi ve fibrozis skoru arasındaki korelasyonlar.

		İnflamasyon skoru (%)	Fibrozis skoru
MDA ($\mu\text{mol/g}$ protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	,583** ,000	,755** ,000
GSH-Px (IU/g protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,392* ,012	-,633** ,000
GSH ($\mu\text{mol/g}$ protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,533** ,000	-,534** ,000
IL-6 (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,121 ,459	,013 ,939
TNF- α (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,453** ,004	-,588** ,000
TGF- β (pg/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	,430** ,006	,710** ,000
SOD (U/mg protein)	Pearson korelasyonu Sig.(2-tailed)	-,133 ,414	,194 ,229
	Pearson korelasyonu		**
	Pearson korelasyonu	**	**
	Pearson korelasyonu	**	

***. Korelasyon 0,01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).*

**. Korelasyon 0,05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).*

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları, sıçanlarda intratrakeal yolla verilen bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisinin önlenmesinde ve tedavisinde *N. sativa*'nın etkin olabileceğini göstermiştir. İntratrakeal bleomisin uygulanmasını takiben yapılan histopatolojik değerlendirmede inflamasyon ve fibrozis skorlarında artış ile birlikte akciğer dokusu ve BAL sıvısında antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. *N. sativa* tedavisi ile hem inflamasyon hem de fibrozis skorlarında azalma olduğu ve beraberinde antioksidan enzim aktivitelerinin bleomisin grubuna göre anlamlı düzeyde arttığı saptanmıştır.

Akciğer, diğer dokulardan daha yüksek bir oksijen basıncına maruz kalmaktadır. Oksidasyon, vital fonksiyonlar için gereken enerjiyi sağlamada gerekli olan bir yoldur. Kontrolsüz oksidasyon, hedef hücrelerin antioksidan kapasitesini aşarak reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi serbest radikal oluşumuna neden olur. Oksidatif stres, özellikle DNA gibi makromoleküllerde hasarlanmaya, mutasyona uğramış tümör supresör genlerinin oluşumuna ve hücre ölümünün artmasına yol açar. Hücre membranlarının tahribi, otokatalitik bir mekanizma olan lipid peroksidasyonunun bir sonucu olup bu durum, hücre ölümüne ve dejeneratif bozukluklara neden olabilir. Eksojen oksidanlar ve kirleticiler oksidan üretimini daha da arttırmaları ve serbest radikal üreten inflamatuvar hücreleri aktive ederler. Hiperoksi, sigara dumanı, asbest lifleri, ilaçlar ve radyasyon gibi ajanların çoğunun fibrotik interstisyel akciğer reaksiyonları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu gibi durumlarda endojen olarak önemli reaktif oksijen türleri üretilir (83). Bleomisinle oluşturulan pulmoner fibrozis modelinde ilk olarak oksidatif stres ürünleri oluşmakta; daha sonra aktive olmuş inflamatuvar hücreler tarafından üretilen reaktif oksijen radikallerinin aşırı üretimine bağlı olarak hasarlanma artmaktadır. Çalışmamızda bleomisin verilen grupta antioksidan enzim düzeylerinde saptanan düşüş, artmış oksidatif stresin dolaylı bir göstergesidir. *N. sativa* tedavisi ile antioksidan enzim düzeylerinde artış olması ve tedavi gruplarında histopatolojik olarak inflamasyon ve fibrozisin azaldığının görülmesi, *N. sativa* tedavisinin pulmoner fibrozis oluşumunda önleyici/tedavi edici bir rol oynayabileceğini göstermektedir.

Çeşitli çalışmalarda alt solunum yolunda oksidan-antioksidan dengesizliğinin İPF patogenezinde kritik bir role sahip olduğu öne sürülmüştür. Örneğin, yapılan bir çalışmada İPF'li hastaların akciğer inflamatuvar hücrelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek düzeyde oksidan ürettiği saptanmıştır (84). Bir başka çalışmada İPF'li hastaların BAL sıvısında myeloperoksidaz ve eozinofilik katyonik protein seviyelerinde artış olduğu görülmüştür; bu da hastalıkta nötrofillerin ve muhtemelen eozinofillerin patofizyolojik bir role sahip olduklarını düşündürmektedir (85). İPF'de artmış myeloperoksidaz düzeyinin epitelyal hasarlanma ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (84). Bir başka çalışmada İPF'li hastaların BAL sıvısında oksidatif stresin bir biyomarkırı olan 8-izoprostan seviyesi, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (86). İPF'li hastaların ekshale ettikleri havada NO düzeyinin artmış olduğu; buna ek olarak, İPF'li hastaların akciğer örneklerinde ise iNOS ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (87, 88). Tüm bu bulgular, İPF'li hastalarda hem oksidatif hem de nitrozatif strese artış olduğunu düşündürmektedir (83).

İPF'de mevcut oksidan-antioksidan dengesizliği, etkilenen hastaların akciğerlerinde antioksidan enzim düzeylerinin değişmesiyle de gösterilmiştir (83). Yapılan çalışmada, İPF'li hastaların akciğerlerindeki epitel sıvayıcı sıvıda indirgenmiş glutatyon düzeyinde azalma olduğu saptanmıştır (89, 90). Çeşitli çalışmalarda, inflamatuvar ve/veya granümatöz interstisyel akciğer hastalıklarında ve epitelyal rejenerasyon alanlarında bir dizi antioksidan ve detoksifiye edici enzim düzeyinin arttığı ileri sürülmüştür. Bununla birlikte İPF'li akciğerlerin fibrotik lezyonlarında bu enzimler ya azalmıştır yahut bulunmamaktadır. Bu enzimler arasında mitokondriyal manganez SOD, katalaz, glutamat sistein ligaz (glutatyon sentezinde hız kısıtlayıcı enzim), tiyoredoksin, glutaredoksin ve hem oksijenaz bulunmaktadır (91-94). Antioksidan kapasitedeki azalma oksidatif stresi arttırıyor gibi gözükse de antioksidanlarda gözlenen artış, muhtemelen akciğerlerde artmış oksidatif stresi kompanze etmeye yöneliktir. Sonuçta, İPF'li hastaların akciğerlerinde normal redoks dengesinde bozulma olduğu aşıkardır (83).

Mevcut kanıtlar, proteaz/antiproteaz dengesizliğinin de İPF patogenezinde katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. İPF'de proteazların önemi, 'matrilizin'in [matriks metalloproteinaz-7 (MMP-7)] hayvan modellerinde pulmoner fibrozisle anlamlı ölçüde ilişkili olduğunun bulunmasıyla anlaşılmıştır. MMP-7, İPF'li

hastaların akciğerlerinde de normalden fazla eksprese edilmektedir. Diğer MMP'ler de İPF'de artmıştır. Hem ROS, hem de reaktif nitrojen türleri (RNS), bir yandan MMP'leri aktive ederek, diğer yandan proteaz inhibitörlerini inhibe ederek proteaz-antiproteaz dengesizliğine katkıda bulunabilmektedir (83).

Ekstraselüler matriks ve alveol içini döşeyen sıvıda bulunan ve MMP'lerin oksidatif aktivasyonu inhibe edebilen antioksidan enzimlerden en önemlileri ekstraselüler GSH-Px ve ekstraselüler SOD (ECSOD)'dur (83). NAC tedavisi ile glutasyon seviyelerindeki artışa ek olarak MMP'lerin aktivasyonunun inhibe edildiği gösterilmiştir (95). Pulmoner fibrozis oluşturulmuş hayvan modellerinde, vahşi tip farelerle kıyaslandığında ECSOD'dan yoksun farelerde MMP aktivasyonunun arttığı saptanmıştır. ECSOD akciğer matriksine, proteolize duyarlı olan matriks bağlayıcı bölgesi üzerinden bağlanmaktadır. Pulmoner fibrozise neden olan çeşitli hasarlanma modellerinde, matriks bağlayıcı bölgesinin ECSOD'dan proteolitik olarak ayrılmasında ve matriksin ECSOD'dan temizlenmesinde artış gözlenmiştir (96, 97). Sonuçta, oksidatif ve proteolitik süreçler birbirinin etkisini arttırabilir ve pulmoner fibrozise neden olan hasarlanmaları büyütebilir (83). Çalışmamızda, bakılan diğer antioksidan enzim aktivitelerinde olduğu gibi, bleomisin verilen grupta SOD enzim aktivitesinin düşük olması, tedavi gruplarında ise bu enzim aktivitesinde artış olması beklenirdi. Ancak SOD enzim aktivitesi, tüm gruplar arasında bir farklılık göstermemiş olduğundan bu sonuç, beklenmeyen bir sonuç olup diğer çalışmaların sonuçlarıyla uyumlu değildir.

Pulmoner fibrozisin patogeneğinde çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri mediyatör olarak rol oynamaktadır. İPF'de, bilinmeyen bir antijene sürekli maruziyet veya oluşan immün kompleksler ile alveoler makrofajların aktivasyonu, bu patolojik süreci başlatmaktadır. Bu durum TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, INF- γ gibi çeşitli sitokinlerin salınımına yol açmaktadır. Bu sitokinler proinflamatuvar sitokinler olup olay yerine nötrofil, lenfosit ve monositlerin toplanmasına; bu durumun devamı ise, kronik ve persistan bir inflamasyon ile birlikte akciğer hasarına ve en nihayetinde fibrozise neden olur. Çalışmamızda akciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde bleomisin grubunda inflamasyon artmış olmasına rağmen TNF- α 'nın azalmış olarak saptanması; yine inflamasyon durumunda artan bir sitokin

olan IL-6 düzeyinin gruplar arasında farklılık göstermemesi beklenmeyen sonuçlardır.

Akciğer hücrelerinin ve matriksin doğrudan hasarlanmasına ek olarak, oksidanların sitokinler ve büyüme faktörlerine direkt etkisi de pulmoner fibrozis gelişimiyle ilişkili olabilir. TGF- β , bu gibi mediyatörlerden biri olup hem normal yara iyileşmesinde hem de pulmoner fibrozis dahil fibrotik hastalıkların karakteristik anormal tamir mekanizmalarında rol alan bir kilit mediyatördür. Önceki çalışmalarda TGF- β 'nın, hasarlanmadan hemen sonra salındığında inflamatuvar hücreler üzerindeki güçlü kemotaktik etkisinden dolayı başlıca proinflamatuvar bir molekül olarak davrandığı gösterilmiştir (98). Daha sonra TGF- β 'nın görevi, inflamasyonun rezolüsyonu ve tamirin başlamasına dönüşür. Kronik fibrozisin devamının, inflamatuvar cevabın rezolüsyonundan sonraki tamir sürecinin azalmadan sürekli devam etmesine bağlı olabileceği öne sürülmüştür. TGF- β muhtemelen bu kronik fakat anormal tamirin önemli bir mediyatörüdür. TGF- β 'nın erken doku tamiri safhalarında myofibroblastların toplanması, aktivasyonu ve farklılaşmasında merkezi bir düzenleyici olduğuna inanılmaktadır. Aktif fibrozis sahalarında myofibroblastik fenotipin sürekliliği fibrotik akciğer hastalığının karakteristik bir bulgusudur. Dolayısıyla akciğerde sebat eden yüksek TGF- β düzeyleri, myofibroblast aktivasyonu ve ekstraselüler matriks oluşumu için bir uyarıcı olmaktadır. Bununla birlikte akciğerlerde TGF- β ve oksidanlar/antioksidanlar arasında da birtakım olası etkileşimler vardır. Örneğin, TGF- β -farklılaşmış myofibroblastların kendileri, bir oksidan üretim kaynağı olarak davranabilmektedir. Buna ek olarak, in vitro çalışmalarda ROS'un pulmoner epitel hücrelerinden TGF- β salınımını arttırdığı gösterilmiştir. İnsan fibroblastlarında TGF- β 'nın, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı aktive ederek ROS üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca TGF- β 'nın, glutatyon sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan glutamat sistein ligaz mRNA sentezini azalttığı gösterilmiştir. Glutatyon sentezinin, TGF- β 'nın normalden fazla eksprese edildiği farelerde azaldığı ve bu farelerin oksidan bağımlı akciğer hasarlanmasına daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda, kontrol grubuna göre bleomisin grubunda fibrozisin artmış olması ve bu artışa paralel olarak TGF- β düzeyinde saptanan istatistiksel olarak anlamlı artış,

diğer çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Tedavi gruplarında TGF- β düzeyinde azalma olduğu saptanmakla birlikte bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Yukarıda anılan ve patogeneizde rolü olduğu bilinen sitokinlerin salınımının baskılanmasıyla İPF'nin durdurulabileceği fikri ortaya atılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda bleomisin gruplarında bu sitokinlerin arttığı ve verilen tedaviyle sitokinlerde azalma olduğu vurgulanmıştır (12, 44, 69, 71, 72, 75, 77, 99). Bu nedenle verilen tedaviyle bu sitokinlerde azalma, özellikle de inflamasyon ve fibroziste azalma ile beraber görüldüğünde verilen tedavinin etkin olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmamızda akciğer dokusunun histopatolojik değerlendirmesinde inflamasyon ve fibrozisin artmış olduğu bleomisin grubunda TNF- α 'nın azalmış olarak saptanması; tedavi gruplarında ise inflamasyon ve fibrozis azalırken bu sitokinin akciğer dokusu ve BAL sıvısında artması, yorumlanması güç bir durumdur. Yine, IL-6 ve SOD enziminde gruplar arasında değişiklik olmaması da beklenen bir sonuç değildir.

İPF'nin tedavisinde standart olarak kortikosteroidler ve/veya immünsupresif ajanlar öneriliyor olmasına karşın bu tedavilerin hiçbiri hastalığın gidişatını durduramamaktadır (1, 15, 22, 25, 41). Bu nedenle geçmişte çeşitli hayvan modelleri oluşturularak İPF'nin tedavisi veya önlenmesine yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Pulmoner fibrozis modeli oluşturulmasında bleomisin, en kabul gören ajan olup intratrakeal yoldan tek doz uygulanması, kolaylığı ve etkinliği bakımından standart yol olarak kabul edilmiştir. Uygulanacak doz konusu ise tartışmalı olup birçok çalışmada farklı dozlar kullanılmıştır (69-71,77). Chaudhary ve ark., 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada bleomisinin optimal dozunu belirlemek amacıyla sıçanları gruplara ayırmış ve bir kateter yardımıyla nazal pasajdan 0,05-2,75 mg/kg arasındaki dozlarda tek doz bleomisin uygulamıştır. Yirmi bir gün sonra sıçanların akciğerlerinde kollajen boyanmasına ve profibrotik markırlara bakılarak 2,2 mg/kg dozunun, sıçanların kilosuna ve sağkalımına olumsuz etki yapmadan güçlü ve tekrarlanabilir fibrozis oluşumunda optimal doz olduğu belirlenmiştir (73). Bu nedenle çalışmamızda sıçanlarda pulmoner fibrozis oluşturmada bleomisinin intratrakeal yoldan uygulanması tercih edilmiş ve uygulanacak doz 2,2 mg/kg (0,25 ml salin içinde) olarak seçilmiştir. Bu dozda, çalışma boyunca sıçanlarda ölüm

gözlenmemiş, ancak bleomisin verilen gruptaki sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı kilo kaybı olduğu gözlenmiştir.

Halk arasında birçok hastalığa iyi geldiği bilinen *N. sativa* ile ilgili yapılmış birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda *N. sativa*'nın kendisi, yağı, özütü veya içindeki aktif bileşenleri kullanılmıştır. Şimdiye kadar İPF'nin önlenmesinde veya tedavisinde, antiinflamatuvar, antifibrotik ve/veya antioksidan özellikleri olan birçok ajan denenmiş ancak *N. sativa*'nın İPF tedavisindeki rolü daha önce araştırılmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda İPF'nin önlenmesi ve/veya tedavisinde *N. sativa*'nın rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada standardizasyonun sağlanması amacıyla ve oral yoldan kullanılabilirliği nedeniyle *N. sativa* yağı oral gavaj yoluyla kullanıldı. Daha önce *N. sativa* yağı ile yapılan çalışmalarda yağın veriliş yolu ve kullanılan dozlar Tablo 13'de görülmektedir. Çalışmamızda, bu çalışmalardaki ortalama etkin doz olan 2 ml/kg dozunun uygulanması kararlaştırılmıştır. Bleomisinle oluşturulmuş pulmoner fibrozis modelinde *N. sativa* yağının etkinliği ilk defa araştırılmış olduğundan çalışmamızda elde edilen sonuçların önceki çalışmalarla karşılaştırılması mümkün değildir. Bununla birlikte *N. sativa*'nın antiinflamatuvar, antifibrotik ve antioksidan özelliklerinin ortaya konulduğu başka hastalıklarda yapılmış birçok çalışma mevcuttur.

Tablo 13. *N. sativa* yağının farklı çalışmalardaki veriliş dozları/yolları.

<i>N. sativa</i> dozu	Veriliş yolu	Çalışma yürütücüsü
4 ml/kg	i.p	Shahzad ve ark.(67)
2 ml/kg	Oral	Ebru ve ark. (100)
2,5-5 ml/kg	Oral	El-Abhar ve ark. (58)
0,2 ml/kg	i.p	Kanter ve ark. (84)
2 ml/kg	Oral	Uz ve ark. (101)

N. sativa yağının pulmoner fibrozis modelinde etkinliği daha önce araştırılmamış olmakla beraber literatürde pulmoner aspirasyon modelinde etkinliğini araştıran bir çalışma mevcuttur. Kanter'in yaptığı bu çalışmada çeşitli ajanlarla pulmoner aspirasyon modelleri oluşturulmuş ve *N. sativa* ile tedavi edilen sıçanlar 7. günün sonunda sakrifiye edilerek akciğer dokuları histopatolojik olarak

incelenmiştir. Hidroklorik asitle oluşturulan aspirasyon modelinde *N. sativa*'nın; peribronşiyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler septal infiltrasyon, alveoler ödem ve alveoler eksuda oluşumu, alveoler makrofaj sayısı, interstisyel fibrozis, granülom ve fibrozis oluşumunda anlamlı ölçüde azalma sağladığı bildirilmiştir (66). Yine Kanter'in bir başka çalışmasında "toluen"e maruz bırakılan sıçanlara 12 hafta süreyle TQ verilmiş ve yapılan histopatolojik değerlendirmede peribronşiyal inflamatuvar hücre infiltrasyonu, alveoler septal infiltrasyon, alveoler ödem ve alveoler eksuda oluşumu, interstisyel fibrozis ve nekroz oluşumunda anlamlı ölçüde azalma olduğu saptanmıştır (102). Işık ve ark.nın yaptığı bir başka çalışmada gastrik asit verilerek akut akciğer hasarı oluşturulan sıçanlarda yapılan histopatolojik incelemede *N. sativa*'nın ana bileşeni olan TQ tedavisi neticesinde, etkilenen akciğer alanlarının diğer gruplara oranla anlamlı ölçüde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca TQ kolunda, solunum yetmezliğinin (PaO₂/FiO₂ oranının) diğer gruplara göre anlamlı ölçüde düzeldiği görülmüştür (65). El-Dakhkhany ve ark. da TQ'nun polimorfonükleer lökositlerden 5-lipooksijenaz ürünlerinin salınmasını azalttığını saptamışlardır (103). Çalışmamızda *N. sativa* ile tedavi edilen grupların akciğer dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde bleomisinle oluşturulan inflamasyon ve fibrozisin anlamlı ölçüde azalması söz edilen çalışmalardaki bulgularla paralellik göstermektedir. Bu iyileşmenin, uzun süreli tedavi kolunda daha belirgin olması beklenirken kısa süreli tedavi kolunda belirgin olması ise ilgi çekici bir durumdur. Bu durum, inflamasyon ve fibrozis aşamalarında salınan farklı sitokinler ve antioksidan enzim aktiviteleri ile ilişkili olabilir. Kısa süreli tedavi kolunda, fibrozisin daha baskın olduğu 7. günden sonra *N. sativa* yağı ile tedaviye başlanması, önleyici etkiden çok İPF gelişmiş hastalarda kullanılabilirliği açısından avantajlı bir durum gibi görünmektedir.

N. sativa'nın bir özelliği de antioksidan özelliğidir. Suboh ve ark., birçok farklı bitki özütüyle yaptıkları bir çalışmada eritrositleri bu bitki özütleriyle inkübe etmişler ve bu bitkilerden yalnızca sarımsak ve *N. sativa* ile preinkübasyonun eritrositleri, H₂O₂'nin neden olduğu protein degradasyonu, şekil bozukluğu ve artmış ozmotik frajiliteden koruduğunu saptamışlardır (104). El-Beshbishy ve ark. tamoksifenle karaciğer toksisitesi oluşturulan sıçanlara oral yolla *N. sativa* özütü, kuru üzüm özütü veya zerdaçal'dan birini verdikten sonra tüm gruplarda antioksidan

enzim seviyelerinde anlamlı artış olduğunu; ancak bu artışın en çok *N. sativa* grubunda olduğunu bildirmişlerdir (105). El-Dakhkhny ve ark.nın yaptığı bir çalışmada ise etanol ile oluşturulan gastrik ülser öncesinde *N. sativa* verilmesinin, gastrik mukoza glutatyon düzeyinde anlamlı artış sağladığı bildirilmiştir (106).

N. sativa'nın kendisiyle yapılan çalışmaların yanı sıra bileşenlerinin antioksidan etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar da mevcuttur. Burits ve Bucar, *N. sativa* esansiyel yağının ve ana bileşenlerinin hücre düzeyindeki antioksidan aktivitelerini araştırmış; *N. sativa* uçucu yağının çok düşük dozlarda güçlü OH⁻ radikali kovucu etkisiyle lipozomlarda enzimatik olmayan lipit peroksidasyonunu önlediğini ve deoksi-riboz degradasyon analizinde *N. sativa* esansiyel yağı veya aktif bileşenleri karışıma eklendiğinde degradasyonu önlediğini göstermişlerdir (56). Daba ve ark., izole edilmiş sıçan hepatositlerini, *N. sativa*'nın ana bileşeni olan TQ ile inkübe ettikten sonra, oksidatif hasar oluşturduğu bilinen tert-butil hidroperoksite maruz bırakmış ve TQ'nun hepatositleri bu maddenin olumsuz etkisinden koruduğunu göstermişlerdir (8). Mansour ve ark., hepatotoksik bir ajan olan karbon tetrakloridin (CCl₄) tek doz uygulaması sonrası farelere farklı dozlarda TQ verilmesinin lipit peroksidasyonunu etkilemediğini ve fareleri hepatotoksisiteden korumadığını; ancak CCl₄ uygulanmasından 1 saat önce farelere uygulanan düşük doz TQ'nun (12,5 mg/kg), MDA düzeyini düşürerek lipit peroksidasyonundan ve hepatotoksisiteden koruduğunu göstermişlerdir (107). Bir başka çalışmada Nagi ve ark., kardiyotoksik bir ajan olan doksorubisin uygulaması öncesinde 5 gün süreyle sıçanların içme suyuna TQ eklemiş ve bu tedaviyle kardiyotoksisitenin ve lipit peroksidasyonunun anlamlı ölçüde azaldığını saptamışlardır. Doksorubisinin kardiyotoksik etkisini süperoksit radikali oluşumuna yol açarak gösterdiği önceki çalışmalarla ortaya konulduğundan bu çalışmada da TQ'nun gösterdiği etkinin süperoksit radikalini azaltmasıyla ilişkili olduğu düşünülebilir (108). Çalışmamızda uzun ve kısa süreli tedavi kollarında GSH, GSH-Px enzim aktivitelerinde artış olması ve MDA düzeyinde azalma olması daha önceki çalışma sonuçlarıyla uyumlu olup bu sonuçlar *N. sativa*'nın lipit peroksidasyonunu azalttığını ve oksidatif stresin önlenmesinde etkin olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda sıçanlarda bleomisinle oluşturulmuş akciğer fibrozisi modelinde *N. sativa* ilk defa denenmiştir. Önceki çalışmalarda antiinflamatuvar, antioksidan ve antifibrotik özellikleri gösterilen *N. sativa* tedavisi ile, bleomisin verilmesiyle oluşan inflamasyon ve fibroziste istatistiksel olarak anlamlı oranda azalma görülmüştür. Ayrıca, *N. sativa* tedavisiyle inflamasyon ve lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA düzeyinde anlamlı oranda azalma ve buna paralel olarak antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı düzeyde artış saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar, *N. sativa*'nın prognozu oldukça kötü bir hastalık olan İPF tedavisinde önleyici/tedavi edici etkinliğinin olabileceğini göstermiştir.

ÖZET

Sıçanlarda Bleomisin ile Oluşturulan Akciğer Fibrozisi Modelinde *Nigella Sativa* Yağının İnflamasyon, Fibrozis ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

Amaç: Çalışmanın amacı, nadir görülmekle birlikte prognozu ve sağkalımı oldukça kötü bir hastalık olan İPF'nin önlenmesinde veya tedavisinde *N. sativa*'nın etkin olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve metod: Çalışmada, her grupta 8'er sıçan olmak üzere toplam 5 grup mevcuttu. Kontrol grubuna yalnızca intratrakeal salin verildi. *N. sativa* grubuna günde tek doz oral gavajla *N. sativa* yağı verildi. Bleomisin ve tedavi gruplarına 0. günde tek doz intratrakeal bleomisin (2,2 mg/kg) uygulandı. Tedavi gruplarından birine 0-16., diğerine 8-16. günler arasında oral gavaj ile *N. sativa* yağı verildi. Çalışma sonunda tüm sıçanların akciğer dokusu histopatolojik olarak incelendi; hem akciğer dokusunda hem de BAL sıvısında GSH, GSH-Px, SOD enzim aktiviteleriyle birlikte IL-6, TNF- α , TGF- β ve MDA düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Histolojik değerlendirmede inflamasyon, bleomisin grubunda %45,6; uzun tedavi kolunda %19,3 ve kısa tedavi kolunda %14,1 oranında görüldü. Bleomisin grubu ve tedavi kolları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla p=0,019; p=0,003). Bleomisin grubunda fibrozis skoru 1,6 olup bu skor uzun süreli tedavi kolunda 0,78 ve kısa süreli tedavi kolunda 0,35 idi ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla p=0,004; p=0,0001).

Intratrakeal bleomisin verilmesi, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında akciğer dokusu ve BAL sıvısında GSH-Px ve GSH aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma ve MDA düzeylerinde anlamlı artış ile sonuçlandı. Her iki tedavi grubunda MDA düzeyi anlamlı olarak azalmıştı (p<0,01). Tedavi gruplarında hem doku hem de BAL örneklerinde enzim aktiviteleri bleomisin grubuna göre yüksekti ve BAL sıvısında GSH-Px enzim aktivitesi için bu fark, istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,01). Tedavi kolları karşılaştırıldığında BAL sıvısında GSH-Px enzim aktivitesindeki artış kısa süreli tedavi kolunda daha belirgindi (p<0,01). BAL sıvısında GSH enzim aktivitesi kısa süreli tedavi kolunda bleomisin grubuna göre daha yüksekti (p=0,0001). TGF- β düzeyi bleomisin grubunda kontrol grubuna göre artmıştı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,01); tedavi gruplarında ise bleomisin grubuna göre azalmıştı. Hem doku hem de BAL örneklerinde tedavi grupları ve bleomisin grubunda SOD enzim aktivitesi ve IL-6 düzeyi arasında anlamlı bir fark saptanmadı. TNF- α düzeyi beklenenin aksine bleomisin grubunda azalmıştı; tedavi grupları ve kontrol grubunda TNF- α düzeyleri benzerdi.

Sonuç: Antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği birçok çalışmada gösterilmiş olan *N. sativa*, hem inflamasyon ve fibroziste azalma hem de antioksidan enzim aktivitelerinde artış sağlaması nedeniyle İPF tedavisinde veya hastalığın önlenmesinde etkin olabilir. Bu etkinin daha kesin bir şekilde gösterilebilmesi için, *N. sativa*'nın farklı dozlar ve sürelerde uygulanacağı başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar sözcükler: *N. sativa*, bleomisin, idiyopatik pulmoner fibrozis

SUMMARY

The Effect of *Nigella Sativa* Oil on Inflammation, Fibrosis and Antioxidant Enzymes in the Bleomycin-induced Lung Fibrosis Model in Rats

Aim: The aim of the study was to investigate the effect of *N. sativa* on the prevention or treatment of IPF which although a rare disease has a poor prognosis and survival.

Materials and method: The study included 5 groups each containing 8 rats. Only intratracheal saline was administered to the control group. *N. sativa* group was given a single dose of *N. sativa* oil by oral gavage. A single dose of intratracheal bleomycin (2.2 mg/kg) was administered to the bleomycin group (BG) as well as the treatment groups on day 0. *N. sativa* oil was given by oral gavage between days 0-16 in one treatment group and between days 8-16 in the other. At the end of the study, the lung tissues of all rats were investigated histopathologically; GSH, GSH-Px, SOD enzyme activities as well as IL-6, TNF- α , TGF- β and MDA levels were measured in lung tissues and BAL fluids.

Results: On histologic examination, the ratio of inflammation was observed as 45.6% in the BG while it was 19.3% and 14.1% in the long and short treatment arms. The difference between treatment arms and BG being statistically significant ($p=0.019$; $p=0.003$, respectively). The fibrosis score of the BG was 1.6 while it was 0.78 in the long treatment arm and 0.35 in the short treatment arm; and the difference was statistically significant ($p=0.004$; $p=0.0001$, respectively).

The intratracheal administration of bleomycin resulted in a statistically significant decrease in the GSH-Px and GSH activities and increase in MDA levels of the lung tissue and BAL fluid in comparison with the control group. The MDA level was decreased in both treatment groups ($p<0.01$). The enzyme activities in both tissue and BAL samples of both treatment arms were high with respect to the BG, the difference being statistically significant for GSH-Px enzyme activity of the BAL fluid ($p<0.01$). When the treatment arms were compared, the increase in the GSH-Px activity in BAL fluid was more prominent in the short treatment arm ($p<0.01$). The GSH enzyme activity in BAL fluid was higher in the short treatment arm with respect to the BG ($p=0.0001$). The level of TGF- β was increased in BG with respect to the control group and the increase was statistically significant ($p<0.01$) and it was found to be decreased in treatment groups. The difference between SOD activities and IL-6 levels of the bleomycin and treatment groups were not statistically significant in both tissue and BAL samples. TNF- α was unexpectedly decreased in BG, however the level of TNF- α was similar between control and treatment groups.

Conclusion: *N. sativa*, of which the anti-oxidant and anti-inflammatory characteristics have been shown in numerous studies, may be effective in the treatment or prevention of IPF since it resulted both a decrease in inflammation and fibrosis and an increase in the antioxidant enzyme activities. More studies in which *N. sativa* will be administered in different dosages and time periods, are needed to show the definite effect.

Key words: *N. sativa*, bleomycin, idiopathic pulmonary fibrosis

KAYNAKLAR

1. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Feb;161(2 Pt 1):646-64.
2. Salem ML. Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *Int Immunopharmacol.* 2005 Dec;5(13-14):1749-70.
3. Tariq M. *Nigella sativa* seeds: folklore treatment in modern day medicine. *Saudi J Gastroenterol.* 2008 Jul;14(3):105-6.
4. Zaoui A, Cherrah Y, Lacaille-Dubois MA, Settaf A, Amarouch H, Hassar M. [Diuretic and hypotensive effects of *Nigella sativa* in the spontaneously hypertensive rat]. *Therapie.* 2000 May-Jun;55(3):379-82.
5. Sokmen A, Jones BM, Erturk M. The in vitro antibacterial activity of Turkish medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 1999 Oct;67(1):79-86.
6. Khan MA, Ashfaq MK, Zuberi HS, Mahmood MS, Gilani AH. The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigella sativa* seeds. *Phytother Res.* 2003 Feb;17(2):183-6.
7. Gilani AH, Aziz N, Khurram IM, Chaudhary KS, Iqbal A. Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J Pak Med Assoc.* 2001 Mar;51(3):115-20.
8. Daba MH, Abdel-Rahman MS. Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett.* 1998 Mar 16;95(1):23-9.
9. Chakravarty N. Inhibition of histamine release from mast cells by nigellone. *Ann Allergy.* 1993 Mar;70(3):237-42.
10. Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res.* 2003 Apr;17(4):299-305.
11. Akhtar MS, Riffat S. Field trial of *Saussurea lappa* roots against nematodes and *Nigella sativa* seeds against cestodes in children. *J Pak Med Assoc.* 1991 Aug;41(8):185-7.
12. 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? *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(3):362-82.
13. Oguzulgen IK. Normal Akciğer. In: Türktas H, editor. *Synopsis of Diseases of the Chest.* 3 ed: Günes Kitabevi; 2006. p. 1-96.
14. Özdemir Ö. İnterstisyel Akciğer Hastalıklarının Genel Özellikleri. In: Numanoğlu N, editor. *Solunum Sistemi ve Hastalıkları.* Ankara: Antıp A.Ş.; 2001. p. 486-97.

15. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2001. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jan 15;165(2):277-304.
16. Morgenthau AS, Padilla ML. Spectrum of fibrosing diffuse parenchymal lung disease. *Mt Sinai J Med.* 2009 Feb;76(1):2-23.
17. King TE, Jr. Clinical advances in the diagnosis and therapy of the interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Aug 1;172(3):268-79.
18. Ryu JH, Daniels CE, Hartman TE, Yi ES. Diagnosis of interstitial lung diseases. *Mayo Clin Proc.* 2007 Aug;82(8):976-86.
19. Lynch JP, Toews GB. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: Fishman AP, Elias JA, Grippi MA, Kaiser LR, RM S, editors. *Pulmonary diseases and disorders.* 3rd edition ed. New York: McGraw-Hill Company; 1998. p. 1067-84.
20. Leslie KO. Historical perspective: a pathologic approach to the classification of idiopathic interstitial pneumonias. *Chest.* 2005 Nov;128(5 Suppl 1):513S-9S.
21. Noble PW, Homer RJ. Back to the future: historical perspective on the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005 Aug;33(2):113-20.
22. Meltzer EB, Noble PW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2008;3:8.
23. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Oct;150(4):967-72.
24. Yurdanur E, Turay ÜY. İdyopatik interstisyel pnömoniler. In: Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B, editors. *Difüz Parankimal Akciğer Hastalıkları.* 2 ed. Ankara; 2006. p. 1-43.
25. Dempsey OJ, Kerr KM, Gomersall L, Remmen H, Currie GP. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update. *QJM.* 2006 Oct;99(10):643-54.
26. Iwai K, Mori T, Yamada N, Yamaguchi M, Hosoda Y. Idiopathic pulmonary fibrosis. Epidemiologic approaches to occupational exposure. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994 Sep;150(3):670-5.
27. Hubbard R, Lewis S, Richards K, Johnston I, Britton J. Occupational exposure to metal or wood dust and aetiology of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet.* 1996 Feb 3;347(8997):284-9.
28. Baumgartner KB, Samet JM, Stidley CA, Colby TV, Waldron JA. Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997 Jan;155(1):242-8.
29. Tobin RW, Pope CE, 2nd, Pellegrini CA, Emond MJ, Sillery J, Raghu G. Increased prevalence of gastroesophageal reflux in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Dec;158(6):1804-8.

30. Scott J, Johnston I, Britton J. What causes cryptogenic fibrosing alveolitis? A case-control study of environmental exposure to dust. *BMJ*. 1990 Nov 3;301(6759):1015-7.
31. Baumgartner KB, Samet JM, Coultas DB, Stidley CA, Hunt WC, Colby TV, et al. Occupational and environmental risk factors for idiopathic pulmonary fibrosis: a multicenter case-control study. Collaborating Centers. *Am J Epidemiol*. 2000 Aug 15;152(4):307-15.
32. Strieter RM, Mehrad B. New mechanisms of pulmonary fibrosis. *Chest*. 2009 Nov;136(5):1364-70.
33. 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. *Eur Respir J*. 2006 Jan;27(1):136-42.
34. Hyzy R, Huang S, Myers J, Flaherty K, Martinez F. Acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest*. 2007 Nov;132(5):1652-8.
35. Perez-Padilla R, West P, Lertzman M, Kryger MH. Breathing during sleep in patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis*. 1985 Aug;132(2):224-9.
36. Bye PT, Issa F, Berthon-Jones M, Sullivan CE. Studies of oxygenation during sleep in patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis*. 1984 Jan;129(1):27-32.
37. Turner-Warwick M, Lebowitz M, Burrows B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer. *Thorax*. 1980 Jul;35(7):496-9.
38. Stack BH, Choo-Kang YF, Heard BE. The prognosis of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Thorax*. 1972 Sep;27(5):535-42.
39. Flaherty KR, Toews GB, Lynch JP, 3rd, Kazerooni EA, Gross BH, Strawderman RL, et al. Steroids in idiopathic pulmonary fibrosis: a prospective assessment of adverse reactions, response to therapy, and survival. *Am J Med*. 2001 Mar;110(4):278-82.
40. Richeldi L, Davies HR, Ferrara G, Franco F. Corticosteroids for idiopathic pulmonary fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003(3):CD002880.
41. Bouros D, Antoniou KM. Current and future therapeutic approaches in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2005 Oct;26(4):693-702.
42. 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. *N Engl J Med*. 2004 Jan 8;350(2):125-33.
43. 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. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Nov 1;178(9):948-55.

44. Daniels CE, Lasky JA, Limper AH, Mieras K, Gabor E, Schroeder DR. Imatinib treatment for idiopathic pulmonary fibrosis: Randomized placebo-controlled trial results. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010 Mar 15;181(6):604-10.
45. King TE, Jr., Behr J, Brown KK, du Bois RM, Lancaster L, de Andrade JA, et al. BUILD-1: a randomized placebo-controlled trial of bosentan in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008 Jan 1;177(1):75-81.
46. Nergiz C, Ötles S. Chemical composition of *Nigella sativa* L. seeds. *Food Chemistry*. 1993;48(3):259-61.
47. Nagi MN, Alam K, Badary OA, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Bekairi AM. Thymoquinone protects against carbon tetrachloride hepatotoxicity in mice via an antioxidant mechanism. *Biochem Mol Biol Int*. 1999 Jan;47(1):153-9.
48. Meral I, Yener Z, Kahraman T, Mert N. Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally-induced diabetic rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2001 Dec;48(10):593-9.
49. Meral I, Kanter M. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on selected mineral status and hematological values in CCl₄-treated rats. *Biol Trace Elem Res*. 2003 Winter;96(1-3):263-70.
50. el-Dakhakhny M, Mady NI, Halim MA. *Nigella sativa* L. oil protects against induced hepatotoxicity and improves serum lipid profile in rats. *Arzneimittelforschung*. 2000 Sep;50(9):832-6.
51. Kanter M, Meral I, Dede S, Gunduz H, Cemek M, Ozbek H, et al. Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl₄-treated rats. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2003 Jun;50(5):264-8.
52. Turkdogan MK, Agaoglu Z, Yener Z, Sekeroglu R, Akkan HA, Avci ME. The role of antioxidant vitamins (C and E), selenium and *Nigella sativa* in the prevention of liver fibrosis and cirrhosis in rabbits: new hopes. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. 2001 Feb;108(2):71-3.
53. Ali BH. The effect of *Nigella sativa* oil on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Chin Med*. 2004;32(1):49-55.
54. Khan N, Sharma S, Sultana S. *Nigella sativa* (black cumin) ameliorates potassium bromate-induced early events of carcinogenesis: diminution of oxidative stress. *Hum Exp Toxicol*. 2003 Apr;22(4):193-203.
55. Enomoto S, Asano R, Iwahori Y, Narui T, Okada Y, Singab AN, et al. Hematological studies on black cumin oil from the seeds of *Nigella sativa* L. *Biol Pharm Bull*. 2001 Mar;24(3):307-10.
56. Burits M, Bucar F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother Res*. 2000 Aug;14(5):323-8.
57. Badary OA, Abdel-Naim AB, Abdel-Wahab MH, Hamada FM. The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*. 2000 Mar 7;143(3):219-26.

58. El-Abhar HS, Abdallah DM, Saleh S. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* oil and its constituent, thymoquinone, against gastric mucosal injury induced by ischaemia/reperfusion in rats. *J Ethnopharmacol.* 2003 Feb;84(2-3):251-8.
59. Mahmoud MR, El-Abhar HS, Saleh S. The effect of *Nigella sativa* oil against the liver damage induced by *Schistosoma mansoni* infection in mice. *J Ethnopharmacol.* 2002 Jan;79(1):1-11.
60. el-Dakhkhny M. Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L. IV. Some pharmacological properties of the seeds' active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer. *Arzneimittelforschung.* 1965 Oct;15(10):1227-9.
61. Kalus U, Pruss A, Bystron J, Jurecka M, Smekalova A, Lichius JJ, et al. Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. *Phytother Res.* 2003 Dec;17(10):1209-14.
62. Mohamed A, Shoker A, Bendjelloul F, Mare A, Alzrigh M, Benghuzzi H, et al. Improvement of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) by thymoquinone; an oxidative stress inhibitor. *Biomed Sci Instrum.* 2003;39:440-5.
63. Mahgoub AA. Thymoquinone protects against experimental colitis in rats. *Toxicol Lett.* 2003 Jul 20;143(2):133-43.
64. Zedlitz S, Kaufmann R, Boehncke WH. Allergic contact dermatitis from black cumin (*Nigella sativa*) oil-containing ointment. *Contact Dermatitis.* 2002 Mar;46(3):188.
65. Isik AF, Kati I, Bayram I, Ozbek H. A new agent for treatment of acute respiratory distress syndrome: thymoquinone. An experimental study in a rat model. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2005 Aug;28(2):301-5.
66. Kanter M. Effects of *Nigella sativa* seed extract on ameliorating lung tissue damage in rats after experimental pulmonary aspirations. *Acta Histochem.* 2009;111(5):393-403.
67. Shahzad M, Yang X, Raza Asim MB, Sun Q, Han Y, Zhang F, et al. Black seed oil ameliorates allergic airway inflammation by inhibiting T-cell proliferation in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2009 Feb;22(1):37-43.
68. Fleischman RW, Baker JR, Thompson GR, Schaeppi UH, Illievski VR, Cooney DA, et al. Bleomycin-induced interstitial pneumonia in dogs. *Thorax.* 1971 Nov;26(6):675-82.
69. Yildirim Z, Kotuk M, Erdogan H, Iraz M, Yagmurca M, Kuku I, et al. Preventive effect of melatonin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *J Pineal Res.* 2006 Jan;40(1):27-33.
70. 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. *Br J Pharmacol.* 2003 Mar;138(6):1037-48.
71. Komura K, Yanaba K, Horikawa M, Ogawa F, Fujimoto M, Tedder TF, et al. CD19 regulates the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in a mouse model. *Arthritis Rheum.* 2008 Nov;58(11):3574-84.

72. Cuzzocrea S, Genovese T, Failla M, Vecchio G, Fruciano M, Mazzon E, et al. Protective effect of orally administered carnosine on bleomycin-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007 May;292(5):L1095-104.
73. Chaudhary NI, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Apr 1;173(7):769-76.
74. Şimşek F. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. *Turkiye Klinikleri J Pediatr*. 1999;8(Sayı 1):42-7.
75. Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H, et al. Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Feb 1;165(3):406-11.
76. Pinart M, Serrano-Mollar A, Negri EM, Cabrera R, Rocco PR, Romero PV. Inflammatory related changes in lung tissue mechanics after bleomycin-induced lung injury. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008 Feb 1;160(2):196-203.
77. Ozyurt H, Sogut S, Yildirim Z, Kart L, Iraz M, Armutcu F, et al. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin Chim Acta*. 2004 Jan;339(1-2):65-75.
78. Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol*. 1988 Apr;41(4):467-70.
79. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951 Nov;193(1):265-75.
80. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*. 1966 Aug;16(2):359-64.
81. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*. 1968 Oct 24;25(1):192-205.
82. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun*. 1976 Aug 23;71(4):952-8.
83. Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD. Oxidative stress in pulmonary fibrosis: a possible role for redox modulatory therapy. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Aug 15;172(4):417-22.
84. Cantin AM, North SL, Fells GA, Hubbard RC, Crystal RG. Oxidant-mediated epithelial cell injury in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 1987 Jun;79(6):1665-73.
85. Hallgren R, Bjermer L, Lundgren R, Venge P. The eosinophil component of the alveolitis in idiopathic pulmonary fibrosis. Signs of eosinophil activation in the lung are related to impaired lung function. *Am Rev Respir Dis*. 1989 Feb;139(2):373-7.
86. Montuschi P, Ciabattoni G, Paredi P, Pantelidis P, du Bois RM, Kharitonov SA, et al. 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 Nov;158(5 Pt 1):1524-7.

87. Lakari E, Soini Y, Saily M, Koistinen P, Paakko P, Kinnula VL. Inducible nitric oxide synthase, but not xanthine oxidase, is highly expressed in interstitial pneumonias and granulomatous diseases of human lung. *Am J Clin Pathol.* 2002 Jan;117(1):132-42.
88. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2001 Jun;1(3):217-24.
89. Behr J, Degenkolb B, Maier K, Braun B, Beinert T, Krombach F, et al. Increased oxidation of extracellular glutathione by bronchoalveolar inflammatory cells in diffuse fibrosing alveolitis. *Eur Respir J.* 1995 Aug;8(8):1286-92.
90. Behr J, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of N-acetylcysteine. *Eur Respir J.* 2002 May;19(5):906-11.
91. Tiitto L, Kaarteenaho-Wiik R, Sormunen R, Holmgren A, Paakko P, Soini Y, et al. Expression of the thioredoxin system in interstitial lung disease. *J Pathol.* 2003 Nov;201(3):363-70.
92. Peltoniemi M, Kaarteenaho-Wiik R, Saily M, Sormunen R, Paakko P, Holmgren A, et al. Expression of glutaredoxin is highly cell specific in human lung and is decreased by transforming growth factor-beta in vitro and in interstitial lung diseases in vivo. *Hum Pathol.* 2004 Aug;35(8):1000-7.
93. Lakari E, Pylkas P, Pietarinen-Runtti P, Paakko P, Soini Y, Kinnula VL. Expression and regulation of hemoxygenase 1 in healthy human lung and interstitial lung disorders. *Hum Pathol.* 2001 Nov;32(11):1257-63.
94. Lakari E, Paakko P, Pietarinen-Runtti P, Kinnula VL. Manganese superoxide dismutase and catalase are coordinately expressed in the alveolar region in chronic interstitial pneumonias and granulomatous diseases of the lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000 Feb;161(2 Pt 1):615-21.
95. Lois M, Brown LA, Moss IM, Roman J, Guidot DM. Ethanol ingestion increases activation of matrix metalloproteinases in rat lungs during acute endotoxemia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Oct;160(4):1354-60.
96. Tan RJ, Fattman CL, Watkins SC, Oury TD. Redistribution of pulmonary EC-SOD after exposure to asbestos. *J Appl Physiol.* 2004 Nov;97(5):2006-13.
97. Fattman CL, Chu CT, Kulich SM, Enghild JJ, Oury TD. Altered expression of extracellular superoxide dismutase in mouse lung after bleomycin treatment. *Free Radic Biol Med.* 2001 Nov 15;31(10):1198-207.
98. Wahl SM, Hunt DA, Wakefield LM, McCartney-Francis N, Wahl LM, Roberts AB, et al. Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987 Aug;84(16):5788-92.
99. Demedts M, Behr J, Buhl R, Costabel U, Dekhuijzen R, Jansen HM, et al. High-dose acetylcysteine in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2005 Nov 24;353(21):2229-42.

100. Ebru U, Burak U, Yusuf S, Reyhan B, Arif K, Faruk TH, et al. Cardioprotective effects of *Nigella sativa* oil on cyclosporine A-induced cardiotoxicity in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008 Dec;103(6):574-80.
101. Uz E, Bayrak O, Kaya A, Bayrak R, Uz B, Turgut FH, et al. *Nigella sativa* oil for prevention of chronic cyclosporine nephrotoxicity: an experimental model. *Am J Nephrol*. 2008;28(3):517-22.
102. Kanter M. Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicol Ind Health*. Nov 18.
103. El-Dakhakhny M, Madi NJ, Lember N, Ammon HP. *Nigella sativa* oil, nigellone and derived thymoquinone inhibit synthesis of 5-lipoxygenase products in polymorphonuclear leukocytes from rats. *J Ethnopharmacol*. 2002 Jul;81(2):161-4.
104. Suboh SM, Bilto YY, Aburjai TA. Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother Res*. 2004 Apr;18(4):280-4.
105. El-Beshbishy HA, Mohamadin AM, Nagy AA, Abdel-Naim AB. Amelioration of tamoxifen-induced liver injury in rats by grape seed extract, black seed extract and curcumin. *Indian J Exp Biol*. 2010 Mar;48(3):280-8.
106. El-Dakhakhny M, Barakat M, El-Halim MA, Aly SM. Effects of *Nigella sativa* oil on gastric secretion and ethanol induced ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*. 2000 Sep;72(1-2):299-304.
107. Mansour MA, Ginawi OT, El-Hadiyah T, El-Khatib AS, Al-Shabanah OA, Al-Sawaf HA. Effects of volatile oil constituents of *Nigella sativa* on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice: evidence for antioxidant effects of thymoquinone. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*. 2001;110(3-4):239-51.
108. Nagi MN, Mansour MA. Protective effect of thymoquinone against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: a possible mechanism of protection. *Pharmacol Res*. 2000 Mar;41(3):283-9.