

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

RATLARDA BLEOMİSİN İLE OLUŞTURULAN AKCİĞER
FİBROZİSİNDE ERDOSTEİNİN İNFLAMASYON VE FİBROZİS
ÜZERİNE ETKİLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Ersin Şükrü ERDEN

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Figen DEVECİ

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No:859).

ELAZIĞ- 2006

TEŞEKKÜR

Fırat Üniversitesi Tıp Fakóltesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıştığım süre içerisinde yakın ilgilerini gördüğüm, tez çalışmalarımda yardımlarıyla hep yanımda olan Anabilim Dalı Başkanım Prof. Dr. M. Hamdi MUZ'a, tez danışmanım Yrd. Doç. Dr.Figen DEVECİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Teyfik TURGUT'a ve Yrd. Doç. Dr. Gamze KIRKIL'a, uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım, hemşireler ve personellere, göğüs hastalıkları ihtisasım boyunca bana sabır ve fedakarlıkla katlanan sevgili eşim ve oğluma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür	III
İçindekiler	IV
Tablolar listesi	VII
Şekiller listesi	VIII
1. Özet	1
2. Abstract	2
3. Giriş	3
3.1. Tanım	5
3.2. Epidemiyoloji	7
3.3. Etyoloji	7
3.3.A. Sigara içimi	7
3.3.B. İlaç maruziyeti	7
3.3.C. Kronik aspirasyon	8
3.3.D. Çevresel faktörler	8
3.3.E. Viral enfeksiyonlar	8
3.3.F. Genetik faktörler	8
3.4. Patogenez	8
3.5. Klinik ve tanı	10
3.5.A. Anamnez ve fizik muayene	11
3.5.B. Labaratuar	12
3.5.C. Görüntüleme yöntemleri	12
3.5.C.a. Akciğer grafisi	12
3.5.C.b. Yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi	12
3.5.C.c. Tc 99m Dietilentriamine penta-asetik asit sintigrafisi	13
3.5.C.d. Pozitron emisyon tomografisi	13
3.5.C.e. Galyum 67 akciğer sintigrafisi	13
3.5.D. Akciğer Fonksiyon Testleri	13
3.5.E. Bronkoalveoler lavaj	13
3.5.F. Akciğer biyopsisi	14
3.5.G. Histopatolojik özellikler	14
3.6. Ayırıcı tanı	15
3.7. Tedavi	16

3.7.A. Kortikosteroidler	16
3.7.B. Sitotoksik ilaçlar	17
3.7.B.a. Azatioprin	17
3.7.B.b Siklofosfamid	17
3.7.C. Antifibrotik ajanlar	18
3.7.C.a Kolşisin	18
3.7.C.b.D-penisilamin	18
3.7.D. Antioksidanlar	18
3.7.D.a N-Asetil sistein	18
3.7.D.b. Vitamin E	18
3.7.D.c. Glutasyon	19
3.7.E. Diğer tedavi yöntemleri	19
3.7.F. Tedavi süresi ve monitörizasyonu	19
3.7.G. Destek tedavisi	20
3.7.H. Akciğer transplantasyonu	20
3.8. Prognoz	21
3.9. Makrofaj inflamatuvar protein-1 α , makrofaj inflamatuvar protein- 2, Malondialdehit, Bleomisin, Erdostein	21
3.9.A. Makrofaj inflamatuvar protein-1 α , makrofaj inflamatuvar protein- 2	21
3.9.B. Malondialdehit	22
3.9.C. Bleomisin	23
3.9.D. Erdostein	24
4. Gereç ve yöntem	26
4.1. Deney hayvanları	26
4.1.A. Deney grupları	26
4.1.B. Yapılan İşlemler	27
4.2. BAL Malondialdehit Ölçümü	27
4.3. BAL Makrofaj inflamatuvar protein-1alfa ve makrofaj inflamatuvar protein- 2 Ölçümü	28
4.4. Akciğer dokusu hidroksiprolin miktarının tespiti	28
4.5. Histopatolojik inceleme	29
4.6. Bronkoalveoler lavaj	29

4.7. İstatistiksel Analiz	29
5. Bulgular	30
5.1. BAL n6trofil d6zeyleri	30
5.2. BAL lenfosit d6zeyleri	32
5.3. BAL MIP-1 α d6zeyleri	33
5.4. BAL MIP-2 d6zeyleri	34
5.5. BAL Malondialdehit d6zeyleri	36
5.6. Doku hidrokspirolin d6zeyleri	36
5.7. Fibrozis	40
6. Tartışma	47
7. Kaynaklar	62
8. 6zgeçmiş.	

TABLO LİSTESİ

Tablo 1	Diffüz parankimal akciğer hastalıklarının sınıflandırılması	5
Tablo 2	İdyopatik interstisyel pnömonilerin histolojik ve klinik sınıflaması	5
Tablo 3	İdyopatik pulmoner fibrozisin ayırıcı tanısı	15
Tablo 4	İdyopatik pulmoner fibrozisde kombine tedavi	20
Tablo 5	Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi	29
Tablo 6	Erdosteine grubunda BAL hücre sayıları, MIP-1 alfa, MIP-2 ve MDA düzeyleri	36
Tablo 7	Tüm gruplarda doku hidroksiprolin düzeyleri ve fibrozis skorları.	37
Tablo 8	Erdosteine grubunda 0., 14. ve 29. gündeki doku hidroksiprolin düzeyleri ve fibrozis skorları.	37

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	0. gün (A),14.gün(B) ve 29. gündeki (C) BAL hücre düzeyleri	31
Şekil 2	Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MIP-1 α düzeyleri	33
Şekil 3	Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MIP-2 düzeyleri	34
Şekil 4	Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MDA düzeyleri.	35
Şekil 5	Kontrol ve BLM gruplarında BAL `da inflamatuvar hücre ve histopatolojik inceleme	38
Şekil 6	Erdostein grubunda BAL `da inflamatuvar hücre ve histopatolojik inceleme	39

1. ÖZET

İdyopatik Pulmoner Fibrozis (IPF) alveolit ve pulmoner fibrozisin patogenezinin aydınlatılmamış olduğu, etyolojisi bilinmeyen ve kullanılmakta olan tedavilerin prognoza çok az etkili olduğu bir İnterstisyel Akciğer Hastalığı (İAH)'dır.

Çalışmamızda deneysel yolla akciğer fibrozisi oluşturarak, akciğer dokusu ve bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında bazı kemokinlerin düzeyinin ve inflamatuvar hücre sayısının, akciğer dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin incelenmesi yoluyla IPF'nin patogenezinde oynadıkları rolü araştırmayı, erdosteinin akut inflamatuvar değişiklikler ve fibrozis üzerine olan etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmaya Wistar tipi erkek ratlar alındı. Kontrol grubuna (n=15) 0. günde intratrakeal (i.t.) salin, bleomisin (BLM) (n=15) ve erdostein grubuna (n=15) ise i.t. BLM (7.5 U/kg) uygulandı. Erdostein grubuna ek olarak peroral 10 mg/kg/gün erdostein verildi. Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. günde 5'er adet olmak üzere ratlar anestezik koşullar altında öldürülerek BAL yapıldı. BAL'da Malondialdehit (MDA), Makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1 α , MIP-2 düzeylerinin ölçümü ve inflamatuvar hücre sayımı, akciğer dokusunda hidroksiprolin ölçümü ve histopatolojik inceleme yapıldı.

Akut inflamatuvar fazda (14. gün) ve geç fibrozis döneminde (29. gün) erdosteinin BLM grubu ile karşılaştırıldığında BAL sıvısında nötrofil, MIP-1 α , MIP-2, MDA düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı (14 ve 29. günler için sırasıyla; nötrofil için p=0.008, p=0.009; MIP-1 α için p=0.016, p=0.009; MIP-2 için p=0.009, p=0.016; MDA için p=0.009, p=0.009) ve erdosteinin akciğer dokusu hidroksiprolin içeriğindeki artışı BLM grubuna göre anlamlı derecede azalttığı saptandı (14. gün için; p=0.009, 29. gün için p=0.009). 29. günde fibrozis derecesi erdostein grubunda BLM grubuna göre anlamlı düzeyde düşük olarak bulundu (p=0.005).

Sonuç olarak, erdosteinin nötrofil birikiminin baskılanması, lipid peroksidasyonunun inhibe edilmesi, kemokinlerin üretim veya salınımının engellenmesi yoluyla BLM'nin neden olduğu akut akciğer inflamasyonu ve fibrozisini engelleyebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: IPF, MDA, MIP-2, Hidroksiprolin, Erdostein

2. ABSTRACT

Effects of Erdosteine on inflammation and fibrosis in rats with pulmonary fibrosis induced by Bleomycin

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is an interstitial pulmonary disease. The etiology and the pathogenesis of fibrosis and alveolitis are unknown. Current treatment modality is also poor for this condition.

In this experimental study, pulmonary fibrosis was obtained. Some chemokines levels, inflammatory cell counts were measured in broncho-alveolar lavage (BAL) fluid and pulmonary tissue specimens. Thus, these agents were investigated to understand their role in the pathogenesis of IPF and the role of Erdosteine on acute inflammatory response and fibrosis was aimed to explore in this study.

Wistar type male rats were taken into the study. Intra tracheal (i.t.) saline were administered in day 0 in control group (n=15). Bleomycine (BLM) were given i.t. to bleomycine group ($7,5 \text{ U} \times \text{kg}^{-1}$) (n=15) and erdosteine was given orally ($10 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1} \times \text{day}^{-1}$) after BLM ($7,5 \text{ U} \times \text{kg}^{-1}$) application to erdosteine group (n=15). Five rats were sacrificed in each group to obtain BAL fluid in day 0, day 14 and day 29. MDA, MIP-1 α and MIP-2 levels in BAL fluid, inflammatory cell counts, hydroxyproline levels in lung tissue were measured. Histopathological examination were also performed.

MIP-1 α , MIP-2, MDA levels in BAL fluid were statistically significant reduced by erdosteine in erdosteine group compared in BLM group in acute inflammatory phase (day 14) and late fibrosis phase (day 29). (P levels for neutrophils were 0.008 and 0.009, for MIP-1 α were 0.016 and 0.009, for MIP-2 were 0.009 and 0.016, for MDA were 0.009 and 0.009 in day 14 and day 29, respectively.) Fibrosis levels were found significantly lower in erdosteine group than BLM group in day 29 (p=0.005).

In conclusion, it is suggested that erdosteine may have protection affect BLM induced fibrosis and acute pulmonary inflammation via suppression of neutrophils accumulation, inhibition of lipid peroxydation and inhibition of chemokines production and release.

Key words: IPF, MDA, MIP-2, Hydroxyproline, Erdosteine.

3. GİRİŞ

Hamman ve Rich'in 1935 yılında tanımladıkları ilk progresif pulmoner fibrozis olgusundan bugüne kadar değişik derecelerde pulmoner fibrozisle seyreden çok sayıda akut ve kronik akciğer hastalığı tanımlanmış ve genellikle bu hastalıklara İnterstisyel Akciğer Hastalığı (İAH) adı verilmiştir (1). İAH'ler alt solunum yolları hastalıklarının büyük ve heterojen bir grubunu oluşturur. Bu hastalıkların çoğu ortak klinik, radyolojik, fizyolojik ve histopatolojik özelliklere sahiptir (2).

İdyopatik Pulmoner Fibrozis (IPF) alveolit ve pulmoner fibrozisin patogenezinin aydınlatılmamış olduğu, etyolojisi bilinmeyen ve sık görülen, genellikle ölümcül seyreden ve halen kullanılmakta olan tedavilerin hastaların prognozu üzerine çok az etkili olduğu bir İAH'dır (3, 4). Yapılan son çalışmalara rağmen hastalığın nedeni kesin belli değildir (3, 5).

IPF'lerin çoğunda olay alveol epitelinin hasarlanması ile başlar, epitel hücre membranları bütünlüğünü kaybeder, çeşitli inflamatuvar hücreler ortaya çıkar. Bunu matriks komponentlerinin aşırı ekspresyonu ve depolanması izler. Hasar sonucu ortaya çıkan inflamatuvar yanıt fibrozis gelişimi ve bir takım yapısal değişikliklerle sonuçlanır.

Genel popülasyonda IPF'nin epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler çok azdır. İnsidansı yılda 100.000'de 3-26 arasında değişmektedir (1). İAH'nin en sık görülen formu IPF'dir (%30-40). IPF'nin insidansı yaşla belirgin biçimde artar, yaş arttıkça mortalite de artar (6).

İnterstisyel akciğer hastalıklarının patogenezi; akciğer interstisyumu ve alveoler kapiller zarda yer alan hücreler ile immun hücreler arasındaki dinamik ve karışık ilişkileri içermektedir. Multipl alveoler epitel yaralanması ve interstisyel kronik inflamasyona cevap olarak gelişen fibrozis düzensiz ve aşırı yara iyileşmesi sürecinin göstergesidir (7). İnflamasyon ve immun yanıtla bağlı doku hasarının oluşmasında oksijen bağımlı serbest radikaller başlıca rolü oynar (8). İnflamatuvar hücrelerce üretilen oksidanlar akciğer hasarı ve IPF'nin oluşmasına neden olurlar. IPF'si olan hastaların bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında antioksidanların normale göre 1/3 oranında azaldığı saptanmıştır (9).

Pulmoner fibrozis daha çok akciğerlerin inflamasyon durumlarında ortaya çıkan ilerleyici kollajen depolarının bozukluğu ile karakterize bir hastalıktır. Temelinde henüz açıklığa kavuşturulmamış birçok faktör vardır. Anormal akciğer fizyolojisi ve kollajen, elastin, proteoglikan gibi birçok matriks moleküllerinin aşırı

üretimi ile karakterizedir (10). Bleomisin (BLM) ile oluşturulan akciğer fibrozis modeli hastalığın aşamalarını ve akciğer yapısı ile fonksiyonunu açıklığa kavuşturmak için kullanılan en önemli modeldir. BLM bir antineoplastik ajandır. BLM'nin antineoplastik etki mekanizması; oluşan BLM-demir kompleksinin moleküler oksijeni süperoksid ve hidroksil radikaline indirgeyerek, DNA liflerinde kırılma oluşturmasıdır (11). Yapılan *in vitro* çalışmalarda antioksidan ile BLM'ye bağlı DNA ve hücre hasarının inhibe olduğu gösterilmiştir (12, 13).

Son on yıl içerisinde bazı akciğer hastalıklarının tedavisi için geliştirilmiş bir preparat olan erdosteine (dithiosteine, RV 144, N-carboxymethylthioacetyl-homocystein) mukolitik ilaçlar içinde yer alır. Mukus salgısını seyreltici, düzenleyici ve mukosilyer transportu artırıcı etkisinin yanında hem serbest radikal oluşumunu engelleyici hem de elastaz enzim aktivitesini inhibe edici etkisi vardır (14, 15). Yapılan çalışmalarda erdosteine fare ve tavşanlarda hava yolu salgılarını artırdığı, insanlarda ise sigara ile oluşan α_1 -antitripsinin inaktivasyonunu baskıladığı gösterilmiştir (16, 17).

Bleomisin ile oluşturulan akciğer fibrozisinin patofizyolojisinde 2 faz vardır. Erken inflamatuvar fazda, interstisyel ve alveolar alanlara makrofaj, nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu olurken, ikinci fazda fibrozis gelişir. Reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve proteazlar genellikle bu inflamatuvar hücrelerden salgılanarak akciğer dokusunda hasar oluşturur ve onarım sürecinde ise aşırı fibrozis gelişir (18). İnterstisyel ve alveolar makrofajlardan bir lökosit kemotaksini olan makrofaj inflamatuvar protein-1 α (MIP-1 α) üretilir. Makrofaj inflamatuvar protein 2 (MIP-2) ise insanlardaki nötrofil kemotaktik faktör olan İnterlökin-8 (IL-8)'in murin analogudur. IPF'nin patogeneğinde nötrofiller de önemli rol oynamaktadır (5).

Çalışmamızda deneysel yolla BLM ile akciğer fibrozisi oluşturarak, akut inflamatuvar ve fibrotik fazda akciğer dokusunda ve BAL sıvısında bazı kemokin ve sitokinlerin düzeyini ve akciğer dokusunda oluşan histopatolojik değişiklikleri incelemek yoluyla IPF'nin patofizyolojisini aydınlatmaya katkıda bulunabilecek bazı verileri elde edebilmek amaçlanmıştır. Ayrıca akciğer hastalıklarında rahatlıkla uygulanan ve antioksidan özelliği gösterilmiş olan erdosteine akut inflamatuvar değişiklikler ve fibrozis üzerine etkilerinin olup olmadığı, antioksidan tedavinin IPF tedavisine önemli bir katkı sağlayıp sağlamadığı araştırılmıştır.

3.1. Tanım

İdyopatik interstisyel pnömoniler (İİP), diffüz parankimal akciğer hastalıklarının (DPAH) bir grubudur (Tablo 1). Bilinmeyen bir sebeple akciğer parankiminin değişik derecede inflamasyon ve fibrozis ile hasarlanması sonucu oluşmaktadır. İnterstisyum İİP'lerde ilk hasarlanan bölgedir. Ayrıca alveoller, periferik hava yolları, endotelyal ve epitelyal bölgedeki damarlar da etkilenmektedir (19, 20, 21).

Tablo 1: Diffüz parankimal akciğer hastalıklarının sınıflandırılması (20)

İlaç veya kollejen vasküler hastalık gibi bilinen nedenlere sekonder DPAH
Granümatöz DPAH (Sarkoidoz gibi)
Diğer DPAH (LAM, HX , eozinofilik pnömoni gibi)
İdyopatik interstisyel pnömoniler
İdyopatik pulmoner fibroz
İdyopatik pulmoner fibroz dışındaki İİP'ler (DİP, AİP, NSİP, RBİAH, KOP, LİP)

(DPAH: Diffüz parankimal akciğer hastalıkları, LAM: Lenfajiyoleyomiyomatoz, HX: Langerhans hücreli histiositoz, DİP: Deskuamatif interstisyel pnömoni, AİP: Akut interstisyel pnömoni, NSİP: Nonspesifik interstisyel pnömoni, RBİAH: Respiratuar broşiyolit interstisyel akciğer hastalığı, KOP: Kriptojenik organize pnömoni, LİP: Lenfositik interstisyel pnömoni)

Amerikan Toraks Derneği/Avrupa Solunum Derneği (ATS: American Thoracic Society, ERS: European Respiratory Society) 2001 yılında İİP'ler için yeni bir sınıflama önermiştir. Bu sınıflama histolojik ve klinik özelliklere göre yapılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: İdyopatik interstisyel pnömonilerin histolojik ve klinik sınıflaması (19)

Histolojik patern	Klinik tanı
Usual interstisyel pnömoni	İdyopatik pulmoner fibroz- kriptojenik fibrozun alveolit
Nonspesifik interstisyel pnömoni	Nonspesifik interstisyel pnömoni
Organize pnömoni	Kriptojenik organize pnömoni
Diffüz alveolar hasar	Akut interstisyel pnömoni
Respiratuar bronşiyolit	Respiratuar broşiyolit interstisyel akciğer hastalığı
Deskuamatif interstisyel pnömoni	Deskuamatif interstisyel pnömoni
Lenfositik interstisyel pnömoni	Lenfositik interstisyel pnömoni

Uluslararası konsensus raporuna (ATS, ERS, American College of Chest Physicians) göre IPF; torakoskopik veya açık akciğer biyopsilerinde UIP'nin (Usual interstisyel pnömoni) histolojik görünümü olan, akciğere sınırlı kronik fibrozan interstisyel pnömoninin spesifik bir formudur. Cerrahi biyopside UIP tespit edildiğinde; İAH'nin diğer bilinen nedenlerinin (İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve kollejen vasküler hastalıklar gibi) olmaması, restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu (FEV₁/ FVC oranında artma ile birlikte VC'de azalma; FEV₁: 1. saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü, FVC: Zorlu vital kapasite, VC: Vital kapasite), gaz alışverişinde bozulma istirahat veya egzersizde alveolo-arteriyel parsiyel oksijen basınç farkında artma veya akciğer difüzyon kapasitesinde (DLCO) düşme, akciğer grafisinde veya yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografide (YRBT) IPF için tipik bulguların olması durumunda kesin IPF tanısı konulabilir.

Cerrahi akciğer biyopsisi olmadan kesin IPF tanısı konulamaz. Bununla beraber bağışıklık sistemi baskılanmamış yetişkinlerde aşağıda belirtilen major tanısal kriterlerin tamamı ve dört minör kriterden en az üçünün olması IPF'ye doğru tanı konma olasılığını artırır (20).

İdyopatik pulmoner fibrozisin klinik tanısı için kriterler major ve minör kriterler olarak ikiye ayrılır (19);

Major kriterler

- İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve konnektif doku hastalığı gibi İAH'nin diğer nedenlerinin olmaması
- Restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu ve gaz alışverişinde bozulma
- YRBT'de minimal buzlu cam görünümü ile birlikte bibaziller retiküler gölgeler
- Transbronşiyal akciğer biyopsisi veya BAL'ın başka bir tanıyı destekleyecek bulgu göstermemesi

Minör kriterler

- Yaşın 50'nin üzerinde olması
- Başka bir nedenle açıklanamayan sinsi başlangıçlı egzersiz dispnesi
- Hastalık süresinin 3 ay veya daha uzun olması
- Bibaziller inspiratuar raller (kuru veya velcro)

3.2. Epidemiyoloji

Genel popülasyonda IPF'nin epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler çok azdır. İnsidansı yılda 100.000'de 3-26 arasında değişmektedir (1). Son zamanlarda, New Mexico Bernalillo şehir popülasyonunda tüm IPF için yapılan popülasyon bazlı çalışmada prevalansın belirgin olarak arttığı, erkeklerde 20,2/100.000, kadınlarda 13,2/100.000 olduğu gösterilmiştir (22). Bu çalışmada tüm İAH'ler içinde en sık görüleni (%22,5) IPF olmuştur. Türkiye'de kesin insidans bilinmemektedir (27). IPF erkeklerde kadınlardan daha sık görülür. Hastalar orta yaş grubunda, genellikle 40-70 yaş arasındadır, 2/3'ü 60 yaş üzerindedir. Ortalama tanı yaşı 66'dır (23). İnsidans yaş ilerledikçe artar, 35-44 yaş arası erkeklerde prevalans 2,7/100.000 iken, 75 yaş üzerindeki erkeklerde prevalans 175/100.000 üzerindedir (22).

İdyopatik pulmoner fibroz kesin bir coğrafik dağılım göstermez. Bununla birlikte mesleksi ya da çevresel maruziyete bağlı olarak coğrafik bazı farklılıklar gözlenebilir (24). Irk ve etnik ayrım yoktur. Ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 3,2-5 yıldır (20). Bir çalışmada ortalama yaşam süresi solunum semptomlarının başlamasından sonra 28,2 ay bulunmuştur (25,27).

3.3. Etiyoloji

İdyopatik pulmoner fibrozisin etiolojisi bilinmemektedir. Bununla birlikte potansiyel risk faktörleri olarak sigara içimi, ilaç maruziyeti, kronik aspirasyon, çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar ve genetik yatkınlık üzerinde durulmaktadır (20, 26). Bu etiolojik ajanların pulmoner immün hücrelerle etkileşip inflamatuvar ve fibrotik olayları başlattığı düşünülmektedir. Bu ajanlar aynı zamanda direkt olarak epitel ve endotel hücrelerinde hasar oluşturur. (27).

3.3.A. Sigara içimi

Potansiyel bir risk faktörüdür. Bu oran paket/yıl sigara içme öyküsü ile artar (20).

3.3.B. İlaç maruziyeti

Bir çalışmada antidepresan ilaç kullanımı ile pulmoner fibroz gelişme riski arasında ilişki olduğu ifade edilmiştir (28).

3.3.C. Kronik aspirasyon

Gastroözefajiyal reflüye (GÖR) bağlı kronik aspirasyon pulmoner fibroz gelişimine yol açabilir. Bir çalışmada IPF'li hastaların %90'ında semptom vermeyen GÖR saptanmıştır (29).

3.3.D. Çevresel faktörler

Toz veya organik solventlere maruz kalan bireylerde, maruz kalmayanlara göre iki kat daha fazla IPF saptanmıştır. Metal (kurşun, pirinç, çelik) ve odun tozları (çam odunu tozu) IPF gelişiminde suçlanmaktadır (26, 27, 30).

3.3.E. Viral enfeksiyonlar

Birçok virüsün IPF patogenezinde rol oynadığı düşünülmüş, fakat viral etyoloji için kesin bir kanıt bulunmamıştır (20). Epstein Barr virüs (EBV) enfeksiyonu ile IPF arasındaki ilişki araştırılmış EBV viral kapsid antijeni immun floresan boyama ile akciğer dokusunda gösterilmiştir (31). İnfluenza, sitomegalovirus, hepatit C, parainfluenza 1 virüs, kızamık virüsü, herpes virüs 6, mycoplasma ve legionella hastalığı IPF patogenezinde suçlanmış ancak çalışmalar virüslerin IPF patogenezindeki rolünün sınırlı olduğunu düşündürmüştür (20, 27).

3.3.F. Genetik faktörler

İdyopatik pulmoner fibrozis gelişiminde risk faktörlerinden biri olan genetik özelliklerin en önemli kanıtı IPF'li familial vakaların tanımlanmasıdır. Familial IPF için primer biyolojik aileden en azından ikisinde histolojik olarak doğrulanmış IPF'nin olması gereklidir. Genetik geçiş açısından erkek ve kadınlar eşit oranda etkilenir, otozomal dominant geçiş gösterir (32). İdyopatik pulmoner fibrozis'li hastalarda HLA-B8, HLA-B15, HLA-B12, HLA-DR2 ve DWG insidansının yüksek olduğunu gösteren araştırma sonuçlarına karşın, bazı araştırmacılar bu sonuçları desteklememiştir. Günümüzde IPF ile HLA arasındaki ilişki açık değildir. Çalışmalarda IPF ile 14. kromozom üzerinde bulunan $\alpha 1$ antitripsin inhibitör (Pi) allelleri arasındaki ilişki de bildirilmiştir (33).

3.4. Patogenez

Difüz pulmoner fibroz gelişiminde iki farklı yolak mevcuttur (27, 34).

1-İnflamatuvar yolak: IPF dışındaki bütün DPAH'da oluşur. Erken alveoliti, sonuçta gelişen fibrozis izler.

2-Epitelial yolak: IPF patogenezinde başlıca üzerinde durulan mekanizmadır.

Alveoler epitel bütünlüğünde bozulma IPF'nin tüm evrelerinde ayırıcı bir özelliktir. Alveoler dökülme bölgeleri hiperplastik hücrelerle doldurulur ve bu özellikler başlıca fibroblastik odak olarak tanımlanan bölgelerde gözlenir. Başka bir deyişle IPF'de patoloji; uygun reepitelizasyonun sağlanamaması ve anormal bir yara iyileşmesidir (35).

Alveolde hasar oluştuktan sonra, alveoler bariyerin bütünlüğünü sağlamak için yara iyileşmesi başlar. Bu sürecin en önemli aşaması reepitelizasyondur. Epitel hücre migrasyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonu yoluyla oluşturulur. IPF'de bu yanıt yavaş ve yetersizdir. Tip 1 hücrelerde kayıp, tip 2 hücrelerde hiperplazi, adezyon molekülleri ve MHC antijen ekspresyonunda değişim gözlenir (36, 37). Bazal membranın intakt olduğu alanlarda tip 2 hücreler epitelyal yüzeyi iyileştirmek amacıyla çeşitli enzimleri, sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgırlar (36).

İmmünohistokimya ve insitu hibridizasyon çalışmalarında, IPF'li olguların alveol epitel hücrelerinin, pulmoner fibrozis gelişimini sağlayan platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforming growth factor, tümör nekrozis faktör α (TNF α), connective tissue growth factor ve endotelin1 salgıladıkları bildirilmiştir (34). Ayrıca alveoler epitelin Th 2 paterni içeren sitokinlerden bir mikroçevre oluşturduğu bildilmektedir. IPF'li olguların akciğer parenkiminde yalnızca profibrotik sitokin IL-4 tespit edilmiştir (38).

Normal yara iyileşmesi sırasında doku zedelenmesi kan damarlarının kesintiye uğramasına ve kan elemanlarının damar dışına çıkmasına neden olur. Bu aşamada hemostaz ve geçici ekstrasellüler matris (ESM) oluşur. Normal yara iyileşmesinde epitel hücreleri oluşan fibrini yıkar (39). İPF'ide içeren fibrotik akciğer hastalıklarında ise lokal prokoagülan aktivite artmıştır. Aktive epitel hücrelerinden doku faktörü (TF), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAİ-1) ve PAİ-2 salınımı sonucunda intraalveoler prokoagülan, antifibrinolitik bir çevre oluşur (27, 40).

İdyopatik pulmoner fibrozun başlıca ayırıcı morfolojik özelliği, fibroblastik odak oluşumudur. Fibroblastik odaklar, subepitelyal fibroblastların oluşturduğu agregatlar ve ESM içine gömülmüş, miksoid görünümde miyofibroblastlar şeklinde gözlenir. Bu mezenkimal hücreler, organize akut akciğer zedelenmesi ve aktif ilerleyen fibrojenik süreci gösterir. Fibroblast / miyofibroblast odak miktarı, IPF'li olgularda en önemli prognostik faktörlerden biridir (41). Derideki yara iyileşmesinde olduğu gibi fibroblastların öncelikle migratuar özellik kazandıkları, daha sonra

proliferatif ve en son profibrotik miyofibroblast fenotipini aldıkları varsayılmaktadır (34).

Normal yara iyileşmesinde, miyofibroblastlar apoptozise giderek progresif olarak azalır. IPF'li olgularda ise miyofibroblastların yaşam süresi uzamıştır, bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte sitokin/büyüme faktörleri/matriks ağı ilişkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Doku metalloproteinaz-2 inhibitör (TIMP-2) ekspresyonunun fibroblastların uzun sağ kalımı ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (34, 42, 43).

İdyopatik pulmoner fibrozlu olgulardan elde edilen fibroblastların anjiyotensin ürettiği gösterilmiştir. Anjiyotensin *in vitro* koşullarda alveoler epitel hücre ölümünü indüklemektedir. Miyofibroblastlar ise geletinaz A ve B salgılamakta, bu iki matriksmetalloproteinaz (MMP) alveol bazal membranını parçalamaktadır. Sonuçta akciğer parenkiminde miyofibroblastların artması, bir yandan anormal alveoler reepitelizasyona neden olurken, diğer yandan akciğer parenkiminde yoğun ESM depolanması ile sonuçlanır (42).

Aberan ESM'nin yeniden yapılanması fibrotik olayların tümünde son noktadır. Bu olayın IPF'li olgularda MMP/TIMP dengesizliği sonucu olduğu ortaya koyulmuştur. Fibriller kollejen yıkımından sorumlu olan interstisyel kollejenaz MMP1 IPF'li olguların akciğer parankiminde yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Sonuçta IPF'li akciğerde fibriller kollejen bir mikroçevre oluşmaktadır (34, 42).

Neovaskülarizasyonun da fibrogenезisi arttırdığı gösterilmiştir. Neovaskülarizasyonda ilk aşama kollejenaz 1, geletinaz A ve B yoluyla matriks yıkımı ve ardından vascular endothelial growth factor (VEGF), anjiopötinler ve fibroblast growth factor (FGF-2) uyarımı ile endotelial hücre migrasyonudur (44, 45).

3.5. Klinik ve tanı

Difüz parankimal akciğer hastalıklarına yaklaşım geniş bir öykünün alınması ile başlamalıdır. Fizik muayene, göğüs radyografisi, YRBT, pulmoner fonksiyon testleri, laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi ve IPF dışı tanılarını destekleyen özellikleri dışlamak için transbronşiyal biyopsi ve BAL yapılmalıdır (27).

3.5.A. Anamnez ve Fizik Muayene

İdyopatik Pulmoner Fibrozis'den şüphelenilen olgularda, asbest ve ağır metal maruziyeti IPF ile aynı klinik tabloyu oluşturabileceğinden, çevresel ve mesleki maruziyete ilişkin ayrıntılı anamnez alınmalıdır. Lenfanjitik yayım IPF'yi taklit edebileceğinden malignite öyküsü önem taşır. Kuş veya fungal antijenlere uzun süre maruziyet sonucu gelişen ekstremsel allerjik alveolitin kronik formu klinik olarak IPF'yi taklit edebilir. İlaç anamnezi önemlidir (Sitotoksik ajanlar, nitrofurantoin, amiodaron). Bazen kollejen doku hastalıkları akciğer tutulumu ön planda olabileceğinden reynaud fenomeni, artrit, miyozite ait semptomlar ve GÖR'e ait anamnez dikkatle alınmalıdır (27, 46).

İdyopatik pulmoner fibroz genellikle sinsi başlangıç gösterir. Tipik olarak ilerleyici seyir gösteren nefes darlığı ve kuru öksürük semptomları vardır. Kuru öksürük genellikle antitusiflere cevap vermez. Hastalığın ileri dönemlerinde mukoid balgam olabilir (46). Hemoptizi hastalığın özelliği değildir, varsa maligniteden şüphelenilmelidir. IPF'lilerde akciğer malignitesi sıklığı, genel popülasyona göre 14 kat fazladır (47). Göğüs ağrısı nadirdir, olduğunda genellikle kardiyak kökenlidir, özellikle ilerlemiş hastalıkta hipokseminin tetiklediği kardiyak olay en sık ölüm nedenidir (27).

İdyopatik pulmoner fibrozda ekstrapulmoner tutulum yoktur ancak kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk gibi genel semptomlar olabilir, ateş nadirdir. Ateş varsa KOP (Kriptojenik organize pnömoni), Ekstremsel allerjik alveolit ve NSİP (Nonspesifik interstisyel pnömoni) gibi alternatif bir tanı düşünülmelidir (21).

İdyopatik pulmoner fibrozun karakteristik fizik muayene bulgusu; oskültasyonda akciğer bazellerinde inspriyum sonunda duyulan ince- kuru (velcro ralleri) rallerdir. Olguların %80'inden fazlasında bulunur. Yaygın olmayan hastalıkta hasta öne doğru eğildiğinde raller kaybolabilir; ancak genellikle orta aksiller hatta raller kalıcıdır (46).

Çomak parmak yaklaşık % 50 olguda bulunur. Romatoid artrit ve asbestozda da gözlenir. Sarkoidoz, ekstremsel allerjik alveolit, langerhans hücreli granülomatoz gibi diğer difüz akciğer hastalıklarının özelliği değildir. Çomak parmak olması IPF tanısına yaklaştırmır (27).

Hastalığın ilerlemesi sonucu sıklıkla takipne ile birlikte olan santral siyanoz görülür. Akciğer fibrozuna bağlı pulmoner dolaşımın obliterasyonu sonucu pulmoner hipertansiyon ve korpulmonale bulguları ortaya çıkar, sağ ventrikül yetmezliği ve

periferal ödem gelişir. Spontan pnömotoraks olabilir fakat langerhans hücreli granülomatoz ve LAM'a (Lenfajiyoleyomiyomatoz) göre daha az sıklıktadır (27).

Son dönem IPF'li olgularda solunum işinin artması ve venöz konjesyona bağlı gastrointestinal absorpsiyonun azalması sonucu kötü beslenme bulguları ortaya çıkar. Preterminal hastalıkta hipoksi, kardiyak dekompansasyona neden olabilir, sol ventrikül yetmezliğini veya kardiyak aritmileri tetikler (27).

3.5.B Laboratuvar

Rutin hematolojik ve biyokimyasal testler DPAH'nın tanısında genellikle yararlı değildir. Hastalığın ileri dönemlerinde hematokrit yükselebilir, eritrosit sedimentasyon hızı genellikle orta derecede yüksektir, belirgin sedimentasyon yüksekliği romatolojik hastalıkları düşündürmelidir. Serum laktat dehidrogenaz yüksekliği nonspesifik bir bulgudur. Anjiotensin converting enzim düzeyinde artma, antinötrofil sitoplazmik antikorların bulunması, nondiagnostik olup alternatif tanıları düşündürür (27).

Dolaşımda antinükleer antikorların (ANA) ya da romatoid faktörün (RF) pozitif olması IPF'li hastaların %10-20'sinde görülür, fakat titreleri nadiren yüksektir (48). Romatolojik hastalığa tanı konmadan önce, akciğer hastalığı ilk bulgu olarak ortaya çıkabilceğinden, tüm IPF'li olgularda ANA ve RF değerlendirilmesi yapılmalıdır (27).

3.5.C. Görüntüleme yöntemleri

3.5.C.a. Akciğer grafisi

Hastaların %10-15'inde normal (26) olmakla birlikte alt zonlarda daha belirgin olan periferal lineer ve retiküler opasiteler karakteristik bulgularıdır (49). Hastalığın erken dönemlerinde buzlu cam görünümüleri olabilir, ileri dönemlerinde akciğerin tüm zonları eşit düzeyde tutulur, fibrozis ve alveoler destrüksiyon sonucu 3-15mm çaplı kistik alanlar ortaya çıkar. İleri dönemlerde pulmoner hipertansiyonun bulgusu olarak pulmoner arterde genişleme ve kardiyomegali görülebilir. Pnömotoraks nadirdir ve plevra tutulumu IPF'nin özelliği değildir (27).

3.5.C.b Yüksek Rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi

Hastalığın erken döneminde YRBT interstisyel tutulumun gösterilmesinde göğüs radyografisinden daha duyarlıdır. Ancak erken dönemde YRBT normal olarakta saptanabilir.

İdyopatik pulmoner fibrozisin başlıca YRBT bulguları; buzlu cam opasitesi, fibrozise bağlı olarak; interlobüler sptalarda kalınlaşma, sekonder lobül merkezindeki

intralobüler interstisyel kalınlaşma, düzensiz ara yüzey bulgusu, traksiyon bronşektazisi ve bal peteği akciğer görünümüdür (50).

Erken dönemde alt zon, posterior subplevral alan tutulumu IPF’de tipik bir bulgudur. Yama tarzında retiküler opasiteler karakteristik bulgudur. En sık alveoler septal interstisyel kalınlaşma saptanır. Akciğer parankimi ile bronkovasküler ağacın veya plevranın birleşme yüzeyinde fibrozise bağlı düzensizlikler izlenir. Peribroşiyoler kalınlaşmaya bağlı normalde izlenmeyen intralobüler broşiyoller v, y ya da nokta şeklinde görülür, sentrilobüler arterler görünür hale gelir. İleri dönemlerde bal peteği görünümü izlenir, yoğun fibrozise bağlı olarak akciğerin yapısı bozulur, lobüller seçilemez, traksiyon bronşektazisi ve bronşiyolektazisi gelişir. İnterlobüler septal kalınlaşma daha az sıklıkla görülür (27).

3.5.C.c Tc 99m Dietilentriamine penta-asetik asit sintigrafisi

Tc 99m Dietilentriamine penta-asetik asit hidrofilik olması nedeniyle kapiller permabilite arttığında daha hızlı temizlenir, inflamasyonun göstergesidir, IPF’deki değeri net değildir (19).

3.5.C.d. Pozitron emisyon tomografisi

IPF’de metabolik aktivitedeki azalmayı belirlemek için kullanılmıştır, pahalı bir tekniktir (27).

3.5.C.e. Galyum 67 akciğer sintigrafisi

Diffüz parankimal akciğer hastalıklarında aktif makrofajların galyum tutması nedeniyle hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır (43).

3.5.D. Akciğer Fonksiyon Testleri

Restriktif tipte solunum fonksiyon testleri ve difüzyon kapasitesindeki azalma IPF’nin tipik bulgularıdır. Total akciğer kapasitesi, rezidüel volüm ve fonksiyonel rezidüel kapasite azalır (20).

İdyopatik pulmoner fibrozisli olgularda fibrotik olay sonucu akciğerlerin esnekliği azalır, elastik recoil artar. Ekspiratuar akım hızları genellikle akciğer volümlerindeki azalma ile düşer; ancak FEV₁/FVC oranı normal veya artmıştır. Peribroşiyoler alandaki inflamasyon ve fibroz sonucu bronşiyollerin lümeni daralır ve küçük hava yolu fonksiyon bozukluğu gelişir (27).

3.5.E. Bronkoalveoler lavaj

Bronkoalveoler lavaj, alt solunum yollarından sellüler ve nonsellüler materyal elde etmek amacıyla yapılmaktadır. IPF’li olguların BAL’ında polimorfonükleer

lökositler, nötrofil ürünleri, alveoler makrofajlar, alveoler makrofaj ürünleri, eozinofiller, eozinofil ürünleri, sitokinler, fibroblast büyüme faktörleri ve immun komplekslerin arttığı gösterilmiştir (51). BAL araştırma yönünden değerli olmasına karşın IPF’de tanısal değildir. IPF’li olguların BAL’ında tipik olarak nötrofil sayısı artar. Aynı zamanda olguların %10-20’sinde lenfositlerde, %40-60’ında eozinofillerde artış görülmektedir (20).

İdyopatik pulmoner fibrozun takibinde ve evresini göstermede BAL’ın klinik değeri sınırlıdır. Bazı çalışmalarda BAL’da nötrofillerin, eozinofillerin ya da her ikisinin birlikte yüzdesinin artmasının kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (52). BAL lenfositozu; daha sellüler akciğer biyopsisi, daha az balpeteği görünümü ve kortikosteroid tedaviye daha iyi cevapla korelasyon gösterir (46).

3.5.F. Akciğer biyopsisi

İdyopatik pulmoner fibrozisin histopatolojik tanısı UIP paternidir. Transbronşiyal akciğer biyopsisinin diğer patolojileri dışlamak dışında, IPF’de tanısal değeri yoktur. Açık akciğer biyopsisi veya video eşliğinde torakoskopi (VATS) eşliğinde alınan akciğer biyopsisi, İİP’nin diğer formlarından UIP’yi ayırt etmek için en iyi doku örneklemesini sağlar (20). VATS, açık akciğer biyopsisinin dezavantajlarını önemli ölçüde azaltmıştır, tanı konma oranı ise açık biyopsi ile eşittir (52).

3.5.G. Histopatolojik özellikler

İdyopatik pulmoner fibrozun patolojik görünümü olan UIP’nin anahtar histolojik özelliği; yapısal destrüksiyon, sıklıkla balpeteği görünümü ile birlikte olan fibrozis, dağılmış fibroblastik odaklar, yamalı dağılım, asinüs veya lobüllerin periferinin tutulumudur (19).

Usual intertisyel pnömoni paterninin histolojik ayırıcı tanısı diğer İİP’lerle yapılmalıdır. UIP tanısı konulduğunda da, histolojik görünümleri aynı olan hastalıklar (Kollejen vasküler hastalıklar, hipersensitivite pnömonisi, asbestoz, radyasyon pnömonisi, Hermansky-Pudlak sendromu) ayırıcı tanıda düşünülmelidir (27).

3.6. Ayırıcı tanı

İdyopatik pulmoner fibrozisin ayırıcı tanısı tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3: İdyopatik pulmoner fibrozun ayırıcı tanısı (27, 53)

Hastalık	Hikaye, fizik muayene	Görüntüleme
Kollajen vasküler hastalık: Romatoid artrit, Progresif sistemik skleroz, Dermatomiyoit, Sjögren sendromu, Behçet hastalığı, Mikst konnektif doku hastalığı, Ankilozan spondilit	Ekstrapulmoner bulgular: Cilt, eklem; otoantikolarlar	İPF gibi
İlaça bağlı hastalık: Antineoplastik (Bleomisin, metotreksat, busulfan, siklofosfamid) Antibiyotik (Nitrofurantoin, sulfasalazin) Diğerleri Asbestoz	İlaç kullanım hikayesi; Primer hastalık bulguları	İPF'yi taklit edebilir
Hipersensitivite pnömonisi (organik toz)	Maruziyet hikayesi, ral ve çomak parmak	Plevra tutulumu
Sarkoidoz	Maruziyet hikayesi; sistemik semptomlar; ral; çomak parmak nadir	Retikülonodüler opasiteler; YRBT'de subplevral tutulum hakimiyetinin olmaması
Histiositoz X	Ekstrapulmoner bulgular; radyografiye göre dispnenin az olması; ral işitilmez; çomak parmak nadir	Hiler lenfadenopati
Lenfanjioleyomiyomatoz	Spontan pnömotoraks; kadın, doğurganlık yaşı	Üst ve orta zonda kist ve nodüller
Lenfanjitis karsinomatoza	Spontan pnömotoraks; kadın, doğurganlık yaşı	Difüz ince duvarlı akciğer kistleri, akciğer volümünde artma
Eozinofilik pnömoni	Primer hastalık semptomları	Kerley B çizgisi
Kriptojenik organize pnömoni	Periferik kan eozinofilisi	Bilateral, periferik konsolidasyon
Kriptojenik organize pnömoni	Sistemik semptomlar	Yama tarzında unilateral veya bilateral konsolidasyon; subplevral veya peribronşiyal dağılım

3.7. Tedavi

İdyopatik pulmoner fibrozis progresif, sinsi, fatal seyirli bir hastalıktır, kendiliğinden remisyona girmez. İnflamasyonun akciğer hasarı ve fibrozisine neden olduğu düşüncesiyle inflamatuvar ve immün cevabı baskılamak veya yok etmek tedavinin amacını oluşturmuştur. Ancak IPF'li olgularda yaşam kalitesi ve süresini arttıracak tedavi şekli yeterli klinik bulgularla henüz gösterilememiştir (21).

İdyopatik pulmoner fibrozisin kötü prognozlu bir hastalık olması nedeniyle birçok uzman kontrendikasyonu olmayan hastalara tedavi başlanmasını önermektedir. ATS-ERS 2000 yılı konsensus raporunda ise tüm hastalara tedavinin gerekmediği bildirilmektedir. Mevcut tedavilerin başarısı sınırlı olduğundan IPF'li olgulara uygulanan herhangi bir tedavi protokolünün potansiyel yararları, tedaviye bağlı olası komplikasyonlarla beraber değerlendirilmelidir (20).

3.7.A. Kortikosteroidler

Kortikosteroidlerin IPF'deki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber, akciğerlerde lenfosit ve nötrofil göçünü engellediği, immün kompleks düzeylerinde azalmaya neden olduğu, alveolar makrofajların fonksiyonunu değiştirdiği ve fibroblast proliferasyonuna neden olan sitokinleri inhibe ettiği düşünülmektedir. Kortikosteroid kullanan ve kullanmayan hastaların karşılaştırıldığı çalışma sonuçlarına göre; tedavisiz grupta düzelme olmazken, tedavi alan grupta %10-30 objektif yanıt, %40' dan fazla semptomatik düzelme gözlenmiştir. Yanıtlar genelde parsiyel ve geçicidir. Çok az sayıda hastada iyileşme sağlanır. Kortikosteroidlere cevap verenlerde de nüks veya hastalığın progresyonu ile sık karşılaşılır (54, 55, 56)

Hastanın genç yaşta ve kadın cinsiyette olması, radyolojik ve fizyolojik hasarın az olması, akciğer biyopsisinde histopatolojik olarak deskuamatif interstisyel pnömoni varlığı, BAL'da lenfosit hakimiyeti ve YRBT'de buzlu cam görünümünün olması; kortikosteroid tedavisini olumlu yönde etkileyen faktörlerdir (27).

En son IPF konsensus raporunda önerilen prednizolon (ya da eşdeğeri) tedavi şeması:

0.5 mg/kg(LBW)/gün, oral 4 hafta

0.25 mg/kg(LBW)/gün, oral 8 hafta

0.125 mg/kg(LBW)/gün veya 0.25 mg/kg(LBW)/gün aşırı; tedavi yanıtına göre 1 veya 2 yıla kadar devam edilir (LBW; cinsiyet, yaş ve boya göre hesaplanan vücut ağırlığı) (20).

Kortikosteroid tedavisi genelde iyi tolere edilebilmekle beraber; katarakt, glokom, hipertansiyon, peptik ülser, obezite menstrüasyon bozuklukları, impotans, hiperglisemi, hipokalemi, metabolik alkaloz, sekonder adrenal yetmezlik, osteoporoz, femur ve humerus başı aseptik nekrozu, miyopati, depresyon, psikoz ve fırsatçı enfeksiyonlar gibi birçok yan etkiye sık neden olabilmektedir. Diyafragma ve interkostal kaslarda miyopati gelişimine neden olarak kas gücünün zayıflaması ile tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde güçlüğe yol açabilir (27).

3.7.B. Sitotoksik ilaçlar

IPF’de sitotoksik ilaç kullanım endikasyonları (27);

- Kortikosteroide yanıt alınamayan hastalar,
- Kortikosteroidin yan etkisi gözlenen hastalar,
- Kortikosteroid kullanımının kontrendike olduğu durumlardır.

3.7.B.a. Azatiopurin

DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etki eden pürin analogudur. Sitotoksik etkisine ek olarak azatioprinin doğal öldürücü hücre aktivitesini baskıladığı ve antikör ürettiği bilinmektedir. Kortikosteroidden yanıt alınamayan veya yan etki gözlenen hastalarda primer olarak kullanımı önerilmektedir. Siklofosfamid ile kıyaslandığında daha az toksiktir ve daha iyi tolere edilmektedir. Ancak etkinliği daha azdır. Bulantı, kusma, ülser, diyare, karaciğer toksisitesi, anemi, lökopeni ve trombositopeni gibi yan etkileri vardır. Azatioprin 2-3 mg/kg/gün oral olarak başlanır ve yan etki görülmediği takdirde günde 25-50 mg arttırılarak maksimal doz 150 mg’a çıkarılır (20, 21, 53).

3.7.B.b Siklofosfamid

IPF tedavisinde, steroid ile steroid-siklofosfamid kombinasyonunu karşılaştıran çalışmaların sonunda 3 yıllık sağkalım kombine tedavi alan grupta daha yüksek bulunmuştur. Siklofosfamidin yan etkilerinin fazla olması nedeniyle kortikosteroidlere üstünlüğünü gösteren çalışmaya rastlanmamıştır. Siklofosfamid için konsensus raporunda önerilen tedavi protokolüne göre 2 mg/kg/gün ile başlanır, toksik etki görülmediği takdirde maksimal doz 150 mg/gün’e çıkarılır. Yan etkileri; anemi, lökopeni, trombositopeni, lösemi, sekonder enfeksiyonlar, hemorajik sistit, mesane karsinomu, over fibrozisi, amenore, infertilite, stomatit, kusma, diyare, bulantıdır (27).

3.7.C. Antifibrotik ajanlar

3.7.C.a Kolşisin

IPF ve sarkoidozlu hastalardan elde edilen *in vitro* kültüre edilmiş alveoler makrofajlardan fibronektin ve alveoler makrofaj kaynaklı büyüme faktörü salınımını inhibe eder. Kollejen oluşumunu baskılar (57). Kolşisin oral olarak, 0.6 mg, günde bir veya iki kez ilk basamak tedavisi olarak veya kortikosteroidlere dirençli hastalarda sitotoksik ajanlarla kombine ya da tek başına verilebilir. IPF tedavisine kolşisinin etkinliği konusunda kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır (20).

3.7.C.b. D-penisilamin

İdyopatik veya konnektif doku hastalığına bağlı akciğer fibrozunda yanıt alındığı bildirilmiştir. Toksik ve önemli yan etkilerinden dolayı antifibrotik ajan olarak kullanımı sınırlıdır. Toksisitesi ve etkinliğini doğrulayan çalışmalar olmaması nedeniyle IPF tedavisindeki yeri net değildir (58).

3.7.D. Antioksidanlar

Pulmoner fibroziste interstisyel inflamatuvar hücrelerin yanı sıra intraalveoler hücre sayısında da artış vardır. Bu hücrelerde reaktif oksijen ürünlerinin salınımı fazla miktarda olur. Özellikle nitrik oksid ürünlerinin azalması oksidan/antioksidan dengesinde en anlaşılamayan olaydır. Aşırı oksidanlar alveol epitel hücrelerini zarara uğratırlar. IPF’de epitelyal zedelenmeye gidişi en aza indirmede intraalveoler antioksidan verilmesi veya reaktif oksijen moleküllerinin azaltılması gibi çeşitli stratejiler planlanmaktadır. Sonuç olarak, akciğerde oksidan zedelenmelerinin inhibisyonu pulmoner fibrozis tedavisi için en  mit verici tedavi Őekillerinden birisidir (4, 45).

3.7.D.a N-Asetil sistein

Glutasyon prekürsörüdür, glutasyon sentezini arttırır. Yapılan alışmalarda, N-Asetil sistein (N-AC)’in oral ve intravenöz verilmesinin akciğer fibrozlu hastalarda ekstrasellüler akciğer glutasyon düzeyini arttırdığı  ne sürülmektedir. Bu mekanizma ile oksijen radikallerinin neden olduğu epitelyal hücre zedelenmesini önler (45, 59). N-AC’nin etkinliği tam olarak bilinmemekle birlikte güvenli olması iyi tolere edilebilmesi ve teorik yararı olması nedeniyle önerilmektedir. En az 12 ay süre ile günde üç kez 600 mg oral yolla kullanılmaktadır (27).

3.7.D.b. Vitamin E

Vitamin E’nin antioksidan özelliği nedeniyle koruyucu etkiye sahip olduğu tahmin edilmesine rağmen bu etkinin mekanizması bilinmemektedir. Farelerde

BLM'ye bağlı akciğer zedelenmesi ve histopatolojisini subkutan ve intraperitoneal vitamin E verilmesi belirgin olarak iyileştirir. IPF'li olgularda vitamin E'nin etkinliğini göstermek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (60).

3.7.D.c. Glutasyon

Redükte glutasyon ve bunun sentez ve yıkımındaki enzimler alveol epitelini çevreleyen sıvıdaki antioksidan defans sisteminin en önemli bileşikleridir. Alveoler sıvıdaki glutasyon serumdakinden yaklaşık yüz kat daha fazladır. IPF'li hastalarda BAL sıvısında glutasyon düzeyleri %25-50 oranında azalmıştır. Alveoler epitel sıvısındaki glutasyon düzeylerini yükseltmek için çeşitli stratejiler araştırılmaktadır. IPF'li hastalarda epitel sıvısındaki glutasyon arttırmanın hastalığın seyri boyunca akciğerin fizyolojik fonksiyonlarını iyileştirip iyileştiremeyeceği kesinlik kazanmayı beklemektedir (3, 60).

3.7.E. Diğer tedavi yöntemleri

Taurin ve Niasinin akciğer zedelenmesinde, fibrozis gelişimini önleyici etkisinin olduğu gösterilmiştir (20).

Anjiotensin converting enzim inhibitörleri ve statinler antifibrotik etkileri nedeniyle denenmektedir. Lökosit integrin inhibitörleri ve sitokin inhibitörleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir (20).

Pirfenidon; araştırmalarda kullanılan yeni bir antifibrotik ajandır. Bir alışmada IPF'li hastalara oral yolla verilen pirfenidonla klinik düzelme olduğu ve akciğer fonksiyon testleri parametrelerindeki bozulmanın yavaşladığı bildirilmiştir (61).

3.7.F. Tedavi süresi ve monitörizasyonu

IPF konsensus raporunda, kortikosteroid ve azotioprin veya kortikosteroid ve siklofosfamidden oluşan kombine tedavi önerilmektedir.

Tedaviye belirgin objektif yanıt üç aydan sonra görülür. İlacın yan etkileri veya komplikasyonları görülmediği sürece kombine tedavi en az 6 ay sürdürülmelidir. 6 ay sonra; hasta iyileşiyor veya stabil kalıyorsa, ilaçlar aynı dozda verilerek kombine tedaviye devam edilmelidir. Progresyon varsa, tedavi durdurulmalı veya değiştirilmelidir. Tedavinin 12. ayında; progresyon varsa tedavi kesilir veya değiştirilir. Hasta iyileşiyor ya da stabil kalıyorsa aynı dozda kombine tedaviye devam edilmelidir. Tedavinin 18. ayından sonra; tedavi hastanın ilaçlara toleransı ve klinik cevaba göre bireyselleştirilir. Düzelme veya stabilizasyonun objektif kanıtları olanlarda tedaviye devam edilir (20).

Tablo 4: İdyopatik pulmoner fibrozda kombine tedavi (20)

Tedavi	Doz-süre
Prednizolon veya eşdeğeri	0.5 mg/kg(LBW)/gün oral 4 hafta 0.25 mg/kg/gün 8 hafta 0.125 mg/kg/gün veya 0.25 mg/kg/gün aşırı
Azotioprin	2-3 mg/kg(LBW)/gün, oral (Maksimum günlük doz 150 mg) 25-50 mg /gün başlanır; 1-2 haftada bir 25 mg arttırılarak maksimum doza ulaşılır. YA DA
Siklofosfamid	2 mg/kg(LBW)/gün oral (Maksimum günlük doz 150mg) 25-50 mg/gün ile başlanır; 1-2 haftada bir 25 mg arttırılarak maksimum doza ulaşılır.

3.7.G. Destek tedavisi

IPF’li hastalar pulmoner rehabilitasyon programına alınmalıdır. Amaç elde edilebilecek en iyi fonksiyonel kapasiteyi sağlamaktır. Akciğer fonksiyon testlerinde düzelme olmamasına karşın, egzersiz toleransında artma, dispne skorunda azalma, yaşam kalitesinde düzelme gözlenebilir. Sık gözlenen öksürük yakınması için antitussifler kullanılmıştır ancak etkinliği gösterilememiştir. Pulmoner hipertansiyon hastalığın geç dönem komplikasyonudur. Çeşitli farmakolojik ajanlar (antikoagülanlar, nitroprussid, hidralazin, diazoxide, beta agonistler, alfa blokerler, konverting enzim inhibitörleri, kalsiyum kanal blokerleri, prostoglandinler) kullanılmasına rağmen klinik seyri etkileyen ve semptomların azalmasını sağlayan bir ilaç bulunmamaktadır. Pulmoner hipertansiyonda hipoksik vazokonstriksiyon önemli mekanizmalardan biridir, oksijen tedavisi ile pulmoner vasküler rezistans azalır, pulmoner hipertansiyonun progresyonu yavaşlatılır. Özellikle yatağa bağımlı, kronik hipoksemik ve kronik kor pulmonale gelişmiş olgularda derin ven trombozu ve tromboemboli profilaksisi verilebilir. Çok yaşlı, bal peteği akciğer gelişmiş olgularda sadece destek tedavisi önerilmektedir (20, 21, 27, 53)

3.7.H. Akciğer transplantasyonu

Optimal medikal tedaviye karşın progresif fizyolojik bozukluğu olan hastalarda aşağıda belirtilen kriterlerin olması durumunda akciğer transplantasyonu önerilmektedir.

- DLCO ve/veya vital kapasite<%50-60
- İstirahatte hipoksemi

- Normal sol ventrikül fonksiyonu
- Kreatin klirensinin >50 ml/dk
- Hepatit B, C, HIV seronegatifliği
- Eşlik eden malignitenin olmaması
- Ciddi osteoporoz olmaması
- Son 6 aydır sigara içmiyor olması

Tek akciğer transplantasyonu son zamanlarda daha fazla tercih edilmektedir. Başarılı transplantasyondan sonra oksijen gereksiniminde azalma, akciğer volümlerinde ve DLCO'da düzelme, pulmoner hipertansiyonda ve sağ ventrikül basıncında azalma gözlenir. Transplantasyon sonrası greft yetmezliği, enfeksiyon, kalp yetmezliği gibi komplikasyonlar gözlenebilir. Tek akciğer transplantasyonu ile sağ kalım 1 yıl için %80, 3 yıl için %55 olarak bildirilmektedir (20, 53, 62, 63).

3.8. Prognoz

Kadınlarda, 50 yaş altında olanlarda, bir yıldan daha kısa süreli semptomu olanlarda, YRBT'de buzlu cam veya retiküler görünümü olanlarda, kortikosteroid tedaviye yanıt alınanlarda ve BAL'da yüksek lenfosit oranına sahip olanlarda prognoz daha iyidir (27).

Hastalar solunum yetmezliği, kor pulmonale, pulmoner emboli, böbrek yetmezliği, enfeksiyon, iskemik kalp hastalığı veya akciğer kanseri gibi komplikasyonlardan dolayı ölmektedir (20, 21, 53).

3.9. Makrofaj inflamatuvar protein-1 α , makrofaj inflamatuvar protein- 2, Malondialdehit, Bleomisin, Erdosteine

3.9.A. Makrofaj inflamatuvar protein-1 α , makrofaj inflamatuvar protein- 2

Kemotaksik sitokinler olarak da bilinen kemokinler primer aminoasit yapılarıyla uzlaşan dört sistein aminoasidinin ikisinin yerleşim yerine göre tanımlanan iki polipeptid grubuna aittir. Birçok delil bu kemokin ailesinin üyelerinin proinflamatuvar ve tamir edici aktivitelerinin olduğunu göstermiştir. Kemokinler monomerik formlarında 10.000 dalton'dan daha küçüktürler ve basit heparin bağlayan proteinlerdir. MIP-1 α C-C kemokin ailesinin, MIP-2 C-X-C kemokin ailesinin bir üyesidir.

C-C kemokin ailesi, ilk iki n-terminal sisteinin juxta pozisyonu olarak tanımlanırlar. C-C kemokin ailesinin mononükleer hücelere rölatif bir duyarlılığı vardır. C-C kemokin ailesinin bilinen üyeleri eozinofiller için potent bir kemotaktik faktör gibi görünmektedir (64).

İntertisyel akciğer hastalığı olan hastalarda interstisyel ve alveolar makrofajlar yoğun bir şekilde MIP-1 α ve monosit kemoatraktant protein-1 (MCP-1) eksprese ederler ve akciğer makrofajlarının dışındaki diğer hücelerde bu lökosit kemotaksinlerinin üretimine katkıda bulunurlar. Bu lökosit kemotaksinleri C-X-C, CC ve C kemokinleri içeren kemotaktik ve aktive edici bir sitokin süpergen ailesine aittir. Bu kemokinler İAH'de lökositlerin aktivasyonunda ve göçüyle ilişkili olabilirler (65).

IL-8'in fonksiyonel bir homoloğu olan MIP-2 akciğer hasarına neden olan nötrofil birikiminin potansiyel bir mediatörüdür. *In vivo* uygulandığı zaman MIP-2'nin nötrofiller için yüksek oranda kemotaktik olduğunu ve lokalize bir nötrofil infiltrasyonuna neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır (64).

3.9.B. Malondialdehit

Serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının en önemli mekanizması hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyonudur (66). Sağlıklı dokularda çok düşük düzeylerde olan lipid peroksidasyonunun artışı serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu doku hasarının göstergesi olarak kullanılabilir. Lipid peroksidasyonu yıkım ürünlerinden birisi de MDA (Malondialdehit)'dir. Serumdaki MDA düzeyinin ölçümü *in vivo* serbest oksijen radikalleri aracılı doku hasarının bir göstergesi olarak kullanılabilir. (67).

Lipid peroksidasyonu, hidroksil radikallerinin özellikle satüre olmamış hücresel lipidlerle reaksiyona girmesiyle başlar. Bu reaksiyon sonucu lipid radikalleri oluşur. Lipid radikalleri, çift bağlarında ortaya çıkan yapısal değişiklikle dien konjugata dönüşür. Dien konjugat, O₂ varlığında lipid hidroperoksiradikale, o da lipid endoperoksiradikale dönüşür. Lipid endoperoksiradikal iki farklı yol izleyebilir; diğer lipid moleküllerini okside ederek daha stabil olan lipid hidroperoksit ve lipid radikali oluşturabilir veya O₂ ve Fe⁺⁺ varlığında lipid alkoksiradikale dönüşebilir. Lipid alkoksiradikalın yıkılmasıyla alkil radikal, lipid aldehit ve MDA son ürünleri oluşur (68). Bu moleküller içinde, lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak düzeylerinin ölçülmesi en uygun olanlar dien konjugat ve MDA olarak belirlenmiştir (69).

3.9.C. Bleomisin

Bleomisin lenfoma, germ hücreli tümör ve baş-boyun kanserleri gibi çeşitli malignensilerin tedavisinde kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir. İlaç deri ve akciğerlerde birikir; major toksisitesini de bu organlar üzerinde gösterir. Kullanımının sınırlı olması onun potansiyel pulmoner toksisitesinden kaynaklanır. Bleomisinin indüklediği akciğer hasarının toplam insidansı %3'ten %40'a kadar değişir. Bu ilacı alan hastaların %1-2'si pulmoner toksisite sonucu hayatlarını kaybederler (70).

Diğer çoğu kemoteropatiklerden farklı olarak BLM ile ilişkili pulmoner toksisite, hasarlanma mekanizması, inflamasyon hayvan modellerinde yaygın olarak çalışılmıştır. Bütün ilaç indüklü bozukluklarda uygulanabilir olmamasına rağmen bleomisin kemoteropatiklerin akciğeri nasıl hasarladığına dair iyi bir model teşkil eder. Bleomisinin neden olduğu akciğer hasarı oksidan bağımlı gibi görünmektedir. Bleomisinin süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen metabolitleri oluşturduğu bilinmektedir. Bu reaktif türler DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostoglandin sentezinde değişiklikler, degradasyon ve akciğer kollejen sentezinde artış gibi birçok etkisi vardır (70).

Hasarın major alanı tip1 alveolar epitelyal hücreler ve pulmoner kapiller endotelyal hücrelerdir. Alveolar epitellerdeki tip1 pnömosit hasarını tip 2 pnömosit hiperplazisi ve displazisi izler. Hava kirliliği gibi inhalasyon toksinlerinin neden olduğu akciğer hasarına göre sitotoksik ilaç indüklü akciğer hasarında tamir süreci daha geç işler. Sonuçta önce granülositlerin, sonra da lenfosit, eozinofil ve plazma hücreleriyle infiltrasyon, inflamasyon ve sitokin salınımıyla sonuçlanır (70).

Bleomisinin indüklediği akciğer hastalığının patogenezinde; Transforming growth factor- β (TGF- β), tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), IL-1, IL-5, IL-6, platelet derived growth factor (PDGF) ve çeşitli kemokin sitokinler gibi çok çeşitli sitokinler rol oynarlar, TGF- β , IL-1 ve TNF- α bu tip hasarda rol oynayan önemli örneklerdir. Bleomisinle tedavi edilen farelerde TGF- β mRNA alveolar makrofajlarda birikirler; anti TGF- β antikorlarının uygulanması ilaç indüklü pulmoner cevapları minimize eder. Benzer olarak bleomisin duyarlı IL-1 ve TNF- α artmış miktarda üretilir ve IL-1 reseptör antagonistleri, anti-TNF antikorları ve çözünür TNF reseptörleri bleomisin indüklü pulmoner fibrozisi azaltır (70).

Bleomisin uygulamasını takiben gelişen hasar, inflamasyon ve sitokin disregülasyonunun sonucu olarak fibroblastlar aktive olur. Fibroblast ve

miyofibroblast üretimi artar, kollejen degradasyonu inhibe olduğunda kollejen üretimi artar ve fibrozis gelişir. Sonuçta sitotoksik ilaç indüklü pulmoner hasarın görüntüsü interstisyel inflamasyon ve fibrozistir (70).

3.9.D. Erdosteine

Erdosteine doğal bir aminoasit olan methioninin N-thiolaktonik formunun sentetik bir derivativesidir. Mukolitik bir ilaç olarak geliştirilmiştir (71).

Erdosteine karaciğerde metabolik transformasyonundan sonra serbest bırakılan iki tane bloke edilmiş sülfidril grubu içerir. Serbestleşen sülfidril grupları glukoprotein lifleriyle mukusu bir arada tutan disülfid bağlarını kırar, böylece bronşiyal sekresyon daha sıvı hale gelir, bu da çok daha hızlı bir şekilde atılmasına olanak sağlar. Bu sülfidril gruplarının indirgeme potansiyelleri erdosteinein antioksidan özelliklerinden ve serbest radikali ortamdan uzaklaştırma özelliklerinden sorumludur.

In vitro olarak sigara dumanının gaz fazına doğrudan maruziyetle indüklenen α_1 -antitripsin hasarına karşı erdosteine koruyucudur (72).

Ratlarda oral olarak uygulanan erdosteinein sigara dumanına maruziyet sonrası α_1 -antitripsinin indüklenmesi ile gelişen elastaz inhibitör kapasitesi (EIC) kaybına karşı kısmi fakat anlamlı doz bağımlı koruyucu bir etkisi olduğu gösterilmiştir (15). 500 mg/kg ve 1000 mg/kg erdosteine uygulanan ratların BAL sıvısında EIC'de sadece %27'lik ve %16.5'lik düşüşler ölçülmüşken plasebo uygulananlarda bu düşüş %44.3 olarak belirlenmiştir. Oral olarak 5 gün boyunca günde bir kere uygulanan erdosteinein farelerde paraquat toksisitesini zayıflattığı daha uzun bir surveye ve mortalitede azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Ratlarda 5 gün boyunca günde bir kere uygulanan oral erdosteine BLM'nin uygulamasının indüklediği pulmoner ödem ve alveoloarteryel oksijen gradyentindeki artışa karşı koruyucudur (73). 200 ve 400 mg/kg'lık oral dozlarda erdosteinein S-enantiomeri fareyi paraquatın toksik etkilerinden korumuştur ve doz bağımlı aktivite göstermiştir (16).

24 sağlıklı sigara içicisinin 4 hafta boyunca tedavi edildiği çift körlü bir çalışmada günde 3 kez 300 mg erdosteine uygulamasını takiben fonksiyonel α_1 -antitripsin düzeyi 1.1'den 2.2 mmol/L'ye yükselmişken, plasebo uygulananlarda 1.0'dan 1.2 mmol/L'ye yükseldiği izlenmiştir (17). Sigara içicilerinde kimyasal uyarana karşı polimorfonükleer lökosit göçü zayıflamıştır. 2 hafta boyunca günde 3 kez 300 mg erdosteine verilen kronik bronşitli 16 sigara içicisinde kemotaktik ajanlar olan kazein ve formil-methionin-lösin-fenilalanine karşı sigaranın indüklediği

cevapsızlıkta azalmada kısmi bir zayıflamayla sonuçlanmıştır. Kazeine cevapsızlıkta plasebo uygulamasından sonra %13'lük azalma izlenmişken, erdostein tedavisi sonrası %49'luk bir azalma izlenmiştir. Benzer olarak erdostein formil-methionin-lösin-fenilalanine cevapsızlığı %72 azaltmışken, plasebo %37 oranında azaltmıştır.

Son yıllarda yapılan az sayıda çalışmada ratlarda BLM'nin indüklediği akciğer fibrozisinde; erdosteinin serbest oksijen radikallerinin salınımını ya da lökosit toplanmasını inhibe ederek pulmoner fibrozis üzerine koruyucu etkisinin olabileceği (74), Erdosteinin, lipid peroksidasyonunu azaltarak ve serbest oksijen radikallerinin eliminasyonu veya akciğerde lökosit akümülyasyonunun inhibisyonu ile ilgili olabilecek etki ile bleomisinle indüklenen akciğer fibrozisine protektif etkisinin olabileceği ifade edilmektedir (75).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney hayvanları

Çalışmamızda; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edilen Wistar tipi ağırlıkları 250 g'ın üzerinde olan 45 adet erkek rat kullanıldı. Standart rat kafeslerinde optimal şartlarda 28 gün su ve ad libitum standart pellet yem verildi. Kafesleri, yatakları, yiyecek ve suları kullanılmadan önce steril edildi, oda sıcaklığı 24-27° C arasında tutulup, 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı. Ratlar rastgele alınarak 15'erli 3 gruba ayrıldı.

4.1.A. Deney grupları

Tüm gruplarda intratrakeal (i.t.) BLM uygulama günü 0. gün olarak kabul edildi. Tüm gruplarda 0. günde 5 adet, 14. günde 5 adet ve 29. günde 5 adet olmak üzere ratlar anestezik koşullar altında öldürülerek gerekli işlemler yapıldı.

Grup I (n=15, kontrol grubu): Bu gruptaki ratlara i.t. fosfatla tamponlanmış steril salin (PBS; phosphate buffered saline) uygulamadan 2 gün önce (-2. gün) sodyum bikarbonat (NaHCO₃) 10mg/kg/gün 1x1 dozunda orogastrik sonda ile uygulanmaya başlandı. Sıfırıncı gün i.t. olarak tek doz 0.2 ml PBS verildi. 0. günde 5 adet, 14. günde 5 adet ve 29. günde 5 adet olmak üzere ratlar anestezik koşullar altında öldürülerek gerekli işlemler yapıldı. Deneyin sonuna kadar kesilmeyen ratlara NaHCO₃ 1x1 uygulaması devam edildi.

Grup II (n=15, BLM grubu): Bu gruptaki ratlara -2. günde NaHCO₃ 10 mg/kg/gün dozunda orogastrik sonda ile 1x1 başlandı. 0. günde i.t. BLM (Bleocin; bleomycin hydrochloride; Nippon Kayaku Co., Ltd., Tokyo, Japonya) 0.2 ml PBS içinde çözdürülerek 7.5 U/kg şeklinde tek doz yapıldı (76). 0. günde 5 adet, 14. günde 5 adet ve 29. günde 5 adet olmak üzere ratlar anestezik koşullar altında öldürülerek gerekli işlemler yapıldı. Deneyin sonuna kadar kesilmeyen ratlara 1x1 NaHCO₃ uygulaması devam edildi.

Grup III (n=15, Erdosteine grubu): Bu gruptaki ratlara -2. günde erdosteine (İlsan-İltaş, Türkiye) NaHCO₃ içinde çözülerek 10 mg/kg/gün dozunda orogastrik sonda ile 1x1 başlandı. 0. günde i.t. BLM 0.2 ml PBS içinde çözdürülerek 7.5 U/kg şeklinde bir kez verildi. 0. günde 5 adet, 14. günde 5 adet ve 29. günde 5 adet olmak üzere ratlar anestezik koşullar altında öldürülerek gerekli işlemler yapıldı. Deneyin sonuna kadar kesilmeyen ratlara 1x1 erdosteine uygulaması devam edildi.

4.1.B. Yapılan işlemler:

Tüm ilaç uygulamaları her sabah aynı saatte (08:00'de) yapıldı. BLM ve PBS uygulaması anestezi altında yapıldı. Anestezi için 1 mg/kg xyalzine ile 0.5 ml/kg dozunda ketamin aynı enjektöre çekilerek intraperitoneal olarak uygulandı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anesteziye girmeleri beklendi. Bu sürede BLM'nin 15 U'lık flakon formu PBS içinde çözdürüldü. Anestezi altındaki ratların boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı, cilt altı dokular klemp yardımı ile dikkatlice ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı. Trakea içerisine 100 u'lık insülin enjektörü ile girilerek BLM uygulaması yapıldı, BLM'nin akciğere tam ulaşabilmesi için ratların kafa kısmı yukarı kaldırılarak 30 sn kadar beklendi. Kontrol grubuna da aynı şekilde ve aynı miktarda PBS verildi. İşlem bittikten sonra kesi bölgesi sütür ile kapatılarak, enfeksiyon gelişmemesi yönünden günlük antiseptik iyotlu solüsyon ile silinerek yara bakımı yapıldı.

Ratlar 0., 14, 29. günlerde anestezik koşullar altında (100 mg/kg intraperitoneal pentobarbital) öldürüldükten hemen sonra 1 ml PBS trakeal kanül aracılığıyla akciğerler içine uygulandı, işlem 5 kez tekrar edilerek yaklaşık 4.5 ml (%90) sıvı geri alındı (18). Ratlar öldürülüp BAL işlemi yapıldıktan sonra sol akciğer %10 formaldehit içerisinde fikse edilerek doku kesitleri hazırlandı. Sağ akciğer ise hidrokspirolin ölçümü için kullanıldı.

4.2. BAL Malondialdehit ölçümü

BAL örnekleri Jouan KR221 ultrasantrifüjünde 4°C'de 15.000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. BAL supernatant MDA düzeyi Agarwal ve ark'larının (77) kullandığı metodla yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi ile ölçüldü.

%40'lık etanol solüsyonu içerisinde 5mM 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) içeren standart depo solüsyonu kullanılarak standartlar hazırlandı. 50µl'lik örnek veya TEP standartına 50µl'lik BHT (Butylated hidroksitoluen) solüsyonu, 400µl'lik H₃PO₄ solüsyonu ve 100µl'lik TBA (Tiobarbiturik asit) solüsyonu eklendi. Örnek tüpleri sıkıca kapatıldı, vortexde karıştırıldı, 1 saatliğine kuru banyo inkübatöründe 100°C'de ısıtıldı. Isıtmayı takiben örnekler soğumaları için 5 dakikalığına buza yerleştirildi. MDA-TBA kompleksini elde edebilmek için her bir tüpe 250 µl'lik n-

butanol eklendi, tüpler vortekslenip 14.000 rpm'de 3 dk santrifüj edildi. Üstteki n-butanol fazı alınarak HPLC vial'lerine buharlaştırma olmaksızın yerleştirildi.

HPLC çalışma koşulları; Kromatografik sistem bir Hewlett-Packard kromatografik seri 1100 otoörnekleyicisi, isokratik pompa ve Hewlett-Packard model 1046 A programlanabilir flöresan dedektöründen oluşmaktadır. Oto örnekleyici her örneğe 1 dk'lık aralıklarla 20µl enjekte etmek için programlanmıştır. Pompanın akış oranı metanol çözeltisinin hareketli fazıyla uyumlu olabilecek şekilde 1 ml/dk idi. Bu flöresan dedektörü 515 nm'lik eksitasyon dalga boyuna ve 553 nm'lik emisyon dalga boyuna sahiptir. Hesaplamalar, pik altındaki alan hesabıyla standartla karşılaştırılarak yapıldı.

4.3. BAL Makrofaj inflamatuvar protein-1α ve makrofaj inflamatuvar protein-2 ölçümü

Bronkoalveoler lavaj sıvısında MIP-1α ve MIP 2 düzeylerinin ölçümü; Biosource (MIP-1α için; Katalog no: KMC2202, MIP 2 için; Katolog no: KRC1022, Biosource International, USA) marka immunoassay kitleri ile solid faz sandwich ELISA (Enzyme Linked-Immuno-Sorbent Assay) yöntem prensibi kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı.

4.4. Akciğer Dokusu Hidroksiprolin Miktarının Tespiti

Bu işlem için ayrılan sağ akciğer bidistile su ile yıkanıp kurutma kağıdı ile kurutuldu ve küçük parçalara ayrıldı. BLM diffüz fibrozis yaptığı için bu dokulardan bir kısmı randomize bir şekilde hidroksiprolin (OH-P) düzeylerini tespit deneyleri için ayrıldı. -80 °C de dondurularak deney gününe kadar saklandı. Çalışma esnasında dondurulmuş akciğer dokuları çözülerek izotonik (NaCl) ile yıkandı ve kurutma kağıdına serilerek kendi halinde kurumaya bırakıldı, sonra tartıldı. Ağzı açık cam tüplere konularak 100 °C'ye ayarlanmış etüvde 72 saat kurutuldu. Kontaminasyon engellenerek kurutulan dokular küçük bir havan içinde toz haline getirildi. Toz haline gelmiş kuru dokuların her birinin kuru ağırlıkları hassas terazide ölçülerek kaydedildi. Toz halindeki dokular 10 ml'lik balon jojeler içerisine konularak 2 ml 12 N HCl ilave edildi. Standart bir süre bekletildikten sonra Bunzen-Beg alevinde 130°C'de 3 saat hidrolize edildi. Hidroliz işlemi sonunda asit miktarı 1 ml'nin altına düşenler ölçülerek 12 N HCl ile tekrar 1 ml'ye tamamlandıktan sonra 3.000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Üstteki süpernatant kısımdan 0.5 ml alınıp üzerine 0.5 ml

izopropanol eklenerek 2500 devirde 10 dk daha santrifüj edildi. Sonra üst fazdan 0.3 ml alınarak çalışıldı. Hidroksiprolin tespiti Woessner'in tarif ettiği yöntemle yapıldı (78).

4.5. Histopatolojik inceleme

Sol akciğer %10 formalinde fikse edilip parafin blok haline getirildi ve 3 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (HE) ve fibrozisin değerlendirilmesi bakımından Masson Trichrom (MT) boyası ile boyandı

Fibrozisin derecelendirmesi; MT ile boyalı kesitlerde X 100'lük büyütmede rastgele seçilen 10 alanda Ashcroft skorlamasına (79) göre 0-8 arasında derecelendirildi (tablo 5).

Tablo 5: Akciğer fibrozisinin derecelendirilmesi

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

4.6. Bronkoalveoler lavaj

Alınan örnekler sitospinde işlem gördükten sonra May-Grünwald-Gimsa (MGG) ile boyandı, her bir smearde 200 hücre X200 büyütmede sayıldı ve buna göre nötrofil ile lenfosit oranları değerlendirildi.

4.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 12.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Değerler ortalama \pm standart deviasyon şeklinde ifade edildi. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İki den fazla grubun değerlerinin karşılaştırılmasında nonparametrik Kruskal-Wallis analizi kullanıldı. Anlamlı çıkan sonuçlarda iki grubun birbiriyle karşılaştırılmasında ise Mann-Witney U Testi kullanıldı.

5. BULGULAR

5.1. BAL nötrofil düzeyleri

Sıfırncı günde tüm grupların BAL nötrofil değerleri benzer olarak bulundu ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$) (Şekil 1A).

Ondördüncü günde BLM grubunda BAL nötrofil değeri, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.008$). Kontrol ile erdostein grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tespit edildi ($p=0.007$). BLM ile erdostein grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptandı ($p=0.008$) (Şekil 1B).

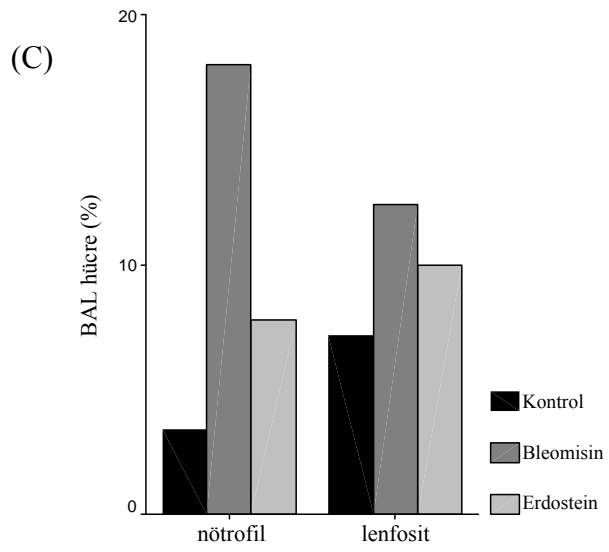
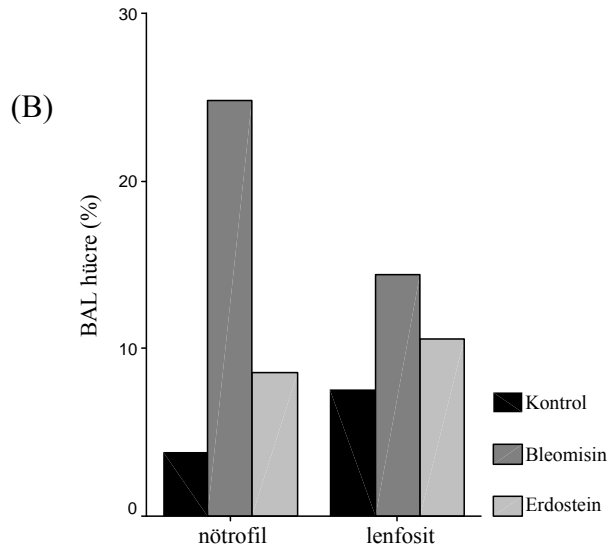
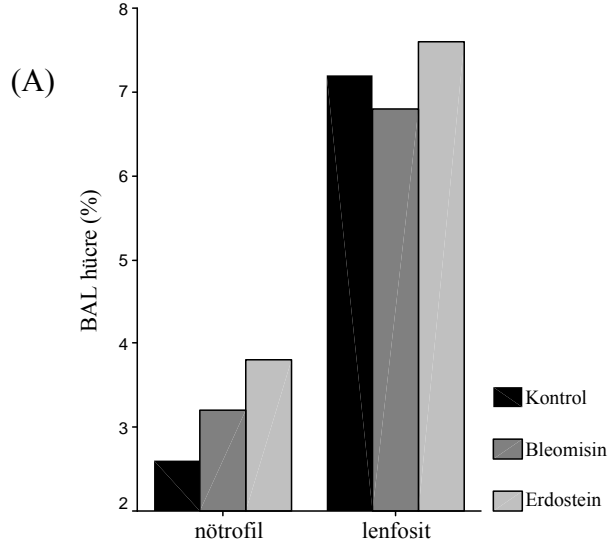
Yirmidokuzuncu günde kontrol ile BLM ve erdostein grubu karşılaştırıldığında; BLM ve erdostein gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (BLM için $p=0.009$, erdostein için $p=0.0012$). BLM ve erdostein grupları karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edildi ($p=0.009$) (Şekil 1C).

Erdostein grubunda; 14. ve 29. günlerde bazal değere göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik (14. gün için $p=0.011$, 29. gün için $p=0.016$) bulunurken, 14. gün ve 29. gün değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 6).

5.2. BAL lenfosit düzeyleri

Sıfırncı günde kontrol, BLM ve erdostein grupları arasında BAL lenfosit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Şekil 1A).

Ondördüncü günde kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p=0.009$). Erdostein ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Erdostein grubu BAL lenfosit değeri kontrol grubuna göre yüksekti, ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). Erdostein ile BLM grubunun karşılaştırılmasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Şekil 1B).



Şekil 1: (A) 0. gün, (B) 14. gün ve (C) 29. gündeki BAL hücre düzeyleri.

Yirmidokuzuncu günde kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi ($p=0.0027$). Erdosteine ile kontrol grubu ve BLM ile erdosteine grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p>0.05$) (Şekil 1C).

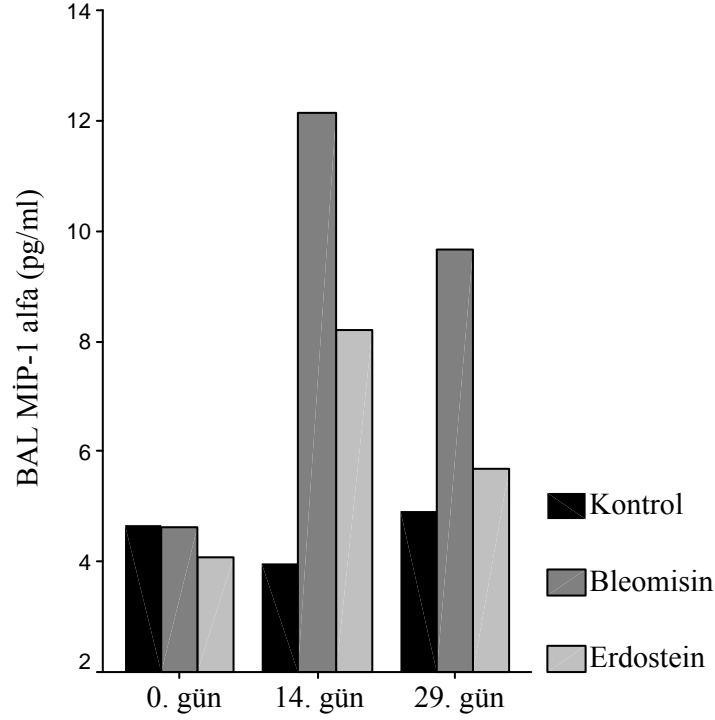
Erdosteine grubunun 0, 14, 29. günlerdeki değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) (Tablo 6).

5.3. BAL Makrofaj inflamatuvar protein-1 α düzeyleri

Sıfırıncı günde kontrol, bleomisin, erdosteine gruplarının BAL MIP-1 α düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi. ($p>0.05$)

Ondördüncü günde kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.009$). Erdosteine ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tespit edildi ($p=0.009$). Erdosteine ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubuna göre erdosteine grubunda istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.016$).

Yirmidokuzuncu günde kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.009$). Erdosteine ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$). Erdosteine ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.009$) (Şekil 2).



Şekil 2: Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MIP-1 α düzeyleri.

Erdostein grubunun 0, 14, 29. günlerdeki düzeyleri karşılaştırıldığında; 14. günde 0. güne göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p=0.016$), 29. günde 14. güne göre istatistiksel olarak anlamlı düşük ($p=0.028$) olarak bulundu. 0. gün ile 29. gün düzeyleri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$) (Tablo 6).

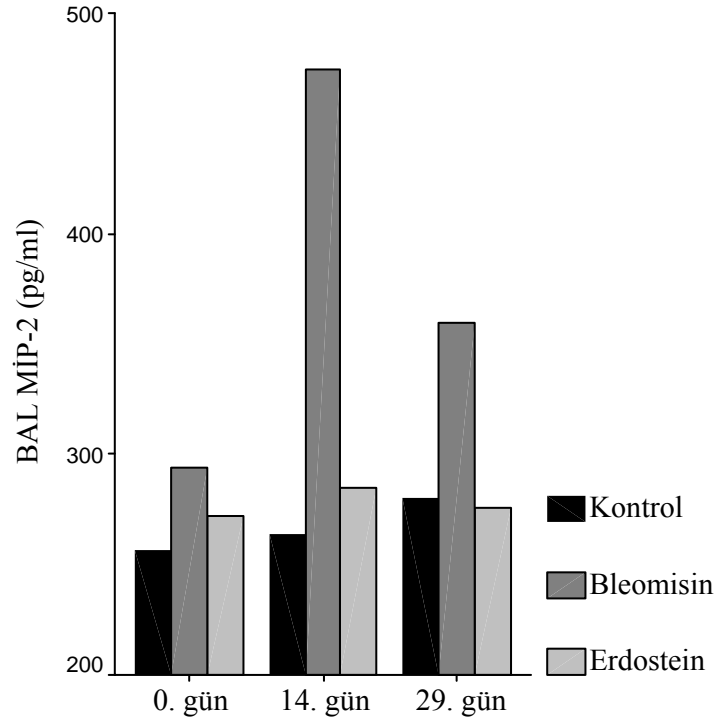
5.4. BAL Makrofaj inflamatuvar protein-2 düzeyleri

Sıfırıncı günde kontrol, BLM, erdostein gruplarının BAL MIP-2 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilemedi ($p>0.05$)

Ondördüncü günde kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubu BAL MIP-2 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.009$). Erdostein ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilemedi ($p>0.05$). Erdostein ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.009$).

Yirmidokuzuncu günde BAL MIP-2 düzeyleri açısından kontrol ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak

anlamli yuiksek bulundu ($p=0.009$). Kontrol ile erdostein grubu arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik yoktu ($p>0.05$). Erdostein ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamli düşük saptandı ($p=0.016$) (şekil 3).



şekil 3: Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MIP-2 düzeyleri.

Erdostein grubunun 0, 14, 29. günlerdeki düzeyleri ayrı ayrı karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik yoktu ($p>0.05$) (Tablo 6).

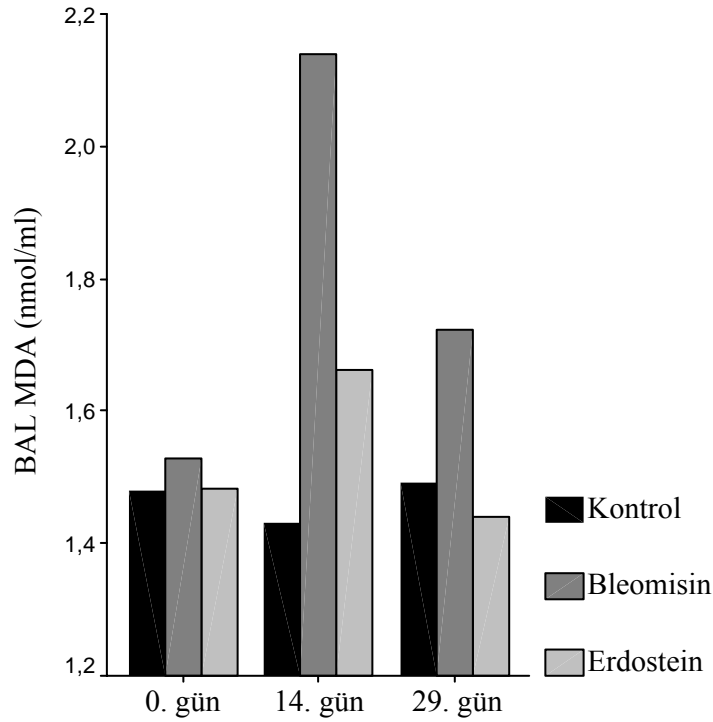
5.5. BAL Malondialdehit düzeyleri

Sıfırınca gün kontrol, BLM, erdostein grupları BAL MDA düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamli farklilik yoktu ($p>0.05$).

Ondördüncü BAL MDA düzeyleri kontrol grubu ile BLM grubu için karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli yüksek bulundu ($p=0.009$). Kontrol grubu ile erdostein grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamli yükseklik tespit edildi ($p=0.016$). Erdostein grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdostein

grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olarak bulundu ($p=0.009$).

Yirmidokuzuncu günde kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p=0.012$). Kontrol grubu ile erdosteine grubu karşılaştırıldığında; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Erdosteine grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüklük saptandı ($p=0.009$) (Şekil 4).



Şekil 4: Tüm gruplarda 0., 14. ve 29. gündeki BAL MDA düzeyleri.

Erdosteine grubu 0, 14, 29. günlerdeki BAL MDA düzeyleri karşılaştırıldığında; 14. günde 0. güne göre istatistiksel olarak anlamlı yükselme ($p=0.028$), 29. günde 14. güne göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş saptandı ($p=0.016$). 0. gün ile 29. gün düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6: Erdostein grubunda BAL hücre sayıları, MIP-1 α , MIP-2 ve MDA düzeyleri

	0. gün	14. gün	29. gün
Nötrofil (%)	3.80 \pm 1.48	8.60 \pm 1.94	7.80 \pm 1.92
Lenfosit (%)	7.60 \pm 2.30	10.60 \pm 3.50	10.00 \pm 3.31
MDA (nmol/ml)	1.48 \pm 0.10	1.66 \pm 0.09	1.44 \pm 0.11
MIP-1α (pg/ml)	4.09 \pm 1.65	8.21 \pm 2.05	5.69 \pm 0.92
MIP-2 (pg/ml)	271.87 \pm 48.32	285.14 \pm 48.47	275.30 \pm 48.37

5.6. Doku hidroksiprolin düzeyleri

Sıfırncı gün doku hidroksiprolin düzeyleri kontrol, BLM, erdostein gruplarında ayrı ayrı karşılaştırıldığında; tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 7).

Ondördüncü günde kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.009$). Kontrol grubu ile erdostein grubu karşılaştırıldığında; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Erdostein grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.009$) (Tablo 7).

Yirmidokuzuncu günde kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p=0.009$). Kontrol grubu ile erdostein grubu karşılaştırıldığında; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Erdostein grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdostein grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.009$) (Tablo 7).

Erdostein grubunun 0, 14, 29. günlerdeki doku hidroksiprolin düzeyleri ayrı ayrı karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 8).

5.7. Fibrozis

Sıfırncı günde kontrol, BLM, erdostein grupları arasında fibrozis derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 7).

Ondördüncü günde kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda ve kontrol grubu ile erdosteine grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ($p=0.014$). Erdosteine grubuyla BLM grubu karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p>0.05$) (Tablo 7).

Yirmidokuzuncu günde kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; BLM grubunda kontrol grubuna göre ve kontrol grubu ile erdosteine grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı (sırasıyla $p=0.004$, $p=0.011$). Erdosteine grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında; erdosteine grubunda BLM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.005$) (Tablo 7).

Erdosteine grubu 0, 14, 29. gün fibrozis dereceleri karşılaştırıldığında; 0. güne göre 14. ve 29. günlerde istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi (14. gün için $p=0.031$, 29. gün için $p=0.020$). 14. gün ile 29. gün değerleri karşılaştırıldığında iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$) (Tablo 8).

Tablo 7: Tüm gruplarda doku hidroksiprolin düzeyleri ve fibrozis skorları

	Kontrol grubu (n=15)	Bleomisin grubu (n=15)	Erdosteine grubu (n=15)
0. gün			
OH-P (mg/gr kuru doku)	9.73±1.86	10.63±2.44	10.42±2.03
Fibrozis	0.40±0.54	0.40±0.54	0.40±0.54
14. gün			
OH-P (mg/gr kuru doku)	10.52±1.65	15.90±1.99	11.06 ± 1.94
Fibrozis	0.20±0.44	1.60±0.89	1.40±0.54
29. gün			
OH-P (mg/gr kuru doku)	10.12±2.40	19.33±1.15	11.45±0.94
Fibrozis	0.20±0.44	3.00±0.00	1.60±0.54

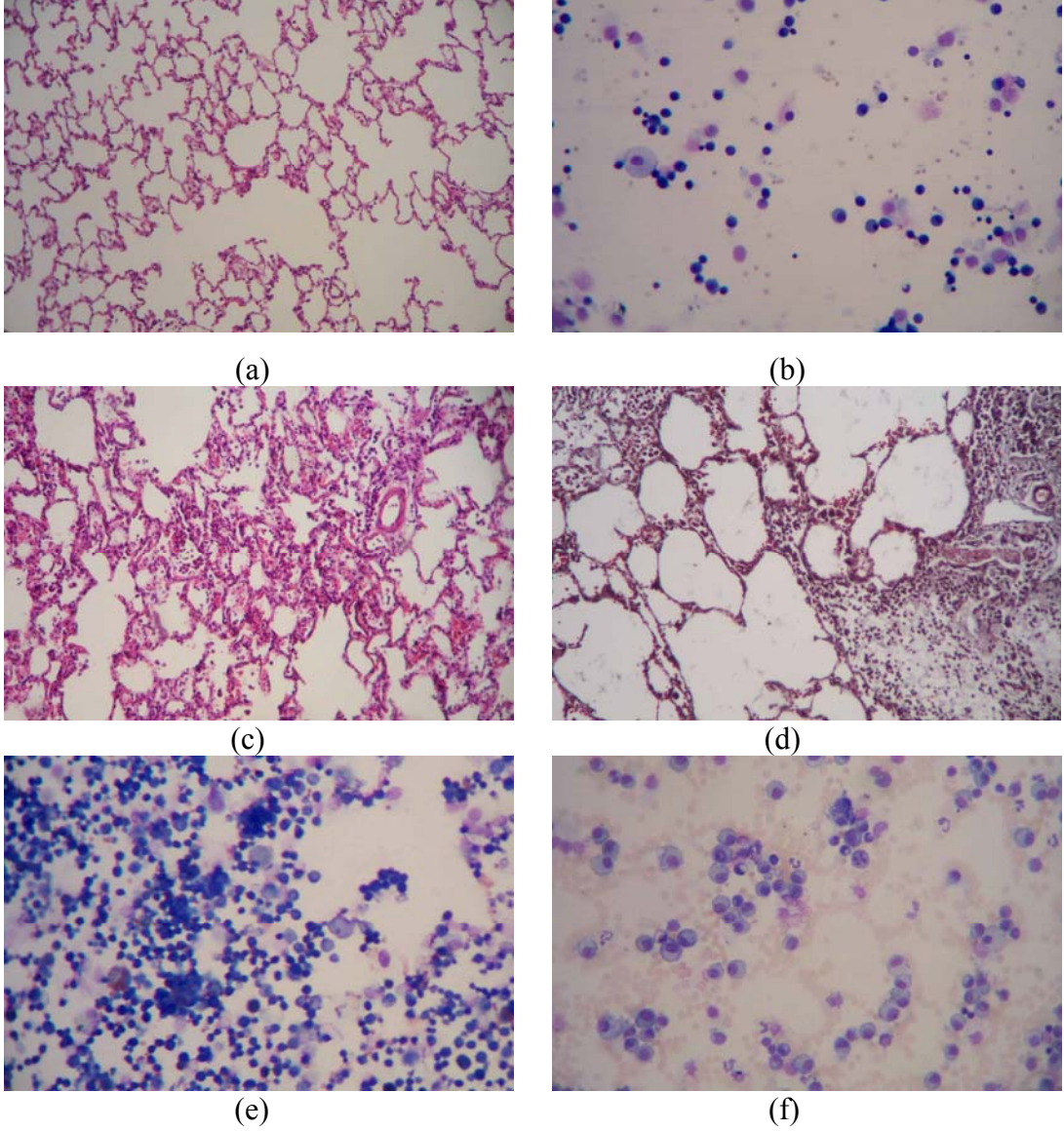
OH-P: Hidroksiprolin

Tablo 8: Erdosteine grubunda 0., 14. ve 29. günlerdeki doku hidroksiprolin düzeyleri ve fibrozis skorları

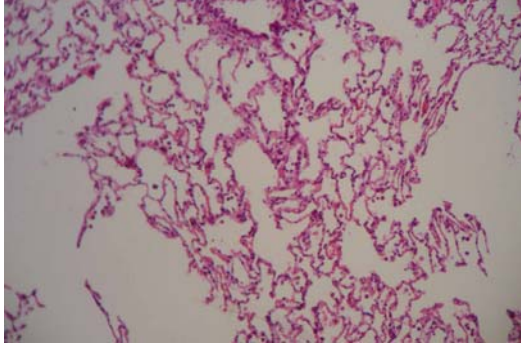
	0. gün	14. gün	29. gün
OH-P (mg/gr kuru doku)	10.42±2.03	11.061±0.94	11.45±0.94
Fibrozis	0.40±0.54	1.40±0.54	1.60±0.54

OH-P:Hidroksiprolin

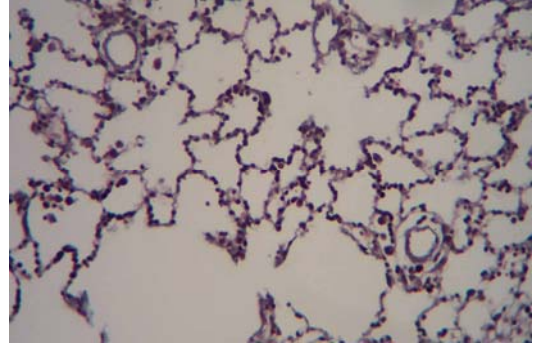
Kontrol ve BLM gruplarının akciğer dokusu histopatolojik görünümü ve BAL sıvısı inflamatuvar hücre infiltrasyonu görüntüleri Şekil 5’de, erdostein grubunun akciğer dokusu histopatolojik görünümü ve BAL sıvı inflamatuvar hücre infiltrasyonu görüntüleri Şekil 6’da sunulmuştur.



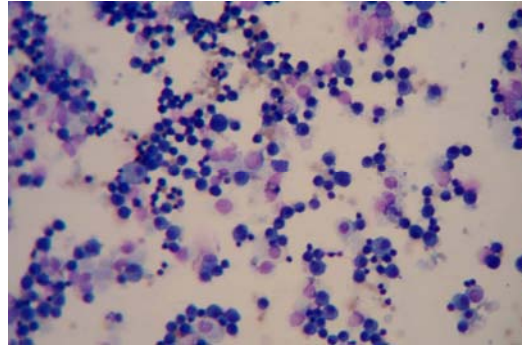
Şekil 5: (a) Kontrol grubu normal akciğer histopatolojik görüntüsü. HEX200. (b) Kontrol grubu normal BAL sıvısı hücre görünümü MGGX200 (sitospin inceleme). (c) BLM grubunda belirgin doku iltihabi hücre infiltrasyonu, alveollerde kistik genişleme ve duvar harabiyeti HEX200. (d) BLM grubunda Grade 3 fibrozis MTX200. (e) BLM grubunda BAL sıvısında belirgin inflamatuvar hücre artışı MGGX200. (f) BLM grubu BAL sıvısında belirgin nötrofil infiltrasyonu MGGX200.



(a)



(b)



(c)

Şekil 6: Erdostein grubunda (a) alveollerde daha az duvar harabiyeti ve daha hafif inflamatuvar hücre infiltrasyonu HEX200. (b) alveollerde daha az fibroz doku artışı MTX200. (c) BAL sıvısında daha hafif inflamatuvar hücresel infiltrasyon MGGX200.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada erdosteinin BLM ile oluşturulan akut akciğer inflamasyonu ve fibrozis üzerine etkileri incelenmiştir. Deneysel olarak başarıyla akciğerlerde fibrozis oluşturulmuş olup; erdosteinin, BLM'nin yol açtığı akut akciğer inflamasyonunu ve fibrozisi engelleyebileceği gösterilmiştir.

İdyopatik pulmonar fibrozisin karakteristik özelliği olan, alveolar duvarlarda oluşan kollajen depolanması akciğerlerdeki gaz alış-verişini bozmakta ve akciğerin normal fonksiyonları kısıtlanmaktadır (76). Akciğer parankiminde oluşan inflamasyon bu patolojik gidişin önemli bir sebebi olarak bildirilmiştir (80).

İnterstisyel akciğer hastalıklarında BAL sıvısında artmış konsantrasyonda nötrofil granül enzimlerinin bulunması akciğer hasarının oluşmasında bu hücrelerin önemli bir role sahip olduklarını kuvvetle düşündürmektedir (81). IPF'de alt solunum yolları BAL sıvısında inflamatuvar hücrelerin tip ve miktarında değişiklik olur; PNL ve eozinofil yüzdesi artışıyla karakterize alveolit ile alveoler makrofaj ve sekretuar ürünlerinde artış (PNL ve kas hücreleri için kemotaktik faktörler, plazminojen aktivatörü, makrofaj kökenli büyüme faktörü, fibronektin, platelet kökenli büyüme faktörü) görülür (82). Deneysel hayvanlarında oluşturulan fibrozis modellerinde; alveol membranlarının kalınlaşmasıyla fibrozisin başladığı ve ardından PNL'lerin olay yerine kemotaksisinin gerçekleştiği gösterilmiştir (83).

BLM'nin indüklediği pnömonitisin patofizyolojisi 2 fazdan oluşmaktadır. Birinci fazda interstisyel alanda ve alveoler boşlukta nötrofil, lenfosit, makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin birikimi söz konusuysen, ikinci fazda ise geç fibrozis gelişimi söz konusudur (18). Gurujeyalakshmi ve ark'ları (84) i.t. BLM verilen ratlarda BAL sıvısında nötrofillerin sayısındaki artışın 1. gün olduğunu 14. günde pik yaptığını ve 21. güne kadar belirgin olarak yüksek kaldığını göstermişlerdir. Benzer olarak Hagiwara ve ark'ları da (18) BAL sıvısında total hücre sayısının 3. gün artmaya başladığını ve 14. günde plato değere ulaştığını, hücre artışının 28. günde hala mevcut olduğunu, aynı zamanda nötrofillerin 7 ve 14. günler arasında pik seviyelerde olduğunu ve 14. günden sonra kademeli olarak azaldığını bildirmişlerdir. Boyacı ve ark'ları (75) ratlara BLM'nin i.t. uygulanmasını takiben BAL sıvısındaki lökosit sayılarında 1. gün belirgin artış olduğunu, 3. gün maksimum düzeye ulaştığını ve 14. günde hala yüksek olduğunu göstermişlerdir Yıldırım ve ark'larının (85) çalışmasında da i.t BLM verilen ratlarda 14. günde BAL sıvısında total hücre sayısının, nötrofil ve lenfosit sayılarının anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir. Daha

önce yapılan az sayıdaki çalışmada antioksidan ajanların akciğer dokusunda ve BAL sıvısında PNL birikimini düzelttiği bildirilmiştir (18, 86).

Çalışmamızda i.t. BLM uygulamasının BAL nötrofil oranlarında belirgin artışa neden olduğu, 14. gün plato değere ulaştığı, nötrofil oranının 29. günde de hala yüksek olduğu görüldü. Erdosteine tedavisinin BLM enjeksiyonuna bağlı nötrofil artışını 14. ve 29. günde anlamlı derecede baskıladığını gördük. BAL lenfosit oranlarının ise sadece BLM uygulanan ratlarda kontrol grubuna göre 14. ve 29. günlerde bariz olarak yükseldiğini gördük, erdosteine ile tedavi edilen ratlarda ise lenfosit oranlarında artış olmasına rağmen kontrol grubuyla anlamlı farklılık görülmedi. Erdosteine ile tedavi edilen ratların 0, 14, 29. günlerdeki lenfosit oranları arasında da anlamlı düzeyde fark izlenmedi. Sonuçlarımız erdosteine bu akut inflamasyonu, özellikle nötrofillerin inflamasyon alanına göçünü engelleyerek inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

Akut akciğer hasarındaki hücresel birikimden birçok sitokin ve adezyon molekülü sorumludur. İAH'de alveoler ve interstisyel makrofajlar MIP-1 α üretirler ve akciğer makrofajlarından başka diğer hücrelerde bu lökosit kemotaksinlerinin üretimine katkıda bulunur (87, 88). Kemotaksik sitokinler olarak da bilinen kemokin ailesinin üyelerinin proinflamatuvar ve tamir edici aktivitelerinin olduğu gösterilmiştir. MIP-2 akciğer hasarına neden olan nötrofil birikiminin potansiyel bir mediatörüdür (64). BLM'nin uygulamasını takiben fibrotik sürecin gelişiminde akciğerde interstisyel alanda inflamatuvar hücreler birikirler (89, 90). Bu hücrelerin kandan inflamasyon alanına göçü çok çeşitli kemokinler tarafından düzenlenir (91) MCP1, MIP-1 α ve RANTES gibi C-C kemokinler monositler ve lenfositler üzerine etkiliyken, MIP-2 ve KC gibi C-X-C kemokinler nötrofiller için kemotaktiktirler. Çoğu araştırmacı BLM'nin indüklediği fibrotik değişikliklerin gelişimi esnasında akciğerde MCP1, MIP-1 α ve MIP-2 üretiminin arttığını göstermişlerdir ve bu kemokinlere karşı nötralizan monoklonal antikorlar uygulandığı zaman fibroziste azalmayı göstermişlerdir (92, 93).

Makrofaj inflamatuvar protein-1 α ilk kez lipopolysaccharide (LPS) ile uyarılan kemirgen makrofajlarından izole edilmiştir ve hem *in vivo* hem de *in vitro* belirgin proinflamatuvar etkilerinin olduğu bulunmuştur (94). MIP-1 α 'nın farenin ayağına enjekte edildiği zaman prodominant olarak PNL'yi içeren lokalize inflamatuvar cevabı indüklediği gösterilmiştir. MIP-1 α *in vitro* PNL'yi aktive eder, PNL süperoksit üretimini uyarır (94). Standiford ve ark'nın (95) çalışmasında rMIP-

1 α 'nın PNL ve monositlerin kemotaksisini indüklediği, Sarkoidoz'lu ve IPF'li hastalarda BAL sıvısında sağlıklılara kıyasla MIP-1 α 'nın belirgin miktarda yüksek olduğu bildirilmiştir. Yara ve ark'ları (96) farelerde BLM ile indüklenen akciğer fibrozisinde MIP-1 α 'nın 3. gün arttığını, 7 ve 14. günlerde maksimum düzeye ulaştığını ve 28. günde azalmaya başladığını ve MIP-2'nin 3 ve 7. günlerde maksimum düzeye ulaştığını, 14 ve 28. günlerde azaldığını bildirmişlerdir. Holgate ve ark'ları (97) normal ve astmatik kişilerde BAL sıvısında MIP-1 α 'nın mevcut olduğunu, astmatik hava yollarının allerjenle teması bu kemokinin fazla miktarlarda salınımına neden olduğunu ve astmatik hava yollarına hücre akışına C-C kemokinlerin katkıda bulunabileceğini bildirmişlerdir. Hagiwara ve ark'ları (18) sadece BLM verilen ratlarda MIP-2 seviyelerinin 7. günde pik yaptığını ve sonrasında hızlı bir şekilde azaldığını, MIP-1 α 'nın da MIP-2 gibi 7. günde pik yaptığını daha sonra da azaldığını ve N-AC'in kemokinlerdeki bu artışı engellediğini göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda MIP-1 α 'nın BLM verilen ratlarda belirgin olarak arttığı ve 14. günde pik değere ulaştığı ve daha sonra bir miktar düşme olmakla birlikte 29. günde hala yüksek olduğu, erdosteine ile tedavi edilen ratlarda ise MIP-1 α 'da yükselme olmakla birlikte 14. ve 29. günlerde BLM grubuna göre anlamlı düzeyde düşük kaldığı ve 29. günde bazal değere indiği görüldü. BAL MIP-2 düzeylerinin BLM grubunda anlamlı derecede yükseldiğini 14. günde plato değer yaptığını ve 29. günde de hala yüksek olduğunu, erdosteine tedavisinin bu yükselmeyi engellediğini saptadık. Aynı zamanda sadece BLM verilen ratlar ve erdosteine ile tedavi edilen ratlardaki kemokin ve PNL düzeylerinin paralellik gösterdiğini gözlemledik. Bizim verilerimiz erdosteine inflamasyon alanına PNL göçünü engelleyerek MIP-1 α ve MIP-2'nin üretim ve salınımını engellediğini düşündürmektedir.

Yapılan çoğu çalışmada; BLM ile oluşturulan akciğer injurisinde reaktif oksijen türlerinin rolü olduğu belirtilmiştir (98, 99). IPF gibi fibrotik akciğer hastalıklarında hastalığın gelişim aşamalarında ROS'un önemli derecede fonksiyonu olduğu öne sürülmektedir (100). IPF'li hastalarda BAL sıvısındaki antioksidanların düzeyinde düşüklük olduğu, glutatyon düzeyinin normal konsantrasyonun yaklaşık olarak üçte biri kadar olduğu bulunmuştur (9). Akut akciğer hasarında histopatolojik değişiklikler akciğer hücrelerinde serbest oksijen radikallerinin oluşmasıyla başlar, daha sonra bu bölgede nötrofillerin artması, aktifleşmesi ve bu hücrelerden büyük miktarlarda serbest radikallerin salınması ile ilerler. Serbest oksijen radikallerinin

hücre ve dokularda yol açtığı hasarlardan başlıcası lipid peroksidasyonudur ve bunun sonucunda hücre zarının yapısı ve fonksiyonu değişir. Lipid peroksidasyonu, lipid peroksitlerin aktif aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona erer. MDA, alkoller, etan, pentan, 4-hidroksinonetal oluşan son ürünlerden bazılarıdır (101, 102).

Bu yüzden MDA lipid peroksidasyonunun indirekt göstergesi olarak kullanılmaktadır. MDA doymamış yağ asitlerinin oksidatif olarak parçalanması (peroksidasyonu) sonucu ortaya çıkan bir lipid ürünüdür. Yüksek olarak bulunması o ortamda lipid peroksidasyonu olduğunu gösterir. Hücre membranı ve organel membranlarında akışkanlığı sağlayan oldukça fazla miktarda fosfolipid, dolayısı ile bunun yapısında yer alan doymamış yağ asitleri mevcuttur. Oksidan-antioksidan dengesinin bozulması ile detoksifiye edilemeyen ROS ilk olarak membran lipidlerini okside etmekte ve başta hücrenin bütünlüğü olmak üzere bütün hücresel fonksiyonları direkt veya indirekt olarak etkilemektedir. İnflamasyonu başlattığı düşünülen ROS aktif PNL'ler ve BLM-Fe(II) kompleksinin oksidasyonu sonrası BLM tarafından üretilirler (103). Demir eksikliği; BLM'nin indüklediği akciğer hasarı ve lipid peroksidasyonunu, demirin katalize ettiği oksijen radikallerinin sunumu ilk hasar cevabına neden olabilir (104). İnflamatuvar hücrelerin aktivasyonu oksidatif strese neden olabilir. Birçok ciddi hastalık patogeneğinde lipid oksidasyonu veya peroksidasyonu sorumlu basamak olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu vücutta doğal olarak çok küçük miktarlarda gelişir ve ana olarak çeşitli reaktif oksijen türlerinin etkisiyle gerçekleşir. Aynı zamanda çeşitli fagositlerin aksiyonu yoluyla da oluşabilir. Bu reaktif oksijen türleri hızlı bir şekilde yağ asidi membranlardaki çoklu doymamış yağ asitlerine saldırır ve kendini yok eden bir zincir reaksiyonunu başlatır. Membran lipitlerinin hasarı ve lipid peroksidasyon reaksiyonlarının bu son ürünleri hücrelerin hatta dokuların hayatı için oldukça tehlikelidir (105).

Sayman ve ark'ları (106) tavşanlarda hidroklorik asidin i.t uygulanmasıyla oluşturdukları akut akciğer hasarında BAL MDA düzeyinin anlamlı derecede yükseldiğini göstermişlerdir. Özaras ve ark'ları (105) astım'lı hastalarda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeylerinin belirgin yüksek olduğunu ve tedavi sonrası BAL MDA düzeylerinin tedavi öncesine göre belirgin olarak düştüğünü bildirmişlerdir. Meyancı ve ark'ları (107) i.t. hidroklorik asidin tavşanlara verilmesiyle lipid peroksidasyonunun göstergesi olan BAL MDA düzeyini anlamlı düzeyde arttırdığını göstermişlerdir. Yine aynı araştırmacının başka bir çalışmasında

da benzer veriler bildirilmiştir (108). İlhan ve ark'ları (109) fare epilepsi nöbet modelinde PTZ'nin indüklediği oksidatif strese, nöbetlerle indüklenen MDA seviyesindeki artışı erdosteinin engellediğini bildirmişlerdir. Ratlarda oral uygulanan erdosteinin antioksidan aktivitesi yoluyla koruyucu etkisi Yıldırım ve ark'larının (110) yaptığı cisplatinle indüklenen nefrotoksisiteye karşı erdosteinin kullanıldığı çalışmada gösterilmiştir ve Yağmurca ve ark'larının (111) yaptığı doksorubisin indüklü kardiyotoksisite çalışmasında da gösterilmiştir. Ege ve ark'ları (112) tavşanlarda spinal kordun iskemi/reperfüzyon modelinde aortik klemplenmeden önce erdostein uygulamasının nörolojik sonuçları ve oksidatif hasarı düzelttiğini göstermişlerdir. Ratlarda cisplatinin indüklediği akut renal yetmezlik modelinin olduğu çalışmada erdosteinin belirgin serbest radikal uzaklaştırıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (110, 113). BLM'nin neden olduğu akciğer hasarında ROS ve nitrojen türlerinin ilişkisi bilindiğinden beri Mn-SOD, ambroxol ve N-asetilsistein gibi antioksidanlar BLM'nin indüklediği akciğer hasarını önlemek için kullanılmıştır. (18, 114, 115).

Bizim çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA kullanılmıştır. Erdosteinin BLM'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu engellediği gösterilmiştir. Erdosteinin bu koruyucu etkisinin onun serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırıcı ve antioksidan aktivitesine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

IPF'lerin çoğunda olay alveol epitelinin hasarlanması ile başlar, epitel hücre membranları bütünlüğünü kaybeder, çeşitli inflamatuvar hücreler ortaya çıkar. Bunu matriks komponentlerinin aşırı ekspresyonu ve depolanması izler. İnjury sonucu ortaya çıkan inflamatuvar yanıt fibrozis gelişimi ve bir takım yapısal değişikliklerle sonuçlanır. Hasar sınırlıysa kollejen birikimi ve fibrozise gidişin geri dönüşlü olması mümkündür. Hasar devam ederse inflamatuvar hücreler ve proliferen epitel hücrelerinden salınan proinflamatuvar ve profibrotik sitokinlerle ve matriks komponentlerince sürdürülen onarım süreci devam eder. Bu da fibroblast proliferasyonu, düzensiz kollejen depolanmasıyla sonuçlanır. Kronik dönemde interstisyel ve intraalveoler fibrozis oluşur (116). BLM'nin süperoksit ve hidroksil radikallerini içeren reaktif oksijen ürünlerini ürettiği bilinmektedir. Reaktif ürünlerin üretimi akciğer dokusunda DNA hasarı, lipid peroksidasyonu, akciğer prostoglandin sentezi ve yıkımında değişikliklerle sonuçlanır ve akciğerde kollejen sentezi artar. BLM uygulandıktan sonra sitokin disregülasyonu ve inflamasyon gelişir, fibroblastlar aktifleşir ve kollejen üretimi uyarılırken, kollejen yıkımı inhibe olur (103).

Önceki bir çalışmada ratlarda BLM tedavisinin akciğer hidroksiprolin düzeylerini yaklaşık 2 kat arttırdığı ve N-AC'le tedavisinin hidroksiprolin içeriğini %50 azalttığı gösterilmiştir (117). Ratlarda BLM'nin indüklediği akciğer fibrozisine karşı N-AC'in koruyucu etkisini araştıran diğer çalışmalarda da benzer bulgular rapor edilmiştir (118, 119). Başka bir çalışmada BLM'nin hidroksiprolin içeriğini 2 kat arttırdığı, erdosteinin bunu tamamen önlediği, BLM'nin fibrozis skorunu 5 kat arttırdığı erdosteinin bunu %87 azalttığı bildirilmiştir (74). Diğer bir çalışmada farelere i.t. BLM uygulamasıyla akciğerde 7. gün hidroksiprolin birikiminin başladığı ve 28. günde maksimum düzeye çıktığı (Kontrol grubuna göre yaklaşık %180 daha fazla) bildirilmiştir (96).

Çalışmamızda akciğer fibrozisi, kollejen birikiminin bir göstergesi olan akciğer hidroksiprolin içeriği ölçülerek belirlendi. Yukarıda belirtilen literatürlere paralel olarak çalışmamızda da BLM uygulamasıyla fibrozis derecesi kontrol grubuna göre yaklaşık 7 kat arttı ve erdostein tedavisinin bunu anlamlı düzeyde önlediği saptandı. BLM'nin akciğer hidroksiprolin içeriğini yaklaşık 2 kat arttırdığı ve erdostein tedavisinin bu artışı belirgin olarak engellediği belirlendi. Erdosteinin fibrozisi engellemesini açıklayabilecek muhtemel mekanizmanın; akciğerde inflamatuvar hücrelerin birikiminin inhibisyonu, böylelikle sekonder etki olarak serbest oksijen radikali üretiminin azalması, akciğerde mevcut bulunan inflamatuvar hücrelerce üretilen serbest oksijen radikallerinin ortamdaki uzaklaştırılması, BLM'nin neden olduğu serbest radikallerin doğrudan detoksifiye edilmesi, dolayısıyla fibroblast proliferasyonunun inhibisyonu yoluyla olabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak; ratlardaki akciğer hidroksiprolin içeriğinin ölçümü, histopatolojik inceleme, BAL sıvısında MIP-1 α , MIP-2, MDA ve inflamatuvar hücrelerin değerlendirilmesi yoluyla BLM'nin neden olduğu akut akciğer inflamasyonu ve fibrozisini erdosteinin engelleyebileceği gösterildi. Erdosteinin bu koruyucu etkisi, akciğerlerde lökositlerin birikimini inhibe etmesi, çeşitli kemokinlerin üretimi ve salınımının engellenmesi, serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ya da ortamdaki eliminasyonu ile olabilir. Bulgularımız oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyonunun, inflamasyon alanında PNL'lerin özellikle nötrofil birikiminin IPF patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bizim verilerimiz erdosteinin IPF tedavisinde kullanılabilecek yeni bir farmakolojik ajan olabileceğini, akciğer fibrozisine neden olabilen antineoplastik ajanlar ve bu ajanlarla benzer mekanizmalarla akciğer fibrozisine

neden olan diğer teröpatik ajanların kullanılması sırasında özellikle erken dönemde profilaktik olarak kullanılabileceğini düşündürebilir. Erdosteinin IPF için kesin teröpatik ajan olup olmadığının gösterilebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Raghu G. Interstitial Lung Disease: A Clinical Overview and General Approach. In: Fishman AP (editor), Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. Third edition. New York: McGraw-Hill 1998; 1037-1054.
2. Crapo JD. Respiratory Structure and Function. In: Goldman L, Bennet JC (editors). Cecil Textbook of Medicine. Philadelphia: 3rd edition. WB Saunder Company, 2000; 382-387.
3. Goldstein RH, Fine A. Potential therapeutic initiatives for fibrogenic lung disease. Chest 1995; 108: 848-855.
4. Hunninghake GW, Kalica AR. Approaches to the treatment of pulmonary fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: 915-918.
5. Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, Hance AJ, Keogh BA. Interstitial lung of diseases unknown cause: disorders characterized by chronic inflammation of the lower respiraroy tract. N Eng J Med 1984; 310: 154-166.
6. British Thoracic Society, Standarts of Care Committee. The diagnosis, assessment and treatment of diffuse parenchymal lung disease in adults. Thorax 1999; 54: 1-24.
7. Gauldie J, Jordana M, Cox G. Cytokines and pulmonary fibrosis. Thorax 1993; 48: 931-935.
8. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab Invest 1982; 47: 412-426.

9. Cantin AM, Hubbard RC, Crystal RG. Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 370-372.
10. Bensadoun ES, Burke AK, Hogg JC, Roberts CR. Proteoglycan deposition in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1819-1828.
11. Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB. Properties and products of degradation of DNA by bleomycin and iron (II). *Biochemistry* 1978; 17: 2746-2754.
12. Galvan L, Huang CH, Prestayko AW, Stout JT, Evans JE, Crooke ST. Inhibition of bleomycine-induced DNA breakage by superoxide dismutase. *Cancer Res* 1981; 41: 5103-5106.
13. Cunningham ML, Ringrose PS, Lokesh BR. Inhibition of the genotoxicity of bleomicin by superoxide dismutase. *Mutat Res* 1984; 135: 199-202.
14. Olivieri D, Del Donno M, Casalini A, D'Ippolito R, Fregnan GB. Activity of erdosteine on mucociliary transport in patients affected by chronic bronchitis. *Respiration* 1991; 58: 91-94.
15. Biagi GL, Fregnan GB, Gazzani G, Vandoni G. Erdosteine protection from cigarette smoke-induced loss of α 1-antitrypsin activity in rat lungs. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989; 27: 235-237.
16. Inglesi M, Nicola M, Fregnan GB, Bradamante S, Pagani G. Synthesis and free radical scavenging properties of the enantiomers of erdosteine. *Farmaco* 1994; 40: 703-708.
17. Vagliasindi M, Fregnan GB. Erdosteine protection against cigarette smoking-induced functional antiprotease deficiency in human

- bronchiolo-alveolar structures. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989; 27: 238-241.
18. Hagiwara S, Ishii Y, Kitamura S. Aerolized administration of N-acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 225-231.
 19. American Thoracic Society / European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:277-304.
 20. King TE, Costabel U, Cordier JF, do Pico GA, du Bois RM, Lynch JP, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 646-664.
 21. Costabel U, King TE. International consensus statement on idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 17: 163-167.
 22. Coultas DB, Zummalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150: 967-972.
 23. Johnston ID, Prescott RJ, Chalmers JC, Rudd RM. British Thoracic Society Study of cryptogenic fibrosing alveolitis: Current presentation and initial management. *Thorax*. 1997;52:38-44.
 24. Mannino DM, Etzel RA, Parrish RG. Pulmonary fibrosis deaths in the United States. 1979-1991; an analysis of multiple-cause mortality data. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:1548-1552.
 25. Schwartz DA, Helmers RA, Galvin JR, Van Fossen DS, Frees KL, Dayton CS, et al. Determinants of survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994; 149:450-454.

26. Fraser RS, Muller NL, Colman N, Dare PD. Fraser and Pare's Diagnosis of Diseases of the Chest. 4th ed. Vol III WB Saunders Company Philadelphia. 1999; 1584-1626.
27. Erdoğan Y, Yılmaz-Turay Ü. İdyopatik İnterstisyel pnömoniler. Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B (Editörler). Difüz Parankimal Akciğer Hastalıkları. 1. baskı, Ankara, Mesut Matbaacılık, 2004: 1-42.
28. Hubbard RA, Venn A, Smith C, Cooper M, Johnston I, Britton J. Exposure to commonly prescribed drugs and the etiology of cryptogenic fibrosing alveolitis; a case-control study. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 743-747.
29. Tobin RW, Pope CE, 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; 158:1804-1808.
30. Hubbard R, Lewis S, Richards K, Johnston I, Britton J. Occupational exposure to metal or wood dust and etiology of cryptogenic fibrosing alveolitis. Lancet 1996; 347:284-289.
31. Egan JJ, Stewart JP, Hasleton PS, Arrand JR, Carroll KB, Woodcock AA. Epstein-Barr virus replication within pulmonary epithelial cells in cryptogenic fibrosing alveolitis. Thorax 1995; 50: 1234-1239.
32. Raghu G and Mageto YN. Genetic predisposition of interstisyel lung disease 3rd ed. BC Decker, Hamilton, Canada 1998; 119-134.
33. Hubbard R, Baoku Y, Kalsheker N, Britton J, Johnston I. Alfa-1 antitrypsin phenotypes in patients with cryptogenic fibrosing alveolitis; a case control study. Eur Respir J 1997; 10: 2881-2883.

34. Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights in its pathogenesis. *Int Biochem Cell Biol* 2002; 34: 1534-1538.
35. Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic Pulmonary fibrosis. Clinical Relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998; 157: 1301-1315.
36. Kasper M, Haroske G. Alterations in the alveolar epithelium after injury leading to pulmonary fibrosis. *Histol Histopathol* 1996; 11: 463-483.
37. Kollenberg CG, Schilizzi BM, Beaumont F, De Leij L, Poppema S. Expression of class II major histocompatibility complex antigens on alveolar epithelium in interstitial lung disease; relevance to pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Pathol* 1987; 40: 725-733.
38. Wallace WA, Howie SE. Immunoreactive IL-4 and IFN γ expression by type II alveolar epithelial cells in interstitial lung disease. *J Pathol* 1999; 187: 475-480.
39. Martin P. Wound healing. Aiming for perfect skin regeneration. *Science* 1997; 276: 75-81.
40. Imokawa S, Sato A, Hayakawa H, Kotani M, Urano T, Takada A. Tissue factor expression and fibrin deposition in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and systemic sclerosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997; 156: 631-636.
41. King TE, Schwarz MI, Brown K, Tooze JA, Colby TV, Waldron JA, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis; relationship between histopathologic features and mortality. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 164: 1025-1032.
42. Selman M, Ruiz V, Cabrera S, Segura R, Ramirez R, Barrios R, Pardo A. TIMP-1,-2,-3 and -4 in idiopathic pulmonary fibrosis. A prevailing

nondegradative lung microenvironment. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: 562-574.

43. Flaherty KR, Colby TV, Travis WD, Toews GB, Mumford J, Murray S, et al. Fibroblastic foci in usual interstitial pneumonia: idiopathic versus collagen vascular disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167: 1410-1415.
44. Keane MP, Belperio JA, Arenberg DA, Burdick MD, Xu ZJ, Xue YY, Strieter RM. IFN-gamma inducible protein 10 attenuates bleomycin induced pulmonary fibrosis via inhibition of angiogenesis. *J Immunol* 1999; 163: 5686-5692.
45. Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis, prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 2001; 134: 136-151.
46. Du Bois RM, Wells AU. Cryptogenic fibrosing alveolitis / Idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 18; 32: 43S-55S.
47. Turner-Warwick M, Lebowitz M, Burrow B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer. *Thorax* 1980; 35: 496-499.
48. Chapman JR, Charles PJ, Venables PJ, Thompson PJ, Halsam PL, Maini RN, Turner-Warwick ME. Definition and clinical relevance of antibodies to nuclear ribonucleoprotein and other nuclear antigens in patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am Rev Respir Dis* 1984; 130: 439-443.
49. Guerry-Force ML, Muller NL, Wright JL, Wiggs B, Coppin C, Pare PD, Hogg JC. A comparison of bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia, usual interstitial pneumonia and small airways disease. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 705-712.

50. Ödev K. Toraks Radyolojisi. İstanbul: Nobel Matbaacılık, 2005: 213-217.
51. Goldstein RA, Rohatgi PK, Bergofsky EH, Block ER, Daniele RP, Dantzker DR, et al. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 481-486.
52. Ferson PF, Landreneau RJ, Dowling RD, Hazelrigg SR, Ritter P, Nunchuck S, et al. Comparison of open versus thoracoscopic lung biopsy for diffuse infiltrative pulmonary disease. *J. Thorac Cardiovasc Surg* 1993;106:194-199.
53. King TE. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: Schwarz MI, King TE. (editors). *Interstitial lung disease*, 3rd edition. BC. Decker Inc Hamilton. London 1998: 597-644.
54. Wright PH, Heard BE, Steel SJ, Turner-Warwick M. Cryptogenic fibrosing alveolitis; assesment by graded-trephine lung biopsy histology compared with clinical, radiographic and physiological features. *Br J Dis Chest* 1981; 75: 61-70.
55. Rudd RM, Halsam PL, Turner-Warwick M. Cryptogenic fibrosing alveolitis relationships of pulmonary physiology and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:1-8.
56. Douglas W, Ryu JH, Schroeder DR. Idiopathic pulmonary fibrosis: Impact of oxygen and colchicine, prednisone or no therapy on survival. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1172-1178.
57. Rennard SI, Bitterman PB, Ozaki T, Rom WN, Crystal RH. Colchicine suppresses the release of fibroblast growth factors from alveolar macrophages in vitro. The basis of a possible therapeutic approach to the fibrotic disorders. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137:181-185.

58. Selman MG, Carrillo G, Salas J, Padilla RP, Perez-Chavira R, Sansares R, Chapela R. Colchicine, D-penicilamine and prednisone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: a controlled clinical trial. *Chest* 1998; 114: 507-512.
59. Behr J, Maier K, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. Antioxidative and clinical effects of high dose N-acetylcysteine in fibrosing alveolitis: adjunctive therapy to maintenance immunosuppression. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1897-1901.
60. Panos RJ. Potential therapies for interstitial lung diseases. In: Schwarz MI, King TE (editors). *Interstitial Lung Diseases*, 3rd edition, London: BC. Decker Inc. Hamilton, 1998: 265-277.
61. Raghu G, Johnson WC, Lockhart D, Mageto Y. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new antifibrotic agent, pirfenidone Results of a prospective, open-label phase 2 study. *Am J Crit Care Med* 1999; 159: 1061-1069.
62. British Thoracic Society, Treatment of diffuse parenchymal lung disease. *Thorax* 1999; 54:15-30.
63. Hosenpud JD, Bennett LE, Keck BM, Edwards EB, Novick RJ. Effect of diagnosis on survival benefit of lung transplantation for end-stage lung disease. *Lancet* 1998; 351: 24-27.
64. Kunkel SL, Strieter RM. Cytokines and Chemokines in Lung Inflammation and Injury. In: Fishman AP (editor), *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. Third edition. New York: McGraw-Hill 1998; 315-324.

65. Keane MP, Standiford TJ, Strieter RM. Chemokines are important cytokines in the pathogenesis of interstitial lung disease. *Eur Respir J* 1997; 10:1199-1202.
66. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526-545.
67. Torun M, Yardım S, Gönenç A, Sargın H. Çeşitli kanser vakalarında serum MDA düzeyleri. *Biyokimya Dergisi* 1995; 20: 1-7.
68. Fisher AB, Al-Mehdi AB. Manifestations and mechanisms of ischemia-reperfusion injury to the lung. *J Appl Physiol* 1997; 14:309-338.
69. Corongiu FP, Banni S, Dessi MA. Conjugated dienes detected in tissue lipid extracts by second derivative spectrophotometry. *Free Radic Biol Med* 1989; 7: 183-186.
70. Tanoue LT. Pulmonary Toxicity Associated with Chemotherapeutic Agents. In: Fishman AP (editor), *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. Third edition. New York: McGraw-Hill 1998; 1003-1016.
71. Fumagalli G, Balzarotti C, Banfi P, Deco P, Ferrante L, Zennaro M. Erdosteine: a new molecule with mucolytic activity. Clinical and instrumental evaluation in patients with acute and exacerbated chronic bronchopneumopathies. *Italian Journal of Chest Diseases* 1988; 42: 299-308.
72. Gazzani G, Fregnan GB, Vandoni G. In vitro protection by erdosteine against oxidative inactivation of alpha-1- anti-trypsin by cigarette smoke. *Respiration* 1989; 55: 113-118.

73. Kaise T, Hosoe H, Sano J. Effects of KW-9144 on paraquat toxicity in mice and bleomycin-induced pulmonary injury in rats (abstract). *Jpn J Pharmacol* 1993; 61: 81P.
74. Sogut S, Ozyurt H, Armutcu F, Kart L, Iraz M, Akyol O, et al. Erdosteine prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *European J of Pharmacology* 2004;494:213-220.
75. Boyacı H, Maral H, Turan G, Basyigit I, Dillioglugil MO, Yıldız F, et al. Effects of erdosteine on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Molecular and cellular Biochemistry* 2006; 281: 129-137.
76. Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H. Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 406-411.
77. Agarwal R, Chase SD. Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples, *Journal of Chromatography B*, 2002; 775: 121-126.
78. Woessner JF. The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 1961; 93: 440-447.
79. Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. *J Clin Pathol* 1988; 41: 467-470.
80. Garbisa S, Ballin M, Daga-Gordini D, Fastelli G, Naturale M, Negro A, Semenzato G, Liotta LA. Transient expression of type IV collagenolytic metalloproteinase by human mononuclear phagocytes. *J Biol Chem* 1986; 261: 2369-2375.

81. Obayashi Y, Yamadori I, Fujita J, Yoshinouchi T, Ueda N, Takahara J. The role of neutrophils in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1997; 112:1338-1343.
82. Reynolds HY. Idiopathic pulmonary fibrosis: Contribution of bronchoalveolar lavage analysis. *Chest* 1986; 89:139-144.
83. Fukuda Y, Ferrans VJ, Schoenberger CI, Rennard SI, Crystal RG. Patterns of pulmonary structural remodeling after experimental paraquat toxicity. The morphogenesis of intraalveolar fibrosis. *Am J Pathol* 1985; 118: 452-475.
84. Gurujeyalakshmi G, Wang Y, Giri SN. Suppression of bleomycin-induced nitric oxide production in mice by taurine and niacin. *Nitric Oxide* 2000; 4: 399-411.
85. Yildirim Z, Kotuk M, Iraz M, Kuku I, Ulu R, Armutcu F, Ozen S. Attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis by oral sulfhydryl containing antioxidants in rats: erdosteine and N-acetylcysteine. *Pulm Pharmacol Ther* 2005; 18: 367-373.
86. 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; 138:1037-1048.
87. Antoniadou HN, Neville-Golden J, Galanopoulos T, Krodin RL, Valante AJ, Graves DT. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA in human Idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1992; 89: 5371-5375.
88. Standiford TJ, Rolfe MR, Kunkel SL, Lynch JP, Becker FS, Orringer MB. Altered production and regulation of monocyte chemoattractant protein-1 from pulmonary fibroblasts isolated from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1993; 103: 121S.

89. Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Lukacs NW, Huffnagle GB, Wilke CA, et al. Production and function of murine macrophage inflammatory protein-1 alpha in bleomycin-induced lung injury J Immunol 1994; 153: 4704-4712.
90. Zhang K, Gharaee-Kermani M, Jones ML, Warren JS, Phan SH. Lung monocyte chemoattractant protein-1 gene expression in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. J Immunol 1994; 153: 4733-4741.
91. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines - CXC and CC chemokines. Adv Immunol 1994; 55:97-179.
92. Smith RE, Strieter RM, Zhang K, Phan SH, Standiford TJ, Lukacs NW, Kunkel SL. A role for C-C chemokines in fibrotic lung disease J Leukoc Biol 1995; 57: 782-787.
93. Keane MP, Belperio JA, Moore TA, Moore BB, Arenberg DA, Smith RE et al. Neutralization of the CXC chemokine macrophage inflammatory protein-2 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis J Immunol 1999; 162:5511-5518.
94. Wolpe SD, Davatelis G, Sherry B, Beutler B, Hesse DG, Nguyen HT et al. Macrophages secrete a novel heparin-binding protein with inflammatory and neutrophil chemokinetic properties. J Exp Med 1988; 167; 570-581.
95. Standiford TJ, Rolfe MW, Kunkel SL, Lynch JP, Burdick MD, Gilbert AR, et al. Macrophage Inflammatory Protein-1 α Expression in Interstitial Lung Disease. J Immunol 1993; 151:2852-2863.
96. Yara S, Kawakami K, Kudeken N, Tohyama M, Teruya K, Chinen T, et al. FTS reduces bleomycin-induced cytokine and chemokine production

and inhibits pulmonary fibrosis in mice. *Clin Exp Immunol* 2001; 124: 77-85.

97. Holgate ST, Bodey KS, Janezic A, Frew AJ, Kaplan AP, Teran LM. Release of RANTES, MIP-1 α and MCP-1 into asthmatic airways following endobronchial allergen challenge. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 1997; 156; 1377-1383.
98. Borok Z, Buhl R, Grimes GJ, Bokser AD, Hubbard RC, Holroyd KJ, et al. Effect of glutathione aerosol on oxidant-antioxidant imbalance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 1991; 338: 215-216.
99. Forman HJ, Skelton DC. Protection of alveolar macrophages from hyperoxia by gamma-glutamyl transpeptidase. *Am J Physiol* 1990; 259: 102-107.
100. Crystal RG. Oxidants and respiratory tract epithelial injury: pathogenesis and strategies for therapeutic intervention. *Am J Med* 1991; 91: 39S-44S.
101. Bunnell E, Pacht ER. Oxidized glutathione is increased in alveolar fluid of patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:1174-1178.
102. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:336-340.
103. Sleijfer S: Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120: 617-624.
104. Oury TD, Thakker K, Menache M, Chang LY, Crapo JD, Day BJ. Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by a catalytic antioxidant metalloporphyrin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 25:164-169.

105. Ozaras R, Tahan V, Turkmen S, Talay F, Besirli K, Aydın S, et al. Changes in malondialdehyde levels in bronchoalveolar fluid and serum by the treatment of asthma with inhaled steroid and beta₂-agonist. *Respirology* 2000; 5: 289-292.
106. Sayman S, Meyancı Köksal G, Erdamar S, Uzan S, Öz H. Tavşanlarda Akut Akciğer Hasarında Nedokromil Sodyumun Tedavideki Yerinin Araştırılması. *GKD Anest. Yoğ. Bak. Dern. Derg.* 2003; 9: 52-55.
107. Meyancı G, Arıcioglu F, Oz H, Aydemir A. The effects of intratracheal dexamethasone on lipid peroxidation in acute lung injury. *Cerrahpaşa J Med* 2001; 32: 20-24.
108. Meyancı Köksal G, Sayılğan C, Finci A, Uzan S, Oz H. Akut akciğer hasarının tedavisinde erken dönemde intratrakeal PG E1'in lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. *GKD Anest. Yoğ. Bak. Dern. Derg.* 2004; 10: 108-110.
109. Ilhan A, Aladag MA, Kocer A, Boluk A, Gurel A, Armutcu F. Erdosteine ameliorates PTZ-induced oxidative stress in mice seizure model. *Brain Res Bull* 2005; 65: 495-499.
110. Yildirim Z, Sogut S, Odaci E, Iraz M, Ozyurt H, Kotuk M, Akyol O. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 149-156.
111. Yagmurca M, Fadillioglu E, Erdogan H, Ucar M, Sogut S, Irmak MK. Erdosteine prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Pharmacol Res* 2003; 48:377-382.
112. Ege E, Ilhan A, Gurel A, Akyol O, Ozen S. Erdosteine ameliorates neurological outcome and oxidative stress due to ischemia/reperfusion

- injury in rabbit spinal cord. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004; 28: 379-386.
113. Dechant KL, Noble S. Erdosteine. *Drugs* 1996; 52: 875-881.
114. Tamagawa K, Taooka Y, Maeda A, Hiyama K, Ishioka S, Yamakido M. Inhibitory effects of a lecithinized superoxide dismutase on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 161: 1279-1284.
115. Hong JS, Ko HH, Han ES, Lee CS. Inhibition of bleomycin-induced cell death in rat alveolar macrophages and human lung epithelial cells by ambroxol. *Biochem Pharmacol* 2003; 66:1297-1306.
116. Schwarz MI. Approach to the understanding, diagnosis and management of interstitial lung disease. In: Schwarz MI, King TE. *Interstitial Lung Disease.* 3rd edition. London; BC. Decker Inc. Hamilton, 1998: 3-30.
117. Cortijo J, Cerda-Nicolas M, Serrano A, Bioque G, Estrela JM, Santangelo F, et al. Attenuation by oral N-acetylcysteine of bleomycin-induced lung injury in rats. *Eur Respir J* 2001; 17: 1228-1235.
118. Serrano-Mollar A, Closa D, Cortijo J, Morcillo EJ, Prats N, Gironella M, et al. P-selectin upregulation in bleomycin-induced lung injury in rats: effect of N-acetylcysteine. *Thorax* 2002; 57: 629-634.
119. Mata M, Ruiz A, Cerda M, Martinez-Losa M, Cortijo J, Santangelo F, et al. Oral N-acetylcysteine reduces bleomycin-induced lung damage and mucin Muc5ac expression in rats: *Eur Respir J* 2003; 22: 900-905

8. ÖZGEÇMİŞ

30.08.1976 tarihinde Hatay'ın Dörtyol ilçesinde doğdum. İlkokulu Dikilitaş ilkokulu'nda, ortaokulu Dörtyol Merkez Ortaokulu'nda, liseyi Dörtyol Lisesi'nde okudum. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesine girdim. 2000 yılında fakülteden mezun oldum. Gölbaşı Balkar sağlık ocağında pratisyen hekim olarak göreve başladım. 2000 Eylül TUS sınavını kazanarak 22.12.2000'de Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.