

**T.C.
FATİH ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**BLEOMİSİNE BAĞLI AKCİĞER FİBROZİSİ TEDAVİSİNDE
RESVERATROL'ÜN ETKİSİ (DENEYSEL ÇALIŞMA)**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Recep AKGEDİK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Zeki YILDIRIM**

ANKARA- 2010

TEŞEKKÜR

Göğüs Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile örnek olan, her konuda yardım ve desteğini hissettiğim, saygıdeğer Hocam, tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Zeki YILDIRIM'a,

Uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmalarımnda katkılarını unutmayacağım değerli Hocalarım Doç. Dr. Duygu ÖZOL ve Doç. Dr. Bülent BOZKURT'a,

Tezimi hazırlamamda ve deney çalışmasında desteğini unutmayacağım uzmanlık eğitimini birlikte aldığımız Dr. Harun KARAMANLI'ya,

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığım araştırma görevlisi doktor arkadaşlarım, hemşireler ve personellere,

Tezimi hazırlamada desteklerini esirgemeyen Biyokimya A.D. 'den Dr. Sema UYSAL ve Doç. Dr. Ferah ARMUTÇU'ya

Göğüs Hastalıkları ihtisasım boyunca bana sevgi, sabır ve fedakarlıkla katlanan, tezimin patoloji çalışmasını hazırlayan sevgili eşim Dr. Şükran AKGEDİK'e

Farkında olmadan yaptıkları fedakarlıklar için oğlum Burak ve kızım Zeynep'e

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

I.	Teşekkür	2
II.	İçindekiler	3
III.	Tablo Listesi, Grafik Listesi, Resim Listesi	4
IV.	Kısaltmalar	6
1.	Özet	7
1.A.	Abstract	9
2.	Giriş	10
3.	Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıkları (DPAH)	13
3.A.	Sınıflama	14
3.B.	Epidemiyoloji	18
4.	İdyopatik Pulmoner Fibrozis (İPF)	20
4.A.	Epidemiyoloji	21
4.B.	Etyoloji	21
4.C.	Patogenez	23
4.D.	Tanısal Yaklaşım	25
4.E.	Tedavi	30
4.F.	Prognoz	35
5.	Bleomisin (BLM)	36
6.	Resveratrol (RSV)	38
7.	Gereç ve Yöntem	40
7.A.	İstatistiksel Analiz	43
8.	Bulgular	44
9.	Tartışma	57
10.	Kaynaklar	66

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının Sınıflandırılması (ATS/ERS 2002)	14
Tablo 2.	Leibow ve Carrington İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1969)	15
Tablo 3.	Katzenstein İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1997)	15
Tablo 4.	Müler ve Kolby İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1997)	15
Tablo 5.	ATS/ERS 2002 İdiopatik İnterstisyel Pnömonilerin Histopatolojik ve Klinik Sınıflaması	16
Tablo 6.	Alta yatan nedene göre DPAH'nin klinik sınıflandırılması	17
Tablo 7.	İdyopatik Pulmoner Fibrozis Ayırıcı Tanısı	29
Tablo 8.	İdyopatik Pulmoner Fibrozisde Kombine Tedavi	34
Tablo 9.	Akciğer Fibrozisinin Ashcroft Skorlamasına Göre Derecelendirilmesi	43

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1.	Patolojik Fibrozis Derecelendirmesi	44
Grafik 2.	Akciğer Dokusu OH-P Düzeyleri	47
Grafik 3.	Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri	48
Grafik 4.	Serum MDA düzeyleri	49
Grafik 5.	Akciğer Dokusu TAOK Seviyeleri	50
Grafik 6.	Serum TAOK Düzeyleri	51
Grafik 7.	BAL lökosit Sayıları	52
Grafik 8.	BAL Makrofaj Oranları	53
Grafik 9.	BAL Nötrofil Oranları	54
Grafik 10.	BAL Lenfosit Oranları	55
Grafik 11.	BAL Eozinofil Oranları	56

RESİM LİSTESİ

Resim 1.	BLM grubu histopatolojik örnekleme	45
Resim 2.	BLM-RSV grubu histopatolojik örnekleme	45
Resim 3.	SF grubu histopatolojik örnekleme	46
Resim 4.	RSV grubu histopatolojik örnekleme	46

KISALTMALAR

ATS	American Thoracic Society
BAL	Bronkoalveolar lavaj
BLM	Bleomisin
BOOP	Bronşiolitis Obliterans Organize Pnömoni
DPAH	Diffüz parankimal akciğer hastalıkları
ERS	European Respiratory Society
HRCT/YRBT	Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi
i.t.	İntratrakeal
İAH	İnterstisyel akciğer hastalığı
İPF	İdiyopatik pulmoner fibrozis
LBW	Cinsiyet, yaş ve boya göre hesaplanan vücut ağılığı
MDA	Malonildealdehit
N-AC	N-Asetilsistein
NO	Nitrik Oksit
OH-P	Hidroksiprolin
PNL	Polimorfnüveli lökosit
ROS	Reaktif Oksijen Ürünleri
RSV	Resveratrol
SF	Serum fizyolojik
SFT	Solunum Fonksiyon Testi
TAOK	Total Antioksidan Kapasite
TBA	Tiyobarbitürik Asit

ÖZET

Antioksidanlar ve diğer maddelerle yapılan çok sayıda klinik ve deneysel çalışmaya rağmen, İdyopatik Pulmoner Fibrozis (İPF) için etkili bir tedavi şekli belirlenememiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada, antioksidan ajanlardan biri olan resveratrolün (RSV) profilaktik tedavide bleomisin (BLM) ile oluşturulan akciğer fibrozisini önlediği gösterilmiştir ancak, fibrozis tedavisinde etkinliği araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı RSV'nin BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisinin tedavisinde etkisini araştırmaktır.

Wistar tipi erkek albino ratlara tek doz intratrakeal (i.t.) BLM (2.5 mg/kg) verilerek pulmoner fibrozis grubu ve bleomisinle aynı miktarda it serum fizyolojik verilerek kontrol grubu oluşturuldu. Resveretrol (10 mg/kg) deney grubuna 14. günden itibaren düzenli olarak her gün oral yoldan verildi. 29. günde Ashoft kriterleri ve hidroksprolin düzeyi ölçülerek fibrotik değişiklikler değerlendirildi. Oksidatif stress ve oksidan/antioksidan durumu doku malondialdehid (MDA) ve total antioksidan kapasite (TAOK) ölçümleriyle değerlendirildi.

Önceki çalışmalara benzer olarak, BLM'nin fibrozis skorunu (3.70 ± 1.04) ve hidroksprolin seviyesini (4.99 ± 0.90 mg/gr doku) SF kontrol grubuna (sırasıyla 1.02 ± 0.61 ve 1.88 ± 0.59 mg/g) göre arttırdığı görüldü. Resveratrol tedavisiyle bu artışın azaldığı saptandı (sırasıyla 3.16 ± 1.58 ($P=0.0001$) ve 3.08 ± 0.73 ($P>0.05$)). Doku MDA seviyesinin BLM grubunda (0.55 ± 0.22 nmol/mg protein), kontrol grubundan daha yüksek olduğu (0.16 ± 0.07), ($P = 0.0001$) ve RSV tedavisiyle azaldığı (0.16 ± 0.06), ($P=0.0001$) görüldü. Bleomisin verilmesiyle Doku TAOK seviyesinin (0.027 ± 0.01) kontrol grubuna göre azaldığı (0.055 ± 0.012 mmol Trolox Equiv/mg protein) ($P=0.0001$) ve RSV tedavisi (0.041 ± 0.008 , $P=0.001$) ile arttığı görüldü.

Sonuç olarak bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisinde resveratrolün 10 mg/kg dozda tedavide kullanımında gelecek adına umut verici etkileri vardır. Bununla birlikte bu konuda farklı dozlarda yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: İPF, Bleomisin, akciğer fibrozisi, Hidroksiprolin, Total Antioksidan Kapasite, Malonilaldehit

ABSTRACT

Effects Resveratrol in treatment of pulmonary fibrosis induced by Bleomycine in rats.

Despite of many clinical and experimental studies on antioxidants and other substances to treat idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) for which no effective therapy has been identified. A previous study revealed that the resveratrol, one of the antioxidant agents, prevented bleomycin-induced pulmonary fibrosis in prophylactic use; however resveratrol is not studied in the treatment of the fibrosis. Presented study aimed to investigate the effect of resveratrol on the treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis.

Male Wistar-albino rats were given a single dose of bleomycin (2.5 mg/kg, intratracheally) in pulmonary fibrosis groups and saline in controls. First dose of resveratrol at a dose of 10 mg/weight was given 14 days after the bleomycin injection and continued until sacrifice. At day 29, fibrotic changes in lung were estimated by Aschoft's criteria and lung hydroxyproline content. Oxidative stress and oxidant/antioxidant status were evaluated using by tissue malondialdehyde (MDA) level and total antioxidant capacity (TAOC) measurement.

Similar to previous studies, bleomycine increased the fibrosis score (3.70 ± 1.04) and hydroxyproline levels (4.99 ± 0.90 mg/gr tissue) as compared to saline treated rats (1.02 ± 0.61 and 1.88 ± 0.59 mg/g), respectively. These increments were reduced to 3.16 ± 1.58 ($P=0.0001$) and 3.08 ± 0.73 ($P>0.05$), respectively, by resveratrol treatment. Tissue MDA levels in the bleomycin treated rats were higher (0.55 ± 0.22 nmol/mg protein) than that of saline treated rats (0.16 ± 0.07), ($P = 0.0001$) and this was reduced to 0.16 ± 0.06 by resveretrol ($P=0.0001$). Tissue TAOC is reduced (0.027 ± 0.01) by bleomycine administration when compared control rats (0.055 ± 0.012 mmol Trolox Equiv/mg protein) ($P=0.0001$), and increased to 0.041 ± 0.008 ($P=0.001$) by resveratrol treatment.

We concluded that resveratrol at a dose of 10 mg/body weight has some promising effect on the treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rat. However different doses of the drug should be further studied.

Key Words: Idiopathic Pulmonary Fibrosis, Bleomycin, Lung fibrosis, Hydroxyproline, Total Antioxidant Capacity, Malonyldealdehit

GİRİŞ

Hamman ve Rich ilk kez 1935'de progresif akciğer fibrozisini tanımlamıştır. Bu tarihten günümüze kadar geçen sürede akciğer fibrozisi ile seyreden, akut veya kronik, nedeni bilinen veya bilinmeyen 150'nin üzerinde akciğer hastalığı tanımlanmıştır. Günümüzde bu hastalık grubu için Diffüz Parankimal Akciğer Hastalığı (DPAH) terimi kullanılmaktadır. Bu hastalıkların çoğu ortak klinik, radyolojik, fizyolojik ve histopatolojik özelliklere sahiptir (1,2).

Difüz parankimal akciğer hastalıklarında olay çoğunlukla alveol epitelinin hasarlanması ile başlar, epitel hücre hasarı inflamatuvar hücre göçüne ve tip-II alveoler hücre proliferasyonuna, ekstrasellüler matriks proteinlerinin aşırı yapımına neden olur.

İdyopatik Pulmoner Fibrozis (İPF), patogenezi ve etyolojisi bilinmeyen, insidansı 3-6/100.000 oranında olan, genellikle ölümcül seyreden bir hastalıktır. Mevcut tedaviler hastaların prognozu üzerine çok az etkilidir. Yapılan son çalışmalara rağmen hastalığın nedeni kesin olarak belli değildir (3-5).

Genel popülasyonda İPF'nin epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler çok azdır. İAH'nin en sık görülen formu İPF'dir (%30-40). İPF'nin insidansı yaşla belirgin biçimde artar, yaş arttıkça mortalite de artar (1,6).

İPF'de alveol epitelinin hasarını, epitel hücre membranlarının bütünlüğünü kaybetmesi izler ve daha sonra çeşitli inflamatuvar hücreler ortaya çıkar. Bunu matriks komponentlerinin aşırı ekspresyonu ve depolanması takip eder. Hasar sonucu ortaya çıkan inflamatuvar yanıt fibrozis gelişimi ve bir takım yapısal değişikliklerle sonuçlanır.

İnterstisyel akciğer hastalıklarının patogenezi, akciğer interstisyumu ve alveoler kapiller membranda yer alan hücreler ile immün hücreler arasındaki dinamik ve kompleks ilişki çok önemlidir. Multipl alveoler epitel yaralanması ve interstisyel kronik inflamasyona cevap olarak gelişen fibrozis düzensiz ve aşırı yara iyileşmesi sürecinin göstergesidir. İnflamasyon ve immün yanıtla bağlı doku hasarının oluşmasında oksijen bağımlı serbest radikaller başlıca rolü oynar. İnflamatuvar hücrelerce üretilen oksidanlar akciğer hasarı ve İPF'nin oluşmasına neden olurlar. İPF'si olan hastaların bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında antioksidanların belirgin azaldığı saptanmıştır (7-9).

Pulmoner fibrozis daha çok akciğerlerin inflamasyon durumlarında ortaya çıkan ilerleyici kollajen depolanması bozukluğu ile karakterize bir hastalıktır. Temelinde henüz açıklığa kavuşturulmamış birçok faktör vardır. Anormal akciğer fizyolojisi ve kollajen,

elastin, proteoglikan gibi birçok matriks komponentlerinin aşırı üretimi ile karakterizedir (10).

Bleomisin (BLM) ile ratlarda oluşturulan akciğer fibrozis modeli, hastalığın patofizyolojisini açıklığa kavuşturmak için en sık kullanılan ve önemli bir modeldir. BLM bir antineoplastik ajandır. BLM'nin antineoplastik etki mekanizması; oluşan BLM-demir kompleksinin moleküler oksijeni süperoksit ve hidroksil radikaline indirgeyerek, DNA liflerinde kırılma oluşturmasıdır. Yapılan in vitro çalışmalarda antioksidanlarla BLM'ye bağlı DNA ve hücre hasarının inhibe edildiği gösterilmiştir (11-13).

BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisinin patofizyolojisinde iki faz vardır. Erken inflamatuvar fazda, interstisyel ve alveolar alanlara makrofaj, nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu olurken, ikinci fazda fibrozis gelişir. Reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve proteazlar genellikle bu inflamatuvar hücrelerden salgılanarak akciğer dokusunda hasar oluşturur ve onarım sürecinde ise aşırı fibrozis gelişir (14).

Resveratrol (3,5,4'-trans-trihydroxystilbene), doğal antioksidandır. RSV, bitkilerde çeşitli dış etkenlere karşı ve strese yanıt olarak sentezlenen bir phytoalexindir (15,16). Resveratrol üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı, yaban mersininde ve Polygonum cuspidatum bitkisinde bulunan polifenolik bir bileşiktir. Güney Fransa'da yağlı diyet ve yaygın sigara-alkol alışkanlığına rağmen koroner arter hastalığı azlığı bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve buna Fransız paradoksu denilmiştir. Bu paradoksa neden olarak bölgede bolca tüketilen kırmızı şarap içinde resveratrol saptanmıştır (17,18). Resveratrol'un doğal antioksidan etkisi; koenzim Q ile yarışarak ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunda oksidatif zincir kompleksini azaltarak, mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalayarak ve fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibe ederek gerçekleşir (19). Resveratrolün çok çeşitli farmakolojik etkileri vardır. Antiinflamatuvar, lipid metabolizmasını düzenleyici, kanseri önleyici, kardiyoprotektif, antikoagülan ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edici etkileri bildirilmiştir. Antiinflamatuvar etkisi oksidasyonu, lökosit aktivasyonunu ve göçünü ve inflamatuvar mediatörlerin salınımını inhibe etmesiyle ilişkilidir (20-24). Yapılan deneysel hayvan çalışmalarında oksidatif stresden koruyucu (25), BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde profilaktik tedavide fibrozisi azaltıcı özellikleri gösterilmiştir (26).

Deneysel hayvan çalışmalarında, akciğer fibrozisi modeli oluşturmak için pek ajan kullanılmıştır. Ancak bunlardan en fazla tercih edileni ve kolayca akciğer fibrozis modeli oluşturulanı BLM ile yapılanıdır. BLM-akciğer fibrozisi modeliyle pek çok deneysel hayvan çalışması yapılmıştır. 1980-2006 yıllarını kapsayacak şekilde BLM akciğer fibrozisi

modelinde tedavide çeşitli ajanlar kullanılarak yapılan çalışmaları değerlendiren bir metaanalizde; toplamda 246 adet çalışma tespit edilmiş, bu çalışmaların hemen hepsi akciğer fibrozisi gelişimini engellemek için profilaktik tedavilerin uygulandığı çalışmalar olduğu ve bu çalışmalardan sadece 10'unda fibrozis geliştikten sonra (BLM it uygulamasının 7. gününden sonra) tedavi denemiştir (27). Ancak akciğer fibrozisli hastalar genelde nefes darlığı, kronik öksürük şikayetleri başladıktan sonra kliniklere başvurup tanı almaktadırlar. Hatta pek çok hastaya kronik solunum yetmezliği geliştikten sonra tanı konulmaktadır. Bu durumda hastalarda akciğer fibrozisi oluşmuş ve progresif olarak devam etmekteyken tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle şu ana kadar yapılmış olan profilaktik çalışmaların klinik önemi azdır. Bleomisin ile akciğer fibrozisi oluşturulan ratlarda RSV'nin profilaksi de etkinliği araştırılmış, fibrozisi azalttığı gösterilmiş ancak tedavide etkinliği araştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda ratlarda BLM ile akciğer fibrozisi oluşturulduktan sonra resveratrolün tedavide etkinliğininin araştırılması planlanmıştır.

DİFFÜZ PARANKİMAL AKCİĞER HASTALIKLARI

İlk kez Hamman ve Rich tarafından 1935 yılında progresif pulmoner fibrozis tanımlanmıştır. Bugüne kadar değişik derecelerde akciğer fibrozisi ile giden akut veya kronik seyreden, nedeni bilinen veya bilinmeyen 150'nin üzerinde akciğer hastalığı tanımlanmıştır. Bu hastalıklara 1970'li yıllarda interstisyel akciğer hastalığı (İAH) adı verilmiştir. İnterstisyel akciğer hastalıkları sürecinde tüm akciğer parankimi etkilenir. Bu nedenle İAH yerine Difüz Parankimal Akciğer Hastalığı (DPAH) terimi kullanılması daha uygundur ve günümüzde bu terim tercih edilmektedir (1,28,29).

Akciğer parankimi alveol epiteli, kapiller endoteli ve bu yapılar arasındaki boşluk ile birlikte perivasküler ve perilenfatik dokuların bulunduğu septaları kapsar. Peribronkovasküler, subplevral ve parankimal (alveolar-septal) interstisyel sistemler, alveol tip-I ve tip-II hücreleri, kapiller endoteli, alveolar makrofajlar, diğer hücreler ve ekstrasellüler matriks bu anatomik yapıyı oluşturmaktadır (30).

DPAH'ler benzer klinik, radyolojik, fizyolojik ve histopatolojik özellikler taşırlar. Bu hastalıklarda akciğer parankim hasarı, interstisyumda aşırı protein ve hücre birikimi vardır. Patogenez mekanizmaları ve histopatolojik bulguları yönünden ortak özellikler taşırlar (1,28,29).

DPAH'de olay çoğunlukla alveol epitelinin hasarlanması ile başlar, epitel hücre hasarı inflamatuvar hücre göçüne ve tip-II alveol hücre proliferasyonuna, ekstrasellüler matriks proteinlerinin aşırı yapımına ve depolanmasına neden olur. Epitel hasarı ile ortaya çıkan inflamatuvar yanıt anormal yara iyileşmesinin bir sonucu olarak fibrozis gelişimi ve bir takım yapısal değişikliklerle sonuçlanır (29,31).

Tanım, sınıflandırma ve tanı zorluğu DPAH'nin çok geniş bir hastalık grubunu kapsamasından kaynaklanır. Bu gruba giren bronşiyolitisi obliterans organize pnömoni (BOOP) difüz bir dağılım göstermez, yama tarzı infiltrasyonlarla karakterizedir, diğer taraftan sekonder olarak akciğer parankiminin tutulduğu maligniteler, infeksiyonlar ve konnektif doku hastalıkları da bu grubun içinde yer alır (32).

SINIFLAMA

Diffüz parankimal hastalıklarının sınıflaması, klinik, histopatolojik, etyolojik ve tedaviye yanıt özelliklerine göre yapılmaktadır. Klinik, histopatolojik ve etyolojik sınıflandırma da DPAH grupları birbirleriyle iç içe girmiş durumdadır (28,32). Klinik sınıflamada, değişik gruptaki hastalarda aynı histopatolojik görünüm saptanabilir. İlaç toksisitesine veya kollajen doku hastalığına bağlı DPAH nonspesifik interstisyel pnömoni (NSİP) patolojik paternini gösterebilir. Difüz alveolar hasar (DAH) patolojik paterni, ilaç toksisitesi, toksik inhalasyon ya da Hamman-Rich Sendromu'nun patolojik bulgusu olabilir. Difüz parankimal akciğer hastalıkları ERS/ATS konsensus raporunda Tablo 1*'deki gibi sınıflandırılmaktadır (33).

Tablo 1. Diffüz Parankimal Akciğer Hastalıklarının Sınıflandırılması (ATS/ERS 2002)	
1.	İlaç veya kollajen vasküler hastalık gibi bilinen nedenlere sekonder DPAH
2.	Granülomatöz DPAH (Sarkoidoz gibi)
3.	Diğer DPAH (LAM, HX, eozinofilik pnömoni gibi)
4.	İdyopatik interstisyel pnömoniler (İİP)
4.a.	İdyopatik pulmoner fibrozis (İPF)
4.b.	İPF dışındaki İİP'ler (DİP, AİP, NSİP, RBİAH, LİP, KOP)
(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)	

İdyopatik interstisyel pnömoni (İİP)'ler DPAH'nin en büyük grubunu oluşturur. Konnektif doku hastalıkları, ilaç toksisitesi gibi nedeni bilinenler, sarkoidoz gibi granülomatöz olanlar ve lenfajiyoleyomiyomatozis, pulmoner Langerhans hücreli histiositozis gibi özel klinik ve histopatolojik tanımlaması olan hastalıklar DPAH'nin diğer üç büyük grubunu oluşturur (33-40).

İdyopatik interstisyel pnömoniler Liebow ve Carrington tarafından 1969'da beş histopatolojik alt grupta tanımlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 2. Leibow ve Carrigton İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1969)
Olağan interstisyel pnömoni
Deskuamatif interstisyel pnömoni
Bronşiolitis obliterans interstisyel pnömoni ve diffüz alveolar hasar
Lenfositik interstisyel pnömoni
Dev hücreli interstisyel pnömoni

1970'lerde idyopatik pulmoner fibrozis (İPF) tanımı kullanılmıştır. 1997'de Katzenstein ve Müller-Colby İİP'lerin histopatolojik sınıflamasını tekrar düzenlemiştir (Tablo 2-3)(33,37,38).

Tablo 3. Katzenstein İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1997)
Olağan interstisyel pnömoni
Deskuamatif interstisyel pnömoni/ Respiratuar bronşiolit interstisyel akciğer hastalığı
Akut interstisyel pnömoni
Nonspesifik interstisyel pnömoni

Tablo 4. Müler ve Kolby İdyopatik İnterstisyel Pnömoni Sınıflaması (1997)
Olağan interstisyel pnömoni
Deskuamatif interstisyel pnömoni
Bronşiolitis obliterans interstisyel pnömoni
Akut interstisyel pnömoni
Nonspesifik interstisyel pnömoni

Bu histopatolojik sınıflamalar 2002'de ATS (American Thoracic Society) / ERS (European Respiratory Society) tarafından yeniden düzenlenerek 2002'deki son şeklini almıştır (33, Tablo 1). İİP için geçerli ATS/ERS sınıflandırması histopatolojik görünüme göre yedi farklı klinik durumu kapsamaktadır (Tablo 5). Akciğer biyopsi örneklerinin

histopatolojik görünümüne dayalı İİP sınıflaması tedavi ve prognozun belirlenmesinde yardımcıdır (33-40).

Tablo 5. ATS/ERS 2002 İdiopatik İnterstisyel Pnömonilerin Histopatolojik ve Klinik Sınıflaması	
Histopatolojik Patern	Klinik Tanı
Olağan interstisyel pnömoni (UİP)	İdyopatik pulmoner fibrozis/kriptojenik fibrozan alveolit
Nonspesifik interstisyel pnömoni (NSİP)	Nonspesifik interstisyel pnömoni (NSİP)
Organize pnömoni (KOP)	Kriptojenik organize pnömoni (KOP)
Diffüz alveolar hasar (DAH)	Akut interstisyel pnömoni
Respiratuar bronşiolit (RB)	Respiratuar bronşiolit interstisyel akciğer hastalığı
Deskuamatif interstisyel pnömoni (DİP)	Deskuamatif interstisyel pnömoni (DİP)
Lenfositik interstisyel pnömoni (LİP)	Lenfositik interstisyel pnömoni (LİP)

DPAH, klinik, radyolojik, etyolojik, klinik seyir, tedaviye yanıt, BAL bulguları ve YRBT özelliklerine göre sınıflandırılmıştır (28,1,30,32). Bu sınıflandırmalar DPAH'na tanı koyma, tedavi ve prognoz belirlemede yol göstericidir. DPAH etyolojilerine ve klinik yaklaşımlara göre farklı olarak da sınıflandırılabilir (Tablo 6)(32,40).

ATS ve ERS'nin 2002 yılında uluslararası konsensus raporundaki en son DPAH sınıflaması Tablo 1'de gösterilmiştir (33).

Tablo 6: Etiyolojiye Göre DPAH'nin Klinik Sınıflandırılması (29,31)

ETYOLOJİ	HASTALIK
Mesleksel ve İnhalasyon Ajanlarla İlişkili DPAH	
Organik	Çiftçi Akciğeri, Kuş Besleyicisi Akciğeri, Mantar İşçisi Akciğeri, Bagassoz (Şeker Kamışı) vb.
İnorganik	Kömür İşçisi Pnömonyozu, Asbestoz, Silikoz, Alüminyum Oksit Fibrozisi, Berilyoz vb.
Bağ Dokusu Hastalıkları ile İlişkili DPAH	SLE, RA, Sjögren Sendromu, Skleroderma, Miks Konnektif Doku Hastalığı, Polimiyozit, Dermatomyozit, Ankilozan Spondilit, vb.
Vaskülitlerle İlişkili DPAH	Wegener Granülomatozisi, Temporal Artrit, Churg-Strauss Sendromu, Good-Pasture Sendromu
Fiziksel Ajanlar/Toksinler ilişkili DPAH	Radyasyon-Radyoterapi, Yüksek Doz Oksijen, Paraquat Toksikitesi, Kokain İnhalasyonu
Maligniteler	Bronkoalveoler Ca, Lenfanjitis Karsinomatoza
Dolaşım Sistemi İle İlişkili	Pulmoner Ödem, Pulmoner Venöz Oklusiv Hastalık
Kronik Enfeksiyonlar ile İlişkili	Tüberküloz, Aspergilloz, Histoplazmoz, Virüsler, Parazitler
Sigara İle İlişkili	Amfizem, RB, Langerhans Hücreli Histiositoz, RB-İLD, NSİP, DİP
İlaçlara Bağlı	Bleomisin, Amiodaron, Tokainid, Nitrofurantoin, Siklofosfamid, Busulfan, Mitomisin, Altın, Penisilamin, Bromokriptin, Karmustin, Lamustin, Sitozin Arabinosid, Azatiopürin, Metotreksat, Melfalan
DPAH: Diffüz parankimal akciğer hastalıkları, RB: Respiratuar Bronşiolit DİP: Deskuamatif interstisyel pnömoni, NSİP: Nonspesifik interstisyel pnömoni, RBİLD: Respiratuar bronşiolit interstisyel akciğer hastalığı, . Bu tablo 29 numaralı kaynaktan revize edilerek alınmıştır.	

EPİDEMİYOLOJİ

Diffüz parankimal akciğer hastalıkları 150 üzerinde hastalığı kapsar (28,1). Epidemiyolojik veriler ulusal istatistik vaka kayıtları, mortalite kayıtları, belirli hastalıkların geniş olgu serilerinden elde edilmiştir (41). Gerçek prevalans ve insidans bilinmemektedir. Epidemiyolojik verilerdeki farklılıklar DPAH'nın tanı ve sınıflandırılmasındaki farklılıklara bağlıdır.

DPAH'nin görülme sıklığının ve DPAH'ye bağlı ölüm oranlarının yaşla arttığı, erkeklerde ve beyaz ırkta daha fazla görüldüğü ve yıllar içerisinde görülme sıklığında artış olduğu belirtilmiştir (33,44).

DPAH içerisinde İdyopatik İnterstisyel Pnömoniler (İİP) en sık görülen ve prognozu en kötü olanlarından biridir. İdyopatik interstisyel pnömoniler 40-70 yaş arası daha sık görülmekte olup erkeklerde daha sıktır ve prevalansı yaşla artmaktadır. DPAH prevalansı değişik serilerde 6-14,6/100.000 olarak bildirilmektedir. Yine prevalans 35-44 yaş arası 2,7 /100.000 iken 75 yaş üzerinde 175/100.000'dir. İdyopatik interstisyel pnömoniler çocuklarda çok nadir olup yine yaşla artmaktadır. Ortalama yaşam süresi ise, tanı sonrası yaklaşık 3 yıldır (33,42,43).

Demedts ve arkadaşlarının yapmış olduğu epidemiyoloji konusunda en geniş kapsamlı çalışmada; New-Mexico Bernalillo şehir popülasyonunda DPAH'nın genel prevalansı erkeklerde 80,9/100.000; kadınlarda 67,2/100.000; yıllık insidans ise erkeklerde 31,5/100.000; kadınlarda 26,1/100.000 olarak bildirilmiştir. İdyopatik interstisyel pnömoni, DPAH içerisinde en sık görülen olup erkeklerde prevalansı (20,2/100.000) kadınlardan (13,2/100.000) biraz daha yüksektir. Aynı çalışmada yıllık insidans erkeklerde 10,7/100.000 ve kadınlarda 7,4/100.000 bulunmuştur (41).

Raghu ve arkadaşları İPF'nin daha önce bildirilen çalışmalara göre daha sık görüldüğünü ve insidans, prevalans değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (45).

İdyopatik interstisyel pnömoniler ve sarkoidoz en sık görülen DPAH'dır. DPAH olgularının %30-40'ını İİP'ler oluşturur.

İngiltere'de her 3000-4000 kişiden birinde İAH olduğu ve bunların yarısının da İPF olduğu tahmin edilmektedir (46).

Malign hastalıklar, organ transplantasyonu için kullanılan sitotoksik ilaçlar, radyoterapi, kardiyovasküler hastalıklar için kullanılan ilaçlar ve AİDS'li hastalarda sıklığı artan NSİP gibi nedenlerle DPAH'nin insidansının önümüzdeki yıllarda artacağı tahmin

edilmektedir. YRBT, BAL ve ayrıntılı solunum fonksiyon testlerinin kullanılması DPAH tanısının daha kolay ve yaygın konulmasını sağlayacağı düşünülmektedir (29).

İDYOPATİK PULMONER FİBROZİS (İPF)

GİRİŞ

İdyopatik pulmoner fibrozis (İPF) yaygın interstisyel akciğer hastalıkları grubunda, sayısı 150'nin üzerinde bulunan klinik antiteler içinde en sık rastlanan idyopatik interstisyel pnömoni (İİP) formudur. Akciğerler ile sınırlı bir hastalık olup cerrahi akciğer biyopsisinde “olağan interstisyel pnömoni (UİP)” varlığı ile kesin tanı konur. Prognozu kötüdür, ortalama yaşam beklentisi üç yıl civarındadır. İPF, Kriptojenik Fibrozan Alveolit (CFA) veya olağan interstisyel pnömoni (Usual İnterstisyel Pnömoni; UIP) olarak da adlandırılmaktadır.

TANIM

Uluslararası konsensus raporuna (ATS, ERS, ACCP; American College of Chest Physicians) göre İPF; cerrahi akciğer biyopsilerinde (torakoskopik veya açık akciğer biyopsilerinde) UİP'nin (Usual İntertisyel Pnömoni) histolojik görünümü olan, akciğere sınırlı kronik fibrozan interstisyel pnömoninin bir formudur. Etyolojisi bilinmemektedir.

Cerrahi biyopside UİP tespit edildiğinde, İPF kesin tanısı için;

1. İAH'nin diğer bilinen nedenlerinin (İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve kollagen vasküler hastalıklar gibi) olmaması,

2. Restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu (FEV1/FVC oranında artma ile birlikte VC'de azalma ve/veya gaz alışverişinde bozulma (istirahat veya egzersizde alveoloarteriyel parsiyel oksijen basınç farkında artma (P(A-a)O₂) veya akciğer difüzyon kapasitesinde (DLCO) düşme saptanması,

3. Akciğer grafisinde veya yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografide (YRBT) İPF için tipik bulguların olması gereklidir.

Cerrahi akciğer biyopsisi olmadan kesin İPF tanısı konulamaz. Bununla beraber bağışıklık sistemi baskılanmamış yetişkinlerde aşağıda belirtilen major tanısal kriterlerin tamamı ve dört minör kriterden en az üçünün olması İPF'ye doğru tanı konma olasılığını arttırır (47).

İdyopatik pulmoner fibrozisin klinik tanı kriterleri (33);

Major kriterler

1. İlaç toksisitesi, çevresel maruziyet ve konnektif doku hastalığı gibi İAH'nin diğer nedenlerinin olmaması

2. Restriktif tipte solunum fonksiyon bozukluğu ve gaz alışverişinde bozulma
3. YRBT’de minimal buzlu cam görünümü ile birlikte bibaziller retiküler gölgeler
4. Transbronşiyal akciğer biyopsisi veya BAL’ın başka bir tanıyı destekleyecek bulgu göstermemesi

Minör kriterler

1. Yaşın 50’nin üzerinde olması
2. Başka bir nedenle açıklanamayan sinsi başlangıçlı egzersiz dispnesi
3. Hastalık süresinin 3 ay veya daha uzun olması
4. Bibaziller inspiratuar raller (kuru veya velcro) (47).

EPİDEMİYOLOJİ

İPF’nin kesin insidansı ve prevalansı bilinmemektedir. Prevalansın genel popülasyonda 3-6/100.000 olduğu tahmin edilmektedir (1). Türkiye’de kesin insidans bilinmemektedir (48). 1994 yılında yayınlanan genel popülasyonda interstisyel akciğer hastalıkları epidemiyolojisine yönelik geniş kapsamlı çalışmada İPF prevalansının belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Buna göre New Mexico Bernalillo şehir popülasyonunda İPF prevalansı, erkeklerde 20,2/100.000, kadınlarda 13,2/100.000 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada tüm İAH’ler içinde en sık görüleni (%22,5) İPF’dir. İPF erkeklerde ve sigara içenlerde daha sıktır. Hastalar orta yaş grubunda, genellikle 40-70 yaş arasındadır, 2/3’ü 60 yaş üzerindedir. Ortalama tanı yaşı 66’dır (49). İnsidans yaş ilerledikçe artar, 35-44 yaş arası erkeklerde prevalans 2,7/100.000 iken, 75 yaş üzerindeki erkeklerde prevalans 175/100.000 üzerindedir (42). İdyopatik pulmoner fibrozis kesin bir coğrafi dağılım göstermez. Bununla birlikte mesleki ya da çevresel maruziyete bağlı olarak coğrafik bazı farklılıklar gözlenebilir (44). İrk ve etnik ayrım yoktur. Ortalama yaşam süresi tanı konulduktan sonra 3,2-5 yıldır (47). Bir çalışmada ortalama yaşam süresi solunum semptomlarının başlamasından sonra 28,2 ay bulunmuştur (48,50).

ETYOLOJİ

İdyopatik pulmoner fibrozisin etyolojisi bilinmemektedir. Bununla birlikte potansiyel risk faktörleri olarak sigara içimi, ilaç maruziyeti, kronik aspirasyon, çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar ve genetik yatkınlık üzerinde durulmaktadır (47,51). Bu etyolojik ajanların pulmoner immün hücrelerle etkileşip inflamatuvar ve fibrotik olayları başlattığı

düşünülmektedir. Bu ajanlar aynı zamanda direkt olarak epitel ve endotel hücrelerinde hasar oluşturur (48).

Sigara

Sigara içenlerde İPF 1,6-2,9 kat daha fazla görülür ve bu oran paket/yıl sigara içme öyküsündeki artışla paralellik gösterir (47).

Kronik aspirasyon

Gastroözefajiyal reflüye (GÖR) bağlı kronik aspirasyon pulmoner fibrozise yol açabilir. Yapılan bir çalışmada İPF'li hastaların %90'ında semptom vermeyen GÖR varlığı bildirilmiştir (52).

İlaç maruziyeti

Çeşitli ilaçlar ile pulmoner fibrozis gelişme riski arasında ilişki olduğu bildirilmiştir (53).

Çevresel faktörler

Toz veya organik solventlere maruz kalan bireylerde, maruz kalmayanlara göre iki kat daha fazla İPF saptanmıştır. Metal (kurşun, pirinç, çelik) ve odun tozları (çam odunu tozu) İPF gelişiminde suçlanmaktadır (48,51,54).

Viral enfeksiyonlar

Birçok virüsün İPF patogenezinde rol oynadığı düşünülmüştür. Ancak kesin bir kanıt bulunmamıştır (47). Epstein Barr virüs (EBV) ile İPF arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmada EBV viral kapsid antijeni immün floresan boyama ile akciğer dokusunda gösterilmiştir (55). İnfluenza, sitomegalovirus, hepatit C, parainfluenza 1 virüs, kızamık virüsü, human herpes virüs 6, mikoplazma ve legionella hastalığı İPF patogenezinde suçlanmıştır. Ancak çalışmalar virüslerin İPF patogenezindeki rolünün sınırlı olduğunu düşündürmüştür (47,48).

Genetik faktörler

İdyopatik pulmoner fibrozis gelişiminde risk faktörlerinden biri olan genetik özelliklerin en önemli kanıtı İPF'li familyal vakaların tanımlanmasıdır. Familyal İPF için primer biyolojik aileden en azından ikisinde histolojik olarak doğrulanmış İPF'nin olması gereklidir. Genetik geçiş açısından erkek ve kadınlar eşit oranda etkilenir, otozomal dominant geçiş gösterir (32). İPF'li hastalarda HLA antijenleri ile yapılan çalışmalarda bazı HLA antijenlerinin insidansının yüksek olduğunu gösteren sonuçlara rağmen, bazı araştırmacılar bu sonuçları desteklememiştir. Halen İPF ile HLA arasındaki ilişki açık değildir. Çalışmalarda İPF ile 14. kromozom üzerinde bulunan $\alpha 1$ antitripsin inhibitör (Pi) allelleri arasındaki ilişki de bildirilmiştir (56).

PATOGENEZ

Difüz pulmoner fibrozis gelişiminde iki farklı yolak mevcuttur. Birincisi inflamatuvar yolaktır ki bu İPF dışındaki bütün DPAH'de olur. İnflamatuvar yolakta erken alveoliti, sonuçta gelişen fibrozis izler. İkinci yolak epitelyal yolaktır. İPF patogenezinde başlıca üzerinde durulan mekanizmadır (48,150).

Alveoler epitel bütünlüğünde bozulma İPF'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 İPF'de patoloji; uygun reepitelizasyonun sağlanamaması ve anormal bir yara iyileşmesidir (37).

Alveolde hasar oluştuktan sonra, alveoler bariyerin bütünlüğünü sağlamak için yara iyileşmesi başlar. Bu sürecin en önemli aşaması reepitelizasyondur. Epitel hücre migrasyonu, proliferasyonu ve differansiyasyonu yoluyla oluşturulur. İPF'de bu yanıt yavaş ve yetersizdir. Tip 1 hücrelerde kayıp, tip 2 hücrelerde hiperplazi, adezyon molekülleri ve MHC antijen ekspresyonunda değişim gözlenir. Bazal membranın intakt olduğu alanlarda tip 2 hücreler epitelyal yüzeyi iyileştirmek amacıyla çeşitli enzimleri, sitokinleri ve büyüme faktörlerini salgırlar (57,58,114).

İmmünohistokimya ve insitu hibridizasyon çalışmalarında, İPF'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 bildirilmektedir. İPF'li olguların akciğer parenkiminde yalnızca profibrotik sitokin İL-4 tespit edilmiştir (59).

Normal yara iyileşmesi sırasında doku zedelenmesi kan damarlarının kesintiye uğramasına ve kan elemanlarının damar dışına çıkmasına neden olur. Bu aşamada hemostaz ve geçici ekstrasellüler matriks (ESM) oluşur. Normal yara iyileşmesinde epitel hücreleri oluşan fibrini yıkar (60). İPF'yi de içeren fibrotik akciğer hastalıklarında ise lokal prokoagülan aktivite artmıştır. Aktif epitel hücrelerinden doku faktörü (TF), plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) ve PAI-2 salınımı sonucunda intraalveoler prokoagülan, antifibrinolitik bir çevre oluşur (48,61).

İdyopatik pulmoner fibrozisin 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, İPF'li olgularda en önemli prognostik faktörlerden biridir (62). Derideki yara iyileşmesinde olduğu gibi fibroblastların öncelikle migratuar özellik kazandıkları, daha sonra proliferatif ve en son profibrotik miyofibroblast fenotipini aldıkları varsayılmaktadır (63).

Normal yara iyileşmesinde, miyofibroblastlar apoptozise giderek progresif olarak azalır. İPF'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 (63-65).

İdyopatik pulmoner fibrozisli olgulardan elde edilen fibroblastların anjiyotensin ürettiği gösterilmiştir. Anjiyotensin in vitro koşullarda alveoler epitel hücre ölümünü indüklemektedir. Miyofibroblastlar ise gelatinaz 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 (64).

Aberan ESM'nin yeniden yapılanması fibrotik olayların tümünde son noktadır. Bu olayın İPF'li olgularda MMP/TIMP dengesizliği sonucu olduğu ortaya konulmuştur. Fibriller kollagen yıkımından sorumlu olan interstisyel kollejenaz MMP1 İPF'li olguların akciğer parankiminde yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Sonuçta İPF'li akciğerde fibriller kollagen bir mikroçevre oluşmaktadır (63,64).

Neovaskülarizasyonun da fibrogenezisi arttırdığı gösterilmiştir. Neovaskülarizasyonda ilk aşama kollagenaz 1, gelatinaz A ve B yoluyla matriks yıkımı ve ardından vasküler endotelial growth faktör (VEGF), anjiopoetinler ve fibroblast growth faktör (FGF-2) uyarımı ile endotel hücre migrasyonudur (66,67).

Son yıllarda İPF'de oksidan stres yükünün artması üzerinde önemle durulmaktadır. Aktive olmuş makrofaj ve nötrofillerden salınan reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve çeşitli sitokinlerin önemli rolü saptanmıştır. Yine İPF'de antioksidan seviyelerinin belirgin olarak azaldığı belirlenmiştir. İPF'de epitelyum geçirgenliğinin artışı da oksidanlar sorumlu tutulmaktadır. Oksidanlar, sitokinler yardımıyla inflamasyon ve fibrozu dolaylı olarak uyarır. (114).

TANISAL YAKLAŞIM

Diffüz parankimal akciğer hastalıklarına yaklaşım tam ve geniş bir öykünün alınması ile başlamalıdır. Fizik muayene, göğüs radyografisi, YRBT, pulmoner fonksiyon testleri, laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi ve İPF dışı tanıları destekleyen özellikleri dışlamak için transbronşiyal biyopsi ve BAL yapılmalıdır (48). İdyopatik pulmoner fibrozisin klinik tanı kriterlerini karşılamayan olgularda cerrahi akciğer biyopsisi yapılmalıdır.

Anamnez ve Fizik Muayene

İdyopatik Pulmoner Fibrozis'den şüphelenilen olgularda, asbest ve ağır metal maruziyeti İPF ile aynı klinik tabloyu oluşturabileceğinden, çevresel ve mesleki maruziyete ilişkin ayrıntılı anamnez alınmalıdır. Lenfanjitik yayım İPF'yi taklit edebileceğinden malignite öyküsü önem taşır. Kuş veya fungal antijenlere uzun süre maruziyet sonucu gelişen ekstremsel allerjik alveolit kronik formu klinik olarak İPF'yi taklit edebilir. İlaç anamnezi önemlidir (Sitotoksik ajanlar, nitrofurantoin, amiodaron). Bazen kollagen doku hastalıkları akciğer tutulumu ön planda olabileceğinden reynaud fenomeni, artrit, miyozite ait semptomlar ve GÖR'e ait anamnez dikkatle alınmalıdır (48,68)

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. Hemoptizi hastalığın özelliği değildir, varsa maligniteden şüphelenilmelidir. İPF'lilerde akciğer malignitesi sıklığı, genel popülasyona göre 14 kat fazladır. Göğüs ağrısı nadirdir, olduğunda genellikle kardiyak kökenlidir, özellikle ilerlemiş hastalıkta hipokseminin tetiklediği kardiyak olay en sık ölüm nedenidir (48,68,69)

İPF'de 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 (70).

İPF'nin 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 (68). Çomak parmak yaklaşık % 50 olguda bulunur. Romatoid artrit ve asbestozda da gözlenir. Sarkoidoz, ekstremsel allerjik alveolit,

langerhans hücreli granülomatoz gibi diğer diffüz akciğer hastalıklarının özelliği değildir. Çomak parmak olması İPF tanısına yaklaştıır. 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 (48).

Son dönem İPF'li olgularda solunum işinin artması ve venöz konjesyona bağlı gastrointestinal absorpsiyonun azalması sonucu kötü beslenme bulguları ortaya çıkar. Preterminal hastalıkta hipoksi, kardiyak dekompanseasyona neden olabilir, sol ventrikül yetmezliğini veya kardiyak aritmileri tetikler (48).

Labaratuvar ve Serolojik Testler

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 antikörlerin bulunması, nondiagnostik olup alternatif tanıları düşündürür (48).

Dolaşımda antinükleer antikörlerin (ANA) ya da romatoid faktörün (RF) pozitif olması İPF'li hastaların %10-20'sinde görülür, fakat titreleri nadiren yüksektir (71). Romatolojik hastalığa tanı konmadan önce, akciğer hastalığı ilk bulgu olarak ortaya çıkabilceğinden, tüm İPF'li olgularda ANA ve RF değerlendirilmesi yapılmalıdır (48).

Görüntüleme yöntemleri

Akciğer grafisi

Hastaların %10-15'inde normal olmakla birlikte alt zonlarda daha belirgin olan periferal lineer ve retiküler opasiteler karakteristik bulgularıdır (49,51). 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 İPF'nin özelliği değildir (48).

Yüksek Rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi (YRBT)

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 septalarda kalınlaşma, sekonder lobül merkezindeki intralobüler interstisyel kalınlaşma, düzensiz ara yüzey bulgusu, traksiyon bronşektazisi ve bal peteği akciğer görünümüdür (72).

Erken dönemde alt zon, posterior subplevral alan tutulumu İPF’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 bronşiyoller v, y ya da nokta şeklinde görülür, sentrilobüler arterler görünür hale gelir. İleri dönemlerde bal peteği görünümü izlenir, yoğun fibrozise bağlı olarak akciğerin yapısı bozular, lobüller seçilemez, traksiyon bronşektazisi ve bronşiyolektazisi gelişir. İnterlobüler septal kalınlaşma daha az sıklıkla görülür (48).

Diğer Görüntüleme Yöntemleri

Tc 99m Dietilentriamine Penta-Asetik Asit Sintigrafisi (DTPA)

Tc 99m Dietilentriamine penta-asetik asit hidrofilik olması nedeniyle kapiller permabilite arttığında daha hızlı temizlenir, inflamasyonun göstergesidir, İPF’deki değeri net değildir (33).

Pozitron Emisyon Tomografisi (PET)

İPF’de metabolik aktivitedeki azalmayı belirlemek için kullanılmıştır, pahalı bir tetkiktir (48).

Galyum 67 Akciğer Sintigrafisi

Diffüz parankimal akciğer hastalıklarında aktif makrofajların galyum tutması nedeniyle hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır (65).

Akciğer Fonksiyon Testleri

Restriktif tipte solunum fonksiyon testleri ve difüzyon kapasitesindeki azalma İPF’nin tipik bulgularıdır. Total akciğer kapasitesi, rezidüel volüm ve fonksiyonel rezidüel kapasite azalır (47).

İPF’li 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. Peribronşiyoler alandaki inflamasyon ve fibroz sonucu bronşiyollerin lümeni daralır ve küçük hava yolu fonksiyon bozukluğu gelişir (48).

Bronkoalveoler Lavaj

Bronkoalveoler lavaj, alt solunum yollarından sellüler ve nonsellüler materyal elde etmek amacıyla yapılmaktadır. İPF'li olguların BAL'ında polimorfonükleer lökositler, nötrofil ürünleri, alveoler makrofajlar, alveoler makrofaj ürünleri, eozinofiller, eozinofil ürünleri, sitokinler, fibroblast büyüme faktörleri ve immün komplekslerin arttığı gösterilmiştir (73). 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 (47).

İPF'nin 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 (74). BAL lenfositozu; daha sellüler akciğer biyopsisi, daha az balpeteği görünümü ve kortikosteroid tedaviye daha iyi cevapla korelasyon gösterir (68).

Akciğer Biyopsisi

İdyopatik pulmoner fibrozun histopatolojik tanısı UIP paternidir. Transbronşiyal akciğer biyopsisinin diğer patolojileri dışlamak dışında, İPF'de tanısal değeri yoktur. Açık akciğer biyopsisi veya video eşliğinde torakoskopi(VATS) eşliğinde alınan akciğer biyopsisi, İİP'nin diğer formlarından UIP (Olağan İntertisyel Pnömoni)'yi ayırt etmek için en iyi doku örneklemesini sağlar (47). VATS, açık akciğer biyopsisinin dezavantajlarını önemli ölçüde azaltmıştır, tanı konma oranı ise açık biyopsi ile eşittir (74).

Histopatolojik Özellikler

İPF'nin 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 (33).

UIP paterninin histolojik ayırıcı tanısı diğer İİP'lerle yapılmalıdır. UIP tanısı konulduğunda da, histolojik görünümleri aynı olan hastalıklar (Kollajen vasküler hastalıklar, hipersensitivite pnömonisi, asbestoz, radyasyon pnömonisi, Hermansky-Pudlak sendromu) ayırıcı tanıda düşünülmelidir (48).

Ayırıcı tanı

İPF'nin ayırıcı tanısı Tablo 7'da gösterilmiştir.

Tablo 7. İdyopatik Pulmoner Fibrozisin Ayırıcı Tanısı (48,75)

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

TEDAVİ

İdyopatik pulmoner fibrozis progressif, sinsi, fatal seyirli bir hastalıktır, kendiliğinden remisyon görülmez. İnflamasyonun akciğer hasarı ve fibrozisine neden olduğu düşüncesiyle inflamatuvar ve immün cevabı baskılamak veya yok etmek tedavinin amacını oluşturmuştur. Ancak İPF'li olgularda yaşam kalitesi ve süresini arttıracak tedavi şekli yeterli klinik bulgularla henüz gösterilememiştir (70).

İPF'nin 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 İPF'li olgulara uygulanan herhangi bir tedavi protokolünün potansiyel yararları, tedaviye bağlı olası komplikasyonlarla beraber değerlendirilmelidir (47).

A. Kortikosteroidler

Kortikosteroidlerin İPF'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 sağlamaktadır. Kortikosteroidlere cevap verenlerde de nüks veya hastalığın progresyonu ile sık karşılaşılır (76-78)

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 (48).

En son İPF 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) (47).

Kortikosteroid tedavisi genelde iyi tolere edilebilmekte ancak katarakt, glokom, hipertansiyon, peptik ülser, obezite menüstrüasyon bozuklukları, impotans, hiperglisemi,

hipokalemi, metabolik alkaloz, sekonder adrenal yetmezlik, osteoporoz, femur ve humerus başı aseptik nekrozu, miyopati, depresyon, psikoz ve fırsatçı infeksiyonlar gibi birçok yan etkiye sıkça neden olabilmektedir. Diyafragma ve interkostal kaslarda miyopati gelişimine bağlı olarak kas gücünün zayıflaması ile tedavi etkinliğinin değerlendirilmesinde güçlüğü yol açabilir (48).

B. Sitotoksik ilaçlar

İPF’de sitotoksik ilaç kullanım endikasyonları (48);

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

B.a. Azatiopurin

DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etki eden pürin analogudur. Sitotoksik etkisine ek olarak azatioprinin Natural Killer (NK) hücre aktivitesini baskıladığı ve antikor 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 çıkılır (47,70,75).

B.b Siklofosfamid

İPF 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 çıkılır. Yan etkileri; anemi, lökopeni, trombositopeni, lösemi, sekonder infeksiyonlar, hemorajik sistit, mesane karsinomu, over fibrozisi, amenore, infertilite, stomatit, kusma, diyare, bulantıdır (48).

C. Antifibrotik ajanlar

C.a Kolşisin

İPF ve sarkoidozlu hastalardan elde edilen in-vitro kültüre edilmiş alveoler makrofajlardan fibronektin ve alveoler makrofaj kaynaklı büyüme faktörü salınımını inhibe eder. Kollajen 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. İPF tedavisine kolşisinin etkinliği konusunda kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır (47).

C.b. D-penisilamin

İdyopatik veya konnektif doku hastalığına bağlı akciğer fibrozisinde yanıt alındığı bildirilmiştir. Toksik ve önemli yan etkilerinden dolayı antifibrotik ajan olarak kullanımı sınırlıdır. Toksisitesi ve etkinliğini doğrulayan çalışmalar olmaması nedeniyle İPF tedavisindeki yeri net değildir (79).

C.c. Diğer Antifibrotik Ajanlar

C.c.1. İnterferon α

Akciğer fibroblastlarının büyümesini inhibe eder. TGF β 1 ve kollajen üretimini azaltır. İFN γ 1b verilen bir çalışmada PaO₂ seviyesinde anlamlı düzelmeler bildirmişlerdir (80,81).

C.c.2. Pirfenidon

Araştırma aşamında yeni bir antifibrotik ajandır. Yapılan deneysel hayvan çalışmasında fibrozisi azalttığı ve İPF li hastalarda oral yolla verilmesiyle klinik düzelmeye olduğu ve SFT'deki bozulmanın yavaşladığı göstermiştir. Japonya'da klinik kullanım için onay almıştır (82,83).

C.c.3. Diğer antifibrotik ajanlar: Halfuginon; kollajen sentezini inhibe eder. Suramin; Profibrotik sitokin inhibitörüdür. Prostaglandin E₂; kollajen oluşumunu inhibe eder (48).

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 oksit (NO) ürünlerinin azalması oksidan/antioksidan dengesinde en anlaşılamayan olaydır. Aşırı oksidanlar alveol epitel hücrelerini zarara uğrattır. İPF'de epitelde 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 ümit verici tedavi şekillerinden birisidir (67).

D.a. N-Asetil sistein

Glutasyon prekürsürüdür, glutasyon sentezini arttırır. Yapılan çalışmalarda, N-Asetil sistein (N-AC)'in oral ve intravenöz verilmesinin pulmoner fibrozisli hastalarda ekstrasellüler akciğer glutasyon düzeyini arttırdığı öne sürülmektedir. Bu mekanizma ile oksijen radikallerinin neden olduğu epitel hücre zedelenmesini önler (67,84). 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 (48).

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. İPF'li olgularda vitamin E'nin etkinliğini göstermek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (85).

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. İPF'li hastalarda BAL sıvısında glutasyon düzeyleri %25-50 oranında azalmıştır. Alveoler epitel sıvısındaki glutasyon düzeylerini yükseltmek için çeşitli stratejiler araştırılmaktadır. İPF'li hastalarda epitel sıvısındaki glutasyon arttırmanın hastalığın seyri boyunca akciğerin fizyolojik fonksiyonlarını iyileştirip iyileştiremeyeceği kesinlik kazanmayı beklemektedir (85).

E. Diğer tedavi yöntemleri

Taurin ve Niasinin akciğer zedelenmesinde, fibrozis gelişimini önleyici etki gösterilmiştir (20). Anjiotensin Konverting 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 çalışmada İPF'li hastalara oral yolla verilen pirfenidonla klinik düzelme olduğu ve akciğer fonksiyon testleri parametrelerindeki bozulmanın yavaşladığı bildirilmiştir (82).

F. Tedavi Süresi ve Monitörizasyonu

İPF 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 (47).

Tablo 8. İdyopatik Pulmoner Fibrozisde Kombine Tedavi (47)

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.
veya	
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.

G. Destek tedavisi

İPF'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 (47,48,70,75)

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, infeksiyon, kalp yetmezliği gibi komplikasyonlar gözlenebilir. Tek akciğer transplantasyonu ile sağ kalım 1 yıl için %80, 3 yıl için %55 olarak bildirilmektedir (47,75,86,87).

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, infeksiyon, iskemik kalp hastalığı veya akciğer kanseri gibi komplikasyonlardan dolayı ölmektedir (47,70,75).

BLEOMİSİN (BLM)

Bleomisin, *Streptomyces verticillus* türünden elde edilmiş birçok malignitede kemoterapötik ajan olarak kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir.

Anti-neoplastik etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte; DNA, daha zayıf olarak RNA ve protein sentezini inhibe ederek etki ettiği düşünülmektedir. Uygulandıktan sonra oluşan bleomisin-demir kompleksinin moleküler oksijeni, süperoksit ve hidroksil radikallerine dönüştürerek DNA üzerine etki ettiği ve iplikçik kırılmalarına neden olduğu, etki mekanizması için ileri sürülen görüşlerdir. Serbest oksijen radikallerinin bu şekilde BLM kaynaklı olarak sentez edilip DNA kırılmalarına sebep olduğu iddiaları bir antioksidan olan süpeoksit dismutaz (SOD)'ın ilave edildiği ortamlarda DNA kırılmalarının ve DNA hasarının in vitro koşullarda azaldığının bulunması ile desteklenmiştir (88,89).

Hücre mitoz siklusunun G1 ve S fazlarında herhangi bir etkisine rastlanmamış ancak G2 ve M fazlarına etkin olduğu gösterilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmalarda bleomisinin en sık olarak deri, akciğer, böbrek, periton ve lenf sisteminde yüksek oranda konsantre olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle deri kanserleri, baş boyun kanserleri, akciğer kanserleri, uterus kanseri, serviks kanseri, hodgkin hastalığı, retikülosarkom, lenfosarkom, embriyonel hücreli koriokarsinom ve teratokarsinomun tedavisinde kullanılır. Kullanımında en sık görülen yan etki, akciğerler üzerine olan interstisyel pnömoni ve akciğer fibrozisidir. BLM'nin özellikle akciğerde fibrozis oluşturmasının sebebi bu ajanı inaktive eden hidrolaz enziminin akciğer dokusunda diğer dokulara oranla çok düşük düzeyde bulunmasıdır. Bunun dışında aşırı duyarlılık reaksiyonu, ateş, kanama, deri ve mukozada hipertrofi ve hiperpigmentasyon başta olmak üzere birçok organ ve doku üzerine yan etkileri gözlemlenmektedir. Bu açıdan yukarıdaki kanser türlerinden herhangi birinde tedavi edici ajan olarak kullanıldığında bu yan etkilerinin göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Bu antineoplastik ilacı kullanan hastalarda akciğer hasarı gelişme oranı %3-40 oranında değişmektedir (90). BLM alan hastaların %1-2'si pulmoner toksisite sonucu hayatlarını kaybederler (89).

Akciğer fibrozisi geliştirme oranı diğer aynı potansiyele sahip ilaçlarla veya ajanlarla karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğundan deneysel akciğer fibrozisi modellerinde sıklıkla kullanılmaktadır (90). Hem uygulanan doz hem de fibrozis geliştirme zamanı bu amaçla kullanımı için çok uygundur. Hayvan modellerinde BLM'nin oluşturduğu akciğer toksisitesi, akciğer hasarı ve inflamasyon oluşturucu özellikleri büyük oranda araştırılmıştır.

Bu tip çalışmalar diğerk hiç bir kemoterapötik ajan için bu denli yoğun çalışılmamıştır. Reaktif oksijen ürünleri (ROS) üreterek yan etki gösteren BLM'nin bu yan etkileri DNA kırıkları oluşturmasının haricinde lipit peroksidasyonu, akciğerde prostaglandin(PG) sentez ve parçalanmasındaki değişiklikler ve son olarak akciğer kollajen sentezinde artış yaparak gösterdiği yapılan araştırmalarda kanıtlanmıştır. BLM, akciğer hasarı oluştururken hedef aldığı en önemli akciğer yapıları alveol epitel hücreleri ve pulmoner kapiller endotel hücreleridir. Önce alveol epitelindeki Tip I pnömosit etkilenmesi daha sonra Tip II pnömosit hiperplazisi ve displazisi meydana gelmektedir. Bu şekilde oluşan yıkıcı etkilerin tamir edilmesi sürecinin inhale edilen toksik ajanların oluşturduğu hasarın tamir edilmesi ile kıyaslandığında daha uzun sürdüğü iddia edilmiştir. Bu süreçlerin ardından önce granülositler, daha sonra lenfositler, eozinofiller ve plazma hücrelerinin ilgili akciğer alanlarına infiltre olması ile yaygın bir inflamasyon başlar ve bu hücrelerden bolca sitokinler ortama salgılanır (91).

Bleomisin ile oluşturulan bu hasarda yukarıda bahsedilen son aşamada açığa çıkan sitokinler şunlardır: Birçok kemokinler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), IL-1, IL-5, IL-6, TNF, transformasyon oluşturucu büyüme faktörü (TGF- β)'dır. İnflamasyon hücrelerinin bu şekilde infiltre olması ile alveolar makrofajlar da aktive olarak birçok proinflamatuvar ve fibrinojenik sitokinleri, TGF- β 'yı, PDGF'yi, TNF- α 'yı, IL-1 ve IL-5'i üretir. Bu sitokinler içinde TGF- β kendisini değil aynı zamanda birçok fibrinojenik sitokinleri regüle ederek inflamasyonu ve konnektif bağ dokusu sentezinin patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (92-97). Makrofajların da ilavesi ile büyük oranda ilerleyen inflamatuvar değişiklikler ekstrasellüler matriksi yeniden şekillendirilerek fibronektin, kollajen ve hyalüronan (HA) maddelerinin sentezinin belirgin arttığı alveol interstisyumunda ve bronkoalveolar alanda birikmeye başladığı gün i.t. BLM uygulamalarda 4. gün olarak gösterilmiştir. Kollajen, fibronektin ve hyalüronan sentezindeki bu artışın 10. günlere kadar devam ettiği ve sonrasında azalarak ve normale döndüğü gözlemlenmiştir. (89,98-101).

BLM i.t. uygulamasıyla oluşturulabilen deneysel akciğer fibrozis modelinde, kısa sürede akciğerde inflamasyon ve İPF'ye benzer fibrotik reaksiyonlar meydana getirilebilmektedir (102).

RESVERATROL (RSV)

Resveratrol (3,5,4'-trans-trihydroxystilbene), doğal bir antioksidandır. RSV, bitkilerde çeşitli dış etkenlere (mantar infeksiyonları, ultraviyole gibi) karşı savunma maddeleri olarak sentezlenen ikincil metabolit madde olan phytoalexin (bitki koruyucu)'dir. RSV bitkiler tarafından strese yanıt olarak üretilir (15). Resveratrol üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı ve yabanmersininde bulunan polifenolik bir bileşiktir (16).

Resveratrol 1976 yılında üzümde fitoaleksinin olarak keşfedilmiştir. 1982 yılında resveratrolün Çin ve Japonya'da Kojo-kon (İtadori çayı) olarak adlandırılan ve geleneksel halk tıbbında cilt infeksiyonları, fungal infeksiyonlar, kalp, karaciğer ve damar hastalıklarında kullanılan *Polygonum cuspidatum* kurusunda bulunduğu saptanmıştır. Güney Fransa'da yağlı diyet, yagın sigara ve alkol alışkanlığına rağmen koroner arter hastalığı azlığı bilim adamlarının dikkatini çekmiş ve buna Fransız paradoksu denilmiştir. Bu paradoksa neden olarak bölgede bolca tüketilen kırmızı şarap içinde resveratrol saptanmıştır (17,18). Böylelikle Resveratrol batı tıbbının dikkatini çekmiştir. Resveratrol, *Polygonum cuspidatum* bitkisinde en yoğun olmak üzere, üzüm, yaban mersini, yer fıstığı, şam fıstığı ve kırmızı şarapta bulunur.

Resveratrol'ün doğal antioksidan rolü üç farklı antioksidan mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlardan ilki, koenzim Q ile yarışmak ve ROS (reaktif oksijen ürünleri) oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmaktır. İkincisi, mitokondride oluşan süperoksit radikalini yakalamak, üçüncüsü ise fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunun inhibisyonudur. Birçok çalışmada resveratrolün hem süperoksit hem de hidroksil radikalini yakalama yeteneğinin olduğu gösterilmiştir. Ancak bu özellik diğer pek çok güçlü antioksidandan daha zayıftır. Resveratrol in vitro koşullarda ROS'un zayıf yakalayıcısı olmasına rağmen in vivo olarak güçlü bir antioksidan işlevini görür. Resveratrolün in-vivo antioksidan özelliği NO sentezini artırma yeteneği ile güç kazanmaktadır. Burada in vivo antioksidan olarak, NO süperoksidi yakalama yeteneğine sahiptir. Resveratrol biyolojik sistemlerde bulunan antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini de sağlamaktadır. Resveratrolün hidrojen peroksit ile aktive olan insan lenfositlerinde glutasyon miktarını arttırdığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada da insan lenfositlerinde resveratrolün glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz ve glutasyon-S-transferaz gibi glutasyon metabolizması ile ilgili enzimlerin miktarını arttırdığı gösterilmiştir (19,103,104).

Resveratrolün çok çeşitli farmakolojik etkileri vardır. Antiinflatuar, lipit metabolizmasını düzenleyici, anti kanser/kanseri önleyici, kardiyoprotektif, antikoagulan ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe edici etkileri vardır. Antiinflatuar etkisi oksidasyonu, lökosit aktivasyonunu ve inflamatuvar mediatörlerin salınımını inhibe etmesiyle ilişkilidir. Kardiyovasküler hastalıkları önleyici ve tedavi edici etkisi, vasküler endoteli koruyucu, lipit metabolizmasını düzenleyici (özellikle düşük dansiteli lipoprotein oksidasyonunu inhibe eder), hücresele NO seviyesini artırıcı, trombosit agregasyonunu inhibe edici etkileri ile ilişkilidir (20-24)

Kardiyak hasarın akut ve kronik modellerinde, resveratrol miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarının şiddetini azaltmaktadır (103). Vazorelaksasyonda NO'nun doğrudan rolü resveratrol ile muamele edilen pulmoner arter endotel hücre kültüründe nitrik oksit sentaz (NOS) etkinliğinde artış bulunduğunda gösterilmiştir. Resveratrolün NOS üretimini etkileyerek kardiyoprotektif etki gösterdiği de saptanmıştır (103). Resveratrolün kardiyoprotektif, nöroprotektif, antikarsinojenik ve anti-enflamatuvar etkileri in vitro ve in vivo yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Shen ve ark. (109) ratlarda iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarında resveratrolün kardiyoprotektif etkilerini miyokardiyal NO ve malondialdehit (MDA) parametreleri ile değerlendirmişlerdir. Resveratrol, I/R hasarı uygulanan ratlarda kalbi korumaktadır. Bu etki, NO üretiminin artırılması ve antioksidan etkinliği ile ilgili olabilir. Epidemiyolojik çalışmalarda resveratrolce zengin Akdeniz diyetinin azalmış koroner arter hastalık riski ile birlikte olduğu ileri sürülmüştür. Antioksidan, anti-enflamatuvar, anti-apoptotik etkileri olan resveratrolün kardiyovasküler hastalıklarının patofizyolojisinde oksidatif hasara karşı koruma yeteneği gösterilmiştir fakat, biyokimyasal ve hücresele mekanizmaları tam olarak açıklanamamıştır(103-108)

GEREÇ VE YÖNTEM

1. Deney hayvanları

Çalışmamızda kullanılmak üzere 28 adet Wistar tipi erkek erişkin yaklaşık 200-250 gr ağırlığında albino rat Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi. 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 22-25 °C arasında, nem oranı % 65-70 arasında tutulup, 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde ışıklar ayarlandı. Ratlar rastgele alınarak 4 gruba ayrıldı.

1.A. Deney grupları

Tüm gruplarda grup 1-2-3'e yapılan intratrakeal (i.t.) uygulama günü 0. gün olarak kabul edildi.

Grup I (n=7, BLM kontrol grubu): Bu gruptaki ratlara serum fizyolojik(%09 NaCl) ile çözülmüş Bleomisin(Bleocin-S 15 mg flakon; Bleomycin sulphate; Onko İlaç sanayi, Türkiye) 2,5 mg/kg'dan intratrakeal olarak verildi. 29. gün anestezi koşullar altında ratların solunumları ve kalp atışları devam ederken işlemler yapıldı.

Grup II (n=7, BLM/RESV grubu): Bu gruptaki ratlara serum fizyolojik(%09 NaCl) ile çözülmüş Bleomisin Grup I ile aynı doz ve aynı yöntemle (2,5 mg/kg'dan intratrakeal) verildi. 14. Günden itibaren Resveratrol (RSV) (Resveratrol 300 mg kapsül; terraternal.com) SF içinde çözümlenerek 29. güne kadar oragastrik entübasyonla 10 mg/kg/gün dozunda verildi. RSV, Şener ve arkadaşlarının (26) yapmış oldukları çalışmayla aynı doz ve aynı uygulama şekliyle verildi. 29. gün anestezi koşullar altında işlemler yapıldı.

Grup III (n=7, SF grubu): Bu gruptaki ratlara grup I ve grup II'deki ratlara verilen Bleomisin çözelti miktarıyla aynı miktarda serum fizyolojik i.t. olarak verildi. 29. gün anestezi koşullar altında işlemler yapıldı.

Grup IV (n=7, Oral RESV grubu): Bu gruptaki ratlara grup II'ye verilen miktar ve özellikteki RSV (10 mg/kg/gün) 14. günden itibaren 29. güne kadar oragastrik entübasyonla verildi. 29. gün anestezi koşullar altında işlemler yapıldı.

1.B. Yapılan işlemler:

Çalışmamızda tüm ilaç uygulamaları her sabah aynı saatte (sabah 08:00'da) yapıldı. İntratrakeal BLM ve SF uygulaması anestezi altında yapıldı. Deneyde kullanılan tüm ratlar deneyden önce 24 saat aç bırakıldı. Tam gün açlıktan sonra grup 1, grup 2 ve grup 3' deki ratlara 1 mg/kg xyalzine ve 0,5 ml/kg ketaminin aynı enjektörde intraperitoneal uygulanması ile anestezi yapıldı. Daha sonra ratların refleksleri kontrol edilerek anesteziye girmeleri beklendi. BLM'nin 15 U'lık flakon formu SF içinde çözündürüldü. 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 serum fizyolojik (%09 NaCl) verildi. İşlem bittikten sonra kesi bölgesi primer sütür ile kapatıldı. Enfeksiyon gelişmemesi için günlük yara bakımı antiseptik iyotlu solüsyon ile yapıldı. 29. günde tüm ratlara 1 mg/kg xyalzine ile 0,5 ml/kg dozunda ketamin anestezisi intraperitoneal yapıldı. Kalp atışları ve solunumu devam eden hayvanların boyun ön bölgesi orta hat kesisi ile açıldı, cilt altı dokular klemp yardımı ile dikkatlice ekarte edilerek trakeaya ulaşıldı. Trakeal kanül aracılığıyla 5 ml SF kullanılarak BAL işlemi yapıldı. Sonra tüm ratların karın boşluğu orta hat kesisiyle açıldı. İç organlar dikkatlice ekarte edilerek vena kava inferiora ulaşıldı. Buradan 5 ml'lik enjektörlerle kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devir/dk'da 10 dakika santrifüj edilip serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar 2 ml'lik eppendorf tüplerine konularak MDA, Total Antioksidan Kapasite (TAOK) çalışılacağı zamana kadar -70 °C derin dondurucuda bekletildi. Daha sonra göğüs duvarı orta hat kesisi ile açıldı. Doku bütünlüğü korunarak akciğerlerinin orta lob, sağ alt lob ve sol alt lobları alındı. Orta loblar %10 formaldehit içerisinde fikse edilerek doku kesitleri hazırlandı. Sağ akciğer alt lob hidroksprolin ve antioksidan kapasite ölçümü için kullanılmak üzere -70 °C derin dondurucuya kaldırıldı.

2. Akciğer Dokusu Hidroksprolin Miktarının Tespiti

Hidroksprolin tespiti Woessner'in tarif ettiği yöntemle yapıldı (110). Bu işlem için ayrılan sağ akciğer alt lob bidistile su ile yıkanıp kurutma kağıdı ile kurutuldu ve küçük parçalara ayrıldı. BLM diffüz fibrozis yaptığı için bu dokulardan bir kısmı randomize bir şekilde hidroksprolin (OH-P) düzeylerinin tespiti için ayrıldı. Ayrılan parçalar -70 °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 cam tüp içerisine konularak 2 ml 12 N HCl ilave edildi. 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 0.2 ml izopropanol, 0.1 ml chloramin-T ve 2,6 ml Ehrlich reaktifi eklendi. 60°C 'de su banyosunda 25 dk inkübe edildikten sonra 558 nm dalga boyunda köre karşı okutuldu.

2. Total Antioksidan Kapasite (TAOK) ölçümü

Plazmadaki TAOK düzeyi, Erel tarafından geliştirilen otomotize kolorometrik bir ölçüm metodu kullanılarak yapıldı (111). En güçlü biyolojik radikal olan hidroksil (HO[·]) radikali bu metotta fenton reaksiyonunda oluşur ve reaksiyon renksiz bir molekül olan O-dianisidine'nin sarımsı kahverengi renkte olan dianisyl radikaline dönüşümünü sağlar. Bu reaksiyon ortamına plazma örneğinin eklenmesiyle reaksiyon karışımındaki oksidan hidroksil radikali plazmadaki antioksidanlar ile baskılanarak renk değişimi engellenir. Bu şekilde plazmanın TAOK'sinin etkin ölçümü sağlanmış olur. TAOK hesaplanmasında bir E vitamini analogu olan Trolox standart olarak kullanılır. Hazırlanan reaktiflere numune ilave edildikten sonra okumalar spektrofotometrik olarak yapılır. Test ölçüm sonuçları mmol Trolox eq/L olarak belirlenir.

3.MDA Ölçümü

MDA ölçümü MDA'nın asidik ortamda tiyobarbitürik asitle (TBA) oluşturduğu rengin 532 nm'de absorpsiyonunun okunup, absorpsiyonla doğru orantılı olarak hesaplanmasından faydalanılarak yapıldı. Çalıştığımız yöntem Draper ve Hadley'in yönteminin bir modifikasyonu olup çift kaynatma esasına dayanır (112). Birinci ısıtmada bağlı olan MDA proteinlerden serbestleştirilerek proteinler çöktürülür, ikinci ısıtmada ise total MDA, TBA ile reaksiyona girer. TBA-MDA kompleksinin oluşturduğu renk absorpsiyonu 532 nm'de okutulur ve MDA'nın molar absorpsiyon katsayısından yararlanılarak konsantrasyonu hesap edilir. Bu yöntemde oluşabilecek hatalar ve etkileşimler en aza indirgenmiştir.

4. BAL; Bronkoalveoler Lavaj

Genel anestezi altında, ratların kalp atışları ve solunumu devam ederken trakeal kanül aracılığıyla 5 ml SF kullanılarak yapılan BAL işleminden elde olunan materyal hemen ikiye bölündü. Yarısında hemen tam kan sayımı yapılarak total hücre sayıları tespit edildi. Diğer kısmı ise sitospinde işlem gördükten sonra May-Grünwald-Gimsa (MGG) ile boyandı. Her bir smearde 200 büyütmede 10 değişik rastgele alanda 200 hücre sayıldı ve buna göre makrofaj, nötrofil, lenfosit ve eozinofil oranları hesaplandı.

5. Histopatolojik İnceleme

Sağ akciğer orta lob %10 formalinde fikse edilip parafin blok haline getirildi ve 3 mikron kalınlığında kesitler elde edildi. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ile boyandı. Fibrozisin derecelendirmesi; H&E ile boyalı kesitlerde x 100'lük büyütmede rastgele seçilen 10 alanda Ashcroft skorlamasına göre 0-8 arasında derecelendirildi (113). (Tablo 8).

Tablo 9. Akciğer Fibrozisinin Ashcroft Skorlamasına Göre 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

6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 13.0 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 One-way Anova LSD testi kullanıldı. Anlamlı çıkan sonuçlarda iki grubun birbiriyle karşılaştırılmasında ise Mann-Witney U Testi kullanıldı.

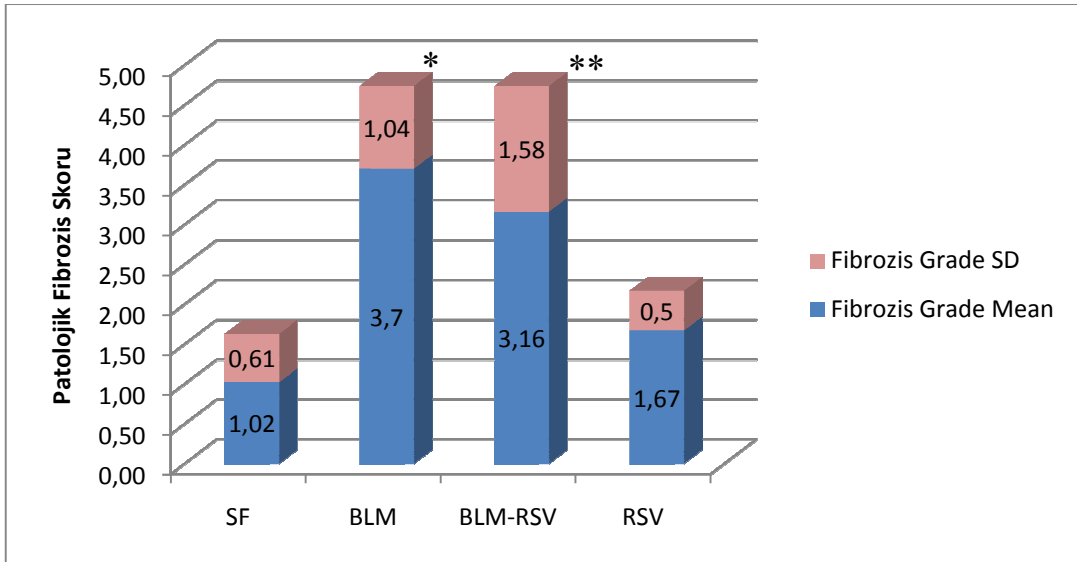
BULGULAR

29. günde SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında fibrozis patolojik derecelendirmesi, akciğer dokusunda MDA, Serum MDA, akciğer dokusunda TAOK, serum TAOK, akciğer dokusunda OH-P ve BAL'da hücre sayıları ve oranları gruplar arasında karşılaştırıldı.

Fibrozis

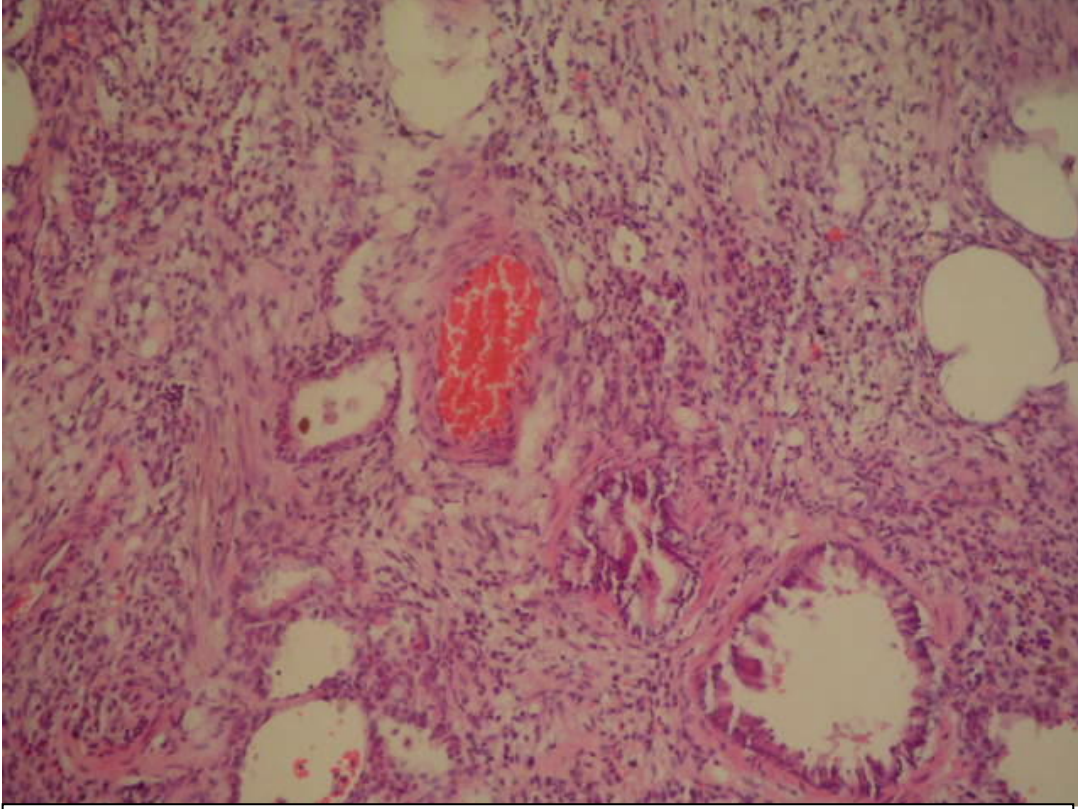
29. günde SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında patolojik değerlendirme fibrozis skorları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri, SF grubunda $1,02\pm0,61$, BLM grubunda $3,70\pm1,04$, BLM-RSV grubunda $3,16\pm1,58$ ve RSV grubunda $1,67\pm0,50$ bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda fibrozis skoru istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,0001$). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda fibrozis skoru istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,001$). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$). (Grafik 1 ve Resim I-IV).

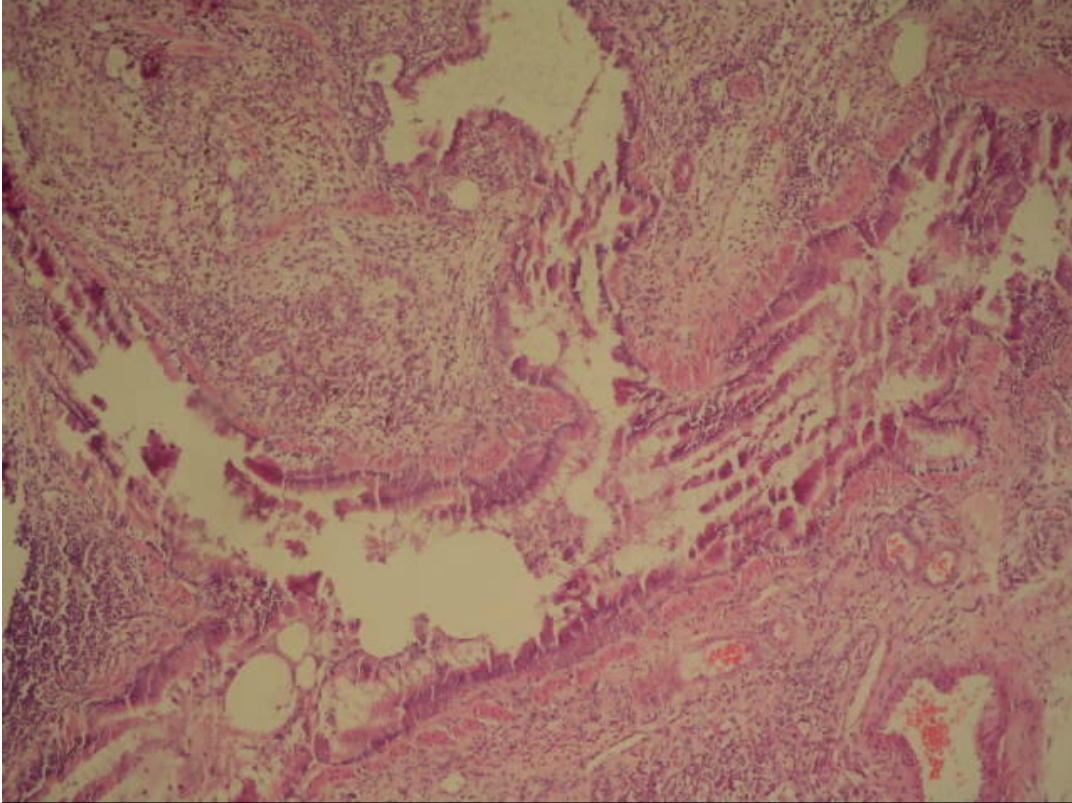


Grafik 1. Gruplar Arasındaki Patolojik Fibrozis Skorlaması.

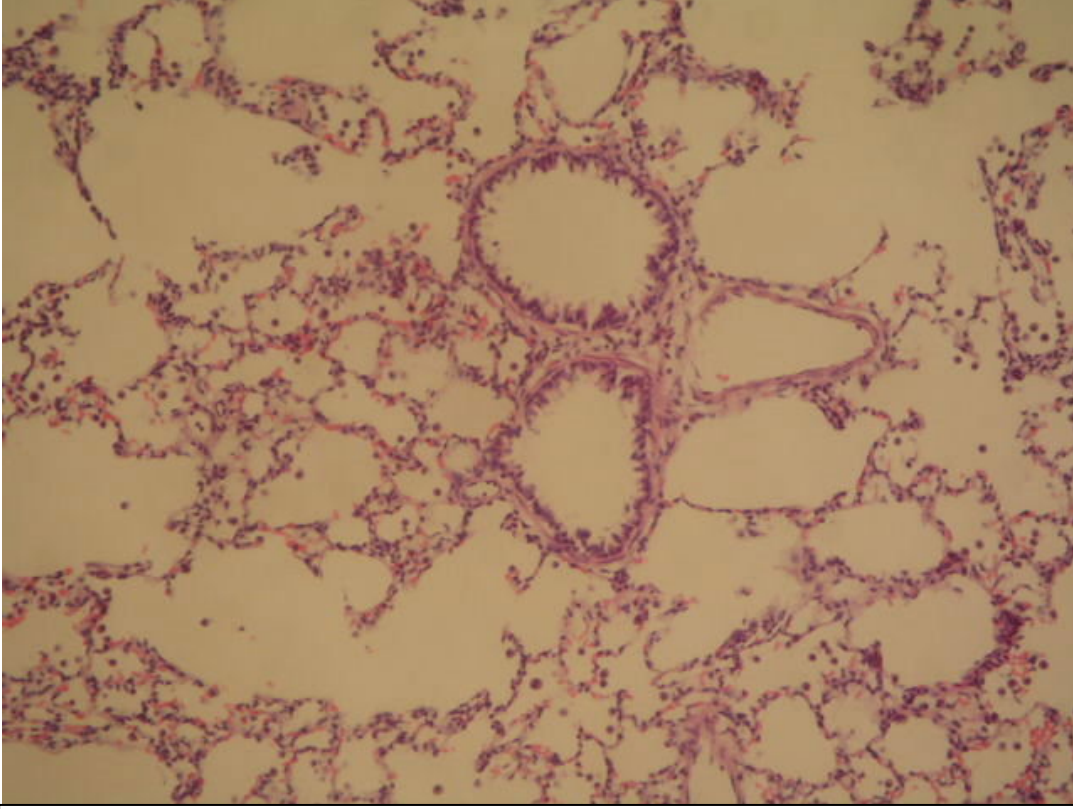
BLM fibrozis skorunu belirgin şekilde arttırırken ($P=0,0001$), RSV tedavisi ile bu artışta kısmi bir düzelme görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda fibrozis skoru istatistiksel anlamlı yüksek ($P=0,0001$), ** BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda fibrozis skoru istatistiksel anlamlı yüksek ($P=0,001$). Kısaltmalar; SF: serum fizyolojik, BLM: bleomisin, RSV: resveretrol, SD: standart sapma



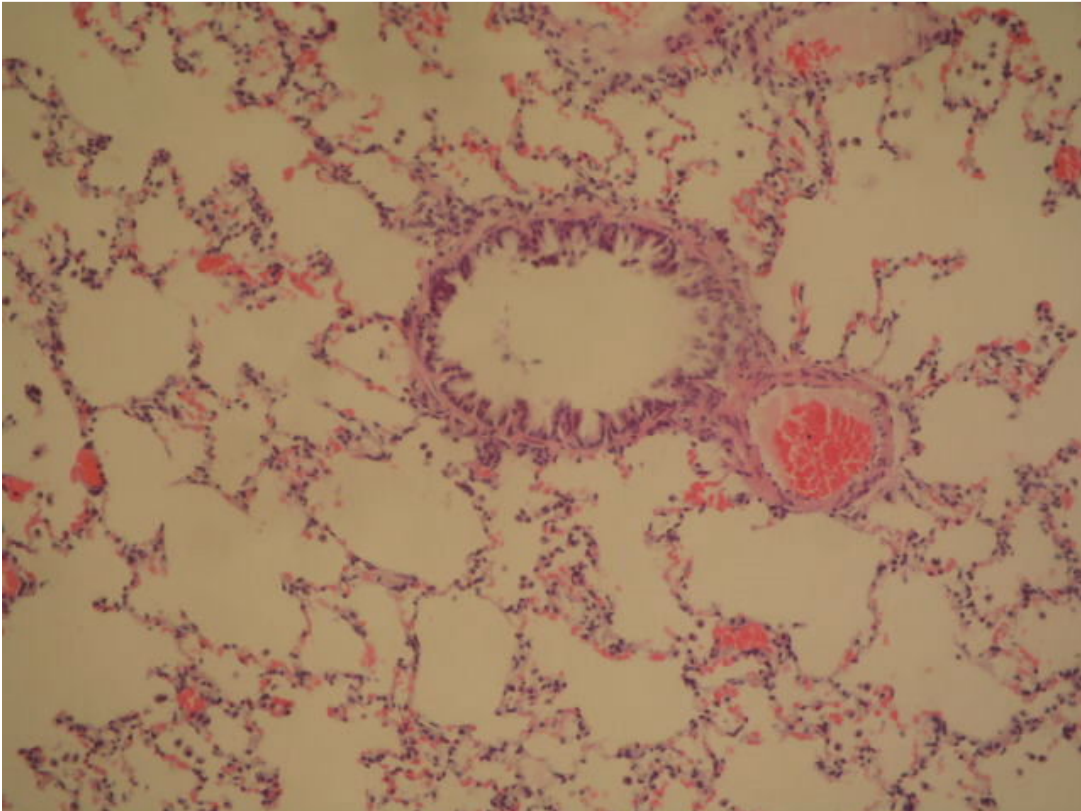
Resim I. BLM grubu. H&Ex200. Akciğer parankiminde gelişmiş fibrozis odağı zemininde yoğun mikst iltihabi hücre infiltrasyonu



Resim II. BLM-RSV grubu. H&Ex200 Akciğer parankiminde fibroblastik proliferasyona eşlik eden mikst tipte iltihabi hücre infiltrasyonu



Resim III. SF grubu. H&Ex200. Düzenli görünümde akciğer parankimi.

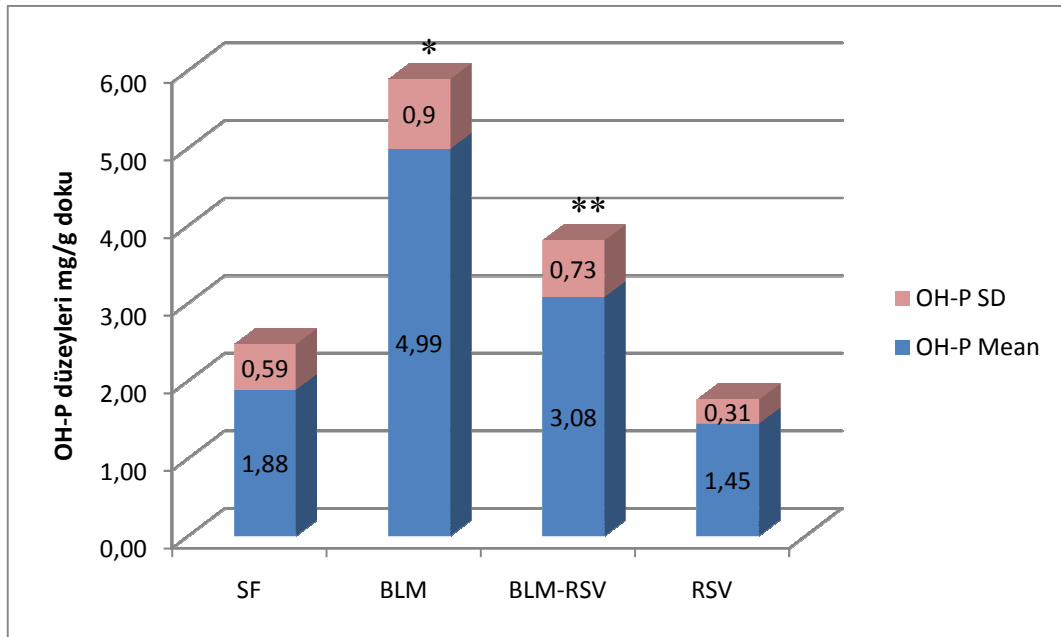


Resim IV. RSV grubu. H&Ex200. Düzenli görünümde akciğer parankimi.

Akciğer Dokusu Hidroksiprolin(OH-P) Düzeyleri

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında OH-P düzeyleri karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla 1,88±0,59 mg/g doku, 4,99±0,90 mg/gr doku, 3,08±0,73 mg/gr doku ve 1,45±0,31 mg/gr doku bulundu.

SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda OH-P düzeyi istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). SF grubu ile BLM-RSV karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,002). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı düşük bulundu (P=0,0001). (Grafik 2).



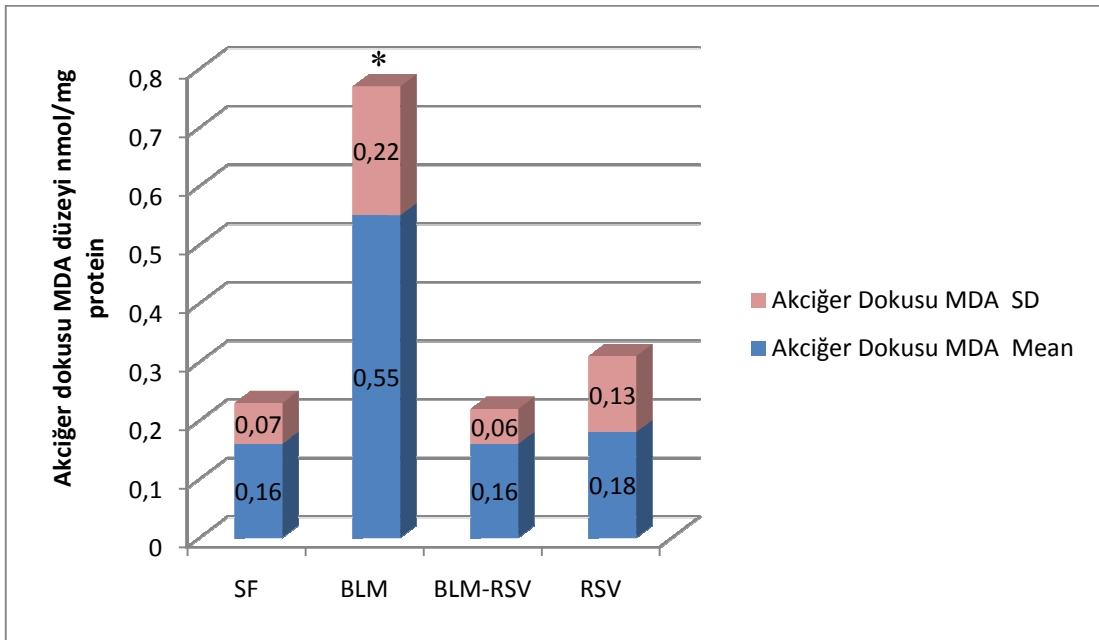
Grafik 2. Akciğer Dokusu OH-P Düzeyleri.

BLM, OH-P düzeyini belirgin olarak arttırmaktadır (P=0,0001). Bu artış RSV tedavisiyle BLM grubuna göre BLM-RSV grubunda anlamlı oranda gerilemiştir (P=0,0001). * SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda OH-P düzeyi istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,0001). ** SF grubu ile BLM-RSV karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,002). Kısaltmalar; OH-P; hidroksiprolin, diğer kısaltmalar grafik 1’le aynıdır.

Doku Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında MDA düzeyleri karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla 0,16±0,07 nmol/mg protein, 0,55±0,22 nmol/mg protein, 0,16±0,06 nmol/mg protein ve 0,18±0,13 nmol/mg protein bulundu.

SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). SF grubu ile BLM-RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). BLM grubu BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı düşük bulundu (P=0,0001). (Grafik 3).



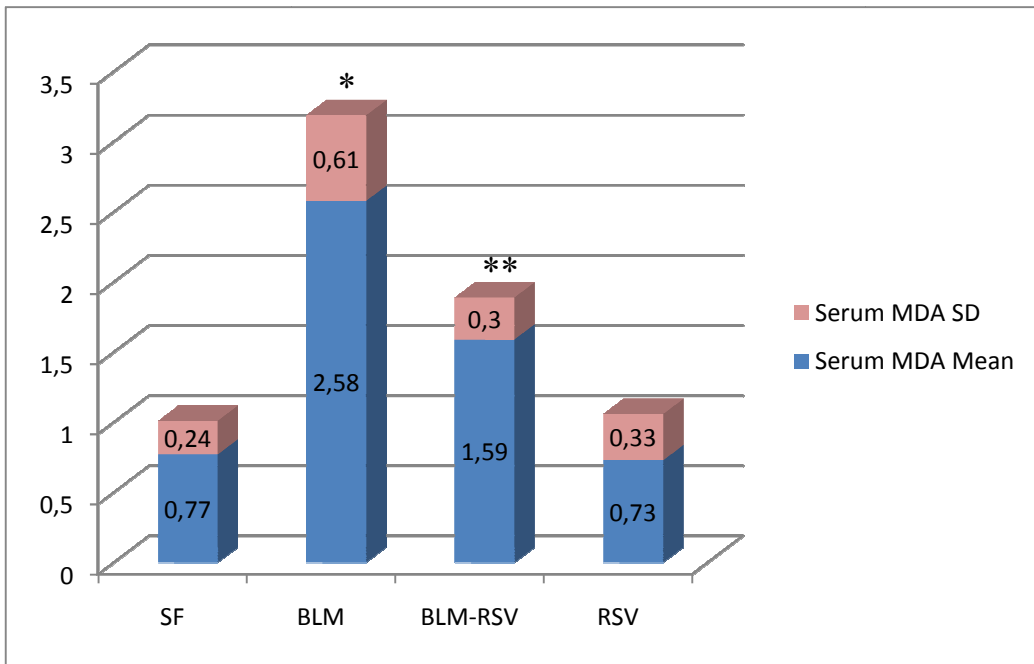
Grafik 3. Akciğer Dokusu MDA Düzeyleri.

BLM, MDA düzeyini belirgin olarak arttırmıştır (P=0,0001). RSV tedavisiyle MDA seviyesi BLM-RSV grubunda anlamlı derecede azalmıştır (P=0,0001). * SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,0001). Kısaltmalar; MDA; malonildealdehit, diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında serum MDA düzeyleri karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla 0,77±0,24 µmol/L, 2,58±0,61 µmol/L, 1,59±0,30 µmol/L ve 0,73±0,33 µmol/L bulundu.

SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda istatistiksel anlamlı yüksek saptandı (P=0,0001). SF grubu ile BLM-RSV karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı düşük saptandı (P=0,0001). (Grafik 4).



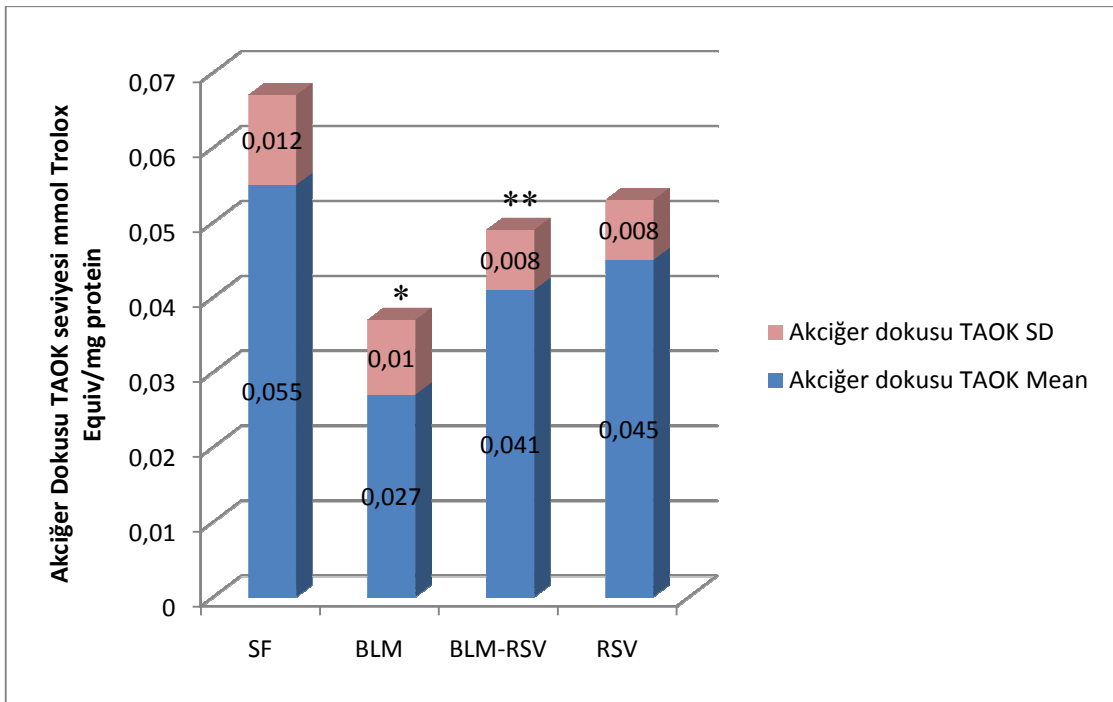
Grafik 4. Serum MDA Düzeyleri.

BLM, MDA düzeyini belirgin olarak arttırmaktadır (P=0,0001). RSV tedavisiyle MDA seviyesi anlamlı derecede azalmıştır (P=0,0001). * SF grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,0001), ** SF grubu ile BLM-RSV karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,0001). Kısaltmalar; MDA; malonildealdehit, diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

Akciğer Dokusu Total Antioksidan Kapasite (TAOK) Seviyesi

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında doku TAOK düzeyleri karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla 0,055±0,012 mmol Trolox Equiv/mg protein, 0,027±0,010 mmol Trolox Equiv/mg protein, 0,041±0,008 mmol Trolox Equiv/mg protein ve 0,045±0,008 mmol Trolox Equiv/mg protein bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük bulundu (P=0,001). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük saptandı (P=0,01). SF grubu ile RSV grubu karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,01). (Grafik 5).



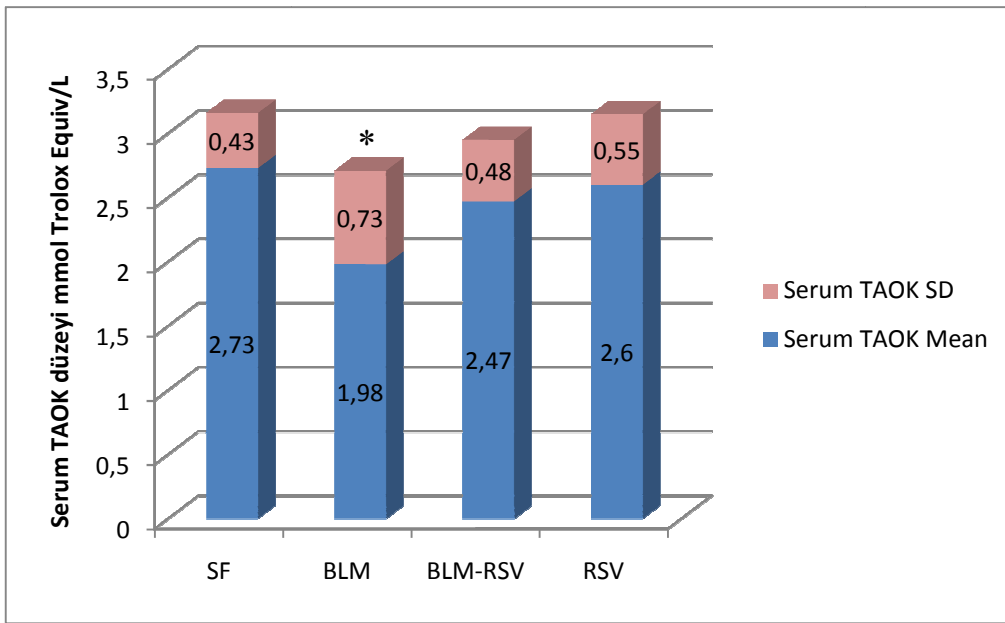
Grafik 5. Akciğer Dokusu TAOK Seviyeleri.

BLM grubunda TAOK, enzim kullanımına bağlı belirgin TAOK düşüklüğü saptanmıştır (P=0,001). RSV tedavisiyle antioksidan seviye anlamlı derecede artmıştır (P=0,01). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük (P=0,001), ** BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük (P=0,01). Kısaltmalar; TAOK; Total Antioksidan Kapasite, diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

Serum Total Antioksidan Kapasite(TAOK) Seviyesi

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında serum TAOK düzeyleri karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla 2,73±0,43 mmol Trolox Equiv/L, 1,98±0,73 mmol Trolox Equiv/L, 2,47±0,48 mmol Trolox Equiv/L ve 2,60±0,55 mmol Trolox Equiv/L bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda serum TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük bulundu (P=0,02). BLM-RSV grubu ile SF grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (P>0,05). BLM grubu ile BLM-RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (P>0,05). (Grafik 6).



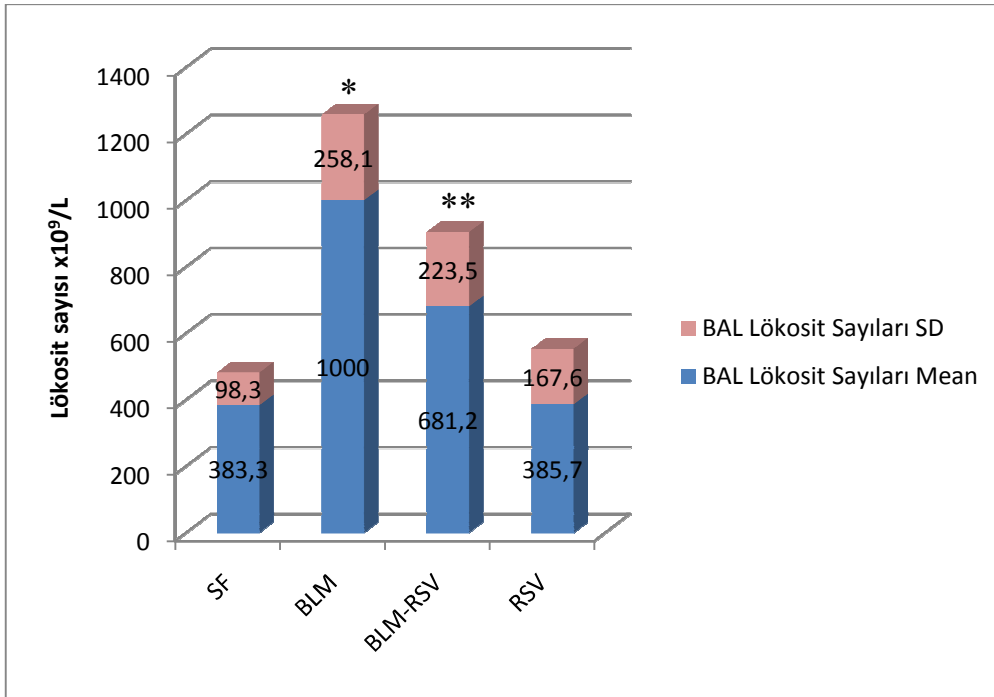
Grafik 6. Serum TAOK Düzeyleri.

BLM grubunda enzim kullanımına bağlı belirgin TAOK düşüklüğü saptanmıştır (P=0,02). RSV tedavisiyle antioksidan seviye artmıştır ancak istatistiksel anlamlılık yoktur (P>0,05). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda serum TAOK seviyesi istatistiksel anlamlı düşük bulundu (P=0,02). Kısaltmalar; TAOK; Total Antioksidan Kapasite. Diğer kısaltmalar Grafik 1’le aynıdır.

BAL Lökosit Sayıları

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında BAL lökosit sayıları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla $383,3\pm98,3 \times 10^9/L$, $1000\pm258,1$, $681,2\pm223,5$ ve $385,7\pm167,6$ bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda BAL lökosit sayıları istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,001$). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL lökosit sayıları istatistiksel anlamlı yüksek saptandı ($P=0,01$). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda BAL lökosit sayıları istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,05$). (Grafik 7).



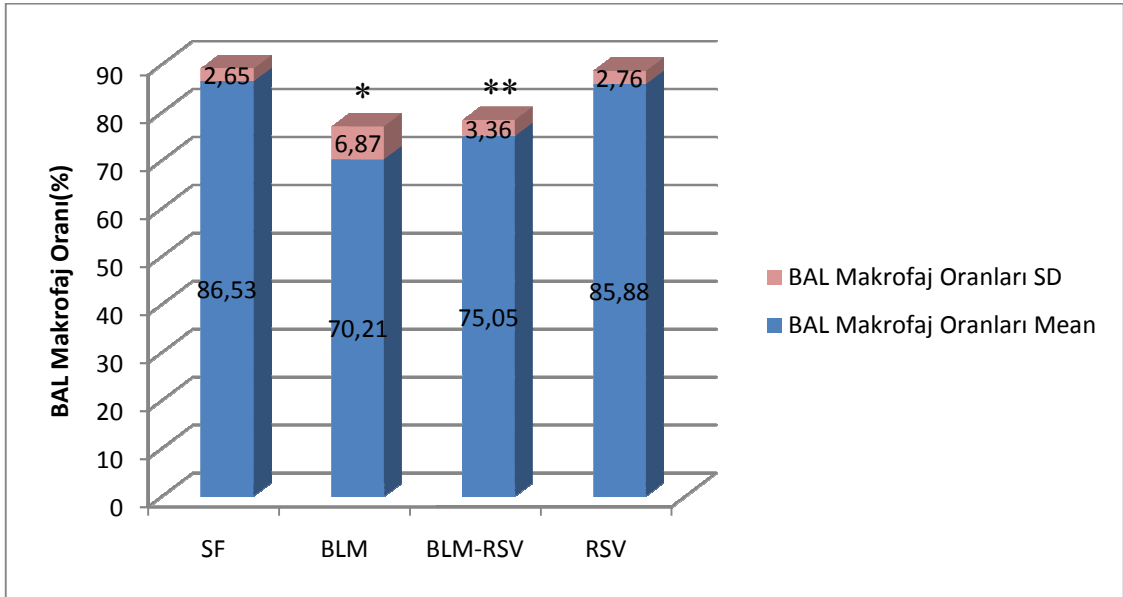
Grafik 7. BAL lökosit Sayıları.

BLM BAL'da anlamlı lökosit artışına neden olmuş ($P=0,001$), verilen RSV tedavisiyle anlamlı düzeyde gerilemiştir ($P=0,05$). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda lökosit sayıları istatistiksel anlamlı yüksek ($P=0,001$), ** BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda lökosit sayıları istatistiksel anlamlı yüksek saptandı ($P=0,01$). Kısaltmalar; BAL; Bronkoalveolar lavaj. Diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

BAL Makrofaj Oranları

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında BAL makrofaj oranları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri yüzde(%) olarak sırasıyla 86,53±2,65, 70,21±6,87, 75,05±3,36 ve 85,88±2,76 bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda BAL makrofaj oranı istatistiksel anlamlı düşük saptandı (P=0,0001). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL makrofaj oranı istatistiksel anlamlı düşük saptandı (P=0,0001). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (P>0,05). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında BLM grubunda BAL makrofaj oranı istatistiksel anlamlı daha düşük saptandı (P=0,04). (Grafik 8).



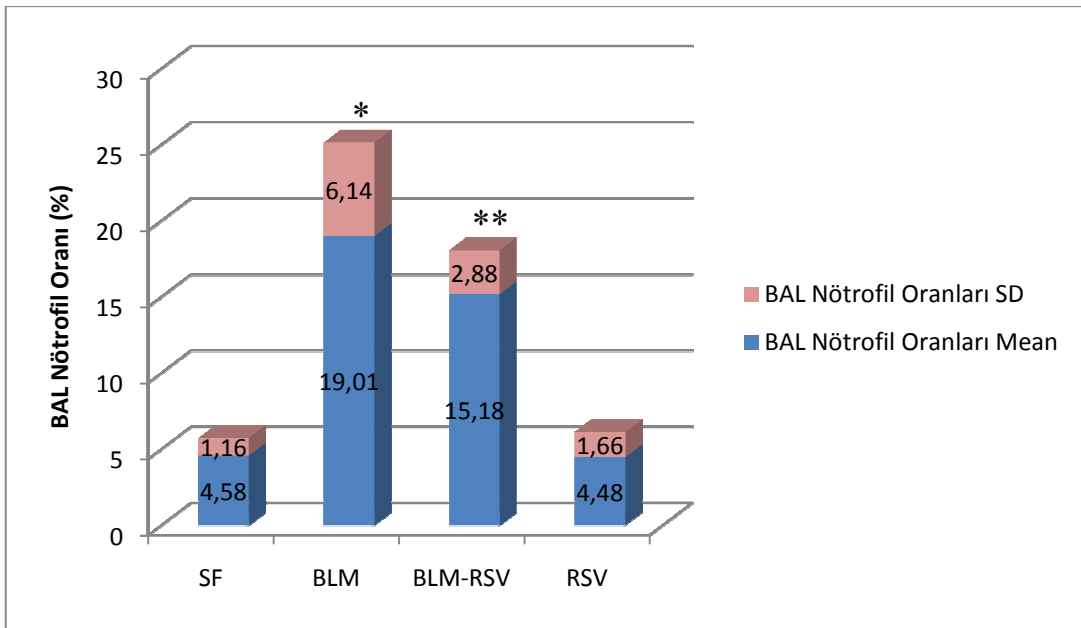
Grafik 8. BAL Makrofaj Oranları.

BLM makrofaj oranında belirgin azalmaya neden olurken (P=0,0001), RSV tedavisiyle bu oran anlamlı düzeyde artmıştır (P=0,04). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda BAL makrofaj oranı istatistiksel anlamlı düşük (P=0,0001), ** BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL makrofaj oranı istatistiksel anlamlı düşük (P=0,0001). Kısaltmalar; BAL; Bronkoalveolar lavaj. Diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

BAL Nötrofil Oranları

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında BAL nötrofil oranları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla % 4,58±1,16, %19,01±6,14, %15,18±2,88 ve % 4,48±1,66 bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda nötrofil oranı istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda nötrofil oranı istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). SF grubu ile RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (P>0,05). BLM-RSV grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL nötrofil oranı istatistiksel anlamlı düşük bulundu(P=0,04). (Grafik 9).



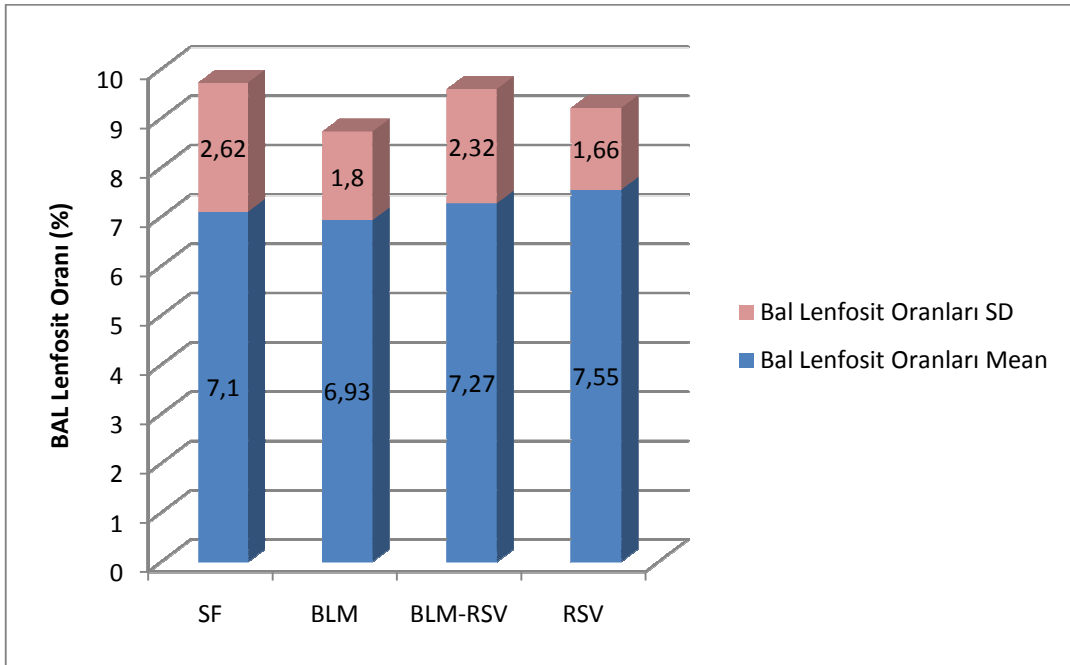
Grafik 9. BAL Nötrofil Oranları.

BLM, nötrofil oranında belirgin artışa neden olurken (P=0,0001), RSV tedavisiyle bu oran anlamlı düzeyde düşmüştür (P=0,04). * BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM grubunda nötrofil oranı istatistiksel anlamlı yüksek (P=0,0001), ** BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda nötrofil oranı istatistiksel anlamlı yüksek bulundu (P=0,0001). Kısaltmalar; BAL; Bronkoalveolar lavaj. Diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

BAL Lenfosit Düzeyleri

SF, BLM, BLM-RSV ve RSV gruplarında BAL lenfosit oranları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla %7,1±2,62, %6,93±1,8, %7,27±2,32 ve %7,55±1,66 bulundu.

BLM grubu ile SF grubu arasında, BLM-RSV grubu ile SF grubu arasında, SF grubu ile RSV grubu arasında ve BLM grubu ile BLM-RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (her biri için $P>0,05$). (Grafik 10).



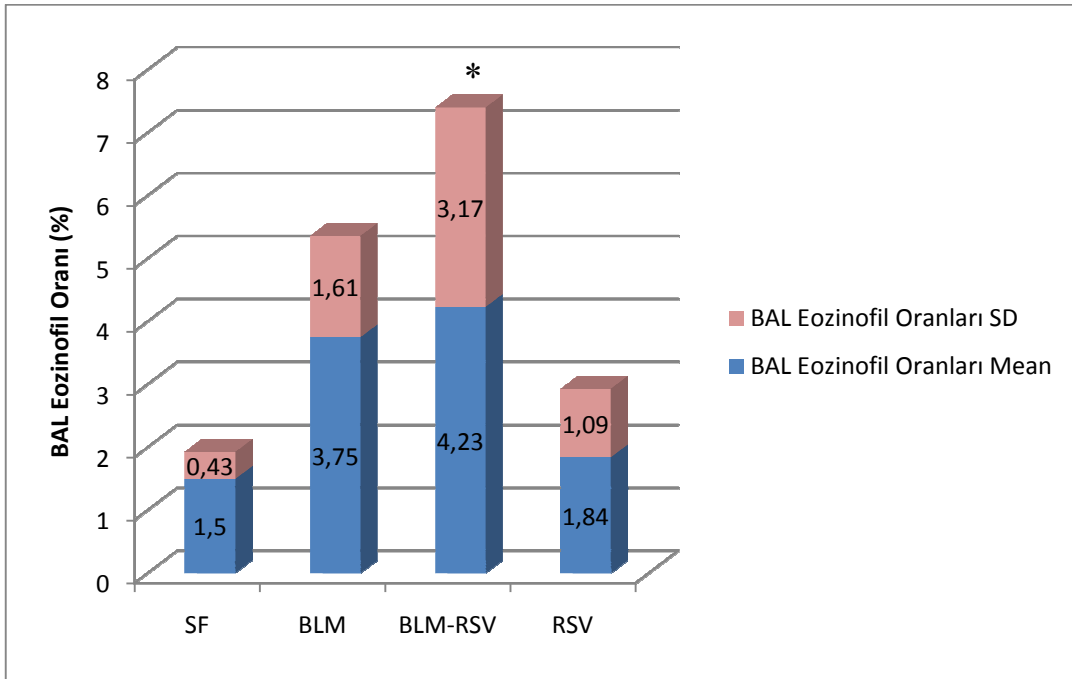
Grafik 10. BAL Lenfosit Oranları.

Gruplar arasında BAL lenfosit oranları bakımından anlamlı fark saptanmamıştır ($P>0,05$). Kısaltmalar; BAL; Bronkoalveolar lavaj. Diğer kısaltmalar Grafik 1 ile aynıdır.

BAL Eozinofil Düzeyleri

SF, BLM, BLM-RSV ve O RSV gruplarında BAL eozinofil oranları karşılaştırıldı. Ortalama±standart sapma değerleri sırasıyla %1,5±0,43, %3,75±1,61, %4,23±3,17 ve %1,84±1,09 bulundu.

BLM grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($P>0,05$). BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL eozinofil oranı istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,01$). SF grubu ile RSV grubu arasında ve BLM grubu ile BLM-RSV grubu arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (her biri için $P>0,05$).



Grafik 11. BAL Eozinofil Oranları.

BLM eozinofil oranında artışa neden olmasına rağmen istatistiki anlamlılık saptanmazken ($P>0,05$), tedavi grubunda (BLM-RSV) daha belirgin ve istatistiki anlamlı eozinofil artışı saptandı ($P=0,01$). * BLM-RSV grubu ile SF grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda BAL lenfosit oranı istatistiki anlamlı yüksek bulundu ($P=0,01$). Kısaltmalar; BAL; Bronkoalveolar lavaj, iğfer kısaltmalar Grafik 1 ile aynı.

TARTIŞMA

Bu çalışmada RSV'nin BLM ile oluşturulan akciğer fibrozis modelinde, geç fibrotik dönemde inflamasyon ve akciğer fibrozisi üzerine etkileri incelenmiştir. RSV'nin antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği nedeniyle oksidan seviyesini azalttığı, antioksidan seviyesini arttığı, inflamasyonu azalttığı ve fibrozisi bir miktar azaltsada istatistiksel olarak anlamlılık taşımadığı görülmüştür.

BLM ile akciğer fibrozisi modelinde pek çok ajanla profilaktik tedaviler denenmiş ve bunların hemen çoğunda başarılı sonuçlar alınmıştır. Şener ve arkadaşlarının (26) yapmış olduğu çalışmada, ratlarda BLM'le oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde RSV'nin 1. günden (0. gün i.t. BLM uygulanma günü) itibaren profilakside kullanılmasıyla etkinliğine bakılmış; fibrozisi ve inflamasyonu belirgin olarak iyileştirdiği gösterilmiştir. Ancak akciğer fibrozisinin oluşumundan sonra yani geç fibrotik dönemde etkinliğine bakılmamıştır. Bu sebeple bizim çalışmamızda ratlarda BLM ile akciğer fibrozisi oluşturulduktan sonra resveratrolün geç fibrotik dönemde tedavide etkinliğinin ve İPF tedavisine katkısının olup olmayacağını araştırılması amaçlanmıştır.

BLM ile deneysel akciğer fibrozisi ilk kez köpeklerde (Fleischman ve arkadaşları, 1971) yapılmıştır. Sonra farelerde (Adamson ve arkadaşları, 1974), hemstirlarda (Snider ve arkadaşları, 1978) ve ratlarda (Thrall ve arkadaşları, 1979) yapılan modeller bunu izlemiştir. Bu modelde kısa sürede akciğerde inflamasyon ve İPF'ye benzer fibrotik reaksiyonlar i.t. BLM uygulamasıyla meydana getirilebilmektedir. BLM i.t. uygulamasından hemen sonra proinflamatuvar sitokinler (interlökin-1, tümör nekrozis faktör- α , interlökin-6, interferon- γ) yükselir. Bunu profibrotik belirteçlerin (transforming growth faktör- β 1, fibronectin, prokollagen-1) artışı takip eder. Profibrotik belirteçler 14. gün civarında pik yapar. İnflamasyondan fibrozise değişim i.t. BLM uygulamasından yaklaşık 9 gün sonra meydana gelir (102). Bu nedenle yapılan çalışmalarda it BLM uygulamasının 7. gününden önceki tedaviler erken tedavi veya koruyucu/önleyici tedavi olarak, 7. günden sonraki tedaviler terapötik / iyileştirici tedaviler olarak sınıflandırılırlar (27).

BLM ile oluşturulan deneysel akciğer fibrozisi çalışmalarını değerlendiren bir derlemede; 1980-2006 yıllarını kapsayacak şekilde literatür taramasında toplamda 232 adet çalışma tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda birden fazla ajan tedavide denendiği için toplam çalışma sayısı 246 olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmaların hemen hepsi akciğer fibrozisi gelişimini engellemek için akut inflamatuvar fazda (i.t. BLM uygulamasının 7. gününden önce) profilaktik tedavilerin uygulandığı çalışmalardır. Sadece 10 çalışmada fibrozis gelişikten

sonra (i.t. BLM uygulamasının 7. gününden sonra) tedavi verilmiştir (27). Aoki ve arkadaşları (115) potent profibrojenik bir sitokin ve doku hasarının onarımında önemli görevleri olan TGF- β ailesinden aktivinlerin antagonisti Follistatin'i, BLM'in it uygulamasından 3. ve 7. günlerinde uygulamışlar; Follistatin çalışma grubunda bleomisin grubuna göre erken ve geç tedavi gruplarında 28. günde histopatolojik fibrozis değerlendirmesi ve OH-P seviyesinde anlamlı azalma bildirmişlerdir. Chaudhary ve arkadaşları (102) oral prednizolon ve oral imatinib mesilat'ı it BLM uygulamasının 1. ve 10. gününde başlamışlar. Profilaktik tedavide (it BLM uygulamasının 1. günü) prednizolon ve imatinib, terapötik grupta ise sadece imatinib'in etkili bulunduğu bildirilmiştir. Günther ve arkadaşları (116) tavşanlarda inhaler BLM ile oluşturdukları akciğer fibrozisinde erken ve geç dönemde (14. günden sonra) inhaler heparin ve ürokinaz tedavileri vermişlerdir. Tedavi verilen gruplarda SFT, HRCT, OH-P, solubl kollajen, inflamatuvar hücre sayısı ve oranları bakımından anlamlı düzelmeler olduğunu bildirmişlerdir. Kakugawa ve arkadaşlarının (117) yaptıkları çalışmada; i.t. BLM uygulamasından 14 gün sonra antifibrotik özelliği bilinen pirfenidon tedavisi başlamışlar, 35. ve 49. günde sonuçları değerlendirmişlerdir. Buna göre immunohistokimyasal inceleme ve OH-P seviyesi bakımından BLM grubuna kıyasla pirfenidon grubunda fibrozis derecesinde anlamlı azalma bildirmişlerdir. Piguet ve Vesin'in yaptığı çalışmada (118) TNF alfa antagonisti olan rekombinant solübl TNFR- β i.t. BLM uygulamasının 15. ve 25. gününden sonra başlanmış. Her iki grupta da histolojik inceleme ve OH-P seviyesinde anlamlı gerileme saptanırken BAL hücre sayısı ve oranlarında anlamlı değişiklik saptanmadığı bildirilmiştir. Piguet ve arkadaşlarının (119) yaptığı bir başka çalışmada İL-1 reseptör antagonist i.t. BLM uygulamasından 15 günden sonra tedaviye eklemiş, BAL sıvında inflamatuvar hücre sayısı ve oranlarında farklılık saptanmazken, histolojik inceleme ve OH-P miktarında istatistiksel anlamlı azalma olduğu bildirilmiştir. Yine Piguet ve arkadaşlarının (120) yaptığı bir başka çalışmada anti CD-11a monoklonal Ab'ları i.t. BLM uygulamasından 15 gün sonra tedaviye eklemiş, BAL sıvında inflamatuvar hücre sayısı ve oranlarında farklılık saptanmazken, histopatolojik inceleme ve OH-P miktarında istatistiksel anlamlı azalma olduğu bildirilmiştir. Hart ve arkadaşlarının (121) yaptığı çalışmada i.t. BLM uygulamasından 30 gün sonra i.t. ürokinaz tedavisi verilmiş, kısa dönemde (33. gün) kollajen miktarını azalttığı görülmüş ancak uzun dönemde (66. gün) bakılan kollajen miktarında yeniden artışın olduğu, BLM'ne bağlı oluşan akciğer fibrozisindeki ilerlemeyi durduramadığı görülmüş ancak ürokinaz tedavi grubunda kollegen miktarının BLM grubuna göre daha az bulunduğu bildirilmiştir. Taooka ve arkadaşları (122) yaptıkları çalışmada nötrofil elastaz inhibitör (ONO-5046 Na)'yı i.t. BLM uygulamasından 1 ve 15 gün sonra vermişler. Akut inflamatuvar dönemde ve geç fibrotik

dönemde verilmesinde kontrol gruplarına göre istatistiksel anlamlı şekilde, OH-P düzeylerinde, fibrozis histolojik derecelendirilmesinde, BAL'da nötrofil ve lenfosit oranlarında azalma ve BAL da makrofaj oranlarında artış bildirmişlerdir. Kelley ve arkadaşları (123) yaptıkları çalışmada i.t. BLM uygulamasından 28 gün sonra prolin analogu ve potent bir kollajen sentez inhibitörü olan DHP vermişler; kompiyas ve vital kapasitede bir miktar düzelme, akciğer prolil hidroksilaz enzim aktivitesinde azalma ve kollajen miktarında bir miktar azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular yukarıdaki literatür eşliğinde aşağıda ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

Akciğer Fibrozisi Histopatolojik İnceleme

Bugüne kadar BLM ile akciğer fibrozisi modelinde yapılan sayısı 200'ün üzerinde profilaktik tedavi uygulamasında verilen çoğunluğu antioksidan ve antiinflamatuvar özellik taşıyan ajanların akciğerde fibrozis gelişimini azalttığı gösterilmiştir (27). Geç fibrotik dönemi kapsayan, terapötik amaçlı tedavi verilen çalışmalardan; Aoki ve arkadaşlarının (115) Follistatin' ile yaptıkları, Kakugawa ve arkadaşlarının (117) pirfenidon ile yaptıkları, Piguet ve arkadaşlarının (118-120) TNF alfa antagonisti, İL-1 reseptör antagonisti ve CD-11a monoklonal antikoru ile yaptıkları 3 ayrı çalışmada ve Taooka ve arkadaşlarının (122) nötrofil elastaz inhibitörü ile yaptıkları çalışmada histopatolojik incelemede anlamlı azalma bildirmişlerdir. Günther ve arkadaşları (116) geç dönemde (14. günden sonra) uygulanan inhaler heparin ve ürokinaz tedavilerinde kontrol ve BLM grubuna göre tedavi gruplarında kompiyas, vital kapasite, HRCT, OH-P, kollajen seviyesinde anlamlı düzelmeler olduğunu göstererek dolaylı yoldan fibrozisin azaldığını göstermişlerdir. Chaudhary ve arkadaşlarının (102) prednizolon ve imatinib mesilat'la yaptığı çalışmada her iki ilaç proflekside kullanıldığında fibrozisde anlamlı iyileşme sağlarken, terapötik amaçlı kullanımda sadece imatinib'in etkili bulunduğu bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda histopatolojik değerlendirmede Grafik 1 ve Resim 1-4'da görüldüğü gibi, BLM ve BLM-RSV gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek fibrozis saptandı ($P=0,0001$). BLM-RSV grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında BLM-RSV grubunda fibrozis skorlaması sayısal olarak düşük (mean/sd; BLM:3,70±1,04, BLM-RSV:3,16±1,58) bulundu ancak istatistiksel anlamlılık saptanmadı ($P>0,05$). Bu sonuçlar geç fibrotik dönemde verilen RSV tedavisinin fibrozis üzerine kısmi olarak etki ettiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte daha yüksek doz RSV ile yapılacak çalışmaların fibrozisi azaltabileceği düşünülmüştür. RSV akciğer fibrozisini hangi

mekanizmalarla azalttığı kesin olarak bilinmemekle birlikte aşağıda yeri geldiğinde bu konulara değinilecektir.

Doku Hidroksiprolin (OH-P) Düzeyleri

Yapılan pek çok çalışmada ratlarda BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisinde OH-P düzeyinin arttığı; verilen profilaktik ve terapötik tedavilerde OH-P seviyesinde azalma olduğu gösterilmiştir (2). Yara ve arkadaşlarının (124) yaptığı çalışmada i.t. BLM uygulamasıyla akciğerde 7. gün OH-P birikiminin başladığı ve 28. günde maksimum düzeye çıktığı bildirilmiştir. Akut inflamatuvar dönemi kapsayan çalışmalardan; Yıldırım ve arkadaşlarının (126) yaptığı çalışmada BLM grubunda kontrol grubuna oranla OH-P seviyesinin belirgin olarak arttığı, profilaktik olarak verilen erdosteine ve N-asetilsisteine tedavisiyle OH-P seviyesinin BLM grubuna kıyasla belirgin anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir. Cortijo ve arkadaşlarının (125) yaptığı çalışmada BLM'nin akciğer OH-P düzeylerini arttırdığı ve N-AC'le tedavinin hidroksiprolin düzeyini azalttığı gösterilmiştir. Geç fibrotik dönemi kapsayan terapötik tedavilerin denendiği çalışmalardan; Aoki ve arkadaşlarının (115) Follistatin' ile yaptıkları, Günther ve arkadaşlarının (116) heparin ve ürokinazla yaptıkları çalışmada, Kakugawa ve arkadaşlarının (117) pirfenidon ile yaptıkları çalışmada, Pigué ve arkadaşlarının (118-120) TNF alfa antagonisti, İL-1 reseptör antagonisti ve CD-11a monoklonal Ab'ları ile yaptıkları 3 ayrı çalışmada, Hart ve arkadaşlarının (121) ürokinaz ile yaptığı çalışmada ve Taooka ve arkadaşlarının (122) nötrofil elastaz inhibitörü ile yaptıkları çalışmada OH-P seviyesinde ve kollajen miktarında anlamlı azalma bildirmişlerdir

Yukarıda belirtilen literatürlere paralel olarak bizim çalışmamızda da BLM uygulamasıyla OH-P seviyesi kontrol grubuna göre belirgin yükseklik saptandı. Grafik 2'de görüldüğü gibi gruplar arasında OH-P düzeyleri karşılaştırıldığında, BLM grubunda OH-P seviyesi diğer tüm gruplardan istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,0001$). BLM-RSV grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda OH-P seviyesi istatistiksel anlamlı düşük bulundu ($P=0,0001$).

RSV tedavisi ile OH-P düzeyindeki düşmenin mekanizmasını kesin olarak bilemeyeceğimiz rağmen, daha önceki literatürde belirtilen, inflamatuvar hücre göçünün önlenmesi, sitokin salınımının inhibisyonu ve oluşan oksidan ürünlerin hızla ortamdan uzaklaştırılması (19-25) gibi mekanizmaların etkili olabileceği düşünülmüştür.

BAL Hücre Sayıları

İnterstisyel akciğer hastalıklarında BAL sıvısında nötrofil granül enzimlerinin yüksek seviyede bulunması akciğer hasarının oluşmasında bu hücrelerin önemli bir role sahip olduklarını düşündürmektedir (127). İPF’de BAL sıvısında inflamatuvar hücrelerin tip ve miktarında değişiklikler saptanır. Alveoler makrofaj sekretuar ürünlerinde artış (PNL ve düz kas hücreleri için kemotaktik faktörler, plazminojen aktivatörü, makrofaj kökenli büyüme faktörü, fibronektin, platelet kökenli büyüme faktörü) ile PNL ve eozinofil yüzdesi artışıyla karakterize alveolit görülür (128). BLM’nin indüklediği pnömonitisin patofizyolojisi iki fazdan oluşmaktadır. Birinci fazda interstisyel alanda ve alveoler boşlukta nötrofil, lenfosit, makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin birikimi sözkonusuyken, ikinci fazda ise fibrozis gelişimi sözkonusudur (14). Gurujeyalakshmi ve ark. (129) 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. da (14) 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 bildirmişlerdir. Yıldırım ve ark. (126) 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 çok sayıdaki çalışmada antioksidan ajanların akciğer dokusunda ve BAL sıvısında PNL birikimini düzelttiği bildirilmiştir (14, 130).

Geç fibrotik dönemi kapsayan terapötik tedavilerin verildiği çalışmalardan; Günther ve arkadaşlarının (116) heparin ve ürokinazla yaptıkları çalışmada ve Taooka ve arkadaşlarının (122) nötrofil elastaz inhibitörü ile yaptıkları çalışmalarda, tedaviyle BAL sıvısında nötrofil ve lenfosit oranlarında azalma ve makrofaj oranlarında artış bildirmişlerdir. Ancak Piguet ve arkadaşlarının (118-120) TNF alfa antagonisti, İL-1 reseptör antagonisti ve CD-11a monoklonal Ab’ları ile yaptıkları 3 ayrı çalışmada BAL hücre oranlarında anlamlı değişim olmadığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda Grafik 7’de görüldüğü gibi i.t. BLM uygulamasının BAL sıvısında inflamatuvar hücre sayısını belirgin olarak arttırdığı ve verilen RSV tedavisiyle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde lökosit sayısının azaldığı görülmüştür. Grafik 8’de görüldüğü gibi, BLM’nin BAL sıvısında makrofaj oranlarını belirgin anlamlı düzeyde azalttığı ve RSV tedavisiyle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış olduğu görüldü. Grafik 9’da görüldüğü gibi; BLM, BAL sıvısında nötrofil oranlarında belirgin artışa neden olmuş ve RSV tedavisiyle istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır. Sonuçlarımız

Resveratrol'ün inflamasyonu, özellikle nötrofillerin inflamasyon alanına göçünü engelleyerek inhibe edebileceğini düşündürmektedir.

MDA

İPF gibi fibrotik akciğer hastalıklarında hastalığın gelişim aşamalarında ROS (reaktif oksijen ürünleri)'un önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir (114,131). Benzer şekilde BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisi çalışmalarında reaktif oksijen türlerinin rolü olduğu belirtilmiştir (132,133). İPF'li hastalarda BAL sıvısındaki antioksidanların düzeyinde düşüklük olduğu bulunmuştur (134). 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. MDA doymamış yağ asitlerinin oksidatif olarak parçalanması (peroksidasyonu) sonucu ortaya çıkan bir lipid ürünüdür. Yüksek olarak bulunması o ortamda lipid peroksidasyonu olduğunu gösterir (135). Bu yüzden MDA lipid peroksidasyonunun indirekt göstergesi olarak kullanılmaktadır. 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 üretilirler (136). İnflamatuvar hücrelerin aktivasyonu oksidatif strese neden olabilir. Birçok ciddi hastalık patogenezinde 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 hayatiyeti için oldukça tehlikelidir (137). Sayman ve ark'ları (138) tavşanlarda hidroklorik asidin i.t uygulanmasıyla oluşturdukları akut akciğer hasarında BAL MDA düzeyinin anlamlı derecede yükseldiğini göstermişlerdir. Özaras ve ark'ları (137) astımlı 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 (139) 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 (140).

Sogut ve arkadaşları ratlarda yapılan çalışmasında erdostein ve vitamin E'nin it bleomisine bağlı oluşan akciğer dokusunda ortaya çıkan MDA yükselmesinin önlediği gösterilmiştir. (141) Ozyurt ve arkadaşları benzer sonuçları RSV gibi doğal bir madde olan kafeik asit fenetil ester ile yaptıkları çalışmada göstermişlerdir (142). 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 kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (14,143,144).

Bizim bilgilerimize göre geç fibrotik dönemde tedavi amaçlı yapılan çalışmalarda denenen maddelerin MDA üzerine etkisi çalışılmamıştır.

Çalışmamızda oksidan seviye tespiti için lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak MDA kullanılmıştır. Akciğer dokusunda ve kanda MDA seviyesinde BLM ve BLM-RSV gruplarında kontrol gruplarından anlamlı yüksek ve BLM-RSV grubunda BLM grubundan anlamlı düşük bulunmuştur. Bu da bize RSV'nin, BLM'nin neden olduğu lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir. Resveratrol'ün bu koruyucu etkisinin, oluşan serbest oksijen radikallerini ortamdaki uzaklaştırıcı ve anti oksidan aktivitesine bağlı olabileceği düşünülmüştür.

TOAK

Organizmada, serbest radikallerin etkilerinden organizmayı koruma görevini üstlenen antioksidan sistemler bulunur. Bu sistemler, dokularda ve kanda bulunurlar (148).

Plazmada bulunan antioksidanların konsantrasyonları ayrı ayrı tayin edilebilmektedir. Ancak zaman aldığı, pahalıya mal olduğu ve kompleks teknikler gerektirdiği için tercih edilmez. Bu nedenle plazmada total antioksidan kapasitenin tayini için yöntemler geliştirilmiştir (149). TAOK tayini ile plazmada entegre olmuş antioksidanların toplam aktivitesi bulunur. Plazmadaki her bir antioksidanın aktivitesinin hesaplanıp değerlerin toplanmasından sonra elde edilen değer ile TAOK sonuçları birbirinden farklıdır. Bu yöntem ile plazmadaki bilinen ve bilinmeyen antioksidan maddelerin ve bunların sinerjik etkileşimleri sonucu ortaya çıkan antioksidan kapasite tayin edilir. Bu şekilde oksidan/antioksidan sistemler arasındaki in vivo denge daha kolay anlaşılacaktır (145).

Kanda farklı antioksidan bileşikler bulunmakla birlikte en fazla aktivite gösteren yapılar proteinlerdir ve bu etkilerini serbest tiyol grupları üzerinden gösterirler. Linoleik asit de yapısında tiyol grubu taşımaktadır ancak kanda düşük konsantrasyonlarda bulunduğu için tiyol gruplarının temel kaynağı proteinlerdir. Sağlıklı bireylere ait plazma örneklerinin antioksidan kapasitesinin % 52,9'unu proteinler oluşturmaktadır (146). Ürik asit, C vitamini, total bilirubin, E vitamini ve diğerleri -SH grubu taşıyan proteinler haricinde plazma antioksidanlarıdır (147)

BLM-akciğer fibrozisi modelinde TAOK düzeyi ile ilgili çalışma yapılmamıştır, ancak TAOK içerisine giren pek çok antioksidanla ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmaların tamamı akut inflamatuvar dönemde antioksidan ajanların tedavide kullanıldığı, tedavi grubunda oksidan seviyesinin azaldığının ve antioksidan seviyesinin yükseldiğinin gösterildiği çalışmalardır. Ancak geç fibrozis dönemini kapsayan çalışmalarda antioksidan seviye ile çalışma bulunamamıştır.

RSV antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini sağlamaktadır. Resveratrolün aktive olan lenfositlerinde glutatyon ve glutatyon metabolizması ile ilgili enzimlerin (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve glutatyon-S-transferaz gibi) miktarını arttırdığı gösterilmiştir (19,103,104).

Bizim çalışmamızda akciğer dokusu ve kanda total antioksidan kapasite (TAOK) seviyesine bakıldı. Akciğer dokusu ve kanda TAOK düzeyleri karşılaştırıldığında BLM grubunda TAOK seviyesi diğer gruplardan anlamlı düşük bulundu ($P=0,01$). BLM grubu ile BLM-RSV grubu karşılaştırıldığında, BLM-RSV grubunda istatistiksel anlamlı yüksek bulundu ($P=0,01$). Bu sonuçlar, BLM uygulaması ile olan düşmenin muhtemelen tüketime bağlı bir TAOK azalması olduğunu, RSV'lün bu azalmayı önlediğini düşündürmüştür.

SONUÇ

Sonuç olarak; BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisi modelinde, 10 mg/kg dozunda verilen RSV'ün geç fibrotik dönem tedavisinde kısmi etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bu etki akciğer dokusu hidrokspirolin içeriğinin tayini ve histopatolojik inceleme ile ölçülmüştür. Görülen etkinin mekanizmasını değerlendirmek için, akciğer dokusunda MDA, TOAK, BAL sıvısında inflamatuvar hücre sayıları ve oranları ve kanda MDA ve TAOK seviyelerinin değerlendirilmesi yoluyla açıklanmaya çalışılmıştır. RSV'nin fibrozisi engellemesini açıklayabilecek muhtemel mekanizmaların; BLM'nin neden olduğu serbest radikallerin doğrudan detoksifiye edilmesi, inflamatuvar hücrelerin birikiminin inhibisyonu, böylelikle sekonder etki olarak serbest oksijen radikali üretiminin azalması, akciğerde mevcut bulunan

inflatuvar hücrelerce üretilen serbest oksijen radikallerinin ortamdan uzaklaştırılması ve dolayısıyla fibroblast proliferasyonunun inhibisyonu yoluyla olabileceği düşünülebilir. Bizim bulgularımız 10 mg/kg oral yolla verilen Resveratrol'ün İPF tedavisinde henüz kullanımın yeterli olmayacağını düşündürmüştür. Ancak parenteral uygulama yada yüksek doz oral yolla uygulama ile ilgili çalışmalar yapılabilmesi için ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle bu konuda daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

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 respiratory tract. N Eng J Med 1984; 310: 154-166.
6. British Thoracic Society, Standards 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, Croke 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 bleomycin by superoxide dismutase. Mutat Res 1984; 135: 199-202.
14. Hagiwara S, Ishii Y, Kitamura S. Aerolized administration of Nacetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162: 225-231.
15. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises. J Nutr Biochem. 2005;16: 449-466.
16. Li Y, Cao Z, Zhu H. Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. Pharmacol Res. 2006;53: 6-15.
17. Wenzel E, Germany SV. Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. Mol Nutr Food Res. 2005;49: 472-481.
18. Renaud S, De Lorgerie M. Wine alcohol, platelets and the French paradox for coronary heart disease. Lancet 1992;339: 1523-1528.
19. De La Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. Biochem Soc Trans. 2007;35: 1156-1160.
20. Fremont L. Biological effects of resveratrol. Life Sci 2000;66: 663-73.
21. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishoda S, Takada Y. Role

- of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2004;24: 2783–840.
22. Bradamante S, Barengi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev* 2004; 22: 169–88.
 23. Bertelli AA, Ferrara F, Diana G, Fulgenzi A, Corsi M, Ponti W, Ferrero ME, Bertelli A. Resveratrol, a natural stilbene in grapes and wine, enhances intraphagocytosis in human promonocytes: a co-factor in antiinflammatory and anticancer chemopreventive activity. *Int J Tissue React* 1999;21: 93–104.
 24. Bertelli AA, Giovannini L, Glannessi D. 1995: Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. *Int J Tissue React* 17: 1-10.
 25. Sharafkhaneh A, Velamuri S, Badmaev V, Lan C, Hanania N. The potential role of natural agents in treatment of airway inflammation. *Ther Adv Respir Dis.* 2007 Dec;1(2):105-20. Review.
 26. Şener G, Topaloğlu N, Şehirli AO, Ercan F, Gedik N. Resveratrol alleviates bleomycin-induced lung injury in rats. *Pulm Pharmacol Ther.* 2007;20(6):642-9.
 27. Moeller A, Ask K, Warburton D, Gauldie J, Kolb M. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? *Int J Biochem Cell Biol.* 2008;40(3):362-82.
 28. Schwarz MI. Approach to the understanding, diagnosis and management of interstitial lung disease. In: Schwarz MI, King TE, eds. *Interstitial Lung Disease.* London; B. C. Decker Inc Hamilton, 1998:3-30.
 29. Ertürk A. Difüz parankimal akciğer hastalıklarının tanımı, sınıflandırılması ve epidemiyolojisi. *Solunum* 2006; Vol: 8. Özel sayı. Sayfa: 11-16
 30. Canbakan S, Gülhan M. İnterstisyum anatomi ve histolojisi. In: Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B, eds. *İnterstisyel Akciğer Hastalıkları Genel Yaklaşım.* Ankara Güneş kitabevi 2002;13-20.
 31. Wells A. Approach to diagnosis of diffuse lung disease. In: Albert RK, Spiro SG, Jett JR. *Clinical Respiratory Medicine.* Philadelphia; Mosby inc 2004;541-50.
 32. Berkoğlu M, Başay N. Tanım, sınıflandırma ve epidemiyoloji. In: Erdoğan Y, Samurkaşoğlu B, eds. *İnterstisyel Akciğer Hastalıkları Genel Yaklaşım.* Ankara Güneş kitabevi 2002;1-13.
 33. American Thoracic Society/European Respiratory Society. International multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165: 277-304.
 34. Dempsey OJ, Kerr KM, Gomersall L, Remmen H, Currie GP. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update. *QJM.* 2006 99(10):643-54.
 35. Dempsey OJ. Clinical review: Idiopathic pulmonary fibrosis-Past, present and future. *Respir Med.* 2006;100(11):1871-85.
 36. Kim DS, Collard HR, King TE. Classification and natural history of the idiopathic interstitial pneumonias. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:285-92.
 37. Katzenstein AL, Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis. Clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1301-15.
 38. Katzenstein AL, Myers JL. Nonspecific interstitial pneumonia and the other idiopathic interstitial pneumonias: classification and diagnostic criteria. *Am J Surg Pathol.* 2000;24:1-3.
 39. Bourke S J. Interstitial lung disease: progress and problems. *Postgrad Med J* 2006; 82: 494-9.
 40. King TE. Approach to the patient with interstitial lung disease. In: Crapo JD, Glassroth J, Karlinsky J, King TE, eds. *Baum's textbook of pulmonary diseases.* Philadelphia: Williams and Wilkins, 2004;455-80.

41. Demedts M, Wells AU, Anto JM, et al. Interstitial lung diseases: an epidemiological overview. *Eur Respir J* 2001;32:2s-16s
42. Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, Sobonya RE. The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 967-72.
43. Scott J, Johnston I, Britton J. What causes cryptogenic fibrosing alveolitis? A case-control study of environmental exposure to dust. *Br Med J* 1990; 301: 1015-17.
44. Mannino DM, Etzel RA, Parrish RG. Pulmonary fibrosis deaths in the United States, 1979-1991. An analysis of multiple cause data mortality. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:1548-52.
45. Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, Bradford WZ, Oster G. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174:810-6.
46. Schwarz MI, King TE, Cherniack RM. Infiltrative and interstitial lung disease. In: Murray JF, Nadel JA eds. *Textbook of Respiratory Medicine*. Philadelphia:WB Saunders Company, 2000;1649-71.
47. 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.
48. 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.
49. 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.
50. 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.
51. Fraser RS, Muller NL, Colman N, Dare PD. Fraser and Pare's *Diagnosis of Diseased of the Chest*. 4th ed. Vol III WB Saunders Company Philadelphia. 1999; 1584-1626.
52. 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.
53. 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.
54. Hubbard R, Lewis S, Richards K, Johnston I, Britton J. Occupational exposure to metal or wood dust and etiology of criptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet* 1996; 347:284-289.
55. Egan JJ, Stewart JP, Hasleton PS, Arrand JR, Carroll KB, Woodcock AA. Epstein-Barr virus replication within pulmonary epithelial cells in criptogenic fibrosing alveolitis. *Thorax* 1995; 50: 1234-1239.
56. Hubbard R, Baoku Y, Kalsheker N, Britton J, Johnston I. Alfa-1antitrypsin phenotypes in patients with criptogenic fibrosing alveolitis; acase control study. *Eur Respir J* 1997; 10: 2881-2883.
57. Kasper M, Haroske G. Alterations in the alveolar epithelium after injury leading to pulmonary fibrosis. *Histol Histopathol* 1996; 11: 463-483.
58. 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.
59. 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.
60. Martin P. Wound healing. Aiming for perfect skin regeneration. *Science* 1997; 276: 75-81.
 61. 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.
 62. 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.
 63. Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights in its pathogenesis. *Int Biochem Cell Biol* 2002; 34: 1534-1538.
 64. 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.
 65. 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.
 66. 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.
 67. 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.
 68. Du Bois RM, Wells AU. Cryptogenic fibrosing alveolitis / Idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 18; 32: 43S-55S.
 69. Turner-Warwick M, Lebowitz M, Burrow B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer. *Thorax* 1980; 35: 496-499.
 70. Costabel U, King TE. International consensus statement on idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 17: 163-167.
 71. 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.
 72. Ödev K. *Toraks Radyolojisi.* İstanbul: Nobel Matbaacılık, 2005: 213-217.
 73. 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.
 74. 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.
 75. King TE. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. In: Schwarz MI, King TE. (editors). *Interstitial lung disease*, 3rd edition. BC. Decker Inc Hamilton. London 1998: 597-644.
 76. 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.
 77. 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.

78. 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.
79. 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.
80. Narayanan AS, Whitley J, Souza A, Raghu G. Effect of gamma-interferon on collagen synthesis by normal and fibrotic human lung fibroblasts. *Chest*. 1992 May;101(5):1326-31.
81. Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, Petkov V, Block LH. A preliminary study of long-term treatment with interferon gamma-1b and low-dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 1999 Oct 21;341(17):1264-9. Erratum in: *N Engl J Med* 2000 Feb 17;342(7):524.
82. 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 II study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Apr;159(4 Pt 1):1061-9.
83. Kakugawa T, Mukae H, Hayashi T, Ishii H, Abe K, Fujii T, Oku H, Miyazaki M, Kadota J, Kohno S. Pirfenidone attenuates expression of HSP47 in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2004 Jul;24(1):57-65.
84. 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.
85. 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.
86. British Thoracic Society, Treatment of diffuse parenchymal lung disease. *Thorax* 1999; 54:14-32.
87. 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.
88. Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB.: Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochemistry* 1978; 17: 2746-54
89. 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.
90. Zitnik RJ. Drug-induced lung disease: cancer chemotherapy agents. *J Respir Dis* 1995; 16: 855-65.
91. Cherniack RM, Abrams J, Kalica AR.: Pulmonary disease associated with breast cancer therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:1169-73.
92. Smith RE, Strieter RM, Zhang K, Phan SH, Standiford TJ, Lukacs NW.: A role for C-C chemokines in fibrotic lung disease. *J Leukoc Biol* 1995; 57:782-7.
93. Kovacs EJ, Kelly J.: Secretion of macrophage-derived growth factors during acute lung injury induced by bleomycin. *J Leukoc Biol* 1985; 37:1-14.
94. Yehualaeshet, T, O'Connor R, Green-Johnson J, Mai S, Silverstein R, Murphy-Ullrich JE, Khalil N.: Activation of rat alveolar macrophage-derived L-TGF- β 1 by plasmin requires interaction with TSP-1 and the its cell surface receptor, CD36. *Am J Pathol* 1999; 155:841-51
95. Maeda A, Hiyama K, Yamakido H, Ishioka S, Yamakido M.: Increased expression of platelet-derived growth factor A and insulin-like growth factor-I in BAL cells

- during the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Chest* 1996; 109:780-6.
96. Gharaee-Kermani M, McGarry B, Lukacs N, Huffnagle G, Egan RW, Phan SH.: The role of IL-5 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *J Leukoc Biol* 1998; 64:657-66.
 97. Massi G, Chiarelli C.: Alpha1-antitripsin: molecular structure and the Pi system. *Acta Pediatr Suppl* 1994; 393:1-4.
 98. Raghov R, Lurie S, Seyer JM, Kang AH.: Profiles of steady state levels of messenger RNAs coding for type I procollagen, elastin and fibronectin in hamster lungs undergoing bleomycin-induced interstitial pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1985; 76:1733-9.
 99. Phan SH, Thrall RS, Ward PA. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats: biochemical demonstration of increased rate of collagen synthesis. *Am Rev Respir Dis* 1980; 121:501-506.
 100. Bray BA, Sampson PM, Osman M, Giandomenico A, Turino GM.: Early changes in lung tissue hyaluronan (hyaluronic acid) and hyaluronase in bleomycin-induced alveolitis in hamsters. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:284-8.
 101. Nettelbladt O, Hallgren R.: Hyaluronan (hyaluronic acid) in bronchoalveolar lavage fluid during the development of bleomycin-induced alveolitis in the rat. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140:1028-32.
 102. Chaudhary NI, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006 Apr 1;173(7):769-76.
 103. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv*. 2006;6: 36-47.
 104. Sayin O, Aslan N, Güner G. Resveratrol and Cardiovascular System. *Turk J Biochem* 2008; 33 (3) ; 117–121.
 105. Csiszar A, Smith K, Labinsky N. Resveratrol attenuates TNF- α induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF- κ B inhibition *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291: 1694–1699.
 106. Moskaug J, Carlsen H, Myhrstad MCV. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am J Clin Nutr*. 81(suppl): 2005;277S–283S.
 107. Paula M. Brito, Anabela Mariano, Leonor M. Almeida, Teresa C.P. Dinis. Resveratrol affords protection against peroxynitrite- mediated endothelial cell death: A role for intracellular glutathione. *Chem Biol Interact*. 2006;164: 157-166.
 108. Şener G, Tuğtepe H, Yüksel M. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Arch Med Res*. 2006;37: 822–829.
 109. Shen M, Jia GL, Wang YM. Cardioprotective effect of resvaratrol pretreatment on myocardial ischemia–reperfusion induced injury in rats. *Vascul Pharmacol*. 2006;45: 122–126.
 110. 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.
 111. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004;37:112-9.
 112. Draper HH, Hadley M.A review of recent studies on the metabolism of exogenous and endogenous malondialdehyde. *Xenobiotica*. 1990 Sep;20(9):901-7. Review.
 113. 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.
 114. Kliment CR, Oury TD. Oxidative stress, extracellular matrix targets, and idiopathic

- pulmonary fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 2010 May 6. [Epub ahead of print]
115. Aoki F, Kurabayashi M, Hasegawa Y, Kojima I. Attenuation of bleomycin-induced pulmonary fibrosis by follistatin. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 Sep 15;172(6):713-20. Epub 2005 Jun 23.
 116. Günther A, Lübke N, Ermert M, Schermuly RT, Weissmann N, Breithecker A. Et al. Prevention of bleomycin-induced lung fibrosis by aerosolization of heparin or urokinase in rabbits. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Dec 1;168(11):1358-65.
 117. Kakugawa T, Mukae H, Hayashi T, Ishii H, Abe K, Fujii T. Et al. Pirfenidone attenuates expression of HSP47 in murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2004 Jul;24(1):57-65.
 118. Piguet PF, Vesin C. Treatment by human recombinant soluble TNF receptor of pulmonary fibrosis induced by bleomycin or silica in mice. *Eur Respir J*. 1994 Mar;7(3):515-8.
 119. Piguet PF, Vesin C, Grau GE, Thompson RC. Interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra) prevents or cures pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica. *Cytokine*. 1993 Jan;5(1):57-61.
 120. Piguet PF, Rosen H, Vesin C, Grau GE. Effective treatment of the pulmonary fibrosis elicited in mice by bleomycin or silica with anti-CD-11 antibodies. *Am Rev Respir Dis*. 1993 Feb;147(2):435-41.
 121. Hart DA, Whidden P, Green F, Henkin J, Woods DE. Partial reversal of established bleomycin-induced pulmonary fibrosis by rh-urokinase in a rat model. *Clin Invest Med*. 1994 Apr;17(2):69-76.
 122. Taooka Y, Maeda A, Hiyama K, Ishioka S, Yamakido M. Effects of neutrophil elastase inhibitor on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997 Jul;156(1):260-5.
 123. Kelley J, Newman RA, Evans JN. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat. Prevention with an inhibitor of collagen synthesis. *J Lab Clin Med*. 1980 Dec;96(6):954-64.
 124. Yara S, Kawakami K, Kudiken 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.
 125. 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.
 126. Yildirim Z, Kotuk M, Iraz M, Kuku I, Ulu R, Armutcu F, Ozen S. Attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis by oral sulfydryl containing antioxidants in rats: erdosteine and N-acetylcysteine. *Pulm Pharmacol Ther* 2005; 18: 367-373.
 127. 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.
 128. Reynolds HY. Idiopathic pulmonary fibrosis: Contribution of bronchoalveolar lavage analysis. *Chest* 1986; 89:139-144.
 129. 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.
 130. 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.
 131. Crystal RG. Oxidants and respiratory tract epithelial injury: pathogenesis and strategies for therapeutic intervention. *Am J Med* 1991; 91: 39S-44S.
 132. 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.
133. Forman HJ, Skelton DC. Protection of alveolar macrophages from hyperoxia by gamma-glutamyl transpeptidase. *Am J Physiol* 1990; 259:102-107.
 134. 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.
 135. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengelyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:336-340.
 136. Sleijfer S. Bleomycin-induced pneumonitis. *Chest* 2001; 120: 617-624.
 137. 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.
 138. 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.
 139. Meyancı G, Arıcıoğlu F, Oz H, Aydemir A. The effects of intratracheal dexamethasone on lipid peroxidation in acute lung injury. *Cerrahpaşa J Med* 2001; 32: 20-24
 140. 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.
 141. Sogut S, Ozyurt H, Armutcu F, Kart L, Iraz M, Akyol O, Ozen S, Kaplan S, Temel I, Yildirim Z. Erdosteine prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *European Journal of Pharmacology* 2004;494: 213-220.
 142. Ozyurt H, Sogut, S, Yildirim Z, Kart L, Iraz M, Armutçu F, Temel I, Ozen S, Uzun A, Akyol O. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester (cape) on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin Chim Acta* 2004; 339: 65-75.
 143. 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.
 144. 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.
 145. Re, R, Pellegrini, N, Proteggente A, Pannala A., Yang M, Evans C.R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.* 1999;26 (9/10): 1231-1237.
 146. Ghiselli, A, Serafini, M, Natella, F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Clin. Biochem.* 2000;29 (11): 1106-1114.
 147. Erel, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation, *Clin. Biochem.* 2004.37: 277-285.
 148. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids, *J. Clin. Pathol.* 2001;54: 356-361.
 149. Rice-Evans C, Miller N.J. Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Methods. Enzymol.* 1994;234: 279-293.
 150. Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis: new insights in its pathogenesis. *Int Biochem Cell Biol* 2002; 34: 1534-1538.

