

Ratlarda Deneysel Akciğer Fibrozisinde Nitrik Oksit Oksidasyon Ürünleri ve Kan Gazları Düzeylerinin Araştırılması *

Ali Bilgin YILMAZ¹ Fatmagül YUR²

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Van, Türkiye

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD., Van, Türkiye

Geliş tarihi: 13.04.2010

Kabul Tarihi: 02.05.2010

ÖZET

Bu çalışmada, antitümoral etkili bir ajan olan bleomisin'in yan etkisi olarak şekillenen akciğer fibrozisinin, nitrik oksit metabolitleri ve kan gazları seviyeleri üzerine olan etkileri araştırıldı. Hayvan materyali olarak 16 Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Akciğer fibrozisini oluşturmak için bleomisin hidroklorid 7.5 mg/kg oranında tek doz intratrakeal olarak kullanıldı. Yapılan analizlerde, istatistiksel açıdan kontrol grubuna göre nitrit seviyesindeki artışlar $p < 0.001$ düzeyinde, nitrat seviyesindeki artışlar $p < 0.001$ düzeyinde, pH'daki artışlar $p < 0.001$ düzeyinde, pO_2 seviyesindeki düşüşler $p > 0.05$, tCO_2 düzeyindeki artışlar $p < 0.005$ düzeyinde önem arz etmiştir. HCO_3 değerinde istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Histopatolojik bulgularda akciğer fibrozisinin oluşumu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bleomisin'in sebep olduğu akciğer fibrozisinde hücrede meydana gelen hasardan ve oksidatif stresten dolayı kan gazları seviyeleri düşmüş ve nitrik oksit metabolitlerinde artış gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler

Nitrik oksit oksidasyon metabolitleri, Bleomisin, Kan gazları, Akciğer fibrozisi

Investigation of the Levels of Nitric Oxide Oxidation Products and Blood Gases Levels in the Experimental Pulmonary Fibrosis in Rats

SUMMARY

The levels of nitric oxide oxidation products and blood gases were studied on the experimental pulmonary fibrosis induced by a side effect of bleomycine, an antitumoral agent in rats. In this study 16 Wistar-Albino rats were used. The same animals values prior to the experimental treatment were considered as the control. To establish the experimental fibrosis, bleomycine hydrochloride was used intratracheally at a single dose of 7.5 mg/kg. After the fibrosis was performed, nitrite, nitrate and blood gases were carried out in the blood and serum. From the analysis made, the statistical are; interms of the control group; increase in the nitrite rate is $p < 0.001$, the increases in the nitrate rate is $p < 0.001$, the decreases in pCO_2 is $p < 0.001$, the increases in pH is at rate of $p < 0.001$, the decreases in pO_2 is $p > 0.05$ and the increase at the rate of tCO_2 is $p < 0.05$. These findings have great importance. At the rate of HCO_3 no statistical difference was found ($p > 0.05$). Formation of the pulmonary fibrosis was demonstrated by histopathology findings. As a result, in lung fibrosis, which is caused by bleomycine, the changes in rates of nitric oxide oxidation products and blood gases show that there may have been oxidative stress, and it means that fibrosis has occurred in lung.

Key Words

Nitric oxide oxidation products, Bleomycine, Blood gases, Pulmonary fibrosis

GİRİŞ

Nitrik oksit, renksiz bir gazdır. Yüksek konsantrasyonlardaki nitrik oksit oksijensiz ortamda oldukça stabil olup suda erime özelliği gösterir ve düşük konsantrasyondaki nitrik oksit oksijen varlığında dahi stabildir. Havadaki nitrik oksit kısa sürede O_2 'le oksitlenerek nitrojen dioksit dönüşür. Nitrojen dioksit, dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. Nitrik oksit, üzerinde yük taşıyamaması ve çiftlenmemiş elektron bulundurması, kendisinin hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır. Nitrik oksit, taşıdığı çiftlenmemiş elektron nedeniyle bir radikal molekül olarak isimlendirilebilir. Serbest radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken, nitrik oksit düşük konsantrasyonlarda çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz nitrik oksit sentezi hücreler için zararlı

olmaktadır. Nitrik oksit, bu özellikleri ile çok ideal bir fizyolojik haberci molekül özelliği kazanmaktadır (Nussler ve ark. 1993, Lowenstein ve ark. 1994, Palmer ve ark. 1988). Arter kan gazı ölçümleri; solunum sistemi fonksiyon bozukluklarının tanınmasında ve solunum yetmezliğinin patofizyolojisi ile ilgili mekanizmanın anlaşılmasında, kompensasyon derecesinin belirlenmesinde, asit baz durumunun tanımlanması ve izlenmesinde en güvenilir yöntemdir. Akciğerlerin, ventilasyonda az bir değişiklikte CO_2 eliminasyonunda farklılıklar oluşturabilme yeteneği, vücudun asit baz dengesinde önemli rol oynar. Vücutta asit ve baz dengesinin bozulması; metabolik asidoz, metabolik alkaloz, solunumsal asidoz, solunumsal alkalozu yol açar (Şahin 1995, Yenel 1996, Ruppel 1998).

Bleomisin, akciğerlerde akümülyasyon sonucunda interstisyel fibrozise neden olan sitostatik bir

antibiyotiktir. Özellikle, germ hücreli tümör, baş ve boyun kanserleri ve lenfomaların tedavisinde kullanılan bleomisin toplam dozu 400 mg'ı aştığında, akciğerde fibrotik etki başlamaktadır. Bunun yanı sıra, eş zamanlı radyoterapi ya da oksijen tedavisi alınması da fibrozis gelişimini hızlandırır (Jules-Elysee ve ark. 1990).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, bleomisine bağlı gelişen akciğer fibrozisinin patogeneğinde, ilacın doğrudan toksik etkisine bağlı olarak açığa çıkan reaktif oksijen metabolitlerinin yanı sıra ortama göç eden lenfosit, makrofaj, nötrofil, eozinofil ve epitel hücrelerinden salınan sitokinlerin de rol oynadığı gösterilmiştir (Tanoue 1998).

Bu çalışmada bleomisin, uygulamasına bağlı olarak şekillenen akciğer fibrozisinde, nitrik oksit oksidasyon ürünleri ve kan gazları düzeyleri değişimleri incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın materyalini 180–200 gr canlı ağırlığa sahip, 16 Wistar–Albino ırkı erkek rat oluşturdu. Ratlar deneme süresi adaptasyonları için bir hafta süreyle bekletildi. Ratlar deneme öncesi ve deneme süresince ad libitum beslenmeye tabi tutuldular ve önlerinde devamlı içecek su bulunduruldu. Ratların beslenmesi özel rat yemleriyle yapıldı. Hayvanlar 8 kontrol grubu ve 8 deneme grubu olarak ayrıldı. Ratlarda deneysel akciğer fibrozisi oluşturabilmek için bleomisin hidroklorid (Nippon Kayaku, Tokyo, Japan) kullanıldı. Bleomisin hidroklorid 10 ml distile su içinde çözüldü. Kontrol grubu ratlara intratrakeal olarak serum fizyolojik verildi. Deneme grubu ratlar ise kapalı bir fanus içerisinde klorofom ile uyutulduktan sonra bleomisin hidroklorid, 7.5 mg/kg/canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı (Özyurt ve ark. 2004). Denemeye başlamadan önce kontrol değerlerini elde etmek için direkt kalpten usulüne uygun olarak kan örnekleri normal ve sitratlı tüplere alındı. Deneme süresi 14 gün olarak ayarlandı ve denemenin 1. haftasının sonu ile 2. haftasının sonunda usulüne uygun olarak kan örnekleri alındı.

Serumda nitrik oksit oksidasyon ürünlerinin konsantrasyonları Compling ayırıcı ile Sthar metoduna göre spektrofotometrik olarak tayin edildi (Sthar 1977). Kan gazı analizleri kanlar alındıktan hemen sonra kan gazı analizatörü (IL 1610 Blood Gas Analyser) ile yapıldı.

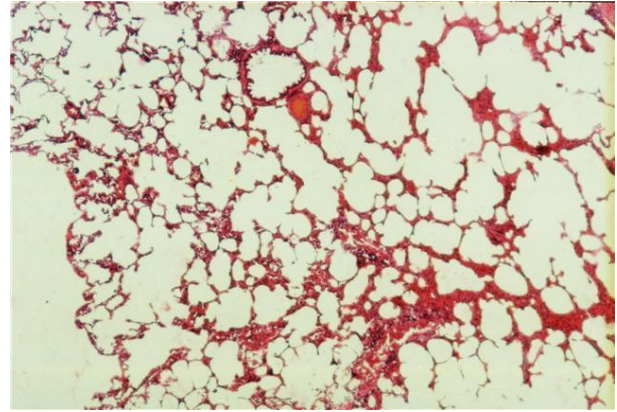
İnsancıl bir şekilde uyutulan ratlardan alınan ve + 4 °C' da %10'luk nötral formol çözeltisinde muhafaza edilen akciğer örneklerinin tespiti yapıldıktan sonra, bunlardan rutin işlemlerle parafin bloklar hazırlanarak 7 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hemotoksilen-eosin boyama tekniği ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi (Bancroft 1984).

Deneme grubu verileri ile kontrol grubu verileri karşılaştırıldı. İstatiksel analizler SPSS 11.00 paket programı ile yapıldı. Gruplar arası farkın önemi varyans analizi ile kontrol edildi, çoklu karşılaştırma için Duncan testi kullanıldı (Akgül 2003). Deneme ve kontrol verilerine ait değerler standart ± standart hata olarak tablolar halinde gösterildi.

BULGULAR

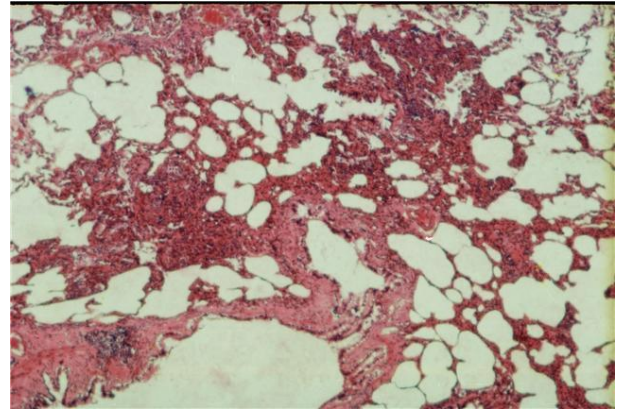
Histopatolojik bakıda, kontrol grubu interalveoler septumların normal histolojik görünüşte olduğu gözlemlendi (Şekil 1). Deneme grubu birinci hafta histopatolojik bulgularında, perikapiller damarlarda hiperemi, interstisiyel alanlarda yer yer mononükleer hücre infiltrasyonları (Şekil 2), denemenin ikinci haftasında ise

interalveoler septal dokuda ileri düzeyde fibröz bağ doku artışı, peribronşiyolar ve perivasküler alanlarda fokal lenfoid hücre infiltrasyonları (Şekil 3) gözlemlendi.



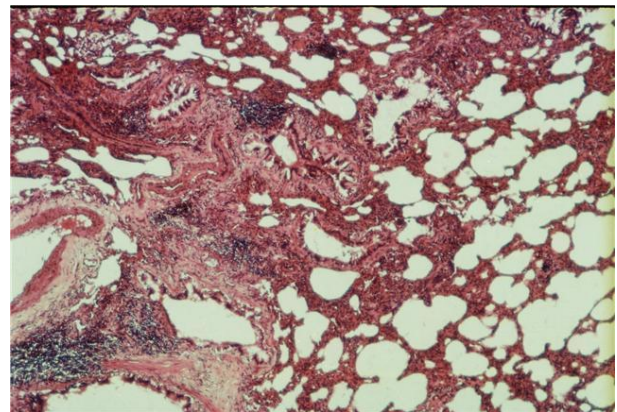
Şekil 1. Kontrol grubu ratlara ait normal akciğer doku örneğinin histolojik görünümü (HE x 80).

Figure 1. Normal lung tissue samples of the control group of rats the histological appearance (HE x 80).



Şekil 2. Orta derecede fibrozis ve perialveoler kapillarda hiperemi ve mononükleer hücre infiltrasyonları (1. Hafta, HE x 80).

Figure 2. Fibrosis and hyperemia and moderate mononuclear cell infiltrations perialveolar capillaries (1. Week, HE x 80).



Şekil 3. İnteralveoler septal dokuda ileri düzeyde fibrozis, peribronşiyolar fokal lenfoid hücre infiltrasyonları (2. Hafta, HE x 80).

Figure 3. Advanced tissue interalveolar septal fibrosis, focal lymphoid cell infiltrations peribronchiole (2. Week, HE x 80).

Bleomisin verilerek oluşturulan akciğer fibrozisli ve kontrol gurubundaki ratlardan alınan kanlardaki nitrik oksit oksidasyon ürünlerinin düzeyleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Yapılan araştırmada deneme guruplarının 1. ve 2. haftasında ölçülen nitrit konsantrasyonları kontrol gurubuna göre $p < 0.001$ oranında yüksek bulundu. Deneme gurubunun 2. haftasında ölçülen nitrat konsantrasyonları ile kontrol gurubunun nitrat konsantrasyonları arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$) (Tablo 1).

Akciğer fibrozisli ve kontrol gurubu ratlardan alınan kanlardaki kan gazları düzeyleri tablo 2'de gösterilmiştir.

pH düzeyinde kontrole göre, 1. ve 2. hafta deneme grubu arasındaki fark istatistik olarak $p < 0.001$ seviyesinde bir

anlam ifade etti. 1. hafta ve 2. hafta deneme grubu arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). pCO_2 kontrol grubu ile 1. ve 2. hafta arasında istatistik olarak $p < 0.001$ düzeyinde bir anlam ifade etti. Ancak 1. hafta ve 2. hafta arasında istatistiksel açıdan fark bulunamadı ($p > 0.05$). pO_2 düzeyinde kontrole göre, deney grubunda gözlenen düşmeler istatistiksel açıdan anlam ifade etmedi ($p > 0.05$). tCO_2 değeri kontrol grubu ile 1. ve 2. hafta deneme grubu arasında istatistiksel açıdan $p < 0.05$ kadar önem arz etmiştir. Ancak birinci hafta ile ikinci hafta arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). HCO_3 değerinde kontrol grubu ile deneme grupları arasında istatistiksel açıdan önem gözlenmedi ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu ratlarının Nitrit ve Nitrat düzeyleri

Table 1. Nitrite and Nitrate levels of control and experimental groups of rats

Parametre	Kontrol ($x \pm Sx$)	Deneme Grubu		
		n	1. Hafta ($x \pm Sx$)	2. Hafta ($x \pm Sx$)
Nitrit (ppm)	1.74±0.096 ^b	8	4.41±0.69 ^a	10.18±0.899 ^a
Nitrat(ppm)	3.83±0.384 ^b	8	3.66±0.214 ^a	17.39±1.632 ^a

^a $p < 0.001$ ^b $p < 0.05$; a,b: Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen veriler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

Tablo 2. Kontrol ve deneme grubu ratların pH, pCO_2 , pO_2 , tCO_2 , HCO_3 düzeyleri

Table 2. Control and experimental group rats pH, pCO_2 , pO_2 , tCO_2 , HCO_3 levels

Parametre	Kontrol ($x \pm Sx$)	Deneme Grubu		
		n	1. Hafta ($x \pm Sx$)	2. Hafta ($x \pm Sx$)
pH	7.44±0.032 ^a	8	7.36±0.014 ^b	7.25±0.035 ^b
pCO_2 (mmHg)	33.31±2.952 ^a	8	57.96±4.122 ^b	64.33±3.389 ^b
pO_2 (mmHg)	61.96±8.316 ^b	8	58.33±8.257 ^b	43.75±8.885 ^b
tCO_2 (mmol/l)	22.58±1.144 ^a	8	36.55±3.387 ^b	35.1±2.478 ^a
HCO_3 (mmol/l)	22.79±1.037 ^b	8	28.48±1.134 ^b	26.59±1.383 ^b

^a $p < 0.001$ ^b $p < 0.05$; a,b: Aynı satırdaki farklı harflerle gösterilen veriler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Nitrik oksit, l-argininden nitrik oksit sentetaz enzimi vasıtasıyla ortaya çıkan bir madde olup, yarılanma ömrü çok kısa olduğu için inaktif yapıdaki nitrit (NO_2) ve nitrate (NO_3) dönüşür (Mizutani ve ark. 1996, Barnes ve ark. 1993).

Bronkodilatör bir gaz olan nitrik oksit, aynı zamanda bronşiyal dolaşımında potansiyel bir vazodilatör olması nedeniyle de plazma eksüdasyonu ve inflamatuvar mediatörlerin bronşiyal epitelde göllenmesine yol açabilir. Sentez edildikten sonra hava yollarındaki inflamatuvar hücreler tarafından oluşturulan süperoksit anyonla birleşerek, gerek direkt olarak gerekse de toksik hidroksil radikalleri oluşturarak havayollarında epitelyal hasara yol açarlar. Bu nedenle nitrik oksitin bronşiyal inflamasyonu belirlemede iyi bir marker olduğu kabul edilmektedir (Kanazawa ve ark. 1997).

Nitrik oksit, bir serbest radikaldir. Ayrıca, organizmada peroksinitrit anyonu ve hidroksil radikali gibi çok etkin radikallerin üretilmesine neden olur. Bu radikaller

dokulara zarar verir. Öte yandan doğrudan doğruya mitokondriyal solunum zincirini inhibe ettiği bilinmektedir (Yücel ve ark. 1998).

Nitrik oksit aynı zamanda serbest radikal süperoksit tarafından da inaktive edilmektedir. Böylece süperoksit dismutaz gibi süperoksidi ortadan kaldıran enzimler, nitrik oksidin ömrünü uzatabilir. Nitrik oksidin süperoksitle reaksiyonu sonunda peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur ki bu, oldukça güçlü doku hasarına yol açan bir maddedir (Ellis ve ark. 1992).

Bleomisin toksisitesi, otokatalitik bir mekanizma ile hücrel membranların hasarına yol açan lipid peroksidasyonu ile ilişkilidir ve membran yıkımı, toksik reaktif metabolitlerin üretimi ve hücre ölümüne yol açabilir (Armutçu ve ark. 2004).

Tutluoğlu ve ark. (2000), bronşiyal astımda nazal lavajda nitrit/nitrat miktarının arttığını, özellikle bu durumun astım atağındaki hastalarda belirgin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Saleh ve ark. (1997) idyopatik pulmoner fibrozisli 48 hastada makrofaj, nötrofil ve alveolar epitellerde nitrik oksit sentetaz ve nitrofitrozinin güçlü ekspresyonunu gözlemişlerdir. Peroxinitrit ile nitrik oksidin artan üretiminin bu hastalarda oksidatif hasardan sorumlu olabileceklerini söylemişlerdir.

Behera ve ark. (2002) idyopatik pulmoner fibrozisli 10 hastada bronkoalveoler lavajda kontrollere oranla nitrat ve nitrit miktarlarında önemli artış ($p < 0.05$ ile $p < 0.01$) bulmuşlardır. Bu araştırmacılar, nitrik oksit miktarının hastalık bulguları açısından önemli rolü olduğu kanısına varmışlardır.

Montaldo ve ark. (2002) idyopatik pulmoner fibrozisli ve sarkoidozisli hastalarda bronkoalveoler nitrat, nitrit ve glutatyon seviyelerini araştırmışlar, çalışma sonucunda bu hastalıkların tedavisinde ve patogenezisinde antioksidan savunma sistemi ve inflamasyonda nitrik oksidin önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Giri ve ark. (2002) çalışmalarında bleomisin neden olduğu akciğer fibrozisinin patogenezisinde nitrik oksit üretiminin rol oynadığını, hastalığın morfolojik ve biyokimyasal olarak ilk dönemlerini tespit etmede ve bleomisinin etkisini minimize etmek için aminoguanidinin önemli bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir.

Armutcu ve ark. (2004) bleomisin verilen ratlarda plazma ve eritrositlerin oksidan ve antioksidan durumu ve erdostein ve vitamin E'nin koruyucu rolü üzerine yaptıkları araştırmada, bleomisin verilmesinin lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan tiyobarbitürik asitle reaksiyon veren madde (TBARS) ve nitrik oksit düzeylerini arttırdığını gözlemişlerdir.

Çalışmada ve bu konuda yapılan benzer çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, artan nötrofilik inflamasyon nedeniyle ve oksidan-antioksidan dengesizliğine bağlı olarak nitrik oksit seviyeleri yüksek gözlenmektedir.

Akciğer fibrozisinde nitrik oksit yüksekliği dokulara zarar verebilir ve nitrik oksit artışı, büyük olasılıkla sitokinler aracılığıyla olmaktadır. Nitrik oksit dokularda büyük hasara neden olan süperoksit reaksiyonu sonucu peroksinitrite dönüşmektedir.

Kullanılan antineoplastik ajandan kaynaklanan ve oksidatif hasara bağlı olarak şekillenen nitrik oksit metabolitlerindeki kısmi artmalar, literatür verileriyle uyum göstermektedir (Byung ve ark. 1994, Behera ve ark. 1997, Montaldo ve ark. 2002, Giri ve ark. 2002).

Akciğer kapiller kan ve alveol gazı arasında O_2 dengesizliği, diffüzyon bozukluğu olarak tanımlanabilir. Diffüzyon bozukluğu, akciğer kapillerinde kan O_2 temas süresinin ileri derecede kısaldığı, kan gaz bariyerinin kalınlaştığı durumlar nedeniyle etkilenebilir. İstirahat halinde temas süresi $\frac{3}{4}$ kadar olup O_2 temas süresi $\frac{1}{3}$ kadardır. O_2 'nin teması için oldukça uzun bir temas süresi vardır. İdiyopatik pulmoner fibrozis gibi kan gaz bariyerinin ileri derecede kalınlaştığı durumlarda ve istirahatta O_2 temas süresi, yedek zaman kullanımı ile hipoksemiye engelleyebilir ya da hafif derecede gerçekleşir. Ancak temas süresinin azaldığı egzersiz anında hipoksemi şiddetlenir veya belirgin hale gelir (Jefferies ve ark. 1999).

Alveoler ventilasyonda primer olarak azalma, solunumsal asidozun gelişmesinden kaynaklanmaktadır. Solunumsal asidoza karşılık kompensatuvar cevap, hücre içindeki H^+ iyonlarının tamponlanması ile ani olarak başlar. Böbrek bikarbonat reabsorbsiyon kapasitesini arttırdığı için kronik kompensasyon daha yavaş olarak gelişir. Önemli bir idrar tamponu olan amonyak üretiminde artış, böbrekler

tarafından hidrojen iyonunun atılımını artırır (Shapiro ve ark. 1994).

Bu çalışmada, pO_2 miktarının kontrol gurubuna göre deney guruplarında azaldığı ve pCO_2 miktarının arttığı tespit edilmiştir. pCO_2 her mm Hg artışında pO_2 yaklaşık 1 mmHg düşer. Buna göre pCO_2 'nin 40 mmHg den 70 mmHg ye yükseldiğinde, pO_2 100 mmHg den 70 mmHg ye düşer. Bu hipoventilasyona genellikle akciğer hastalıkları neden olur. Difüzyon bozukluğuna neden olan hastalıklardan biri olan pulmoner fibrozisde de, oksijen için yeterli geçiş zamanı olmamasından dolayı hipoksemi meydana gelmektedir (Tosun ve ark. 2000).

Yapılan araştırmada da, pO_2 miktarının 1. ve 2. haftada azalması ve pCO_2 miktarının artması akciğer fibrozisinin bir göstergesi ve diffüzyon bozukluğuna neden olmasından ileri gelmesi ile açıklanabilir.

Araştırmada deneme guruplarında 1. ve 2. haftada $pH < 7.35$, $pCO_2 > 45$ mmHg ve $HCO_3^- > 22$ mmol/l olması, akut ventilatuar yetmezliği olarak tanımlanır. Bunun nedeni olarak, yetersiz alveoler ventilasyonla arteriyel pH'nın 7.35'den daha az olması ventilatuar mekanizmaların yetersizliği veya akut dekompanseasyonu gösterebilir. Bu durum sıklıkla hayatı tehdit eden bir durumdur (Tosun ve ark. 2000, Koçyiğit 2002).

Çalışmada bleomisinle oluşturulan akciğer fibrozisinden dolayı kan gazlarındaki değişimler değerlendirildiğinde, ciddi bir hipoksemi ve bununda neden olduğu akut ventilatuar yetersizlik (respiratuar asidoz) olduğu sonucuna varılabilir.

Sonuç olarak, bleomisin bildirilen bir komplikasyonu olarak şekillenen akciğer fibrozisinde, nitrik oksit oksidasyon ürünleri ve kan gazları seviyelerinde önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Artan nitrik oksit oksidasyon ürünlerinin hücrelerde hasar meydana getirebilecekleri ve oksidatif strese neden olacakları, bunların en belirgin bulguları olarak da kan gazlarındaki değişikliklerin, bunların en belirgin bulguları olarak değerlendirilebileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Akgül A (2003).** Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri: SPSS Uygulamaları. 2. baskı, Emek Ofset Ltd. Şti, Ankara.
- Armutcu F, Söğüt S, Gürel A, Kart L, Coşkun Ö (2004).** Bleomisin verilen ratlarda plazma ve eritrositlerin oksidan ve antioksidan durumu. Erdostein ve vitamin E'nin koruyucu rolü. *Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 14(4), 205-213.
- Barnes PJ, Belvisi MG (1993).** Nitric oxide and lung disease. *Thorax*, 48(10), 1034-1043.
- Bancroft JD, Cook HC (1984).** Manual of Histological Techniques. Churchill-Livingstone, New York.
- Behera D, Kaur S, Sathyanarayana G, Bhatnagar A, Majumdar S (2002).** Nitric oxide derivate in bronchoalveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Indian J Chest Dis Sci*, 44(1), 21-24.
- Byung PY (1994).** Cellular defenses against damage from reactive species. *Am J Physiol*, 74, 139-172.
- Ellis JL, Udem BJ (1992).** Inhibition by L-NG-Nitro-L-Arginine of nonadrenergic-noncholinergic-mediated relaxation of human isolated central and peripheral airways. *Am Rev Respir Dis*, 146, 1543-1547.
- Giri SN, Biring I, Nguyen T, Wang Q, Hyde DM (2002).** Abrogation of bleomycin-induced lung fibrosis by nitric oxide synthase inhibitor, aminoguanidine in mice. *Nitric Oxide*, 7(2), 109-118.
- Jefferies A, Turley A (1999).** Perfusion and gas transport. Mosby's crash course "Respiratory System". London, Mosby Ltd, 59-85.
- Jules-Elysee K, White DA (1990).** Bleomycin-induced pulmonary toxicity. *Clin Chest Med*, 11, 1-20.

- Kanazawa H, Shoji S, Yamada M et al. (1997).** Increased levels of nitric oxide derivatives in induced sputum in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 99(5), 624-629.
- Koçyiğit E (2002).** İnterstisyel akciğer hastalıkları ve kronik solunum yetmezliği. *Solunum*, 4(2), 343-446.
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH (1994).** Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med*, 120, 227-237.
- Mizutani T, Layon AJ (1996).** Clinical applications of nitric oxide. *Chest*, 110(2), 506-524.
- Montaldo C, Cannas E, Ledda M, Rosetti L, Atzori L (2002).** Broncoalveolar glutathione and nitrite/nitrate in idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*, 19(1), 54-58.
- Nussler AK, Billiar TR:** Inflammation immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *J Leukoc Biol*, 9, 109-137, 1993.
- Özyurt H, Söğüt S, Kart L (2004).** Unhibitory effect of caffeic acid phanethyester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. *Clin Chim Acta*, 339, 65-75.
- Palmer RMJ, Asthon DS, Moncada S (1988).** Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from l-arginine. *Nature*, 333, 664-666.
- Ruppel GL (1998).** Manual of Pulmonary Function Testing. 7th ed. 133-158, St. Louis, Missouri.
- Saleh D, Barnes PJ, Giaid A (1997).** Increased production of the potent oxidant peroxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 155(5), 1763-1769.
- Shapiro BA, Peruzzi WT, Templin R (1994).** Arterial oxygenation. In, Shapiro BA, Peruzzi WT, Templin R (Eds): Clinical application of blood gases. 5th edition. pp. 33-54. Mosby, St Louis.
- Sthar HM (1977).** Analytical Toxicology Methods Manual. 68-71, Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Şahin A (1995).** Arteriyel kan gazları. Barış YI (Ed): Solunum hastalıklarında temel yaklaşım. 76-86, Akciğer Hastalıkları Vakfı Yayınları, Ankara.
- Tanoue LT (1998).** Pulmonary toxicity associated with chemotherapeutic agents. In, Fishman AP (Ed): Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd ed. Mc Grawhill Vol (1), New York, 66, 1003-1016.
- Tosun GA, Tutluoğlu B (2000).** Arter kan gazları ve asit baz dengesi. *Solunum*, 2, 202-213.
- Tutluoğlu B, Gümüştas MK, Müsellim G ve ark. (2000).** Bronşiyal astımda nazal lavajda nitrik oksit metabolitleri. *Turk Arch Otolaryngol*, 38(1), 42-50.
- Yenel F (1996).** Arteriyel Kan Gazları. Akciğer Fonksiyon Testleri. 57-66, Dilek Matbaası, İstanbul.
- Yücel D, Aydoğdu S, Çehreli Ş ve ark. (1998).** Increased oxidative stress in dilated cardiomyopathic heart failure. *Clin Chem*, 44, 148-154.