

Klinik Çalışma

Ratlarda Bleomisin ile Oluşturulan Akciğer Fibrozisi Üzerine Tere Otu (*Lepidium sativum L.*)'nun Sitoprotektif Etkileri

Ahmet Küçük, Gökhan Oto, Hülya Özdemir

Özet

Amaç: Bu çalışmada bleomisin (BLM) uygulanan ratlarda, *Lepidium sativum L.*'nin akciğer fibrozisi üzerine sitoprotektif etkileri araştırıldı.

Yöntem: Ratlar her grupta 8'er tane olmak üzere toplam 4 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki ratlar kontrol grubu olarak ayrıldı. İkinci grup ratlara BLM 7,5 mg/kg canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı. Üçüncü gruptaki ratlara tek doz 7,5 mg/kg BLM'ye ilave olarak *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstresi 20 mg/kg oral olarak 30 gün uygulandı. Dördüncü grup ratlara ise tek doz 7,5 mg/kg BLM'ye ilave olarak *Lepidium sativum L.*'nin su ekstresi 20 mg/kg oral olarak 30 gün uygulandı.

Bulgular: 30. günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, BLM uygulanan grupta, fibrozisin derecesinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0.01$) tespit edildi. Yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *Lepidium sativum L.*'nin metanol ve su ekstrelerinde fibrozisin derecesinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0.01$) ancak bu grupların BLM grubu ile karşılaştırıldığında ise fibrozisin derecesinin anlamlı olarak düşük olduğu ($p<0.01$) tespit edildi. *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstresinin uygulandığı grup ile su ekstresinin uygulandığı grup karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılığın önemli olmadığı tespit edildi.

Sonuç: Ratlarda BLM'nin neden olduğu akciğer fibrozisinin *Lepidium sativum L.* uygulamasıyla azaltılabileceği görüldü. *Lepidium sativum L.*'nin bu koruyucu etkinliğinin, güçlü antioksidan etkinliği ile serbest oksijen radikallerinin oluşumunu engellemesi ya da ortamdaki eliminasyonu ile açıklanabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Bleomisin, *Lepidium sativum L.*, fibrozis, sitoprotektivite, rat

Bleomisin (BLM), *Streptomyces verticillus* türünden elde edilmiş antitümöral etkili bir antibiyotiktir (1). BLM'nin etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, aktivitesini DNA sentezi ve daha az olarak da RNA ve protein sentezini inhibe ederek gösterdiği iddia edilmektedir (2). BLM; bazı lenfoma türleri, germ hücre tümörleri, baş-boyun kanserleri gibi

bir çok malignenside antikanserojen ilaç olarak kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir (3).

BLM'nin değişik kanser türlerinde etkili bir ajan olduğu bildirilmesine rağmen, yapılan farklı klinik çalışmalarda BLM kullanımına bağlı olarak zaman içerisinde interstisyal akciğer fibrozisinin gelişme riski olduğundan kullanımının kısıtlanması gerektiği vurgulanmıştır (4). Pulmoner fibrozis sık görülen, genellikle ölümcül seyreden ve halen kullanılmakta olan tedavilerin hastaların prognozu üzerine çok az etkili olduğu (5); anormal akciğer fizyolojisi ve kollojen, elastin ve proteoglikan gibi bir çok matriks moleküllerinin aşırı üretimi ile karakterize olan bir interstisyel akciğer hastalığıdır (6).

BLM'yi inaktive eden hidrolaz enziminin, akciğer dokusunda diğer dokulara oranla çok düşük düzeyde bulunmasından dolayı, yan etki olarak, özellikle akciğerlerde yaygın fibrozis ve interstisyel pnömoni oluşturduğu ve BLM kullanılan hastalarda akciğer hasarı gelişme oranının %3-40 oranında değişebildiği bildirilmektedir (3). Bu durumda gelişen akciğer fibrozisinde serbest oksijen radikallerinin önemli faktörlerden biri olduğu iddia edilmektedir (7).

*Bu çalışma YYÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Ahmet KÜÇÜK'ün Yüksek Lisans tez çalışmasının özetidir. 22 Ekim 2010'da Mersin'de yapılan Çevre ve Toksikoloji Sempozyumunda Poster sunumu yapılmıştır.

Bu çalışmanın deneme aşaması Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinde; laboratuvar çalışmaları ise Farmakoloji AD ve Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Gökhan OTO

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Van

Tlf: 0 505 5621842

E-posta: gokhanoto@yyu.edu.tr

Makalenin Geliş Tarihi: 15.01.2013

Makalenin Kabul Tarihi: 04.07.2013

Aktive olmuş oksijen türlerinin, DNA kırıklarının yanı sıra ilave olarak lipid peroksidasyonuna da sebep olduğu bildirilmektedir (2).

Lepidium sativum L.'nin en sık kullanılan adı tere otu'dur (8). Cruciferae (Turpgiller) familyasından olup Güney Batı Asya kökenlidir (9). 20- 50 cm yükseklikte, beyaz veya pembe çiçekli, yıllık otsu bir bitkidir. Meyvelerinin tek tohumlu olmasıyla su teresinden (*Nasturtium officinale*) ayrılmaktadır (10). Taze tere otu bitkisinin toprak üstü kısımlarının 100 gramında 82,3 g su, 5,8 g protein, 1 g yağ, 8,7 g karbonhidrat, 28,6 mg demir, 606 mg potasyum, 76 mg fosfor, 930 IU vitamin A, 0,08 mg B1 vitamini; 0,26 mg B2 vitamini; 1 mg B3 vitamini; 0,24 mg B6 vitamini ve 87 mg C vitamini bulunmaktadır (11). Orlovskaya ve Chelombit'ko (12), tere tohumlarında fenolik bileşikler olarak, gallik asid (%9,44), klorojenik asid (%14,77), ferulik asid (%5,63), neoklorojenik asid (%2,22), luteolin-7-glikozide (%14,67), dihidroquersetin (%4,37) ve quersetin (%3,15) bulunduğunu bildirmektedir.

Lepidium sativum L.'nin antihipertansif ve diüretik (13); hipoglisemik (14); kemoprotektif (15); antiastmatik (16); antispazmodik (17); hepatoprotektif (18); antienflamatuvar ve antioksidan (19) etkilerinin olduğu, ayrıca sağlıklı beslenmede alternatif bir gıda kaynağı olabileceği (20) bildirilmektedir.

Bu çalışmada, BLM uygulanan ratlarda meydana gelen akciğer fibrozisine karşı *Lepidium sativum L.*'nin sitoprotektif etkileri incelendi.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanı

Bu çalışmada kullanılan Rat'lar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi, Deneysel Araştırmalar Birimi'nden temin edildi. Çalışmanın yapılabilmesi için Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan etik kurul onay belgesi alındı. Çalışmada ortalama 4,5-5 aylık ve 250-300 g canlı ağırlığa sahip 32 adet Wistar-Albino ırkı erkek ratlar kullanıldı. Ratlar denemeye alınmadan önce ortama adaptasyonları için 15 gün süreyle bekletildi. Ratların beslenmesinde standart pelet yem (Van Yem AŞ) ve şehir şebeke suyu kullanıldı.

Bitki Materyali ve Ekstraksiyonu

Bu çalışmada kullanılan bitki materyalini oluşturan *Lepidium sativum L.* bitkisi, Van İl Merkezinden temin edilip, YYÜ Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Herbaryumunda gerekli tanımlama işlemleri yapılarak örnek materyal 155879 kayıt numarası ile kayıt altına

alındı. Gölgede kurutulmuş *Lepidium sativum L.*'nin toprak üstü kısımları elektrikli değirmende öğütülüp 0,4 mm'lik elekten geçirildi ve renkli cam kavanozlarda ağzı hava almayacak şekilde kullanıma hazır halde bekletildi. *Lepidium sativum L.* Numuneleri, 50 °C'ye ayarlanan soksalet cihazında 24 saat süresince metanol ile ekstraksiyon işlemine ve ardından rotary evaporatör cihazında metanol'ün ayrıştırılması işlemine tabi tutularak kalan ekstraktın yüzde verimi hesaplandı. *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstraktı ratlara oral yolla, 20 mg/kg dozunda günlük olarak uygulandı (14).

Lepidium sativum L.'nin su ekstraksiyonu Eddouks ve ark. (14)'nin çalışmalarında kullandıkları dekoksasyon metodu modifiye edilerek yapıldı. Bir gramlık öğütülmüş *Lepidium sativum L.* 100 mL distile suda 10 dakika kaynatıldı ve sonra 15 dakikalık süre ile soğumaya bırakıldı. Daha sonra Watman süzgeç kâğıdından filtre edilen ekstrakt etüv'de kurutularak yüzde verimi hesaplandı. Günlük olarak hazırlanan su ekstraktı, ratlara oral yolla 20 mg/kg dozunda günlük olarak uygulandı.

Uygulama

Çalışmada 32 Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Çalışma süresi 30 gün olarak planlandı. Ratlar her grupta 8'er tane olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

Birinci gruptaki ratlar, kontrol grubu olarak ayrıldı. İkinci grup ratlara BLM 7,5 mg/kg canlı ağırlık oranında intratrakeal olarak tek doz şeklinde uygulandı (21). Üçüncü gruptaki ratlara tek doz 7,5 mg/kg BLM'ye ilave olarak *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstresi 20 mg/kg oral olarak 30 gün uygulandı. Dördüncü grup ratlara ise tek doz 7,5 mg/kg BLM'ye ilave olarak *Lepidium sativum L.*'nin su ekstresi 20 mg/kg oral olarak 30 gün uygulandı.

Otuzuncu günün sonunda ratlara 50 mg/kg i.m. ketamin anestezisi altında, dekapitasyon işlemi yapılarak doku örnekleri alındı ve gerekli histopatolojik analizler yapıldı.

Histopatolojik Metod

Uyutulan ratlardan alınan ve %10'luk formaldehit çözeltisinde tesbit edilen akciğer örnekleri, rutin takip işlemlerinden geçirildi. Tüm akciğer dokusunun mümkün olduğunca homojen incelenmesi amacıyla 20' şer mikron atlanarak 4 mikron kalınlığında 8-14 adet kesitler alındı. Bunlar hemotoksilen eozinle boyandı. Histopatolojik incelemede Ashcroft ve ark. (22)'nin kullandığı semi-kantitatif dereceleme (grade) sistemi modifiye edilerek skorlama yapıldı. Buna göre; Grade 0: Normal akciğer, Grade 1: Alveol veya bronş duvarı kalınlığında

minimal ve orta derecede artış, Grade 2: Akciğer yapısında hafif hasarla beraber artmış fibrozis ve küçük fibröz oluşumlar, Grade 3: Ciddi yapısal distorsiyon ve büyük fibröz alanlar (Honey Comb-Bal peteği görünümünde- Akciğeri) ve Grade 4: Total Fibröz olarak değerlendirildi. Bütün akciğer kesitleri "x100"lük büyütmede incelendi. Yukarıda belirtilen dereceleme sistemine göre her denek için ortalama 100 alan için skor verildi ve incelenen kesitlerin fotoğrafları çekildi.

İstatistiksel Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler ortalama, ortanca değer, standart sapma, minimum ve maksimum değer olarak ifade edilmiştir. Skor değerleri bakımından grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Farklı grupları belirlemede Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Karşılaştırmalarda istatistik anlamlılık düzeyi olarak %1 olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (ver:13) istatistik paket programı kullanıldı.

Bulgular

Bu çalışmada 30. günde ratlardan alınan akciğer dokuları histopatolojik olarak değerlendirildi. 30. günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında BLM uygulanan grupta fibrozisin derecesinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($P<0.01$) tesbit edildi. Yine kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *Lepidium sativum L.*'nin metanol ve su ekstrelerinde fibrozisin derecesinin anlamlı olarak yüksek olduğu ($P<0.01$) ancak bu grupların BLM grubu ile karşılaştırıldığında ise fibrozisin derecesinin anlamlı olarak düşük olduğu ($P<0.01$) tesbit edildi. *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstresinin uygulandığı grup ile su ekstresinin uygulandığı grup karşılaştırıldığında ise gruplar arası farklılığın önemli olmadığı ($P>0.01$) tesbit edildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırmalar Tablo 1'de gösterildi.

Kontrol grubu ratlara ait akciğer dokusu mikroskopisi, Şekil 1 ve deneme grubu ratlara ait akciğerlerin mikroskopik histopatolojik bulguları Şekil 2, 3 ve 4'de gösterildi.

Tartışma

Bu çalışmada güçlü antioksidan etkiye sahip olan *Lepidium sativum L.*'nin ratlarda deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisi üzerine sitoprotektif etkilerinin olup olmadığı incelendi. Yapılan histopatolojik incelemelerde BLM grubunda fibrozis derecesinin kontrol grubuna göre yaklaşık 4,5 kat arttığı; *Lepidium sativum L.*'nin metanol ve su ekstrelerinin uygulandığı gruplarda ise bu oranın anlamlı düzeyde azaldığı saptandı.

BLM ile oluşturulan akciğer fibrozisinin patofizyolojisinde iki faz vardır. Erken inflamatuvar fazda, interstisyel ve alveoler alanlara makrofaj, nötrofil ve lenfosit infiltrasyonu olurken, ikinci fazda fibrozis gelişir. Reaktif oksijen radikalleri ve proteazlar genellikle bu inflamatuvar hücrelerden salgılanarak akciğer dokusunda hasar oluşturmakta ve onarım sürecinde aşırı fibrozis gelişmektedir (23). Bu sebepten dolayı BLM tarafından meydana getirilen akciğer fibrozisinin tedavisinde antioksidan sistemin uyarılması mantıklı olacaktır (24). Yapılan in vitro çalışmalarda antioksidan tedavisi ile BLM'ye bağlı DNA ve hücre hasarının inhibe olduğu gösterilmiştir (7).

Akciğer fibrozisinin tedavisi genelde başarısızdır. Kortikosteroidlere ilave siklofosamid ve azatioprin gibi diğer immunosupresif ilaçlar, kolşisin ve diğer ajanlar hastalığın seyrini %30'dan daha fazla düzeltmemektedir (25). Bu sebepten dolayı hastalığın tedavisi için yeni terapötik ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Son yapılan çalışmalarla idiyomatik pulmoner fibrozise karşı antioksidanlar (26), gama interferon (27), N-asetilsistein (23) ile transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) blokajlarının (28) ümit verici yaklaşımlar olabileceği bildirilmektedir.

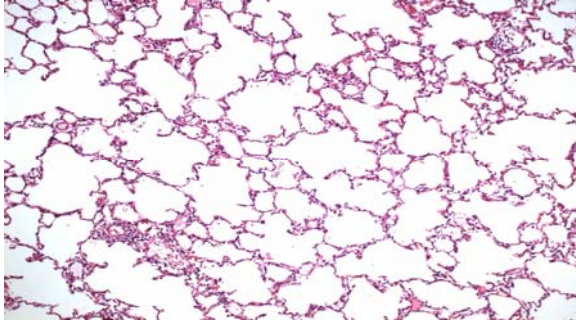
Tablo 1. Sitoprotektif etki değerlendirmesi bakımından gruplar arası tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

Gruplar	n	Medyan	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Kontrol Grubu	8	0.46	0.43c	0.185	0.07	0.66
BLM Grubu	8	1.82	1.94a	0.275	1.68	2.42
BLM + LS metanol ekstraktı	8	0.98	0.91b	0.157	0.61	1.06
BLM + LS su ekstraktı	8	0.84	0.80b	0.212	0.40	0.99

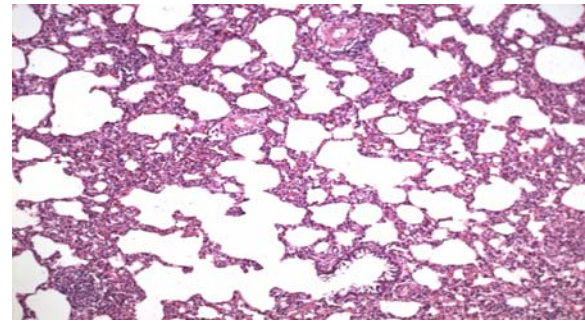
*Farklı harf alan grup ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır ($p<0.01$).

*BLM, tek doz 7.5mg/kg; *Lepidium sativum L.*'nin metanol ve su ekstresi 20 mg/kg/gün uygulandı.

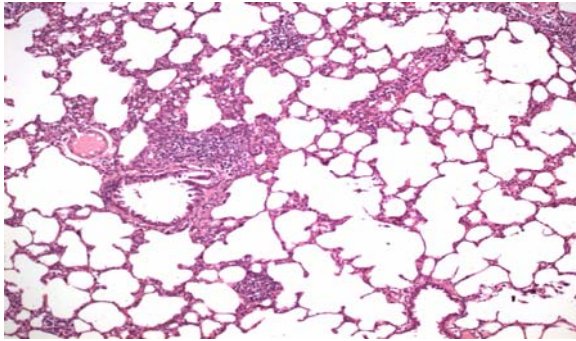
Küçük ve ark.



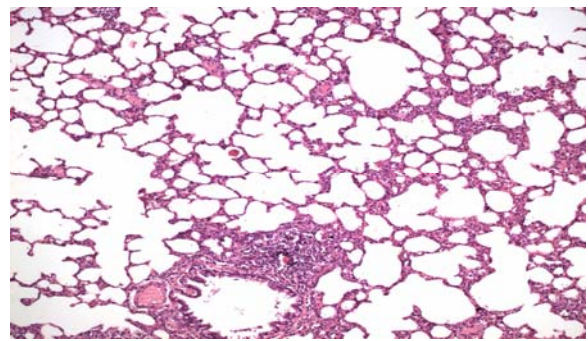
Şekil 1. Kontrol grubunun akciğer histopatolojik görüntüsü (HEx100).



Şekil 2. BLM grubunun Grade 3 akciğer histopatolojik görüntüsü (HE x 100).



Şekil 3. BLM + *Lepidium sativum L.*'nin metanol ekstresi uygulanan grubun Grade 1 akciğer histopatolojik görüntüsü (HE x 100).



Şekil 4. BLM + *Lepidium sativum L.*'nin su ekstresi uygulanan grubun Grade 1 akciğer histopatolojik görüntüsü (HE x 100).

Çelikezen ve Ertekin (29) tarafından yapılan bir çalışmada, ratlar üzerinde BLM ile oluşturulan deneysel akciğer fibrozis modelinde koenzim Q₁₀ uygulamalarının, oluşan inflamasyonu ve fibrozisi hafiflettiğinin tesbit edildiği belirlenmiş ve CoQ₁₀'in bu koruyucu etkisinin, akciğerlerde lökosit birikimini inhibe etmesi veya serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ya da ortamdaki eliminasyonu ile açıklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Son zamanlarda araştırmacıların akciğer fibrozisini önlemeye yönelik, bitkisel kaynaklı ilaç araştırma yaklaşımlarına başvurdukları görülmektedir. BLM'nin meydana getirdiği akciğer fibrozisinde serbest oksijen radikallerinin önemli bir rol oynadığı farklı kaynaklarda bildirildiği için (25); fibrozisin tedavisinde bitkisel kaynaklı tedaviler araştırıldığında, antioksidan etkili bitkilerin kullanılmasının daha faydalı olacağı da açıktır. Nitekim, Iraz ve ark. (24) tarafından yapılan bir çalışmada, ratlarda BLM ile meydana getirilen akciğer fibrozisi üzerine Ginkgo biloba'nın etkisinin incelendiği; Ginkgo biloba'nın güçlü bir antioksidan etkiye sahip olması nedeniyle güçlü bir antifibrotik etki oluşturduğu bildirilmektedir. Sourı ve ark. (30)

da geleneksel tıp'ta yaygın olarak kullanılan *Lepidium sativum L.*'nin oldukça yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmektedirler. *Lepidium sativum L.*'nin iyi bir antioksidan olduğunu farklı analiz metodlarıyla gösteren Shirwaikar ve ark. (31) oksidatif hasarları önlemede bu bitkinin doğal antioksidanların potansiyel bir kaynağı olabileceğini bildirmektedirler. Gao ve ark. (32) deneysel olarak BLM ile fibrozis oluşturulan ratlarda bir bitkisel flavonoid olan baicalein'in antifibrotik etkilerini incelediklerini; oluşan antifibrotik etkinin bu maddenin antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerine bağlı olduğunu vurgulamışlardır.

Sonuç olarak ratlarda BLM'nin neden olduğu akciğer fibrozisinin *Lepidium sativum L.* uygulamasıyla azaltılabileceği tesbit edildi. *Lepidium sativum L.*'nin bu koruyucu etkinliğinin, güçlü antioksidan etkinliği ile serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ya da ortamdaki eliminasyonu ile açıklanabileceği; pulmoner fibrozise karşı potansiyel bir terapötik ajan olarak *Lepidium sativum L.*'nin kullanımının desteklenmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Cytoprotective effects of garden cress (*Lepidium sativum* L.) on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats

Abstract

Aim: In this study, *Lepidium sativum* L.'s cytoprotective effects on pulmonary fibrosis was investigated in bleomycin (BLM)-induced rats.

Methods: Rats were classified into 4 groups each group containing 8 rats. The first group was defined as the control group. In the second group, BLM was applied intratracheally as a single dose of 7,5 mg/kg. In the third group, in addition to the BLM, the metanol extract of *Lepidium sativum* L. was orally applied daily in 20 mg/kg dose for 30 days. In the fourth group, in addition to the BLM, the water extract of *Lepidium sativum* L. was orally applied daily in 20mg/kg dose for 30 days.

Results: When control group was compared with the other groups, significant increase of fibrosis grade was determined in BLM-induced group ($p<0.01$). Comparing of water and methanol extract of *Lepidium sativum* L. with control group reveals that, grade of fibrosis is significantly higher in both groups than control group ($p<0.01$). However comparing of water and methanol extract of *Lepidium sativum* L. with BLM group was showed that, grade of fibrosis is significantly lower in both groups than the BLM group ($p<0.01$). Comparing of water extract of *Lepidium sativum* L. with methanol extract of *Lepidium sativum* L. did not show significant difference.

Conclusion: The application of *Lepidium sativum* L. extract in pulmonary fibrosis in BLM- induced rats, can decrease grade of fibrosis. The cytoprotective effect of *Lepidium sativum* L. can be explained with strong anti-oxidant effect as obstructing the free oxygen radical formation or eliminating from the environment.

Key words: Bleomycin, *lepidium sativum* l., fibrosis, cytoprotectivity, rat

Kaynaklar

- Ommaty R. Vademecum Modern İlaç Rehberi, 25.baskı, Ankara, 2004: 383.
- Sausville EA, Stein RW, Peisach J, Horwitz SB. Properties and products of the degradation of DNA by bleomycin and iron(II). *Biochemistry* 1978; 17(14):2746-2754.
- Zitnik RJ. Drug-induced lung disease: cancer chemotherapy agents, *J Respir Dis* 1995; 16: 855-865.
- Giri SN, Sharma AK, Hyde DM, Wild JS. Amelioration of bleomycin-induced lung fibrosis by treatment with the platelet activating factor receptor antagonist WEB 2086 in hamsters. *Exp Lung Res* 1995; 21(2):287-307.
- Goldstein RH, Fine A. Potential therapeutic initiatives for fibrogenic lung diseases. *Chest* 1995; 108(3):848-855.
- Bensadoun ES, Burke AK, Hogg JC, Roberts CR. Proteoglycan deposition in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154(6 Pt 1):1819-1828.
- Cunningham ML, Ringrose PS, Lokesh BR. Inhibition of the genotoxicity of bleomycin by superoxide dismutase. *Mutat Res* 1984; 135(3):199-202.
- Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları 1997; 578.
- Avachat MK, Dhamne AG. Method of manufacturing of husk from *Lepidium sativum* seeds WIPO, (WO/2002/102856) 2002; 1-34.
- Baytop T. Türkiyede Bitkilerle Tedavi Geçmiş ve Bugün, Nobel Tıp Kitabevi Ltd.Şti İst. 1999; 480.
- Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian Medicinal Plants (Including the Supplement), Council of Scientific and Industrial Research 1986, New Delhi.
- Orlovskaya TV, Chelombit'ko VA. Phenolic compounds from *Lepidium sativum*, *Chemistry of Natural Compounds* 2007; 43(3):323.
- Maghrani M, Zeggwagh NA, Michel JB, Eddouks M. Antihypertensive effect of *Lepidium sativum* L. in spontaneously hypertensive rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 100(1-2):193-197.
- Eddouks M, Maghrani M, Zeggwagh NA, Michel JB. Study of the hypoglycaemic activity of *Lepidium sativum* L. aqueous extract in normal and diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 97(2):391-395
- Kassie F, Rabot S, Uhl M, Huber W, Qin HM, Helma C, et al. Chemoprotective effects of garden cress (*Lepidium sativum*) and its constituents towards 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)-induced genotoxic effects and colonic preneoplastic lesions. *Carcinogenesis* 2002; 23(7):1155-1161.
- Paranjape AN, Mehta AA. A study on clinical efficacy of *Lepidium sativum* seeds in treatment of Bronchial Asthma, *Iranian Journal of Pharmacology&Therapeutics* 2006; 5:55-59.
- Karnickv CR. Pharmacopoeial Standards of Herbal Plants, SriSatguru Publ., Ind. Medical 1994; 36(1):219-220.
- Afaf IA, Nuha HS ve Mohammed AH. Hepatoprotective Effect of *Lepidium sativum* Against Carbon Tetrachloride Induced Damage in Rats, *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences* 2008; 3:20-23.
- Yilmaz HR, Songur A, Ozyurt B, Zararsiz I, Sarsilmaz M. The effects of n-3 polyunsaturated fatty acids by gavage on some metabolic

- enzymes of rat liver. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004; 71(2):131-135.
20. Diwakar BT, Dutta PK, Lokesh BR, Naidu KA. Bio-availability and metabolism of n-3 fatty acid rich garden cress (*Lepidium sativum*) seed oil in albino rats. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2008; 78(2):123-130.
 21. Ozyurt H, Söğüt S, Yildirim Z, Kart L, Iraz M, Armutçu F, et al. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on bleomycine-induced lung fibrosis in rats. Clin Chim Acta 2004; 339(1-2):65-75.
 22. Ashcroft T, Simpson JM, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale. J Clin Pathol 1988; 41(4):467-470.
 23. Hagiwara SI, Ishii Y, Kitamura S. Aerosolized administration of N-acetylcysteine attenuates lung fibrosis induced by bleomycin in mice. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162(1):225-231.
 24. Iraz M, Erdogan H, Kotuk M, Yağmurca M, Kilic T, Ermis H, et al. Ginkgo biloba inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in rats. Pharmacol Res 2006; 53(3):310-316.
 25. Mason RJ, Schwarz MI, Hunninghake GW, Musson RA. NHLBI Workshop Summary. Pharmacological therapy for idiopathic pulmonary fibrosis. Past, present, and future. Am J Respir Crit Care Med 1999; 160(5 Pt 1):1771-1777.
 26. Wang HD, Yamaya M, Okinaga S, Jia YX, Kamanaka M, Takahashi H, et al. Bilirubin ameliorates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. Am J Respir Crit Care Med 2002; 165(3):406-411.
 27. 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; 341(17):1264-1269.
 28. Feldmann M, Bondeson J, Brennan FM, Foxwell BM, Maini RN. The rationale for the current boom in anti-TNFalpha treatment. Is there an effective means to define therapeutic targets for drugs that provide all the benefits of anti-TNFalpha and minimise hazards? Ann Rheum Dis 1999; 58(1):127-131.
 29. Çelikezen FÇ, Ertekin A. Bleomycin uygulanan ratlarda CoQ₁₀'in lipid peroksidasyonu, antioksidan profil ve bazı biyokimyasal parametrelere etkisi, Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi 2009; 20(1):41-48.
 30. Souri E, Amin G, Farsam H, Andaji S. The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet. Fitoterapia 2004; 75(6):585-588.
 31. Shirwaikar A, Patel B, Kamariya Y, Parmar V, Khan S. In vitro free radical scavenging potential of defatted ethanolic extract of the seeds of *Lepidium sativum* Linn, Chinese Journal of Natural Medicines 2011; 9(6):435-440.
 32. Gao Y, Lu J, Zhang Y, Chen Y, Gu Z, Jiang X. Baicalein attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats through inhibition of miR-21. Pulm Pharmacol Ther 2013; 19:1094-5539.