

T.C.

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

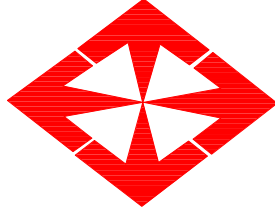
**BRONKOPULMONER DİSPLAZİDE PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR
İNHİBİTÖR-1 4G/5G GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Deniz Anuk İnce

ANKARA

2008



T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

BRONKOPULMONER DİSPLAZİDE PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR
İNHİBİTÖR-1 4G/5G GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜNÜN
ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Deniz Anuk İnce

Tez danışmanı: Prof. Dr. Namık Özbek

ANKARA

2008

Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Proje no: KAO6/190

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren ve hiçbir desteğini esirgeyeyen tez danışmanım Prof. Dr. Namık Özbek'e, çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan Prof. Dr. Berkan Gürakan ve Doç. Dr. Aylin Tarcan'a, eğitimim boyunca katkılarını esirgemeyen tüm değerli hocalarıma, genetik çalışmanın yapılmasında destekleri nedeniyle Doç. Dr. Belgin Ataç ve Uzm. Biyolog Hasibe Verdi'ye, istatistiksel planlamayı yönlendiren Yrd. Doç. Dr. Ersin Ögüş ve Uzm. Dr. Canan Yazıcı'ya, kan alımı ve hasta izlemi destekleri nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesi hemşirelerine, asistanlık eğitimim boyunca dostluklarını paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, ayrıca eşime ve aileme sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Anuk İnce D, Bronkopulmoner Displazide Plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G gen polimorfizminin rolünün araştırılması. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, 2008.

Vücutta koagülasyon ve antikoagülasyon bir denge içinde çalışmaktadır. İnflamatuvar hastalıklarda proinflamatuvar sitokinlerin uyarısı sonucu alveoler boşlukta doku faktörü salınımı gerçekleşmekte, plazminojen aktivatör inhibitörünün fazla oluşu fibrinin yıkılmasını engellemekte ve böylece fibrozis gelişimine yatkınlık ortaya çıkmaktadır. Bronkopulmoner displazi (BPD), günümüzde de prematüre bebeklerde en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Aynı gebelik haftası ve doğum ağırlığında doğan bebeklerin tümünde BPD gelişmemesi, hastalığın patogenezinde farklı nedenlerin rolünü düşündürmektedir. Bu nedenler arasında plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1) gen polimorfizmi olası genetik faktörlerden biri olarak ön plana çıkmaktadır. Çalışmamızda prematüre infantlarda PAI-1 geni 4G/5G polimorfizminin BPD gelişimindeki rolünü araştırdık. Yenidoğan dönemi sonrası hayatta olan ve BPD tanısı konulan 98 preterm bebek çalışma grubunu, BPD gelişmeyen 94 preterm bebek ise kontrol grubunu oluşturdu. Çalışmada hasta ve kontrol grubundaki bebeklerin PAI-1 4G/5G genotiplemesi için periferik kandan DNA elde edildi. Hedef bölgelere özgü primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonunu (PZR) takiben uygun restriksiyon enzimi ile DNA parçacığı kesildi (*Restriction fragment length polymorphism*; RFLP analizi). Sonuçlar 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G olmak üzere üç genotip şeklinde sınıflandırıldı. Bronkopulmoner displazi grubunda 4G/4G (n=43; %43,9), 4G/5G (n=27; %27,6) ve 5G/5G genotipi (n=28; %28,6), kontrol grubunda ise 4G/4G (n=40; %42,6) , 4G/5G (n=27; %28,7) ve 5G/5G genotipi (n=27; %28,7) bulundu. İki grup arasında genel olarak veya alt gruplara ayrıldığında PAI-1 gen polimorfizmi dağılımında anlamlı fark bulunmadı. Sonuç olarak bizim çalışmamızda BPD gelişiminde PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin rolü bulunmadığı gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Bronkopulmoner displazi, Plazminojen aktivatör inhibitör-1 geni, fibrinolizis.

ABSTRACT

Anuk Ince D, The investigation of the role of plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G gene polymorphism in bronchopulmonary dysplasia. Baskent University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Thesis, Ankara, 2008.

Coagulation and anticoagulation work in a balance in human body. Activation of the coagulation cascade leads to intraalveolar fibrin deposition in many inflammatory pulmonary disorders. Proinflammatory cytokines activate coagulation via tissue factor and attenuate fibrinolysis by increasing the level of plasminogen activator inhibitors. Bronchopulmonary dysplasia (BPD) continues to be one of the important causes of morbidity and mortality in preterm neonates. While some preterm infants develop BPD, some infants with the same gestational age and birth weight do not develop such a disease. Therefore, different individual factors may have role in the pathogenesis of BPD. Plasminogen activator inhibitor-1 is one of the genetic factors that may have a role in the pathogenesis of the disease. We investigated the role of plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 4G/5G gene polymorphism in BPD. The study group comprised of 98 preterm infants with BPD and control group included 94 preterm infants without BPD. The neonates with congenital anomalies and the neonates who died during the first 28 days of life were excluded from the study. We analysed PAI-1 4G/5G gene polymorphism by polymerase chain reaction and restriction enzyme digestion (RFLP). Preterm infants were divided into three groups according to their genotype including 4G/4G, 4G/5G and 5G/5G. Of the BPD group, 43,9% had 4G/4G (n=43), 27,6% the 4G/5G (n=27) and 28,6% had 5G/5G (n=28) genotype. On the other hand, control group 42,6% had 4G/4G (n=40), 28,7% had 4G/5G (n=27) and 28,7% had 5G/5G (n=27) genotype. There was no statistically significant difference between two groups.

In conclusion, we couldn't show any association between PAI-1 4G/5G gene polymorphism and BPD in our study group.

Keywords: Bronchopulmonary dysplasia, plasminogen activator inhibitor-1 gene, fibrinolysis.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Koagülasyon ve fibrinolizis.....	3
2.2 Yenidoğanda hemostaz.....	7
2.3. Bronkopulmoner displazi.....	8
2.3.1. Bronkopulmoner displazi tanımı ve insidansı	8
2.3.2. Risk faktörleri.....	10
2.3.3 Bronkopulmoner displazi patogenezi.....	10
2.3.4. BPD-genetik ilişkisi.....	14
2.3.5. Patoloji.....	14
2.3.6. Klinik bulgular.....	15
2.3.7.Bronkopulmoner displazide tedavi.....	16
2.3.8 Prognoz.....	16
2.4. Pulmoner sistem ve koagulasyon.....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
4. BULGULAR.....	22
5. TARTIŞMA.....	26
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	36
7. KAYNAKLAR.....	38

SİMGELER ve KISALTMALAR

A, adenin
ADE, anjiotensin dönüştürücü enzim
aPTZ, aktive parsiyel tromboplastin zamanı
ARDS, akut respiratuvar distress sendromu
AT, antitrombin
BAL, bronkoalveoler lavaj
BPD, bronkopulmoner displazi
C, sitozin
DAG1, distroglukan geni
EDTA, etilendiamintetraasetik asit
F, faktör
FiO₂, fraksiyone inspire edilen oksijen
FYÜ, fibrin yıkım ürünleri
G, guanin
HAM, hücreler arası adezyon molekülü
HKII, heparin kofaktör II
H₂O₂, hidrojen peroksit
IBF, insülin büyüme faktörü
IL, interlökin
INF, interferon
K, kompleman
LT, lökotrien
MMP, matriks metalloproteinaz
MTHFR, metilen tetrahidrofolat redüktaz
NSPHB, nazal sürekli pozitif havayolu basıncı
O₂⁻, süperoksit anyonu
OH⁻, hidroksil
PA, plazminojen aktivatörü
PAI, plazminojen aktivatör inhibitörü
PaO₂, parsiyel oksijen basıncı
PAR, proteaz aktive edici reseptör
PC, protein C

PDA, patent duktus arteriosus
PESB, pozitif ekspiryum sonu basınç
PF3, platelet faktör3, (trombosit tromboplastini)
PK, prekalikrein
PS, protein S
PZ, protrombin zamanı
PZR, polimeraz zincir reaksiyonu
RDS, respiratuvar distres sendromu
RFLP, restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi (*Restriction fragment length polymorphism*)
SP, surfaktan
T, timin
TF, tissue factor; doku faktörü
TGF- β , transformasyonu sağlayan büyüme faktörü beta, (*transforming growth factor- β*)
TNF- α , tümör nekroze edici faktör alfa
TPA, doku plazminojen aktivatörü
TZ, trombin zamanı
UPA, ürokinaz plazminojen aktivatörü
VEGF, vasküler endotelial büyüme faktörü, (*Vascular endotelial growth factor*)
VWF, von Willebrand faktör
YMAK, yüksek molekül ağırlıklı kininojen
 α 2-AP, alfa-2 antiplazmin

ŞEKİLLER

ŞEKİL	SAYFA
Şekil 2.1. Fibrinolitik yol	5
Şekil 2.2. Transformasyonu sağlayan büyüme faktörü beta'nın plazminojen aktivatör inhibitör-1 üzerine etkisi	6
Şekil 2.3. BPD'nin risk faktörleri	10
Şekil 2.4. Bronkopulmoner displazi patofizyolojisinde rol alan faktörler	15

TABLÖLAR

TABLO	SAYFA
Tablo 2.1. BPD'nin tanı kıstasları (Amerikan Ulusal Halk Sağlığı Enstitüleri 2001)	8
Tablo 4.1. BPD ve kontrol grubunun gebelik haftası, doğum ağırlıkları, cinsiyet ve doğum şeklinin karşılaştırılması	22
Tablo 4.2. BPD grubunun klinik ağırlığına göre dağılımı	23
Tablo 4.3. BPD ve kontrol grubunun klinik bilgileri	24
Tablo 4.4. BPD ve kontrol grubu PAI-1 4G/5G-genotip ilişkisi	24
Tablo 4.5. BPD alt grubu gen polimorfizmi ilişkisi	25
Tablo 4.6. Surfaktan uygulanması- gen polimorfizmi ilişkisi	25
Tablo 5.1. BPD-gen polimorfizmi ilişkisi	34

RESİMLER

Resim 3.1. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G polimorfizminin jel görüntüsü	21
---	----

BRONKOPULMONER DİSPLAZİDE PLAZMİNOJEN AKTİVATÖR İNİHİTÖR-1 4G/5G GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Vücutta koagülan ve antikoagülan mekanizmalar bir denge içinde çalışmaktadır. Koagülasyon kaskadının aktivasyonu, birçok inflamatuvar pulmoner hastalıkta alveol içinde fibrin birikimine neden olmaktadır. Normalde pulmoner alveoler boşluk fibrinolitik bir çevreden oluşmakta, ancak akciğer hasarında plazminojen aktivatörlerinin (PA) aktivitesinin azalması nedeniyle bu etki azalmaktadır. Alveoler boşlukta ürokinaz plazminojen aktivatörü (uPA) bulunmasına karşın fibrinolitik/antifibrinolitik mekanizmaların denge içinde çalıştığı bilinmektedir. İnflamatuvar hastalıklarda alveoler boşlukta proinflamatuvar sitokinlerin uyarısı sonucu doku faktörü (TF, *tissue factor*) salınımı gerçekleşmekte, aynı zamanda plazminojen aktivatör inhibitörlerinin salınımı ile de fibrozis gelişmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1'in lokal artışı antifibrinolitik etkiden sorumlu tutulmaktadır. Eş zamanlı olarak plazmada ölçülen proinflamatuvar sitokinlerin düşük düzeyde olması bu faktörlerin kaynağının pulmoner boşluk olduğunu düşündürmektedir (1).

Alveoler fibrin birikimi pulmoner hastalıkların önemli bir bulgusudur. Bu birikiminin nedeni doku faktörü ilişkili koagülasyon ve azalmış fibrinolizisdir. Plazminojen aktivatör inhibitörleri (PAI) ilk kez 1963 yılında tanımlanmış olup, dört farklı tipi bulunmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 endotel, megakaryositler, düz kas hücreleri ve karaciğerde sentezlenmekte, doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve uPA'yı inhibe etmektedir (2,3). Plazma PAI-1 konsantrasyonu bazı hastalıklarda artış göstermektedir. Bunlar arasında; bronkopulmoner displazi (BPD), vasküler hastalıklar (tromboz, ateroskleroz), kanser, inflamasyon, obezite, sepsis ve fibrotik bozukluklar sayılabilir (4). Akciğer hastalıklarının gelişiminde artmış PAI-1 ekspresyonuna bağlı fibrinolitik aktivitenin azalması önemli rol oynamaktadır (5). Şiddetli inflamatuvar hastalıklar PAI-1 artışının 4G aleli taşıyan kişilerde daha belirgin olduğu, fibrinolitik aktivitenin daha az olmasının sonuçta mikrosirkulasyonda bozulmaya neden olduğu belirtilmiştir (6).

Çok düşük doğum ağırlıklı ve preterm doğan bebeklerin önemli sağlık sorunlarından biri bronkopulmoner displazidir. Bronkopulmoner displazi preterm bebeğin gelişiminin erken

safhalarında, akciğerinin postnatal gelişimi sırasında ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Patogenezinde çevresel ve genetik birçok faktör rol oynamaktadır (7). Aynı gebelik haftasındaki prematüre bebeklerin tümünde BPD görülmemesi, patogenezde kişisel faktörlerin rolünü düşündürmektedir. Bronkopulmoner displazide plazminojen aktivatör inhibitör-1 gen polimorfizmi genetik faktörlerden biri olarak daha önce rapor edilmemiştir. Bu çalışmada BPD patogenezinde PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin rolünü araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Koagülasyon ve fibrinolizis

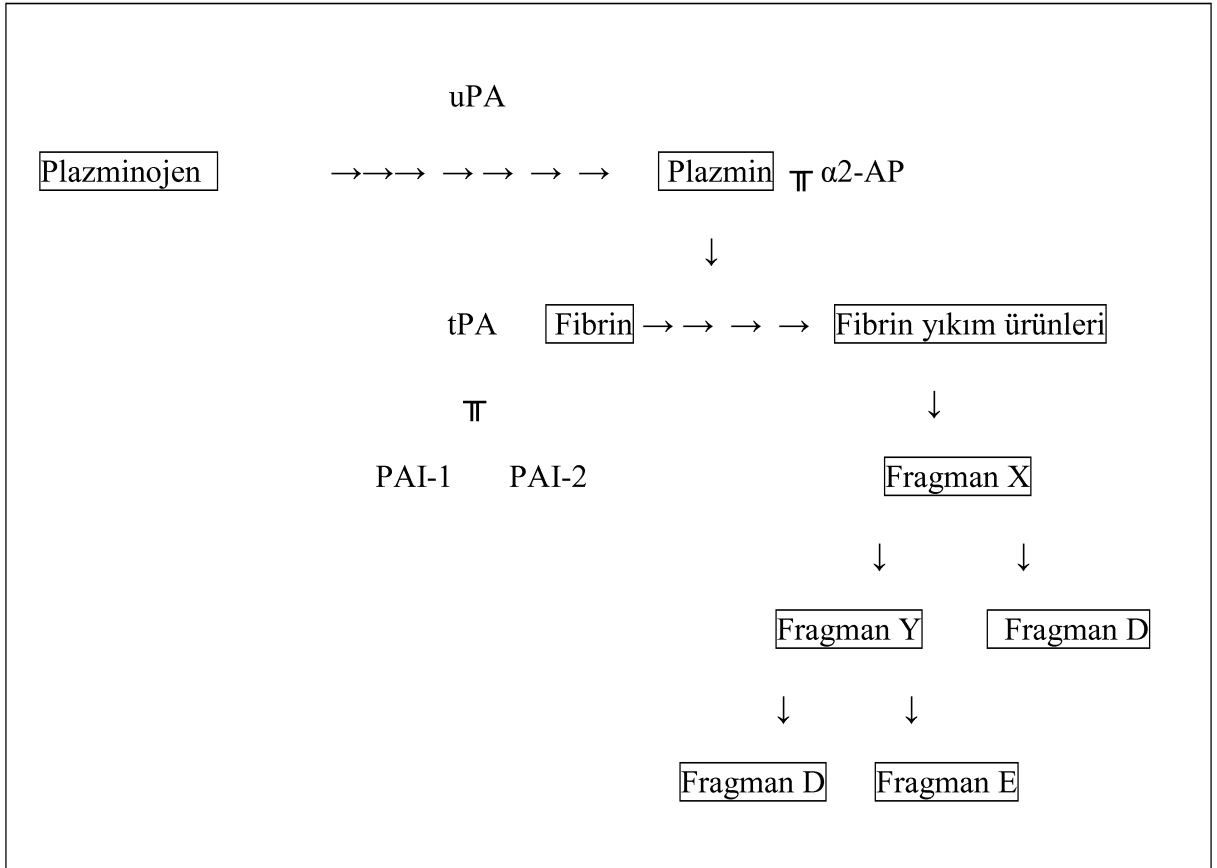
Hemostaz kanın dolaşımında sıvı halde kalmasını sağlayan fizyolojik bir mekanizmadır. Damar içinde pıhtılaşmaya katkıda bulunan faktörlerle, koagülan/fibrinolitik aktiviteler denge içinde çalışmaktadır. Hemostazda damar duvarı, subendotelial dokular, trombositler ve plazmada bulunan pıhtılaşma faktörleri rol oynamaktadır (8).

Fibrinolizis, koagülasyon sırasında oluşan fibrin pıhtısının damar duvarındaki hasar düzeldikten sonra çözülmesi işlemidir. Fibrinolizis inaktif bir proenzim olan plazminojenin plazmine dönüşümü ile başlamaktadır. İki fizyolojik plazminojen aktivatörü (tPA ve uPA) tanımlanmıştır. Doku plazminojen aktivatörü 530 aminoasitten oluşmakta, endotel hücrelerinde bulunmakta ve trombin uyarısıyla salınmaktadır (9). Doku plazminojen aktivatörü normalde tek zincirli biçimde bulunmakta, plazmin veya kalikrein yardımıyla aktif hali olan çift zincirli biçime dönüşmektedir. Fibrinolitik sistemde yer alan diğer baskılayıcı olan uPA'nın da iki biçimi bulunmaktadır. Bunlardan biri minimal fibrinolitik aktiviteye sahip tek zincirli biçim, diğeri ise çift zincirli biçimdir. Ürokinaz plazminojen aktivatörü böbrekte üretilmekte ve idrarla atılmaktadır. Plazminojen normal koşullarda tPA ve uPA'nın etkisi ile plazmine çevrilmektedir. Plazmin bir serin proteaz olup, fibrin ve fibrinojeni özgül bölgelerden hidrolize eder. Plazminin proteolitik aktivitesi, faktör (F)-V, F-VIII, kortikotropin ve kompleman (K) sisteminin bazı bölgelerinin proteolitik yıkımına neden olmaktadır. Ortamda lizin-plazminojen bulunması, plazminojenin plazmine dönüşümünü hızlandırmaktadır (8,10,11,12). Fibrinolitik sistemin çalışması PAI-1, PAI-2, PAI-3, proteaz neksin ve antiplazmin tarafından baskılanmaktadır. Pıhtılaşma sürecinde oluşan trombin PAI-1'in endotel hücrelerinden salınımını uyarmaktadır.

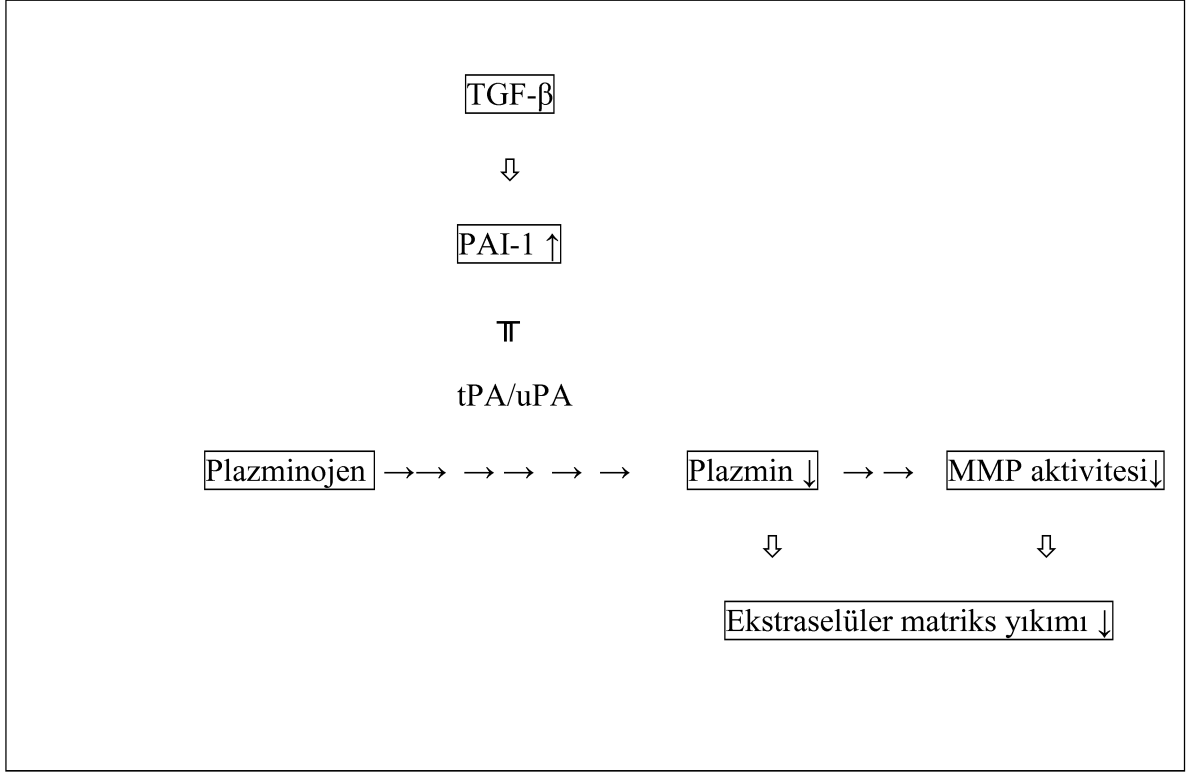
Plazminojen aktivatör inhibitörü ilk kez 1963 yılında tanımlanmış olup, dört farklı tipi bulunmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1, normal insan plazmasında; PAI-2, plasenta ve lökositlerde, hamile kadınların plazmasında; PAI-3, idrarda; proteaz neksin ise fibroblastlarda bulunmaktadır. Proteaz neksin sadece tPA ve uPA'yı değil, trombin, tripsin ve plazmini de inhibe etmektedir (2,3). Plazminojen aktivatör inhibitörleri plazmadaki total proteinin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (2). Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 geni 7. kromozomun uzun kolu üzerinde bulunmakta, dokuz ekzon ve sekiz intron içermektedir. Bu enzim; endotel, megakaryositler, düz kas hücreleri ve karaciğerde sentezlenmekte ve fibrinolitik sistemin baskılanmasında önemli rol oynamaktadır. Yarı ömrü 1-2 dakika olan PAI-1 aktif biçimde sentezlenmekte ve kendiliğinden inaktif biçime dönüşmektedir.

Dolaşımda aktif biçimdeki PAI-1'in vitronektine bağlanması, yarı ömrünü 2-10 kat arttırmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1'in yapısındaki bu esneklik nedeniyle PAI-1 antijen ölçümleri büyük farklılıklar göstermekte, bu nedenle dikkatli yorumlanması gerekmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitörü-1 tek ve çift zincirli tPA ve çift zincirli uPA'yı engellemekte, ancak tek zincirli uPA'yı etkilememektedir (5). Serum PAI-1 düzeyi plazma PAI-1 düzeyine göre 5 kat yüksek bulunmakta, bu fark PAI'ün yüksek oranda trombositlerin alfa-granüllerinde depolanmasına bağlanmaktadır. Plazma PAI-1 aktivitesinin artışı ise daha çok PAI-1'in endotel hücrelerinden artmış sentez ve salınımıyla açıklanmaktadır (2). Plazma PAI-1 konsantrasyonu bazı hastalıklarda artış göstermektedir. Bunlar arasında; kronik akciğer hastalığı, vasküler hastalıklar (tromboz, ateroskleroz), kanser, inflamasyon, obezite, sepsis, ve fibrozisle giden diğer hastalıklar sayılabilir. İnflamatuvar durumlarda PAI-1 salınımı direk olarak lipopolisakkarid gibi endotoksinler tarafından veya indirek yoldan tümör nekroze edici faktör alfa (TNF- α) ve interlekin (IL)-1 gibi sitokinler tarafından uyarılmaktadır. Fibrinolitik sistemde diğer bir önemli yol ise; proteinazların rol aldığı hücre göçü ve doku yeniden yapılanmasıdır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 matriks metalloproteinazlarını (MMP) inhibe etmekte, böylece ekstraselüler matriks yıkımını önlemektedir (13). Proteinazlar ekstraselüler matrikste birikerek endotel ve düz kas hücrelerinde sitokinleri aktive etmekte, sonuçta büyüme faktörleri salgılanmaktadır. Bu yol yeni damar oluşumu ve yara iyileşmesinde önemlidir (2,3,4). Eş zamanlı olarak TNF- α ve IL-1, tPA üretimini baskılamakta, endotel hücrelerinde TF yolu ile fibrinolitik kapasitede azalmaya ve prokoagulan aktivitede artışa neden olmaktadır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 sentezi ve ekspresyonu transformasyonu sağlayan büyüme faktörü beta (TGF- β 1, *transforming growth factor- β*) tarafından uyarılmaktadır (2). Promotor bölgesi 4G aleli için homozigot olanların (4G/4G genotipi) plazma PAI-1 konsantrasyonu, 5G aleli için homozigot olanlara göre (5G/5G genotipi) yaklaşık %25 daha fazladır (3). Şiddetli inflamatuvar hastalıklar veya hayatı tehdit edici durumlarda PAI-1 artışının 4G aleli taşıyan kişilerde daha belirgin olduğu, buna bağlı gelişen azalmış fibrinolitik aktivitenin mikrosirkulasyonda bozulmaya neden olduğu belirtilmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/4G genotipindeki çocuklarda sepsis sıklığının daha fazla olduğu, meningokok infeksiyonunun prognozunun daha kötü olduğu, kardiyak cerrahi sonrası iskemik inme riskinin daha fazla olduğu gözlenmiştir (14). Dolaşımdaki diğer önemli bir antiplazmin ise alfa-2 antiplazmin (α 2-AP)'dir. Plazmin hızlı bir şekilde α 2-AP tarafından baskılanmakta, α 2-AP lizin bağlanma bölgesine bağlandığında ise bu reaksiyonun hızı yaklaşık 50 kat yavaşlamaktadır (9).

Akciğer hastalıklarının son evresinin özgün bulgularından biri fibrozistir. Fibrozis ekstraselüler matriksin interstisiyel dokular ve bazal membranda birikimi sonucu oluşmaktadır. Neden olarak ekstraselüler matriksin artmış sentezi, azalmış yıkımı veya ikisinin birlikteliği söz konusudur. Plazmin direk olarak fibronektin, laminin, proteoglikan, fibrin, denatüre kollajen ve tip IV kollajen gibi ekstraselüler matriks proteinlerini yıkmakta, ayrıca MMP'larını aktive ederek bu yıkımı arttırmaktadır. Akciğer hastalıklarının gelişiminde azalmış fibrinolitik aktivite ve artmış PAI-1 ekspresyonu önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle tek başına antiinflamatuvar ajanların kullanımı ile fibrotik akciğer hastalıklarında tam düzelme görülmemesi pulmoner fibrozis gelişiminde inflamasyonun önemli rol oynamadığını düşündürmektedir (5).



Şekil 2.1.1: Fibrinolitik yol: Plazminojen, tPA ve uPA aracılığı ile plazmine dönüşmektedir. Fibrin plazmin tarafından fibrin yıkım ürünlerine parçalanmaktadır. PAI-1 ve PAI-2, tPA'yı inhibe etmekte, alfa 2-antiplazmin ise plazmini inhibe etmektedir. (Π: inhibisyon)



Şekil 2.1.2: Transformasyonu sağlayan büyüme faktörü beta'nın plazminojen aktivatör inhibitör-1 üzerine etkisi: TGF- β , PAI-1 ekspresyonunu uyararak MMP aktivitesini azaltmaktadır. (Π : inhibisyon)

Plazminojen aktivatör inhibitör-1'in üç boyutlu yapısının anlaşılması ile küçük moleküllü serpin inhibisyonu yapan PAI-1 inhibitörlerinin fibrotik hastalıklar, trombotik bozukluklar, amiloidoz, obezite ve tip 2 diabette kullanılabileceği düşünülmektedir. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 inhibitörlerinin farelerde oral yoldan verilmesiyle sadece trombotik hastalıkların değil, aynı zamanda fibrotik oluşumların ve bazı kanserlerin de tedavi edilebildiği gözlenmiştir (15). Akut akciğer hasarı veya akut respiratuvar distress sendromu (ARDS) görülen 779 hastayı içeren bir çalışmada düşük plazma protein C (PC) ve artmış PAI-1 düzeylerinin mortalite açısından bağımsız risk faktörleri olduğu belirlenmiş ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi açısından PAI-1 ve PC düzeylerinin ölçümünün yol gösterici olacağı vurgulanmıştır (16).

2.2 Yenidoğanda hemostaz

Yenidoğanlarda hemostaz erişkinlere göre farklılık göstermektedir. Andrew ve arkadaşları (17) tarafından yapılan bir çalışmada 137 prematüre bebek alınmış, bu grup 118 term bebek ve 29 sağlıklı çocuk kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Prematüre bebeklerde fibrinojen düzeyi ve trombin zamanı (TZ) erişkin değerlerde saptanırken, yaşamın 5. gününde fibrinojen düzeyinde anlamlı artış gözlenmiştir. Yenidoğanlarda doğumda standart tarama testlerinden protrombin zamanı (PZ) ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTZ) erişkin düzeye göre uzundur (18). Yaşamın ilk gününde vitamin K bağımlı faktörlerden F-II, F-IX ve F-X erişkin değerlerin <%50'si kadar iken, F-VII erişkin değerlerin %67'si kadar saptanmış, 6 aylıkken F-VII dışındaki vitamin K bağımlı faktörlerin erişkin düzeye ulaştığı gözlenmiştir. Kontakt faktörlerin [F-XI, F-XII, prekalikrein (PK), yüksek molekül ağırlıklı kininogen (YMAK)] yaşamın ilk gününde erişkin değerlerin %50 si kadar olduğu, 6 aylıkken ortalama değerlerin erişkin düzeye ulaştığı belirtilmiştir. Postnatal F-VIII ve von Willebrand faktör (vWF) düzeyleri erişkinine yakın veya üstünde saptanmış olup, hemofili A hastalığının yaşamın ilk gününde de saptanabileceği belirtilmiştir. Antikoagülan proteinlerden antitrombin (AT), heparin kofaktör II (HKII), PC, protein S (PS) düzeyleri yaşamın ilk gününde erişkin değerlerin %50'si kadar bulunmuş, AT, HKII, PS düzeylerinin 6 aylıkken normal erişkin düzeylerine ulaştığı, PC düzeyinin ise 6 aylıkken erişkin değerlere göre düşük seyrettiği gözlenmiştir (17). Fibrinolitik sistem proteinlerinden plazminojen ve tPA yenidoğanda düşük düzeylerde iken, fibrinolizis inhibitörü olan PAI-1 erişkin düzeylerdedir (18). Plazminojen düzeyi erişkin düzeyin % 50'si, α 2-AP erişkin değerinin % 85'i düzeyindedir. Yaşamın ilk gününde PAI-1 ve tPA'nın plazma düzeyleri artmış bulunurken, bu duruma zıt olarak kord kanında bu proteinlerin düzeyi erişkin değerlerinden düşük bulunmaktadır (19).

Prematüre infantlarda ve yenidoğanlarda hemostatik bozuklukları daha iyi anlamaya yönelik yapılan bir çalışmada 19-38 gebelik haftasındaki 285 sağlıklı fetus, 60 term yenidoğan ve 40 erişkin kontrol grubu ile karşılaştırılmış, intrauterin yaşamda fetusta vitamin K bağımlı faktörlerin (F-II, F-VII, F-IX, F-X), kontakt faktörlerin (F-XI, F-XII, PK, YMAK), F-V, F-VIII ve fibrinojen düzeylerinin düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca antitrombin, HKII, PC, PS, doku faktör yolu inhibitörü düzeyleri de düşük bulunmuştur. İntrauterin yaşamın 34. haftasında hem koagülasyon aktivatörleri, hem de koagülasyon inhibitörlerinin düzeylerinde artış olurken, sadece F-V ve F-VIII'in doğumda erişkin düzeylere ulaştığı gözlenmiştir (20). Fetal hemostaz dinamik bir süreç olduğundan hemostaz

dengede sürmekte, hem trombin oluşumu hem de trombin inhibisyonu bir denge içinde bulunmaktadır.

2.3 Bronkopulmoner Displazi

Bronkopulmoner displazi tanımı ilk kez 1967 yılında Northway ve arkadaşları (21) tarafından kullanılmış olup, mekanik ventilasyon ile tedavi ve basınçlı oksijene maruziyet sonrası geliştiği bildirilmiştir. Ancak doğum öncesi steroid uygulamaları, surfaktan tedavisinin kullanılması, yeni ventilatör uygulamaları, patent duktus arteriozus (PDA)'un etkin tedavisi, iyi beslenme ve diğer tedaviler sayesinde prematüre yenidoğanların kliniği ve BPD'nin ortaya çıkış şekli zaman içinde değişiklik göstermiştir (22,23). Bronkopulmoner displazinin tanı kriterleri 2001 yılında Amerikan Ulusal Halk Sağlığı Enstitülerinin desteklediği bir çalışmada yeniden düzenlenmiştir (24).

Tablo 2.3: BPD'nin tanı kriterleri (24)

Tanı	
Doğum sonrası en az 28 gün $FiO_2 > \%21$ olacak şekilde oksijen tedavisi verilmesi	
Ek olarak	
Derece	
<32 hafta postmenstruel 36. haftada veya taburcu edilirken	>32 hafta postnatal 56. gün veya taburcu edilirken
Hafif → $FiO_2 \%21$	
Orta → $FiO_2 < \%30$ oksijen ihtiyacı	
Şiddetli → $FiO_2 > \%30$ veya NSPHB veya mekanik ventilasyon ihtiyacı olması	

FiO_2 : fraksiyone inspire edilen oksijen

NSPHB: nazal sürekli pozitif hava yolu basıncı

Northway (25) tarafından tanımlanan BPD günümüzde ağır kronik akciğer hastalığı tanımına uymaktadır. Northway ve arkadaşları tarafından yapılan tanımlamada respiratuvar distres sendromu (RDS) görülen, hayatta kalıp BPD gelişen bebeklerin 30-37. gebelik

haftasında doğmuş olduğu gözlenirken, günümüzde görülen BPD’de bebeklerin daha küçük gebelik haftasında doğduğu (23-26 hafta), başlangıçta RDS geliştirmeden veya hafif RDS kliniği gösterip birkaç gün süren balayı dönemi olduğu, sonrasında oksijen ihtiyacında artış veya mekanik solunum gereksinimi geliştiği gözlenmektedir (21,22,23). Bronkopulmoner displazi görülme riski doğum ağırlığının azalmasına paralel artış göstermekte, insidansı 500-750 gr yenidoğanlarda % 52 iken, 1200-1500 gr olanlarda % 7 civarına inmektedir (26). Northway tarafından BPD’nin ilk kez tanımlandığı dönemde patogeneze 3 faktörün, akciğer immatüritesi, akut akciğer hasarı ve başlangıç akciğer hasarının yetersiz onarımının anahtar rol oynadığı öne sürülmekteydi. Bu 3 faktör günümüzde görülen BPD patogenezi anlamamızda da önemli rol oynamaktadır (23,27). Bronkopulmoner displazi patolojisinde alveoler gelişimde duraklama sonucu az sayıda, geniş ve basit yapıda alveoller, interstisiyel fibrozis, ödem, atelektazi, vasküler lezyonlar ve hava yolu düz kas hiperplazisi görülmektedir (27). Günümüzde görülen BPD’de alveoler yapıda basitleşme, akciğer gelişiminde duraklama, fibrozis ve daha hafif vasküler lezyonlar gözlenmektedir (28). Bronkopulmoner displazi patofizyolojisinde birçok mekanizma rol almasına rağmen, akciğer gelişiminin bozulması halen en önemli faktör olarak görülmektedir (29). Bu bozulma dönemine genellikle bakteriyel bir infeksiyon veya PDA eşlik etmektedir (30). Hastalığın ileri evrelerinde radyolojik bulgular ortaya çıkmakta, hafif olgularda yaygın puslu görünüm dikkat çekerken; ağır olgularda periferik uzanan ince/kaba dansiteler gözlenmektedir (31). Husain ve arkadaşları (32) surfaktan almamış hastalarda yapılan otopsilerde alveoler septal fibrozis ve nekrotizan bronşiolit görüldüğünü belirtirken, surfaktan tedavisi almış BPD’li hastaların otopsilerinde fibröz doku oluşumunun daha az olduğuna, ancak alveoler septasyonda duraklama olduğuna dikkat çekmiştir. Bu durum da surfaktan tedavisinin BPD’yi önlemediğine işaret etmektedir.

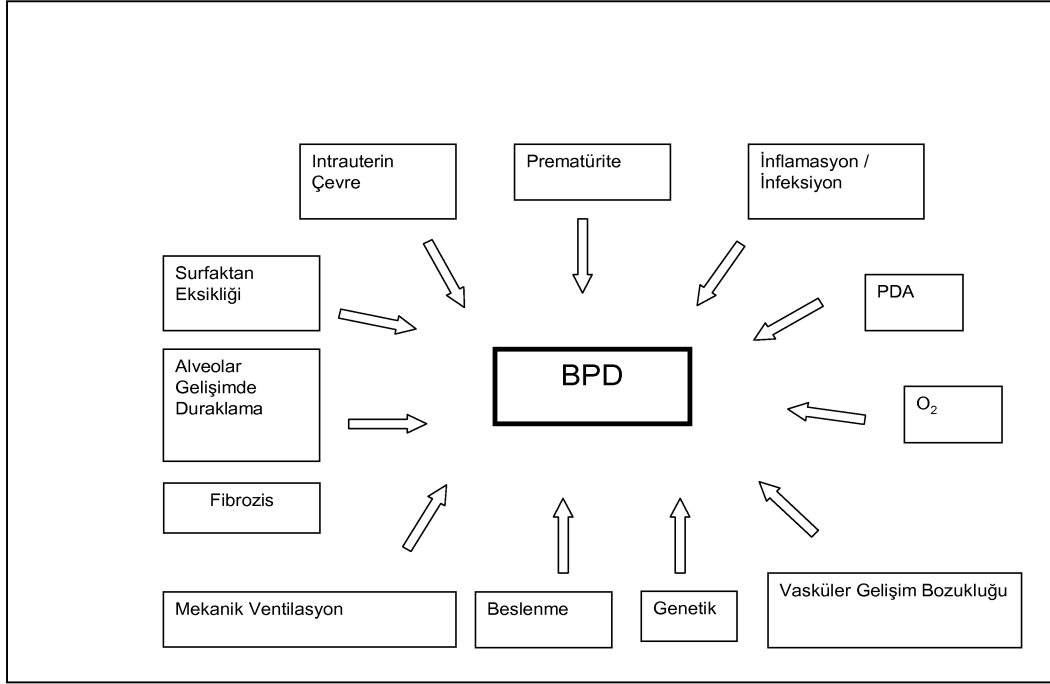
2.3.1. Bronkopulmoner displazi insidansı:

Bronkopulmoner displazi sıklığı tanıma göre değişkenlik göstermektedir. Bronkopulmoner displazi tanımı bazı çalışmalarda oksijen bağımlılığının doğumdan sonra 28. gün devam etmesi olarak kabul edilirken, bazı çalışmalarda ilk 28 gün ve postmenstrüel 36. haftaya kadar sürmesi olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle BPD tanımına göre hastalığın insidansı değişkenlik göstermektedir (33,34). Doğum ağırlığı 500-1500 gr arasında olan ve en az 28 gün oksijen ihtiyacı devam eden bebeklerdeki BPD insidansı %3-43 arasında değişkenlik göstermiştir. Günümüzde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşam şansının artmasına bağlı olarak BPD görülen bebek sayısında artış gözlenmektedir (35).

2.3.2 Risk faktörleri

Bronkopulmoner displazi gelişimi için birden fazla risk faktörü vardır. Bu risk faktörleri

Şekil 2.3.2’de belirtilmiştir.



Şekil 2.3.2 Bronkopulmoner displazinin risk faktörleri

2.3.3. Etiyopatogenez

Prematürite ve akciğer gelişimi:

Bronkopulmoner displazi insidansı gebelik haftası ve doğum ağırlığı ile ters ilişkilidir. Akciğer immatüritesi BPD patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Akciğer gelişimi 5 evrede incelenir:

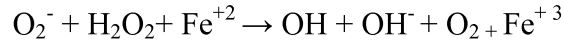
- 1- Embriyonel evre (0-7 hafta): Akciğer gelişimi, trakea, ana bronşlar, beş lob ve on sekiz ana lobulün gelişimi ile devam eder. Pulmoner arterler dallanmakta olan hava yollarına eşlik eder.
- 2- Psödoglanduler evre (7-16 hafta): İletici hava yolları, terminal bronşiol ve primitif asinüs oluşur. Respiratuvar epitel farklılaşır.
- 3- Kanaliküler evre (16-28 hafta): Primitif asinüsten respiratuvar bronkus, alveoler duktus ve rudimenter alveol oluşur. Tip 2 pnositler farklılaşır. Distal pulmoner dolaşım gelişir.

- 4- Sakkuler evre (28-32 hafta): Asinar tubüller genişler, duvar kalınlığı azalır.
- 5- Alveoler evre (32 hafta-doğumdan sonra 2 yaş): Alveoller oluşur (36). Preterm doğum sonucu geç kanaliküler veya erken sakküler evrede gaz değişimi başlar, normal alveoler ve distal sakküler gelişim duraklamaktadır (37).

Akciğer gelişimi ve matürasyonunda rolü olan surfaktan proteinleri, BPD patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Bunlardan surfaktan (SP)-B ve SP-C surfaktan yapısı ve yüzey gerilimini azaltmada önemli rol oynarken, SP-A ve SP-D lokal konakçı savunması ve akciğerde inflamatuvar oluşumun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (38).

Oksijen toksisitesi:

Prematürelerin antioksidan savunma mekanizmaları özellikle stres altında iken yetersiz kalmaktadır. Yenidoğanlarda oksidatif strese birkaç faktör katkıda bulunmaktadır. Bunlar; immatürite, antioksidan savunma mekanizmasının yetersizliği, infeksiyon/inflamasyondur. Bunlara ek olarak plazmada bulunan serbest demirin toksik oksijen ürünleri oluşturması da oksidatif strese katkıda bulunmaktadır. Serbest demir ve diğer transizyonel metaller yapılarında bir adet eşleşmemiş elektron bulundurlar. Serbest demir, süperoksit anyonu (O_2^-) ile hidrojen peroksit (H_2O_2) arasındaki reaksiyonu katalizleyerek toksik hidroksil (OH^-) molekülü oluşumuna neden olur.



Oluşan ferrik demir (Fe^{+3}) askorbik asit tarafından hızla ferröz demire (Fe^{+2}) indirgenir. Normalde serbest ferröz demir, serüloplazminin ferooksidaz aktivitesi ile ferrik demire oksitlenir ve hücrelerde kullanılmak üzere transferrine bağlanır. Yenidoğanlarda transferrin ve serüloplazmin düzeylerinin düşük olması nedeniyle plazmadaki serbest demir artışı oksidan strese katkıda bulunmaktadır (39,40). Oksidan stresteki bu artış, protein oksidasyonu, surfaktan sentezinin azalması, DNA sentezinin inhibisyonu ve lipid peroksidasyonuyla sonuçlanmakta, bunların etkisiyle ilerleyici akciğer fonksiyon bozukluğu ve hücre ölümü gerçekleşmektedir (41). Oksijen tedavisi ve nötrofillerin bölgesel toplanması sonucu toksik oksijen radikalleri oluşmaktadır. Tip 2 pnömositler bu duruma hassas olduğundan endotel geçirgenliğinde artış ve hücre fonksiyonlarında bozulma oluşmakta, oksidatif stres nedeniyle MMP üzerinden ekstraselüler matriks yıkımı, alveoler bazal membran hasarı ve fibrozis gelişmektedir (42). Mekanik ventilasyon tedavisine bağlı zedelenme akciğerlerde aktive olmuş nötrofillerin birikmesine neden olmaktadır (43). Aktive nötrofillerden salınan proinflamatuvar sitokinler, aktive fagositlerden salınan serbest oksijen radikalleri ve proteazlar oksidan stresi arttırmaktadır (42).

Mekanik ventilasyon, basınç ve hacim travması:

Respiratuvar distres sendromlu bebekler için hayat kurtarıcı olan mekanik ventilasyon tedavisi aynı zamanda akciğer hasarına ve ileri dönemde BPD'ye yol açabilmektedir. Alveollerin ve hava yollarının yüksek tidal hacim kullanılmasına bağlı aşırı gerilmesi mekanik zedelenmeye bağlı olarak geçirgenlikte artışa yol açmakta, bunun sonucunda hava yollarına, alveollere ve interstisyuma sıvı, protein, kan elemanları sızmakta, pulmoner ödem oluşmakta ve sonuç olarak surfaktan fonksiyonu bozulmaktadır (44). Choi ve arkadaşlarının (45) yaptığı bir çalışmada, sağlıklı akciğeri olan ve mekanik ventilatör desteği alan hastalar rasgele iki gruba ayrılmış; birinci gruba 6 ml/kg tidal hacim ve 10 cmH₂O pozitif ekspiryum sonu basınç (PESB) uygulanmış, ikinci gruba ise sadece 12 ml/kg tidal hacim verilirken PESB uygulanmamıştır. Beşinci saatin sonunda ikinci grupta alveoler TF ilişkili koagülasyonun artmış olduğu gözlenmiştir. Bu çalışma düşük tidal hacim uygulanmasının akciğerleri fibrozisten koruyucu ventilasyon tipi olduğunu, mekanik ventilasyona bağlı akciğer hasarını önlemede düşük tidal hacim kullanımının önemini vurgulamıştır. Ek olarak bir başka çalışmada mekanik solunuma bağlı akciğer hasarının pulmoner fibrinolizisi azalttığı gösterilmiştir (46).

İnfeksiyon ve inflamasyon:

Oksijen toksisitesi, ventilatör tedavisine bağlı travma, prenatal infeksiyonlar gibi risk faktörleri hava yollarında inflamatuvar yanıt oluşturarak, akciğer zedelenmesine neden olabilir. Bronkopulmoner displazili bebeklerde yaşamın 10. gününde bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında proinflamatuvar sitokinlerin [IL-8, hücreler arası adezyon molekülü; (HAM-1)] kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu gözlenmiştir (47). Pulmoner inflamasyon; akciğerde nötrofil ve makrofaj birikimi, trakeal aspirat veya BAL sıvısında proinflamatuvar sitokinlerin yüksek miktarda bulunması olarak tanımlanmaktadır. Fagositlerin (nötrofil, monosit) aktivasyonu sonrası hücre yüzeylerinde CD11b/18 ekspresyonu gelişmektedir. Bu integrin, fagosit ve endotel arasında sıkı adezyon sağlayarak, hücrenin dolaşımdan inflamasyon bölgesine geçişini sağlamaktadır. Sağlıklı preterm veya term yenidoğanlarda, doğumdan sonra fizyolojik adaptasyonun yeterli olmaması nedeniyle yaşamın ilk gününde dolaşımdaki nötrofillerin aktivasyonu gerçekleşmemektedir. Nötrofillerdeki artmış CD11b/18 ekspresyonu sepsis, travma, yanık, otoimmün hastalıklar gibi inflamatuvar durumlarda gözlenmiştir. Respiratuvar distres sendromu nedeni ile mekanik destek uygulanan preterm bebeklerde mekanik solunumdan birkaç saat sonra dolaşımdaki fagositlerin aktive olduğu gözlenmiştir. Mekanik ventilasyon uygulanan hastalar, solunum desteği uygulanmayan veya NSPHB

uygulanan hastalarla karşılaştırıldığında; mekanik solunum desteği verilenlerde nötrofil CD11b ekspresyonunda artış gözlenirken, diğer gruplarda değişiklik gözlenmemiştir. Bu sonuçlar mekanik solunumun respiratuvar distres sendromu olan preterm bebeklerde sistemik inflamatuvar yanıtı neden olabileceğini düşündürmektedir (43). Bronkopulmoner displazi gelişen bebeklerin hava yolu sekresyonlarında kemotaktik ve kemokinetik faktörler [K5a, lökotrien B4 (LTB4), IL-8, HAM-1] artarak inflamasyona katkıda bulunmaktadır. Kemotaktik aktivite, BPD gelişen bebeklerde RDS gelişip iyileşenlere göre daha fazladır (48).

Preterm yenidoğanlarda, proinflamatuvar sitokinlerde artışa rağmen antiinflamatuvar yanıt yetersizdir. İnterlökin-10, akut akciğer hasarından koruyan antiinflamatuvar bir sitokindir, IL-10-1082 G/A polimorfizminin mekanik solunum desteği verilen prematüre bebeklerde BPD gelişimi veya mortalite üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir (49). İnterlökin-10'un, prematüre bebeklerin akciğerlerindeki proinflamatuvar sitokin cevabını azalttığı gösterilmiştir. Respiratuvar distres sendromu olan bebeklerin çoğunda hava yolu sekresyonlarında IL-10 mRNA'sı gösterilememiştir (50).

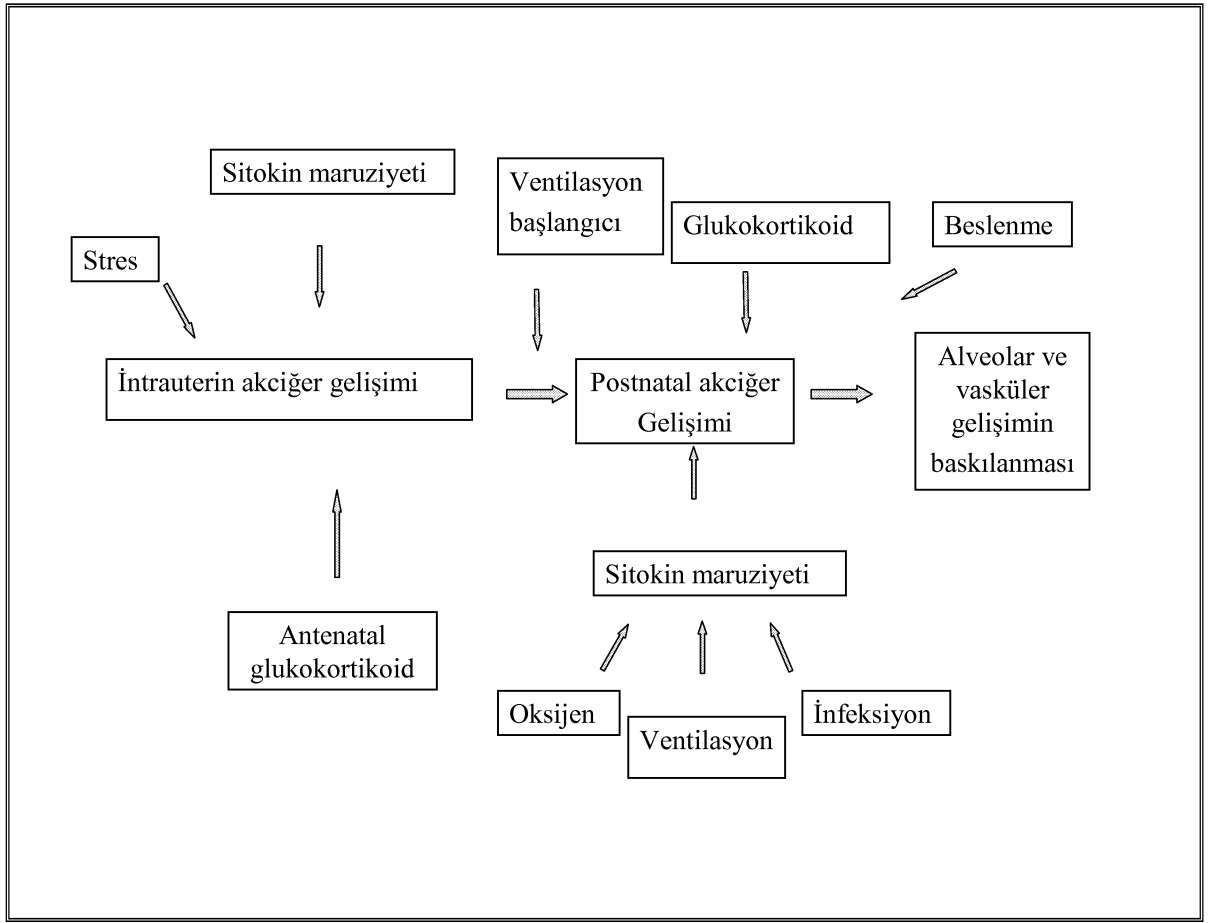
İnfeksiyon ve inflamasyonun BPD gelişimine etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Antenatal inflamasyon ve infeksiyon etkilerine yönelik bir çalışmada, annelerinde koryoamniyonit olan bebeklerin BPD riskinin 3 kat arttığı gösterilmiştir (51). Kord kanındaki IL-1 ve IL-6 düzeylerinin artışı, BPD gelişimi için risk faktörleri arasındadır (52). Bronkopulmoner displazide doku zedelenmesinden sorumlu diğer bir mekanizma da nötrofillerden salınan serbest elastazın artışı ve normalde elastazı inhibe eden $\alpha 1$ -proteinaz inhibitörünün oksidatif stres varlığında inaktive olması sonucu gelişen akciğer hasarıdır (53,54). Bronkopulmoner displaziye katkıda bulunan faktörlerden biri de TGF- β 'nın aşırı üretimidir (55). Bronkopulmoner displazili bebeklerin hava yolu sekresyonlarında yüksek düzeyde TGF- β_1 bulunması akciğerlerde fibrozisten, büyüme ve farklılaşmanın duraklamasından sorumlu tutulmaktadır (56). Choi ve arkadaşlarının (57) bir çalışmasında doğumda trakeal aspiratta IL-6 düzeyindeki artış saptanması pulmoner inflamasyon göstergesi olarak kabul edilip, BPD gelişiminin önceden belirleyicisi olarak kabul edilmiştir .

2.3.4. Bronkopulmoner displazi-genetik ilişkisi:

Bronkopulmoner displazi patogenezinde çevresel ve genetik bir çok faktör rol oynamaktadır. Aynı gebelik haftasındaki prematüre bebeklerin tümünde BPD görülmemesi patogenezinde kişisel faktörlerin rolünü düşündürmektedir. İkiz çalışmalarında kardeşinde BPD olan monozigotik ikizlerde BPD riskinin 4 kat arttığı, dizigotik ikizlerde ise bu artışın 1.4 kat olduğu gösterilmiştir (7). İkizlerde yapılan bir başka çalışmada ise, ortalama doğum haftası 29 hafta ve ortalama doğum ağırlığı 1286 gram olan ikizlerden oluşan çalışma grubunda, monozigotik ikizlerde BPD gelişme oranının dizigotik ikizlere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (58). Bu bulgular kişisel faktörlerden biri olan genetik farklılığın patogenezinde rolünü desteklemektedir. Akciğer fonksiyonu, alveoler stabilite, pulmoner konak yanıtı ile ilişkili gen polimorfizmleri BPD gelişim riskini etkilemektedir. İkiz çalışmalarında RDS ve BPD gelişiminde genetik faktörlerin etkisi preterm ve ileri derecede preterm bebeklerde %35-65 arasında değişmektedir (59). Genetik ve çevresel faktörler arasındaki yakın ilişki, hastalık gelişiminde genetik faktörlerin etkisini değerlendirmeyi güçleştirmektedir. Bunu etkileyen diğer bir faktör de ileri derecede düşük gebelik haftasında doğumlar sonucu görülen immatüritedir. Çok düşük gebelik haftasında doğan bebeklerde (23-25 hafta) yetersiz konak yanıtı ve aşırı hassas olmaları immatürite ile ilişkilidir. Farklı genler birbiri ile etkileşerek veya çevresel faktörlerle etkileşerek hastalığa yatkınlığı arttırabilir. Prematürite şiddeti veya çevresel faktörlere göre BPD-genetik ilişkisi belirlenmektedir (60).

2.3.5. Patoloji:

Bronkopulmoner displazi patolojisinde alveoler gelişimde duraklama sonucu az sayıda, geniş ve basit yapıda alveoller, interstisiyel fibrozis, ödem, atelektazi, vasküler lezyonlar, hava yolu düz kas hiperplazisi görülmektedir (27). Alveoler epitelyal hücrelerden salgılanan vasküler endotelyal büyüme faktörü (*VEGF*) endotelyal hücre büyüme ve farklılaşmasını uyarır. Vasküler endotelyal büyüme faktörü salgılanmasını inhibe eden BPD gibi pulmoner zedelenme sonucu pulmoner vasküler büyüme ve gelişme bozulmakta, ağır vasküler problemler gelişmektedir. Bu durum pulmoner gaz değişiminde bozulmaya yol açarak klinik belirtilere neden olur (61). Günümüzde görülen BPD’de alveoler yapıda basitleşme, akciğer gelişiminde duraklama ve daha hafif vasküler lezyonlar gözlenmektedir (28).



Şekil 2.3.5: Bronkopulmoner displazi patofizyolojisinde birçok mekanizma yer almakta, alveoler ve vasküler gelişimin duraklaması ile sonuçlanmaktadır.

2.3.6. Klinik bulgular:

Oksijen gereksiniminin veya mekanik ventilasyon ihtiyacının sürmesi temel bulgudur. Takipne, yardımcı solunum kaslarının solunuma katılması, apne, hastalığın ağır biçiminde hepatomegali, ödem gibi kalp yetmezliği bulguları görülmektedir. Kan gazında hipoksemi, hiperkarbi ve respiratuvar asidoz izlenmektedir (62). Bronkopulmoner displazi gelişen bebeklerde hava yolu iletiminde azalma ve hava yolu direncinde artış görülmekte, ancak bu değişiklikler 2-3 yaşlarında normale dönmektedir. Bronkopulmoner displazi görülen çocuklar zamanında doğan veya preterm doğan ancak BPD görülmeyen bebeklerle karşılaştırıldığında solunum fonksiyon testinde zorlu vital kapasitede, birinci dakika zorlu ekspiryum hacminde azalma ve reziduel hacim/ total akciğer kapasitesinde artış gözlenmiştir (63,64).

2.3.7. Tedavi:

Dünyanın değişik bölgelerinde BPD'ye yaklaşım farklılıklar göstermektedir. Vasküler büyüme ve alveoler gelişim arasında karmaşık bir ilişki bulunmaktadır. Bronkopulmoner displazili hastalarda pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonale gelişimini önlemede uygun oksijen saturasyonunun uygulanması ve parsiyel oksijen basıncı (PaO₂) düzeyinin hedef aralıkta tutulması amaçlanmaktadır (65,66). Bronkopulmoner displazi görülen hastalarda bronşiyal düz kas hipertrofisi ve hava yolu reaktivitesinde artışa bağlı hava yolu direncinde artış olmakta ve buna yönelik tedavide bronkodilatörler kullanılmaktadır (64). İnhalasyon bronkodilatörler (β_2 -agonistler, antikolinergik ajanlar) akciğer fonksiyonlarını kısa süreli düzeltmekte, atakları önlemekte ve yaşam kalitesini arttırmaktadır (67).

Bronkopulmoner displazi patogenezinde inflamasyon önemli yer tutmaktadır (67). Steroidler inflamatuvar yanıtı azaltmakta, pulmoner ödemin çözülmesini sağlamakta, surfaktan üretimini artırmakta ve akciğer fibrozisini azaltmaktadır (68). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada BPD'li hastalara intratrakeal budesonid ve surfaktan uygulanmasının, akciğerde budesonidin dağılımını kolaylaştırdığı ve bunun sonucunda BPD insidansını veya mortaliteyi azalttığı ve BPD gelişmeden yaşam süresini uzattığı gösterilmiş (69). Bu tedavilere ek olarak vitamin A, pulmoner ödemi azaltmaya yönelik furosemid, tiazidler, spironolakton kullanılmaktadır (68,70).

2.3.8. Prognoz:

Günümüzde surfaktan tedavisinin kullanılmaya başlanması ile BPD'de mortalite azalmıştır. Hastaların yarısına yakını hayatın ilk iki yılında solunum problemleri nedeni ile tekrar hastaneye yatırılmaktadır. Hastaneye başvuru sıklığı yaşamın 2-3. yılında azalmaktadır. Bronkopulmoner displazili birçok hastada solunum fonksiyonları zamanla düzeliyor normale dönmeye karşın, solunum fonksiyon testlerinde artmış hava yolu direnci ve reaktivitesi gibi anormallikler adolesan döneminde de devam etmektedir (71). Bronkopulmoner displazi tanısı ile izlenen 47 hasta ve benzer gebelik haftalarında doğan 45 preterm bebek 7-10 yaşına kadar solunum fonksiyon testi ile takip edilmiş, iki grupta akciğer hacmi ve difüzyon kapasitesinde fark saptanmamıştır. Bronkopulmoner displazi grubunda küçük hava yolu tıkanıklığında artmış riski gösteren FEF₂₅₋₇₅ ölçümü anlamlı düşük bulunmuş ancak her iki grupta da bronkodilatörlere yanıtta farklılık saptanmamıştır (72).

Bronkopulmoner displazili bebeklerin izleminde nöromusküler, kognitif ve davranış problemleri gözlenmektedir. Bronkopulmoner displazili çocukların zeka puanlarının belirgin düşük, akademik fonksiyonlarının düşük olduğu, konuşma ve dil gelişiminde

gecikme, görsel ve motor fonksiyonlarda bozulma ve davranışsal problemlerinin olduğu görülmüştür (73).

2.4. Pulmoner Koagülasyon

Pulmoner sistem/koagulopati ilişkisine ait sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Erken dönemde yapılan çalışmalar pulmoner alveoler boşluğun fibrinolitik bir çevreden oluştuğunu, buna bağlı olarak akciğer hasarında plazminojen aktivatörlerinin aktivitesinin azaldığını desteklemektedir. Alveoler boşlukta uPA bulunmasına karşın fibrinolitik/antifibrinolitik mekanizmaların denge içinde çalıştığı bilinmektedir (1). Akciğer fibrozisi patogenezinde fibrin önemli rol oynamaktadır. Plazminojen aktivatörlerinin aktivitesinin artışı sonucunda matriksten fibrinin temizlenmesiyle kollajen birikimi azalmakta ve böylece fibrozis engellenmektedir. Ancak pulmoner hastalıklarda plazminojen aktivatör sisteminin rolü oldukça karışıktır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 matriks proteinlerinin parçalanması, MMP'lerinin proteaz kaskadını aktivasyonu sonucunda fibrozis, damar duvarı onarımında rol oynayan büyüme faktörlerinin salınımı, hücre adezyonu ve motilitesinin düzenlenmesinde temel rol oynamaktadır (74).

Normal koşullar altında pulmoner dolaşımda az miktarda TF bulunmaktadır. Proinflamatuvar sitokinler uyarıldığında (TNF- α , İL-6) monosit ve endotelial hücre yüzeyinden TF salınımını gerçekleştirmekte, akciğerlerde koagülasyon tetiklenmekte, koagülasyon-fibrinolizis döngüsü başlamaktadır. Şaşırtıcı olarak, akciğer hastalıklarında bu mediatörler asıl olarak pulmoner kompartmandan kaynaklanmakta, eş zamanlı ölçülen proinflamatuvar sitokinlerin plazma düzeyi düşük bulunmaktadır (1). Tremblay ve arkadaşlarının (75) yaptığı bir çalışmada sistemik dolaşımdan ayrılan sıçan akciğerleri yüksek tidal hacim ve düşük PESB kullanılarak ventile edilmiş, iki saat süren ventilasyon sonrası lavaj materyalinde sitokin cevabının, ventilasyon öncesine göre artmış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada mekanik ventilasyon başlangıcı ile artan proinflamatuvar sitokinlerin TF yoluyla koagülasyonu aktive ettiği, aynı zamanda PAI salınımını uyararak fibrinolizisi azalttığı gösterilmiştir. Bu durum koagülasyona eğilimle sonuçlanmaktadır. Bastarache ve arkadaşları (76) tarafından yapılan bir çalışmada alveoler epitelin aktif TF salınımı ile intra-alveoler koagülasyonu başlattığı gösterilmiştir. *İn vitro* hücre yüzeyini inceleyen yöntemler kullanılarak, değişik uyarılarla karşılaşma sonrası, alveoler epitelyal hücrelerde TF aktivitesi ve üretimi ölçülmüş, proinflamatuvar uyarının A549 hücrelerinde TF mRNA ve protein düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir. Bu da akciğerde kullanılan TF'nün alveoler kompartmandan kaynaklandığını ve yine pulmoner koagülasyonun sistemik koagülasyondan bağımsız çalışabileceğini düşündürmektedir.

İnflamatuvar yanıtın başlangıç fazında TNF- α , IL-1, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımı artmaktadır. Proinflamatuvar sitokinler doku faktörü yolu ile koagülasyonu aktive etmekte, PAI'ler yolu ile fibrinolizisi baskılamaktadır (44). Akciğerde değişik hücre tiplerinin yüzeylerinde eksprese edilen proteaz aktive edici reseptör (PAR)'ler koagülasyon ve inflamasyonda önemli rol oynamaktadır. Proteaz aktive edici reseptör aktivasyonu proinflamatuvar sitokinlerin salınımını uyarak TF aracılığıyla ekstrensek yoldan koagülasyonu başlatmaktadır. Bu yolda oluşan trombin PAR'lerin en güçlü uyarandır. Bunun uyarımı sonucunda akciğerde damar geçirgenliğinde artış, fibrin birikimi, fibroblast aktivasyonu gözlenmektedir. Yeni tedavi rejimleri PAR'leri hedeflemekte, PAR antagonistlerinin antitrombotik ajan olarak kullanılması amaçlanmaktadır (77).

Akciğer hastalıklarında pulmoner koagülasyon ve sistemik koagülasyon birlikte değerlendirilmeli, pulmoner inflamasyon durumunda sistemik koagülasyondan bağımsız olarak pulmoner koagülasyon bozuklukları olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma grubunun seçimi

Bu çalışmaya Ağustos 2006- Mayıs 2008 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na bağlı Ankara, Adana ve Konya Uygulama ve Araştırma Hastanelerinin Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde ve Zekai Tahir Burak Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde izlenen, gebelik süresi 37 haftanın altında olan ve BPD kıstaslarını karşılayan 98 hasta alındı. Kontrol grubuna yine aynı Ünitelerden, gebelik süresi 37 haftanın altında olan ve BPD gözlenmeyen 94 hasta dahil edildi. Çalışmaya ilk 28 günde kaybedilen, konjenital anomalisi olan hastalar alınmadı. Ek olarak çalışma süresi içinde herhangi bir nedenle kaybedilen hastalar da çalışma dışı bırakıldı.

Bronkopulmoner displazi tanısı Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından geliştirilen ve 2001 yılında yayınlanan ölçütlere göre konuldu (24). Bu ölçütlere göre doğum sonrası en az 28 gün %21'den fazla oksijen tedavisi almakta olan ve/veya 36. gebelik haftasına gelmesine rağmen veya taburcu edilirken oksijen tedavisi kesilememiş olan 98 hasta BPD tanısı aldı ve BPD grubuna alındı. Bu kıstaslara göre BPD tanısı konulmayan, 28 günden kısa süre oksijen ihtiyacı olan veya hiç oksijen ihtiyacı olmayan 94 prematüre bebek ise kontrol grubunu oluşturdu. BPD'li hastaların klinik ağırlıkları Tablo 2.3'de verildiği şekliyle derecelendirildi. Çalışma için Başkent Üniversitesi Etik Kurulu ve Zekai Tahir Burak Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulundan izin alındı. Çalışmaya katılan hastaların ailelerinden moleküler analizler için bilgilendirilmiş onam alındı. Her bir hastadan moleküler analiz için 0.072 ml %7.5 K3-etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu içeren standart tüplere 2'şer ml tam kan alındı. Kan alma işlemi hastadan tıbbi nedenlerle kan alınacağı bir zamana denk getirildi. Moleküler analiz için gerekli olan genomik DNA izole edilip, moleküler analiz yapılana dek -80°C'de saklandı.

3.2. Laboratuvar Yöntemleri

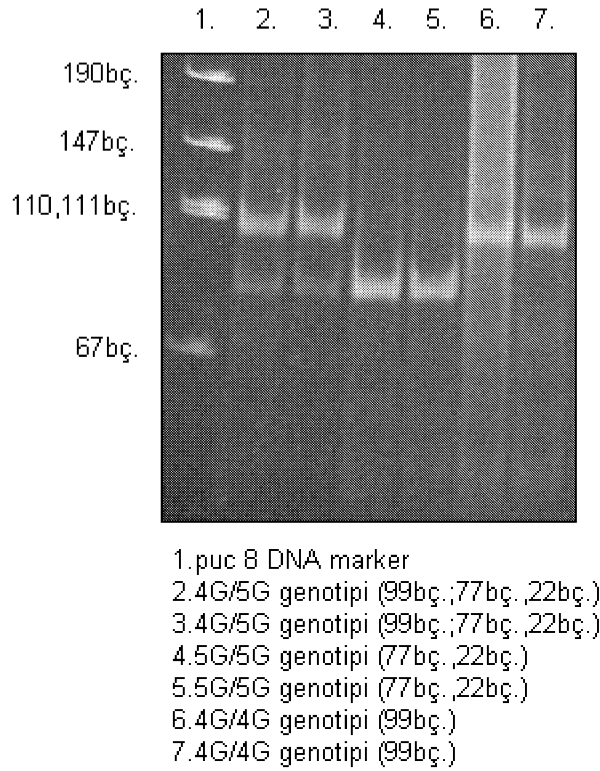
Olguların PAI-1 4G/5G genotiplemesi Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve ve Genetik Anabilim Dalı DNA Analiz Laboratuvarında gerçekleştirildi. Bronkopulmoner displazi ve kontrol grubuna ait DNA'lar fenol kloroform ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edildi.

Fenol-kloroform yöntemi

500 µL EDTA'lı kan üzerine 1000 µL TRIS-EDTA (10 mM TRIS, 1 mM EDTA) konarak vortekslendi. Dakikada 12.000 devirde 2 dakika santrifüj edildikten sonra üst kısmı döküldü. Kalan çökelti üzerine 750 µL TRIS-EDTA eklenerek tekrar vortekslendi. Yine dakikada 12.000 devirde 2 dakika santrifüj edildikten sonra üst kısmı döküldü. Çökelti üzerine 450 µL TRIS-EDTA + 50 µL 1 M'lık NaCl + 50 µL %10'luk SDS (sodyum dodesil sülfat) ve 25 µL proteinaz K enzimi koyularak bir gece 37 °C etüvde bekletildi. Ertesi gün bu karışımın üzerine 400 µL fenol ve 400 µL kloroform koyulduktan sonra vortekslendi. Dakikada 2.500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra üst faz temiz eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerine 500 µL kloroform koyularak vortekslendi. . Yine dakikada 2.500 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra üst faz tekrar temiz eppendorf tüplere aktarıldı. Üzerine 800 µL %100'lük etil alkol konularak -20 °C'de 2-3 saat bekletildi. Daha sonra dakikada 13.000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra alkolün uçması beklenildi. Elde edilen DNA'lar distile suda çözüldü.

PAI-1 4G/5G genotiplemesi :

Hedef bölgelere özgü primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)'nu takiben uygun restriksiyon enzimi ile keserek restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi (RFLP, *restriction fragment length polymorphism*) analizi ile genotipleme gerçekleştirildi. Sonuçlar 4G/4G, 4G/5G ve 5G/5G olmak üzere üç genotip şeklinde sınıflandırıldı (Resim 3.2).



Resim 3.2: Plazminojen aktivatör inhibitör-1 4G/5G polimorfizminin RFLP analizi için 99 baz çiftlik PCR ürününün *Bse* L1 enzimi ile kesimi sonucu oluşan jel görüntüsü.

3.3. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmanın istatistiksel analizi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda SPSS istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Pearson ki-kare testi ve Fisher-Exact test kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi ve normal dağılmadıkları belirlendi. Bu nedenle sürekli değişkenlere ilişkin grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri setinin analizinde SPSS 13.0 istatistik paket programı kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza, ilgili hastanelerin Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde izlenen toplam 192 preterm bebek alındı. Bunlardan 98'i BPD grubu, 94'ü ise kontrol grubundaydı. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: BPD ve kontrol grubunun gebelik haftası, doğum ağırlıkları, cinsiyet ve doğum şeklinin karşılaştırılması

		BPD (n=98)	Kontrol (n=94)	p
Gebelik Haftası	Ortalama ($\pm$ SD)*	27,97 $\pm$ 1,8	30,14 $\pm$ 1,8	<0,001
	Ortanca (dağılım)**	28 (24-33)	30 (26-34)	<0,001
Doğum ağırlığı (gr) *		1102 $\pm$ 251	1430 $\pm$ 351	<0,001
Cinsiyet (kız/erkek)		39/59	45/49	>0,05
Doğum şekli (sezaryen doğum)		70 (%71,4)	79(%84)	>0,05

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

** Değerler ortanca (dağılım)olarak verilmiştir.

Bronkopulmoner displazi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında gebelik haftası ve doğum ağırlığı açısından istatistiksel olarak farklılık saptanırken, cinsiyet ve doğum şekli açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Doğum ağırlığı kontrol grubunda anlamlı şekilde fazlaydı. Bronkopulmoner displazi grubunun klinik ağırlığına göre derecelendirmesi Tablo 4.2'de verildi.

Tablo 4.2: BPD grubunun klinik ağırlığına göre dağılımı

		BPD		Kontrol	p#
		Hafif-Orta (n=42)	Ağır (n=56)	(n=94)	
Gebelik Haftası	Ortalama ($\pm$ SD)*	27,6 $\pm$ 1,5 28 (24-32)	28,2 $\pm$ 1,9 28 (24-33)	30,14 $\pm$ 1,8 30 (26-34)	<0,001 <0,001
	Ortanca (dağılım)**	p>0.05***			
Doğum ağırlığı (gr) *		1070 $\pm$ 207	1127 $\pm$ 279	1430 $\pm$ 351	<0,001
		p>0.05***			
Cinsiyet (kız/erkek)		18/24	21/35	45/49	>0,05
Doğum şekli (sezaryen doğum)		31(%73,8)	39 (%69,6)	79(%84)	>0,05

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

** Değerler ortanca (dağılım) olarak verilmiştir.

***BPD alt gruplarının karşılaştırılması

BPD alt gruplarının her birinin tümünün kontrol grubuyla karşılaştırılmasının sonucu

Bronkopulmoner displazi alt gruplarının her biri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gebelik haftası ve doğum ağırlığı açısından istatistiksel olarak fark bulunurken, cinsiyet ve doğum şekli açısından fark bulunmadı. Bronkopulmoner displazi alt grupları klinik ağırlıklarına göre sınıflanıp, kendi içinde karşılaştırıldığında, gebelik haftası, doğum ağırlığı, cinsiyet ve doğum şekli açısından anlamlı fark bulunmadı.

Tablo 4.3: BPD ve kontrol grubunun klinik bilgileri

	BPD (n=98)	Kontrol (n=94)	p
Entübe kalma süresi (gün)*	14,5±15,7	1,1±2,6	<0,001
Hastanede kalış süresi (gün)*	74±23,8	30,6±16,9	<0,001
Doğum öncesi steroid uygulaması	56 (%43,4)	73 (%56,6)	< 0,05
Surfaktan uygulaması	96 (%98)	29 (%30,8)	<0,001

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.3’de BPD ve kontrol grubunun klinik bilgileri karşılaştırmalı olarak verildi. Çalışmamızda, BPD grubunun ortalama entübe kalma süresi ve ortalama hastanede kalış süresi kontrol grubundan istatistiksel olarak uzun bulundu. Bronkopulmoner displazi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında doğum öncesi steroid profilaksisi ve surfaktan kullanımı açısından fark anlamlı bulundu. Doğum öncesi steroid uygulaması kontrol grubunda, surfaktan uygulaması ise BPD grubunda daha fazlaydı.

Tablo 4.4: BPD ve kontrol grubu PAI-1 4G/5G-genotip ilişkisi

PAI-1	BPD (n=98)	Kontrol (n=94)	p
4G/4G n (%)	43 (43,9)	40 (42,6)	>0,05
4G/5G n (%)	27 (27,6)	27 (28,7)	>0,05
5G/5G n (%)	28 (28,6)	27 (28,7)	>0,05

Hastalarımızın genotipik özellikleri karşılaştırıldığında, BPD ve kontrol gruplarında her üç genotipin dağılımı arasında fark olmadığı izlendi (Tablo 4.4).

Tablo 4.5: BPD alt grubu gen polimorfizmi ilişkisi

PAI-1	BPD		Kontrol	Toplam	p
	Hafif-Orta (n=42)	Ağır (n=56)	(n=94)	(n=192)	
4G/4G n (%)	21 (50)	22 (39,3)	40 (42,6)	83 (43,2)	>0,05
4G/5G n (%)	9 (21,4)	18 (32,1)	27 (28,7)	54 (28,1)	>0,05
5G/5G n (%)	12 (28,6)	16 (28,6)	27 (28,7)	55 (28,6)	>0,05

Hastalarımız klinik ağırlıklarına göre hafif-orta ve ağır BPD grubu olarak ikiye ayrıldıktan sonra her bir BPD alt grubunun kendi içinde karşılaştırılması sonucunda BPD alt gruplarının genotip yönünden farklılık göstermediği saptandı. Her bir BPD alt grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucunda yine istatistiksel olarak bir fark saptanmadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.6: Surfaktan uygulanması- gen polimorfizmi ilişkisi

PAI-1	Surfaktan uygulama (+) (n=125)	Surfaktan uygulama (-) (n=67)	p
4G/4G	58	25	>0,05
4G/5G	32	22	>0,05
5G/5G	35	20	>0,05

Tablo 4.6’da hastalarımızda surfaktan uygulanan ve uygulanmayan gruplarda genotip karşılaştırılması açısından istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi.

5. TARTIŞMA

Doğum öncesi steroid ve doğum sonrası surfaktan uygulanması, mekanik solunum yöntemlerinin hızla gelişmesi, yenidoğan yoğun bakımındaki gelişmeler günümüzde düşük doğum ağırlıklı bebeklerin sağkalım oranlarını ve yaşam kalitesini belirgin olarak arttırmıştır (24,35). Ancak BPD halen önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Bronkopulmoner displazi patogeneğinde çevresel ve genetik birçok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörlerden biri de artmış fibrozistir. Bronkopulmoner displazi patogeneğinde olduğu gibi, interstisiyel pulmoner fibrozis, hipersensitivite pnomonisi, sarkoidoz, kistik fibrozis ve akut respiratuvar distres sendromu gibi birçok akciğer hastalığının son evresinde fibrozis görülmektedir. Fibrinolitik aktivitenin azalması ve PAI-1 ekspresyonunun artması fibrozisle giden akciğer hastalıklarında önemli rol oynamaktadır (5). Bu çalışmamızda fibrozisle giden bir hastalık olan BPD’de artmış PAI-1 düzeylerinin hastalığın gelişiminde rolü olabileceğini düşündük. Bu nedenle BPD gelişen ve gelişmeyen iki grupta PAI-1 geni 4G/5G polimorfizmini araştırdık. Çalışmamızda BPD gelişen ve gelişmeyen preterm bebeklerde PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi açısından fark olmadığı izlendi.

Alveoler koagülasyon/fibrinolitik sistemdeki değişiklikler, damar duvarı dışında fibrin birikimi ile sonuçlanmaktadır. Normalde akciğerde pulmoner epitelyal hücreler ve alveoler makrofajlar tarafından uPA üretilmekte, bu nedenle alveoler yüzeyde fibrinolitik bir çevre oluşturmaktadır. Fibrozisle giden hastalıklarda ise PAI-1 artışı ile bu fibrinolitik aktivite baskılanmaktadır (78,79). Bleomisin uygulanan farelerde PAI-1 ekspresyonunun fazla olduğu, bunun sonucunda şiddetli akciğer hasarı ve ekstraselüler matriks birikimi geliştiği görülürken, PAI-1 eksikliği olan farelerin fibrotik reaksiyonlardan korunduğu gözlenmiştir (80). Plazminojen aktivatör inhibitör-1 ekspresyonundaki değişiklikler pulmoner fibrozisi etkilemekte, PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin değerlendirilmesi bu yönde bilgi sağlamaktadır (81). Genel popülasyonda yapılan çalışmalarda, 4G/4G genotipi olanların plazma PAI-1 düzeyinin, 4G/5G ve 5G/5G genotipi olanlara göre %18 fazla olduğu gözlenmiştir (79). Plazminojen aktivatör inhibitör-1 5G aleli, 4G alelinde bulunmayan ek bir transkripsiyon faktör bağlanma bölgesi içermekte, bu nedenle 4G aleli olanlarda PAI-1 sentezi artmaktadır (82,83,84). Yapılan bir araştırmada respiratuvar distres sendromu nedeni ile izlenen 37 preterm bebekten 15’inde BPD geliştiği gözlenmiş ve bronkopulmoner displazi gelişen preterm bebeklerin trakeal aspiratlarında PAI-1/uPA ve PAI-1/tPA düzeylerinin, sonuç olarak antifibrinolitik aktivitenin artmış olduğu

gösterilmiştir (85). Çalışmamızda BPD gelişen ve gelişmeyen grupta PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin farklı bulunmamasının, ilk 28 gün kaybedilen bebeklerin çalışmanın dışında tutulması ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. İlk 28 günde kaybedilen bebeklerin ağır solunum yetmezliği olduğu düşünülecek olursa, bu gruptaki genotip ilişkisi incelendiğinde farklı sonuçlar elde edilebilir. Ayrıca bu çalışmada PAI-1 4G/5G gen polimorfizminde fark gösterilememiş olmasına rağmen, BPD gelişiminde PAI-1'in rolü olmadığını söyleyebilmek için bu genin farklı bölgelerini içeren çalışmalar gerektiğini düşünmekteyiz.

Şiddetli inflamatuvar hastalıklarda PAI-1 artışının 4G aleli taşıyan kişilerde daha belirgin olduğu bu nedenle fibrinolitik aktivitenin azaldığı belirtilmiştir Akciğer hastalıklarının gelişiminde azalmış fibrinolitik aktivite ve artmış PAI-1 ekspresyonu önemli rol oynamaktadır(5). Bronkopulmoner displazi şiddeti ile PAI-1 gen polimorfizmi ilişkisine yönelik literatürde çalışma rapor edilmemiştir. Çalışmamızda, BPD şiddetinin derecelendirmesine göre PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi incelendiğinde, yine gruplar arasında farklılık bulunmadı.

Büyüme faktörü ile ilişkili gen polimorfizmleri, akciğerdeki damarlanmayı ve alveolarizasyonu değiştirerek, BPD gelişimine katkıda bulunmaktadır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada 118 BPD gelişen bebek ve 63 prematüre bebekte BPD'de genetik risk faktörlerini belirlemek amacıyla VEGF -460T>C, 405G>C, insülin büyüme faktörü (IBF) ilerleyici bölgesinde CA tekrarları, TGF- β -800G>A, 509C>T, 10T>C, 25G>C, 5,10 metilen tetrahidrofolat redüktaz (5,10-MTHFR) 677C>T gen polimorfizmleri karşılaştırılmış. BPD görülen hastalar hafif, orta, ağır BPD şeklinde derecelendirilmiştir. Bronkopulmoner displazi grubunda gebelik haftası ve doğum ağırlığı anlamlı şekilde düşük bulunurken, surfaktan uygulamanı, mekanik solunum ihtiyacı anlamlı şekilde yüksek bulunmuş. Bu çalışmada VEGF -460 CC aleli taşıyanlarda BPD gelişme riski anlamlı düşük bulunurken, IGF-1, TGF- β , 5,10-MTHFR gen polimorfizmleri ile BPD gelişme riski açısından ilişki bulunmamıştır(86).

Preterm bebeklerin önemli sorunlarından olan RDS'nda, alveollerde surfaktan eksikliğine bağlı fibrinöz özellikte hiyalen membranlar oluşmaktadır. Alveollerdeki fibrin birikimi surfaktan fonksiyonunu baskılamakta, damar endotelinde hasara yol açarak nötrofil/makrofaj kemotaksisini etkilemektedir. Bunun sonucunda artan inflamatuvar yanıt, BPD gelişiminde önemli rol oynamaktadır (81,85). Tedavide kullanılan oksijen ve mekanik ventilasyon da inflamatuvar yanıtı başlatmakta, bu da alveolokapiller dengeyi bozarak, BPD gelişimine neden olmaktadır (81). Bir çalışmada doğumdan sonraki ilk iki

hafta RDS nedeni ile entübe edilerek izlenen 37 preterm bebekten alınan 262 trakeal aspirat örneğinde PAI-1, tPA, uPA antijen düzeyleri ölçülmüş, ilk 2 günde RDS görülen grubun trakeal aspirat örneklerinde antifibrinolitik bir enzim olan PAI-1'in fibrinolitik enzimler olan tPA ve uPA'ye oranı artmış olarak bulunmuştur. Bu çalışmada RDS görülen 37 hastadan 15'inde BPD geliştiği ve BPD görülenlerde trakeal aspirat örneğindeki PAI-1 düzeyinin BPD görülmeyen gruba göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 düzeyinin yüksek olması ve uPA/PAI-1 ve tPA/PAI-1 oranlarının azalma göstermesinin doğumdan sonra ilk günlerde RDS şiddeti ile ilişkili olduğu ve BPD gelişiminde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (85). Singhal ve arkadaşlarının (81) çalışmasında RDS görülen 46 preterm yenidoğan, RDS olmaksızın mekanik solunum ihtiyacı olan 9 preterm yenidoğandan oluşan kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Respiratuvar distres sendromu görülen hastaların 18'inde BPD geliştiği gözlenmiştir. Respiratuvar distres sendromu görülen grup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; RDS görülen hastalarda PA ve plazmin aktivitesinin baskılanmış olduğu, bunlar içinden BPD gelişen grupta ise bu baskılanmanın çok daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar, RDS görülen hastalarda ilk günlerdeki PA ve plazmin aktivitesinin baskılanma derecesinin BPD gelişmesi için önceden belirleyici olduğunu, fibrinolitik dengenin bozulmasının BPD gelişiminde önemli rol oynadığını desteklemektedir. Bizim çalışmamızda surfaktan eksikliğine bağlı RDS tanısıyla surfaktan uygulanan ve uygulanmayan prematüre bebeklerde PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi karşılaştırıldığında, iki grubun genotipleri arasında fark olmadığı görüldü. Bu sonuçlar PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin RDS ve BPD gelişiminde rolü olmadığına işaret etmektedir. Bunun nedeni yukarıda da belirttiğimiz gibi erken dönemde kaybedilen bebeklerin çalışma grubumuza alınmaması olabilir. Ayrıca, çeşitli çalışmalarla bu bebeklerde olduğu gözlenen antifibrinolitik aktiviteden, bizim çalışmadığımız fibrinolizisi baskılayan diğer genler de sorumlu olabilir. Bronkopulmoner displazi klinik ağırlığına göre derecelendirildiğinde elde edilen alt grupların kendi içinde değerlendirilmesinde, gebelik haftası ve doğum ağırlığının birbirinden farklı olmadığı görüldü. Kontrol grubunun ise hem doğum ağırlığı, hem de gebelik haftası BPD grubuna göre anlamlı şekilde fazlaydı (ortalama doğum ağırlığı 1430 ± 351 , ortalama gebelik haftası: $30,14 \pm 1,8$). Bizim çalışmamızda da literatürdeki çalışmaları destekler biçimde BPD'nin daha düşük gebelik haftası ve doğum ağırlığında görüldüğü gözlemlendi (26,34,87,88). Cunha (34) ve arkadaşlarının bir çalışmasında yaşamın ilk haftasında mekanik ventilasyon ihtiyacı olan çok düşük doğum ağırlıklı 86 yenidoğanda BPD riski belirlenmeye çalışılmış ve 28. gün oksijen bağımlılığı devam eden ve radyolojik

bulgular ile de desteklenen 45 hastaya BPD tanısı konulmuştur. Gebelik haftası ve doğum ağırlığına göre karşılaştırıldığında; gebelik haftası 30 haftanın altında ve doğum ağırlığı 1000 gramın altında olan hastalarda BPD gelişim riskinin arttığı görülmüştür. Bu da gebelik haftası ve doğum ağırlığının BPD patogenezindeki rolünü göstermektedir. Çok düşük doğum ağırlıklı 4866 bebeği içeren ve BPD şiddetine göre derecelendirme yapılan bir çalışmada BPD görülmeyen 1124 bebek ile BPD grubu karşılaştırılmış; BPD grubunun doğum ağırlığı ve gebelik haftasının anlamlı şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada BPD şiddetine göre derecelendirme yapılmış ve gruplar arasında doğum ağırlığı ve gebelik haftası açısından anlamlı fark olmadığı gözlenmiştir (26). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde BPD alt grupları doğum ağırlığı ve gebelik haftası açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde BPD insidansını ve risk faktörlerini belirlemeye yönelik yapılan diğer bir çalışmada 500-1500 gram doğum ağırlığı olan 1825 bebek değerlendirilmiş, bizim çalışmamız ve yukarıda belirtilen çalışmalarla uyumlu olarak 446 BPD’li hastanın ortalama doğum ağırlığı 950 gram, ortalama gebelik haftası 28 hafta saptanmıştır. Bronkopulmoner displazi görülmeyen 1379 bebeğin ise ortalama doğum ağırlığı 1280 gram, ortalama gebelik haftası ise 31 hafta saptanmış ve iki grup arasında doğum ağırlığı ve gebelik haftası açısından anlamlı fark bulunmuştur. Gruplar cinsiyet açısından karşılaştırıldığında BPD grubunda erkek hasta sayısının daha fazla olduğu gözlenmiştir. Doğum şekli açısından bakıldığında ise sezaryen doğumun her iki grupta daha fazla olduğunu, kontrol grubunda oranın daha yüksek olduğu ancak BPD gelişimi ile anlamlı ilişkisi bulunmadığı gözlenmiştir (88). Çalışmamızda kontrol grubunda sezaryenle doğum oranı daha yüksek olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Solunum yetmezliği görülen, 34 haftanın altında doğan ve doğum ağırlığı 400-1500 gram arasında olan 420 yenidoğanda BPD veya ölümün önceden belirleyicisine yönelik yapılmış bir çalışmada surfaktan tedavisinden 4 saat sonra ciddi solunum yetmezliği olan yenidoğanların bir grubuna plasebo bir grubuna ise inhale nitrik oksit tedavisi verilmiş, inhale nitrik oksit tedavisine yanıt vermeyenlerde BPD gelişimi veya ölüm oranı açısından anlamlı fark görülmemiştir. Ancak düşük doğum ağırlığı olanlarda, erkek bebeklerde ve şiddetli solunum yetmezliği ile BPD gelişimi arasında ilişkili bulunmuştur (89). Bizim çalışmamızda da BPD erkeklerde daha sık görülmesine rağmen, iki grup arasında anlamlı fark bulunmadı.

Çalışma grubumuzda BPD’li hastaların entübe kalma süresi ve hastanede kalış süresi kontrol grubuna göre anlamlı uzun bulundu. Klinger ve arkadaşları (90) tarafından yapılan

bir çalışmada bronkopulmoner displazili hastaların BPD görülmeyen çok düşük doğum ağırlıklı preterm bebeklere göre hastanede kalış sürelerinin daha uzun olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda da gözlendiği gibi, BPD olan hastalarda solunum problemlerinin devam etmesi hastanede kalış süresini uzatmaktadır.

Doğum ağırlığı 500-1500 gram arasında olan preterm bebeklerde mekanik ventilasyon ve entubasyon uygulaması yerine erken dönemde NSPHB uygulamasının BPD'yi azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (91). Ehrenkranz ve arkadaşlarının (26) bir çalışmasında BPD görülen 3742 çok düşük doğum ağırlıklı hastayla, BPD görülmeyen 1124 bebek karşılaştırılmış ve BPD grubunun hastanede kalış süresinin diğer gruba göre belirgin uzun olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar da çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde uzun süreli hospitalizasyonun en önemli nedenlerinden birinin BPD olduğunu desteklemektedir. Bizim çalışmamızda da BPD gelişen bebeklerin, kontrol grubuna göre daha uzun süreyle hastanede kaldığı izlendi.

Doğum öncesi steroid uygulanması alveoler gaz değişimini ve akciğer maturasyonunu iyi yönde etkilemektedir. Bu uygulama ile RDS sıklığında ve yenidoğan mortalitesinde azalma gözlenirken, BPD sıklığında paralel bir azalma gözlenememiştir. Bunun nedeni olarak çok düşük gebelik haftalarında doğan bebeklerin yaşam oranlarının artmasına bağlı olarak BPD sıklığının da artması öne sürülmüştür (92,93). Maternal glukokortikoid tedavisinin akciğerde akut ve kronik etkilerini görmek amacıyla maymunlarda yapılan bir çalışmada gebeliğin 133. gününde 0.3 mg/kg betametazon anneye verilmiş ve akciğerde mezenkim dokusunun incelendiği, akciğer gaz hacminde belirgin artış olduğu gözlenmiştir. Fetus term döneme yaklaştığında yapılan değerlendirmede, alveol sayısının, akciğer yüzey alanının ve akciğer gaz hacminin azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar maternal glukokortikoidin akciğer gaz hacminde akut artış yaptığı, fakat alveolarizasyon ve akciğer gelişimi üzerine yararı olmadığını desteklemektedir (94,95). Doğum öncesi steroid uygulaması ile ilgili koyunlarda yapılan bir başka çalışma ise gebeliğin 120. gününde maternal veya fetal tek doz glukokortikoid uygulaması sonrası ilk 24 saatte fetal akciğer gaz hacminin arttığını, ancak preterm doğum sonrası alveol sayısının azaldığını göstermiştir (96). Çok düşük doğum ağırlıklı 86 yenidoğanda yapılan bir başka çalışmada ise BPD sıklığı ile doğum öncesi steroid uygulanması arasında bir ilişki gösterilememiştir. Bu çalışma grubunda surfaktan uygulanmasının BPD riskini arttırdığı gözlenmiş, ancak bu farkın ciddi mekanik ventilasyon ihtiyacı olan, BPD gelişim riski yüksek olan bebeklere surfaktan uygulanması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (34). Surfaktan uygulanması RDS şiddetini, mekanik ventilasyon ve oksijen ihtiyacını azaltmaktadır (97). Ancak surfaktan

uygulanması ile BPD riskindeki artış ilişkisi şaşırtıcı bulunmuştur. Bu durumun RDS olan genel durumu kritik hastalara surfaktan uygulanması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (98). Bizim hasta grubumuzda da surfaktan uygulanmasının BPD grubunda daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu çok düşük gebelik haftalarında doğan bebeklerin yaşam oranlarının artmasına bağlı olarak BPD sıklığının arttığını öne süren teze destek olmaktadır. Ek olarak bu sonuçlar 28 haftanın altında doğan ve 1250 gramdan düşük doğum ağırlıklı bebeklere profilaktik surfaktan uygulanması ve diğer kliniklerde farklı uygulamalar olması ile ilişkili olabilir.

Akciğer hastalıklarında inflamatuvar reaksiyonlar hemostatik dengeyi bozmakta, doku faktörü ekspresyonu sonucu koagülasyon tetiklenmekte; trombin ve bunun hücre reseptörü olan proteaz aktive edici reseptör bu dönemde patogeneze önemli roller üstlenmektedir. Proinflamatuvar sitokinler de bu yolda görev almakta, IL-6, PC ve PS düzeyini baskılanmakta, trombositlerin trombin yanıtı ve sonuçta trombüs oluşumuna eğilim artmaktadır. İnterlökin-1 β ve TNF- α inflamasyon sırasında PA ve PAI-1 düzeylerini arttırmakta, ancak bu artışın PAI-1 yönünde daha belirgin olması nedeni ile fibrinolizis baskılanarak fibroze eğilim artmaktadır. Fibrinolizis ile inflamasyon ilişkisine bakıldığında; uPA nötrofil fonksiyonunu güçlendirerek inflamasyonu artırırken, tPA antiinflamatuvar etkiye sahiptir (1,46). Bronkopulmoner displazide IL-6 ve TNF- α 'nın etkisine yönelik yapılan diğer bir çalışmada RDS tanısı alan 11 hasta, BPD tanısı alan 19 hasta ve 10 kontrol grubundan oluşan prematüre bebekten trakeal aspirat sıvısı alınarak, IL-6 ve TNF- α düzeyleri değerlendirilmiştir. İnterlökin-6 aktivitesinin doğumdan itibaren BPD grubunda çok yüksek olduğu gözlenirken, TNF- α aktivitesinde geç dönemde yükselme olduğu gözlenmiş ve bu sonuçlar doğrultusunda erken dönemde artmış IL-6 aktivitesinin BPD gelişiminin erken belirleyicisi olduğu gösterilmiştir (99). Preterm farelerde yapılan bir çalışmada antiinflamatuvar etkisi olan fosfodiesteraz-4 inhibitörlerinin hiperoksiye bağlı akciğer hasarındaki etkisi araştırılmış, fosfodiesteraz-4 inhibitörlerinin alveoler fibrin birikimini azalttığı, monosit infiltrasyonunu azaltarak, vasküler kaçıışı önlediği gösterilmiştir. Preterm bebeklerde BPD'de fosfodiesteraz inhibitörlerinin bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmüştür (100). İnflamatuvar reaksiyonlar sırasında PAI-1 salınımı sitokinler tarafından uyarılmaktadır. Aynı zamanda IL-1 ve TNF- α tPA üretimini baskılamakta, TF yoluyla prokoagulan aktiviteyi arttırmaktadır (2). Bizim çalışmamızda BPD gelişimi ile PAI-1 arasında ilişki görülmedi. Ancak PAI-1'in yanısıra bunu etkileyebilecek IL-1, IL-6 ve TNF- α genetik geçişinin incelenmesi BPD patogenezinin belirlenmesi açısından yararlı olabilir.

Akciğer gelişiminde, proinflamatuvar-antiinflamatuvar dengede, hücre hasarı ve doku onarımında birçok gen rol oynamaktadır. Bronkopulmoner displazi ve genetik ilişkisi Tablo 5.1’de belirtilmiştir. İntrauterin akciğer olgunlaşması ve vaskularizasyonun bozulması BPD gelişimine katkıda bulunan faktörlerdendir. BPD gelişiminde önemli rol oynayan inflamatuvar sitokinler; lökosit invazyonunu, proteolitik enzim salınımını ve reaktif oksijen radikalleri üretimini arttırmakta, böylece akciğer olgunlaşmasını engellemektedir (101). Bronkopulmoner displazi gelişen hastaların trakeal aspiratlarında TGF- β ’nın artmış konsantrasyonda olduğu saptanmıştır. TGF- β ’nın PAI-1 üzerindeki etkisinde TGF- β ’nın hücre dışı proteolitik aktiviteyi düzenlemesi önemli rol oynamaktadır. PAI-1’in matrikste birikimi depolanma bölgesinde proteolizisin inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır. Böylece TGF- β ’nın desmoplastik kapasitesi matriks bileşenlerinin artmış üretimine ve ekstraselüler matrikste proteolizin azalmasına bağlanmaktadır. TGF- β ’nın PAI-1 mRNA düzeyini arttırmasına ek olarak TGF- β , uPA ve tPA üretimini azaltmaktadır. Böylece, proteolitik aktivite azalmakta, fibrozise eğilim artmaktadır. (102). Yapılan bir araştırmada 177 hastada TGF- β +915 G/C polimorfizmine bakıldığında, 149 hastanın GG, 28’inin CG genotipinde olduğu saptanırken, CC genotipinde hasta saptanamamıştır. Bu çalışmada TGF- β +915 G/C polimorfizmi ile BPD arasında ilişki bulunmazken, C alleli taşıyanlarda erken ölüm oranının yüksek olduğu gözlenmiştir (103). Diğer bir çalışmada TGF- β +915 G/C gen polimorfizminin artmış akciğer fibrozisiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (104). Bu polimorfizme ek olarak, TGF- β 1 +869 T/C ve TGF- β 1 insersiyon C +72 polimorfizmleriyle fibrozis görülen akciğer hastalıkları arasında ilişki olduğu gözlenmiştir (106). El-Gamel ve arkadaşlarının (105) bir çalışmasında akciğer nakli yapılan hastalarda TGF- β 1 kodon 25 genotipi arjinin/arjinin olan grubun TGF- β üretiminin yüksek olduğu, bu genotipin akciğer nakli öncesinde fibrotik akciğer patolojisi ve greftte fibrozis gelişimi için önceden belirleyici olduğu gösterilmiştir. Diğer sitokinlerle ilgili çalışmalara bakıldığında TNF- α -308 G/A polimorfizminin A aleli artmış TNF- α üretimi ile ilişkili bulunmuştur (101). Adcock ve arkadaşlarının (103) çalışmasında TNF- α -308 G/A polimorfizmiyle BPD arasında ilişki bulunmazken, A aleli taşıyan bebeklerin daha uzun süre ventilatör desteği aldığı gözlenmiştir. İlginç olarak BPD patogenezinde rolü olan IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-12 polimorfizmlerinin BPD veya ventilasyon süresi ile ilişkisi gösterilememiştir (101). Daha önce bir çok sitokin gen polimorfizminin TNF- α , TGF β 1+915 G/C, monosit kemoatraktan protein-1-2518 A/G, interlökin 1 β ekzon 5, interlökin-1 RA polimorfizmi) BPD ile ilişkisi araştırılmış olup, herhangi bir pozitif ilişki saptanamamıştır (106). Akciğer hasarının en önemli nedeninin proinflamatuvar sitokin

artışı mı, yoksa antiinflamatuvar sitokin üretiminin azalması mı olduğu tam açıklanamamıştır (107). Bronkopulmoner displazi ile gen polimorfizmi ilişkisi incelendiğinde, yapılan çalışmalar genetik faktörlerin tek başına hastalığın patogenezinin sorumlu olmadığını, birçok faktörün bu yolda rol oynadığını desteklemektedir. Adezyon molekülü olarak görev yapan ekstraselüler matriks proteini olan distroglikan, plazma membranı stabilitesinde önemli rol oynamaktadır. BPD ile ilişkisine bakıldığında, distroglikan (DAG1) N494H homozigot genotipi BPD gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (60). Ekstraselüler matriks proteinlerinin yıkımından ve fibroblastlar tarafından matriks proteinlerinin salınımından sorumlu olan katepsin K ekspresyonu ise BPD'li bebeklerde düşük bulunmuştur (108). Çok düşük doğum ağırlıklı 586 bebeği içeren çalışmada hemostazla ilişkili gen polimorfizmlerinin prematürelde BPD, sepsis, intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ile ilişkisi incelenmiş. Faktör-VII-323del/ins polimorfizminin BPD' den koruyucu faktör olduğu belirlenmiş (109). Kazzi ve arkadaşlarının çalışmasında (110) çok düşük doğum ağırlıklı prematürelde anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE) I/D polimorfizmi çalışıldığında, D aleli prevelansının artmış ADE aktivitesi ve Ang II düzeyi ile ilişkili olduğu ve BPD popülasyonunda arttığı gösterilmiştir. Zıt olarak daha matür popülasyonda DD genotipinin BPD ile ilişkisi gösterilmemiştir (111). Sonuç olarak, genetik faktörlerin BPD gelişiminde veya klinik şiddetin belirlenmesinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Bizim hasta grubumuzda BPD gelişen ve gelişmeyen grup karşılaştırıldığında PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi açısından farklılık saptanamadı. Bu nedenle, aynı hasta grubunda yukarıda sayılan genetik polimorfizmlerin bazılarını incelemek üzere yeni bir çalışma başlattık.

Tablo 5.1: BPD-gen polimorfizmi ilişkisi

Gen polimorfizmi	BPD gelişimine etkisi
TNF- α -308 G/A	Ø
TGF- β 1 + 915 G/C	Ø
MKP-1 2518 A/G	Ø
IL-1 β ekzon 5	Ø
TNF- α -238	↓
DAG1 N494H	↑
ADE I/D	Ø
ADE D	↑
IL-10-1082 G/A	Ø
IL-1 β	Ø
IL-6	Ø
IL-10	Ø
IL-12	Ø
SP-A1 allel 6A ⁶	↑
SP-C	↑
Katepsin K	↓
FaktörVII-323del/ins	↓

Çalışmamızda PAI-1 4G/5G polimorfizminin BPD gelişen ve gelişmeyen preterm bebeklerde benzer oranlarda olduğunu, BPD'nin alt grupları da kendi içinde karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı fark bulunmadığı görüldü. Plazminojen aktivatör inhibitör-1 artışının BPD ile ilişkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmesine rağmen, PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin çalışma grubumuzda genetik rolü olmadığı gösterilmiştir.

Çalışmamızdaki hasta ve kontrol grubundaki preterm bebek sayısının artırılmasının sonuçları farklı yönde etkileyebileceği düşünülmektedir. Hasta grubumuzda ilk 28 gün kaybedilen hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Bu gruptaki hastaların ağır solunum yetmezliği olduğu düşünülecek olursa, ilk 28 günde kaybedilen hastaların çalışma grubuna alınması, BPD gelişen ve gelişmeyen gruplarda PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi karşılaştırmasında farklı sonuçlar elde edilebileceğini düşündürmektedir.

İleride BPD’de genetik faktörlerin rolünü belirlemeye yönelik farklı çalışmalar planlanabilir. Preterm bebeklerde kord kanından PAI-1 gen polimorfizmi taranarak, bu grup kohort izlenerek RDS ve BPD gelişimi gözlenen bebeklerde, PAI-1 gen polimorfizminin BPD gelişimi üzerine etkisi belirlenebilir. Fibrinoliziste rol oynayan faktörler göz önünde bulundurularak, diğer gen polimorfizmlerinin BPD’deki rolü araştırılabilir.

6. SONUÇLAR

Çalışmada BPD grubundaki hastaların doğum ağırlığı ve gebelik haftası (1102 ± 251 gram, $27,97 \pm 1,8$ hafta) kontrol grubuna göre (1430 ± 351 gram, $30,14 \pm 1,8$ hafta) anlamlı derecede düşük bulundu. Bronkopulmoner displazinin düşük gebelik haftalarında ve doğum ağırlığında görüldüğü gözlemlendi. Bronkopulmoner displazili hastaların entübe kalma ve hastanede kalış süresi anlamlı şekilde uzun bulundu. Bu da bronkopulmoner displazinin hastanede kalış süresini uzatan faktörlerden biri olduğunu desteklemektedir. Bronkopulmoner displazi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında doğum öncesi steroid profilaksisi ve surfaktan kullanımı açısından fark anlamlı bulundu. Surfactan uygulamasının BPD grubunda daha fazla olmasının en önemli nedenlerinden biri değişik kliniklerde uygulamaların farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Bronkopulmoner displazi grubunda yaşamın ilk günlerinde solunum sıkıntısının daha sık olması ve gebelik haftası 28 haftanın ve doğum ağırlığı 1250 gramın altında olanlarda profilaktik surfaktan uygulamasının bu farka neden olduğu düşünülmektedir. Surfactan uygulanan ve uygulanmayan preterm bebekler karşılaştırıldığında PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi açısından istatistiksel olarak fark gözlenmedi.

Bronkopulmoner displazi grubu ve alt grubu ile kontrol grubu arasında PAI-1 4G/5G gen polimorfizmi açısından fark yoktu. Tüm çalışma grubunda PAI-1 4G homozigot taşıyanlar %43.2 görülmesi nedeniyle yaygın genotip olarak kabul edildi.

Çalışma grubumuzda PAI-1 4G/5G gen polimorfizminin genetik rolü olmadığı gösterildi.

7. KAYNAKLAR

1. Akinnusi ME, El Solh AA. The role of coagulation in pulmonary pathology. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2007;6:201-9.
2. Pihusch M, Pihusch V, Holler E. Plasminogen activator inhibitor-1: a review. *J Lab Med* 2005;29:403-411.
3. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000; 342:1792-801.
4. Gils A, Declerck PJ. Plasminogen activator inhibitor-1. *Curr Med Chem* 2004;11:2323-34.
5. Liu RM. Oxidative stress, plasminogen activator inhibitor 1, and lung fibrosis. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:303-19.
6. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res* 2007;17:1-7.
7. Parker RA, Lindstrom DP, Cotton RB. Evidence from twin study implies possible genetic susceptibility to bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 1996;20:206-9.
8. Charles TE. Blood coagulation. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 6th ed. Pennsylvania: Saunders; 2003. p. 1475-1496.
9. Collen D. The plasminogen (fibrinolytic) system. *Thromb Haemost* 1999;82:259-70.
10. Lanzkowsky P. Disorders of coagulation. In: *Manual of Pediatric Hematology and Oncology* 4th Edition 2005; p. 295-362.
11. Hoffman M, Monroe DM 3rd. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001;85:958-65.
12. Hajjar KA. The molecular basis of fibrinolysis. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 6th ed. Pennsylvania; Saunders, 2003. p. 1497-1514.
13. Kucharewicz I, Kowal K, Buczek W, Bodzenta-Lukaszyk A. The plasmin system in airway remodeling. *Thromb Res* 2003;112:1-7.
14. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, Bonovas S, Kopterides P, Vaiopoulos G. The effect of the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism on the thrombotic risk. *Thromb Res* 2007;17:1-7.
15. Izuhara Y, Takahashi S, Nangaku M, Takizawa S, Ishida H, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C, Hirayama N, Miyata T. Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1: its mechanism and effectiveness on coagulation and fibrosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:672-7.
16. Ware LB, Matthay MA, Parsons PE, Thompson BT, Januzzi JL, Eisner MD; National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials Network. Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2007;35:1821-8.
17. Andrew M, Paes B, Milner R, Johnston M, Mitchell L, Tollefsen DM, Castle V, Powers P. Development of the human coagulation system in the healthy premature infant. *Blood*. 1988;72:1651-7.
18. Kuhle S, Mitchell L, Massicotte P, Andrew M. Hemostatic disorders of the newborn. 8th Ed. *Avery's Disease of the Newborn*. Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; p1145-1180.

19. Andrew M, Paes B, Johnston M. Development of the hemostatic system in the neonate and young infant. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990;12:95-104.
20. Reverdiau-Moalic P, Delahousse B, Body G, Bardos P, Leroy J, Gruel Y. Evolution of blood coagulation activators and inhibitors in the healthy human fetus. *Blood* 1996;88:900-6.
21. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1967;276:357-368.
22. Bhandari A, Bhandari V. Bronchopulmonary dysplasia: an update. *Indian J Pediatr* 2007;74:73-7.
23. Bancalari E, Claure N. Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:164-70.
24. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1723-9.
25. Northway WH Jr. Bronchopulmonary dysplasia: thirty-three years later. *Pediatr Pulmonol* 2001;Suppl 23:5-7.
26. Ehrenkranz RA, Walsh MC, Vohr BR et al. Validation of the National Institutes of Health consensus definition of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 2005;116:1353-1360.
27. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006;367:1421-31.
28. Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003;8:73-81.
29. Christou H, Brodsky D. Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 2005;20:76-87.
30. Gonzalez A, Sosenko IR, Chandar J, Hummler H, Claure N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr* 1996;128:470-8.
31. Sarıcı US. Bronkopulmoner displazi: Tanımı, patogenezi, epidemiyolojisi ve patolojisinde yeni görüşler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006;49:60-70.
32. Hussain NA, Siddiqui NH, Stocker JR. Pathology of arrested acinar development in postsurfactant broncopulmonary dysplasia. *Hum Pathol* 1998;29:710-7.
33. Doyle LW, Faber B, Callanan C, Freezer N, Ford GW, Davis NM. Bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight subjects and lung function in late adolescence. *Pediatrics*. 2006;118:108-13.
34. Cunha GS, Mezzacappa-Filho F, Ribeiro JD. Risk factors for bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight newborns treated with mechanical ventilation in the first week of life. *J Trop Pediatr*. 2005;51:334-40.
35. Lemons JA, Bauer CR, Oh W, Korones SB, Papile LA, Stoll BJ, Verter J, Temprowa M, Wright LL, Ehrenkranz RA, Fanaroff AA, Stark A, Carlo W, Tyson JE, Donovan EF, Shankaran S, Stevenson DK. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child health and human development neonatal research network, January 1995 through December 1996. NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2001;107:1-8.
36. Kotecha S. Lung growth: implications for the newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2000;82:F69-74.
37. Zoban P, Cerný M. Immature lung and acute lung injury. *Physiol Res*. 2003;52:507-16.
38. Pavlovic J, Papagaroufalos C, Xanthou M, Liu W, Fan R, Thomas NJ, Apostolidou I, Papathoma E, Megaloyianni E, DiAngelo S, Floros J. Genetic variants of

- surfactant proteins A, B, C, and D in bronchopulmonary dysplasia. *Dis Markers* 2006;22:277-91.
39. Moison RM, Palinckx JJ, Roest M, Houdkamp E, Berger HM. Induction of lipid peroxidation of pulmonary surfactant by plasma of preterm babies. *Lancet* 1993;341:79-82.
 40. Evans PJ, Evans R, Kovar IZ, Holton AF, Halliwell B. Bleomycin-detectable iron in the plasma of premature and full-term neonates. *FEBS Lett* 1992;303:210-2.
 41. Wood MW, Seidler FJ, Slotkin TA. Immediate decline in DNA synthesis in neonatal rat lung caused by exposure to 100% oxygen. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993;80:323-8.
 42. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003;8:39-49.
 43. Turunen R, Nupponen I, Siitonen S, Repo H, Andersson S. Onset of mechanical ventilation is associated with rapid activation of circulating phagocytes in preterm infants. *Pediatrics* 2006;117:448-54.
 44. Clark RH, Gerstmann DR, Jobe AH, Moffitt ST, Slutsky AS, Yoder BA. Lung injury in neonates: causes, strategies for prevention, and long-term consequences. *J Pediatr* 2001;139:478-86.
 45. Choi G, Wolthuis E, Bresser P, et al. Mechanical ventilation with lower tidal volumes and positive end-expiratory pressure prevents alveolar coagulation in patients without lung injury. *Anesthesiology* 2006;105:689-95.
 46. Schultz MJ, Haitsma JJ, Zhang H, Slutsky AS. Pulmonary coagulopathy as a new target in therapeutic studies of acute lung injury or pneumonia--a review. *Crit Care Med* 2006;34:871-7.
 47. Kotecha S, Chan B, Azam N, Silverman M, Shaw RJ. Increase in interleukin-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants who develop chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995;72:F90-6.
 48. Groneck P, Götze-Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high-risk preterm neonates. *Pediatrics* 1994;93:712-8.
 49. Yanamandra K, Boggs P, Loggins J, Baier RJ. Interleukin-10 -1082 G/A polymorphism and risk of death or bronchopulmonary dysplasia in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Pulmonol* 2005;39:426-32.
 50. Kwong KY, Jones CA, Cayabyab R, Lecart C, Khuu N, Rhandhawa I, Hanley JM, Ramanathan R, deLemos RA, Minoo P. The effects of IL-10 on proinflammatory cytokine expression (IL-1 β and IL-8) in hyaline membrane disease (HMD) *Clin Immunol Immunopathol* 1998;88:105-13.
 51. Chess PR, D'Angio CT, Pryhuber GS, Maniscalco WM. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:171-8.
 52. Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BI, Jun JK. A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:773-9.
 53. Schock BC, Sweet DG, Ennis M, Warner JA, Young IS, Halliday HL. Oxidative stress and increased type-IV collagenase levels in bronchoalveolar lavage fluid from newborn babies. *Pediatr Res* 2001;50:29-33.
 54. Speer CP. Inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003;8:29-38.

55. Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease. *Chest* 2004;125:754-65.
56. Jónsson B, Li YH, Noack G, Brauner A, Tullus K. Downregulatory cytokines in tracheobronchial aspirate fluid from infants with chronic lung disease of prematurity. *Acta Paediatr* 2000;89:1375-80.
57. Choi CW, Kim BI, Kim HS, Park JD, Choi JH, Son DW. Increase of interleukin-6 in tracheal aspirate at birth: a predictor of subsequent bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Acta Paediatr* 2006;95:38-43.
58. Bhandari V, Bizzarro MJ, Shetty A, Zhong X, Page GP, Zhang H, Ment LR, Gruen JR; Neonatal Genetics Study Group. Familial and genetic susceptibility to major neonatal morbidities in preterm twins. *Pediatrics* 2006 Jun;117(6):1901-6.
59. Hallman M, Marttila R, Pertile R, Ojaniemi M, Haataja R. Genes and environment in common neonatal lung disease. *Neonatology* 2007;91(4):298-302.
60. Concolino P, Capoluongo E, Santonocito C, Vento G, Tana M, Romagnoli C, Zuppi C, Ameglio F, Brancaccio A, Sciandra F. Genetic analysis of the dystroglycan gene in bronchopulmonary dysplasia affected premature newborns. *Clin Chim Acta*. 2007;378:164-7.
61. Parker TA, Abman SH. The pulmonary circulation in bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003;8:51-61.
62. Banks-Randall B, Ballard R. Bronchopulmonary dysplasia. 8th Ed. *Avery's Disease of the Newborn*. Elsevier Saunders, Philadelphia 2005; p723-737.
63. Northway WH Jr, Moss RB, Carlisle KB, Parker BR, Popp RL, Pitlick PT, Eichler I, Lamm RL, Brown BW Jr. Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1990;323:1793-9.
64. Baraldi E, Filippone M, Trevisanuto D, Zanardo V, Zacchello F. Pulmonary function until two years of life in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:149-55.
65. Ellsbury DL, Acarregui MJ, McGuinness GA, Eastman DL, Klein JM. Controversy surrounding the use of home oxygen for premature infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Perinatol* 2004;24:36-40.
66. Rodriguez RJ, Martin RJ, Fanaroff AA. Respiratory Distress Syndrome and its management. In: *Neonatal-Perinatal Medicine*. 7th Ed. Fanaroff AA, Martin RJ (Eds). Mosby, St Louis, 2002;1001-1011.
67. Bancalari EH. Neonatal Chronic Lung Disease. *Neonatal-Perinatal Medicine*. 7th Ed. Fanaroff AA, Martin RJ (Eds). Mosby, St Louis, 2002;1057-1070.
68. Baveja R, Christou H. Pharmacological strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:209-18.
69. Yeh TF, Lin HC, Chang CH, Wu TS, Su BH, Li TC, Pyati S, Tsai CH. Early intratracheal instillation of budesonide using surfactant as a vehicle to prevent chronic lung disease in preterm infants: a pilot study. *Pediatrics* 2008;121:e1310-8.
70. Biniwale MA, Ehrenkranz RA. The role of nutrition in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 2006;30:200-8.
71. Koumbourlis AC, Motoyama EK, Mutich RL, Mallory GB, Walczak SA, Fertal K. Longitudinal follow-up of lung function from childhood to adolescence in prematurely born patients with neonatal chronic lung disease. *Pediatr Pulmonol* 1996;21:28-34.
72. Kulasekaran K, Gray PH, Masters B. Chronic lung disease of prematurity and respiratory outcome at eight years of age. *J Paediatr Child Health* 2007;43:44-8.
73. Anderson PJ, Doyle LW. Neurodevelopmental outcome of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*. 2006;30:227-32.

74. Sisson TH, Simon RH. The plasminogen activation system in lung disease. *Curr Drug Targets* 2007;8:1016-29.
75. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest* 1997;99:944-52.
76. Bastarache JA, Wang L, Geiser T, Wang Z, Albertine KH, Matthay MA, Ware LB. The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor. *Thorax* 2007;62:608-16.
77. Chambers RC. Procoagulant signalling mechanisms in lung inflammation and fibrosis: novel opportunities for pharmacological intervention? *Br J Pharmacol* 2008;153 Suppl 1:S367-78.
78. Wygrecka M, Jablonska E, Guenther A, Preissner KT, Markart P. Current view on alveolar coagulation and fibrinolysis in acute inflammatory and chronic interstitial lung diseases. *Thromb Haemost* 2008;99:494-501.
79. Kim KK, Flaherty KR, Long Q, Hattori N, Sisson TH, Colby TV, Travis WD, Martinez FJ, Murray S, Simon RH. A plasminogen activator inhibitor-1 promoter polymorphism and idiopathic interstitial pneumonia. *Mol Med* 2003;9:52-6.
80. Eitzman DT, McCoy RD, Zheng X, Fay WP, Shen T, Ginsburg D, Simon RH. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in transgenic mice that either lack or overexpress the murine plasminogen activator inhibitor-1 gene. *J Clin Invest* 1996;97:232-7.
81. Singhal KK, Parton LA. Plasminogen activator activity in preterm infants with respiratory distress syndrome: relationship to the development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 1996;39:229-35.
82. Cho SH, Hall IP, Wheatley A, Dewar J, Abraha D, Del Mundo J, Lee H, Oh CK. Possible role of the 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor 1 gene in the development of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:212-4.
83. Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993 May 25;268(15):10739-45.
84. Eriksson P, Kallin B, van 't Hooft FM, Båvenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ;92:1851-5.
85. Cederqvist K, Sirén V, Petäjä J, Vaheri A, Haglund C, Andersson S. High concentrations of plasminogen activator inhibitor-1 in lungs of preterm infants with respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 2006;117:1226-34.
86. Premzko K, Mirosław BM, Zofia M, Tomasz T, Magdalena L, Jacek PJ. Genetic risk factors of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 2008 Jul 3.
87. Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claure N, Poole C, Silva-Neto G. Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr* 1995;126:605-10.
88. Tapia JL, Agost D, Alegria A, Standen J, Escobar M, Grandi C, Musante G, Zegarra J, Estay A, Ramírez R; NEOCOSUR Collaborative Group. Bronchopulmonary dysplasia: incidence, risk factors and resource utilization in a population of South American very low birth weight infants. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82:15-20.
89. N Ambalavanan, K P Van Meurs, R Perritt, W A Carlo, R A Ehrenkranz, D K Stevenson, J A Lemons, W K Poole and R D Higgins for the NICHD Neonatal

- Research Network, Bethesda, MD. Predictors of death or bronchopulmonary dysplasia in preterm infants with respiratory failure. *J Perinatol* 2008; 28: 420-426.
90. Klinger G, Sirota L, Lusky A, Reichman B. Bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants is associated with prolonged hospital stay. *J Perinatol* 2006 ;26:640-4.
 91. Van Marter LJ, Allred EN, Pagano M, Sanocka U, Parad R, Moore M, Susser M, Paneth N, Leviton A. Do clinical markers of barotrauma and oxygen toxicity explain interhospital variation in rates of chronic lung disease? The Neonatology Committee for the Developmental Network. *Pediatrics* 2000;105:1194-201.
 92. Crowley PA. Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:322-35.
 93. Crowley P. WITHDRAWN: Prophylactic corticosteroids for preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;3:CD000065.
 94. Johnson JW, Mitzner W, London WT, Palmer AE, Scott R, Kearney K. Glucocorticoids and the rhesus fetal lung. *Am J Obstet Gynecol* 1978;130:905-16.
 95. Johnson JW, Mitzner W, Beck JC, London WT, Sly DL, Lee PA, Khouzami VA, Cavalieri RL. Long-term effects of betamethasone on fetal development. *Am J Obstet Gynecol* 1981;141:1053-64.
 96. Ikegami M, Polk D, Jobe A. Minimum interval from fetal betamethasone treatment to postnatal lung responses in preterm lambs. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1408-13.
 97. Bancalari E, del Moral T. Bronchopulmonary dysplasia and surfactant. *Biol Neonate* 2001;80 Suppl 1:7-13.
 98. Berger TM, Bachmann II, Adams M, et al. Impact of improved survival of very low-birth-weight infants on incidence and severity of bronchopulmonary dysplasia. *Biol Neonate*. 2004;86(2):124-30.
 99. Bagchi A, Viscardi RM, Taciak V, Ensor JE, McCrea KA, Hasday JD. Increased activity of interleukin-6 but not tumor necrosis factor-alpha in lung lavage of premature infants is associated with the development of bronchopulmonary dysplasia *Pediatr Res* 1994 Aug;36(2):244-52.
 100. de Visser YP, Walther FJ, Laghmani EH, van Wijngaarden S, Nieuwland K, Wagenaar GT. Phosphodiesterase-4 inhibition attenuates pulmonary inflammation in neonatal lung injury. *Eur Respir J* 2008;31:633-44.
 101. Bokodi G, Treszl A, Kovács L, Tulassay T, Vásárhelyi B. Dysplasia: a review. *Pediatr Pulmonol* 2007;42:952-61.
 102. Keski-Oja J, Raghow R, Sawdey M, Loskutoff DJ, Postlethwaite AE, Kang AH, Moses HL. Regulation of mRNAs for type-1 plasminogen activator inhibitor, fibronectin, and type I procollagen by transforming growth factor-beta. Divergent responses in lung fibroblasts and carcinoma cells. *J Biol Chem* 1988;263:3111-5.
 103. Adcock K, Hedberg C, Loggins J, Kruger TE, Baier RJ. The TNF-alpha -308, MCP-1 -2518 and TGF-beta1 +915 polymorphisms are not associated with the development of chronic lung disease in very low birth weight infants. *Genes Immun* 2003 ;4:420-6.
 104. El-Gamel A, Awad M, Sim E, Hasleton P, Yonan N, Egan J, Deiraniya A, Hutchinson IV. Transforming growth factor-beta1 and lung allograft fibrosis. *Eur J Cardiothorac Surg*. 1998;13:424-30.
 105. El-Gamel A, Awad MR, Hasleton PS, Yonan NA, Hutchinson JA, Campbell CS, Rahman AH, Deiraniya AK, Sinnott PJ, Hutchinson IV. Transforming growth factor-beta (TGF-beta1) genotype and lung allograft fibrosis. *J Heart Lung Transplant* 1999 ;18:517-23.

106. Lin HC, Yeh TF, Tsai FJ. Gene polymorphisms and bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 2006;149:578.
107. Gitto E, Reiter RJ, Sabatino G, Buonocore G, Romeo C, Gitto P, Buggé C, Trimarchi G, Barberi I. Correlation among cytokines, bronchopulmonary dysplasia and modality of ventilation in preterm newborns: improvement with melatonin treatment. *J Pineal Res* 2005;39:287-93.
108. Knaapi J, Lukkarinen H, Kiviranta R, Steiner A, Lassus P, Andersson S, Kääpä P. Cathepsin K expression is diminished in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Acta Paediatr* 2006;95:1298-300.
109. Härtel C, König I, Köster S, Kattner E, Kuhls E, Küster H, Möller J, Müller D, Kribs A, Segerer H, Wieg C, Herting E, Göpel W. Genetic polymorphisms of hemostasis genes and primary outcome of very low birth weight infants. *Pediatrics* 2006;118:683-9.
110. Kazzi SN, Quasney MW. Deletion allele of angiotensin-converting enzyme is associated with increased risk and severity of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 2005;147:818-22.
111. Bokodi G, Derzbach L, Vásárhelyi B. Re: Deletion allele of angiotensin-converting enzyme. *J Pediatr* 2006;149:579.