



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RESPIRATUVAR DİSTRES SENDROMLU
PREMATÜRE YENİDOĞAN
BEBEKLERDE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT
SENTAZ GEN POLİMORFİZMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe DEMİRÇUBUK

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN**

EKİM– 2010

**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**RESPIRATUVAR DİSTRES SENDROMLU
PREMATÜRE YENİDOĞAN
BEBEKLERDE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT
SENTAZ GEN POLİMORFİZMİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşe DEMİRÇUBUK

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN**

Bu tez, Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından TF.10.02 proje numarası ile desteklenmiştir

I. ÖNSÖZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda çalıştığım süre boyunca eğitimimde emeği geçen, desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden azami olarak faydalanmamı sağlayan tez hocam Sayın Prof. Dr. Yavuz Coşkun'a, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, başta Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ayşe Balat ve Anabilim Dalındaki diğer öğretim üyelerime şükranlarımı sunuyorum.

Tez çalışmalarım döneminde ve asistanlık sürem boyunca yardımlarından ve katkılarından dolayı; yenidoğan ünitesinde beraber çalıştığım hocam Sayın Doç.Dr. Ercan Sivaslı'ya, başta Suzan Telli olmak üzere tüm yenidoğan ünitesindeki hemşire arkadaşlarıma, tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Uzm. T. Bio. Dr. Serdar Öztuzcu'ya, tezimin istatistik analizlerinin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Tuncay Demiryürek'e teşekkürlerimi sunarım.

Bugüne kadar varlıklarıyla bana hep destek olan aileme, hayatımı paylaştığım eşim Ertuğrul'a, yaşama sevincim oğlum Kaan'a çok teşekkür ederim.

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET.....	IV
IV. ABSTRACT.....	V
V. KISALTMALAR.....	VI
VI. TABLO LİSTESİ.....	VII
VII. ŞEKİL LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Akciğer Gelişimi.....	3
2.2. Surfaktan.....	4
2.2.1. Surfaktan Protein A.....	5
2.2.2. Surfaktan Protein B.....	7
2.2.3. Surfaktan Protein C.....	7
2.2.4. Surfaktan Protein D.....	8
2.3. Respiratuvar Distres Sendromu.....	9
2.3.1. Giriş.....	9
2.3.2. İnsidans.....	10
2.3.3. Patofizyoloji Etiyoloji.....	10
2.3.4. RDS'ye Zemin Hazırlayan Faktörler.....	12
2.3.5. Klinik Bulgular.....	17
2.3.6. Radyolojik Bulgular.....	18
2.3.7. Tedavi.....	18
2.3.8. RDS'nin ve Mekanik Ventilasyonun Komplikasyonları....	19
2.3.9. RDS'nin Önlenmesi.....	20
2.4. Nitrik Oksit(NO).....	20
2.4.1. NO Oluşumu.....	21
2.4.2. Yapısal NO-sentaz (cNOS).....	21
2.4.3. İndüklenebilen NO-sentaz (iNOS).....	22
2.4.4. NO'un Fizyolojik Etkileri.....	22

2.4.5. Nitrik Oksit ve Akciğerler.....	25
2.5. eNOS gen polimorfizmi.....	28
3. BİREYLER VE YÖNTEM.....	30
3.1. Tanımlar	30
3.2. Hasta Gruplandırması.....	31
3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması.....	32
3.4. Örneklerin İncelenmesi.....	32
3.4.1. DNA izolasyonu.....	32
3.4.2. Real-PCR ile Polimorfizmin Tespiti.....	32
3.5. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Sosyodemografik Özellikler.....	34
4.2. Hasta ve Kontrol Grubunda eNOS Gen Polimorfizmi.....	38
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	51
7. KAYNAKLAR.....	52
8. EKLER.....	63
8.1. Ek-1.....	63
8.2. Ek-2.....	66

III. ÖZET

RESPIRATUVAR DİSTRES SENDROMLU PREMATÜRE YENİDOĞAN BEBEKLERDE ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTAZ (eNOS) GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Ayşe GÜMÜŞ DEMİRÇUBUK

Uzmanlık Tezi, Pediatri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. M.Yavuz COŞKUN

Ekim 2010, 66 Sayfa

Respiratuvar distress sendromu (RDS) neonatal yoğun bakımda ilerlemeler olmasına rağmen hala prematür yenidoğanlarda mortalite ve morbiditenin önemli sebebidir. Prematürite derecesi ve olgunlaşmamış akciğer sendromun ana sebepleridir. Bu çalışmanın amacı endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) gen polimorfizminin RDS etyolojisiyle birlikteliğini belirlemektir.

Çalışmaya 152 prematüre RDS'li ve 125 prematüre sağlam kontrol olmak üzere toplam 277 bebek dahil edilmiştir. Gönüllü kontrol ve hasta gruplarından uygun şekilde kan örnekleri alınmıştır. Alınan örnekler Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Polimeraz Zincir Reaksiyon (PCR) yöntemi ile eNOS geni Glu298Asp (G894T) polimorfizmi çalışılmıştır.

Respiratuvar distress sendromlu prematüre yenidoğanlarla sağlıklı kontrol prematüre grup arasında eNOS gen polimorfizmi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Hasta grubunda cinsiyetler arasında allel frekansının karşılaştırılmasında kızlarda Glu, erkeklerde Asp alleli istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Respiratuvar distress sendromu üzerine yapılan çalışmalarda erkek cinsiyetin RDS gelişimi üzerinde bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Erkeklerde akciğer matürasyonu kızlara göre yaklaşık bir hafta geridir bu da erkek bebeklerde RDS sıklığının daha fazla olmasına neden olmaktadır. Bu bulgular ışığında erkek cinsiyette daha fazla görülen Asp allelinin akciğerin matürasyonunda gecikmeye neden olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Respiratuvar distress sendromu, Prematürite, eNOS gen polimorfizmi.

IV. ABSTRACT

ROLE OF THE OF ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE GENE POLYMORPHISM IN PRETERM NEONATES WITH RESPIRATORY DISTRESS SENDROME,

Dr. Ayşe GÜMÜŞ DEMİRÇUBUK

Residency Thesis, Department of Pediatrics

Supervisor: Assoc: Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN

October 2010, 66 Pages

Respiratory distress syndrome (RDS), although advances in neonatal intensive care of premature infants is still an important cause of mortality and is morbidite. Degree of prematurity and immature lungs are the main cause of this syndrome. The purpose of this study is to determine the association between the endothelial nitric oxide synthases (eNOS) gene polymorphism and the cause of RDS.

One hundred and fifty two premature infant with RDS and 125 premature healthy infant included to this study. Blood samples were taken from the voluntary control and patient groups. Endothelial nitric oxide synthase gene (eNOS) gene Glu298Asp (G894T) polymorphism was studied from the samples with polymerase chain reaction method (PCR) at University of Gaziantep Faculty of Medicine, Department of Medical Biology.

Healthy premature infants and premature infants with respiratory distress syndrome groups did not differ significantly in terms of eNOS gene polymorphisms. In comprasion of allele frequencies between the sexes in patient group; glu allele in girls and Asp allele in males was statistically significantly higher. Male sex was reported as a risk factor on the development of respiratory distress syndrome. Lung maturation is delayed a week in males so the incidence of respiratory distress syndrome is higher in males. According to these findings the asp allele found in males was suggested to cause delay in lung maturation.

Keywords: Respiratory distress syndrome, Prematurity, eNOS gene polimorphism.

V. KISALTMALAR

ARDS	: Akut respiratuvar distres sendromu
CPAP	: Devamlı pozitif hava yolu basıncı
Ca	: Kalsiyum
cGMP	: Siklik guanozin monofosfat
cNOS	: Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
EDRF	: Endotelyal kaynaklı gevşeme faktörü
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
ET	: Endotelin
eNOS	: Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
L-Arg	: L-Arginin
L-NA	: N-Nitro-L-Arginin
L-NAA	: N-Amino-L-Arginin
L-NAME	: N-Nitro-L-Arginin metil ester
L-NIO	: N-İminoetil-L-Ornitin
L-NMMA	: N-Monometil-L-Arginin
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NEK	: Nekrotizan enterekolit
NMDA	: N-Metil D-aspartat
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksit sentaz
NVY	: Normal vajinal yolla
PDA	: Patent duktus arteriozus
PEEP	: Ekspiryum sonu pozitif basınç
PPHN	: Persistan pulmoner hipertansiyon (Persistant pulmonary hypertension of newborn)
RDS	: Respiratuvar distres sendromu

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1	: Hasta ve kontrol gruplarının genel özelliklerinin karşılaştırılması	35
Tablo 2	: RDS olan ve olmayan prematür bebeklerde eNOS geni Glu298Asp polimorfizm sıklığı.....	38
Tablo 3	: Hasta grubunda cinsiyet ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki.....	39
Tablo 4	: Kontrol grubunda cinsiyet ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki.....	40
Tablo 5	: Hasta ve kontrol grubunun erkek cinsiyetleri arasında eNOS gen polimorfizm frekanslarının karşılaştırılması.....	40
Tablo 6	: Hasta ve kontrol grubunun kız cinsiyetleri arasında eNOS gen polimorfizm frekanslarının karşılaştırılması.....	41
Tablo 7	: Prematür hasta ve kontrol grubu arasında eNOS geni Glu ve Asp allel sıklığı.....	41
Tablo 8	: Hasta grubunda cinsiyetler arasında allel frekanslarının karşılaştırılması.....	42
Tablo 9	: Kontrol grubunda cinsiyetler arasında allel frekanslarının karşılaştırılması.....	42
Tablo 10	: Hasta ve kontrol grubunun erkek cinsiyetleri arasında allel frekanslarının karşılaştırılması.....	42
Tablo 11	: Hasta ve kontrol grubunun kız cinsiyetleri arasında allel frekanslarının karşılaştırılması.....	43
Tablo 12	: Hasta grubunda eNOS gen polimorfizmlerine göre mekanik ventilasyon süresi.....	43
Tablo 13	: RDS' de mortalite ve eNOS gen polimorfizm ilişkisi.....	44
Tablo 14	: Hasta grubunda steroid alımı ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki.....	44

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1	: Respiratuvar distres sendrom fizyopatolojisi.....	12
Şekil 2	: Real-Tim PCR ile HRM yapılan Hastaların analiz görüntüsü I. Heterozigot (Glu/Asp), II. Wild Tip (Glu/Glu), III. Mutant (Asp/Asp).....	33
Şekil 3	: Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı.....	34
Şekil 4	: Hasta ve kontrol grupları arasında gebelik yaşı (haftası) dağılımı.....	35
Şekil 5	: Hasta ve kontrol grupları arasında doğum ağırlığı (gram) dağılımı.....	36
Şekil 6	: Hasta ve kontrol grupları arasında anne yaşı (yıl) dağılımı.....	36
Şekil 7	: Hasta ve kontrol gruplarının 5. dakika Apgar skorlarına göre karşılaştırılması.....	37
Şekil 8	: Hasta ve kontrol gruplarının antenatal steroid kullanımının karşılaştırılması.....	37
Şekil 9	: Hasta ve kontrol gruplarının doğum şekli açısından karşılaştırılması.....	38
Şekil 10	: RDS olan ve olmayan prematüre bebeklerde eNOS geni polimorfizm sıklığı.....	39

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Respiratuvar distres sendromu (RDS), genellikle prematüre bebeklerde görülen ve surfaktan eksikliğine bağlı olarak gelişen solunum yetmezliği tablosudur. İnsidansı, gestasyon haftası ve doğum ağırlığı azaldıkça artar. Respiratuvar distres sendromu 29. gestasyon haftasındaki prematürelerin %60'ında görülürken, akciğer matürasyonunun kısmen tamamlandığı 34.haftadan itibaren sıklığı azalır.

Respiratuvar distes sendromu için prematürelilik en önemli risk faktörü olmasına rağmen ırk, cinsiyet ve maternal hastalıklar insidansı etkilemektedir. Antenatal glukokortikoid tedavisi ve doğumda surfaktan verilmesi ise insidansı azaltmaktadır. İkizlerde yapılan çalışmalar genetik faktörlerin RDS gelişiminde önemli olduğunu göstermektedir. Patogenezinde bir çok faktörün sorumlu olması nedeniyle, RDS için spesifik bir gen henüz bulunamamıştır ve etyolojinin de multifaktöriyel ve/veya multigenetik olduğu düşünülmektedir. Prematüre bebeklerin başlıca sorunlarından biri olan RDS, neonatal mortalitenin yanı sıra, eşlik edebilecek intrakranial kanama, perinatal asfiksi, nazokomial sepsis, patent duktus arteriozus, kronik akciğer hastalığı ve nörogelişimsel sorunlarla da yakından ilgili olup, morbiditeyi artırmaktadır (1-3).

Nitrik oksit (NO) L-arjininin L-sitruline nitrik oksit sentaz tarafından çevrilmesi ile sentezlenmektedir. İnsanda 3 çeşit nitrik oksit sentaz isoformu tanımlanmış: endotelial eNOS, indüklenebilir iNOS ve nöronal nNOS. Endotelial hücrelerde NO 7q35-36. kromozomda yerleşmiş eNOS (NOS3) tarafından sentezlenir. Gende birkaç spesifik allel çeşitliliği tanımlanmıştır. Bunun gibi bir polimorfizm 298. aminoasit pozisyonunda yer alan glutamatın aspartata yer değiştirmesi ile sonuçlanan Glu298Asp (G894T) polimorfizmdir. Bu varyant insanda miyokard infarktüsü ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda azalmış endotelial cevapla ilişkilendirilmiştir (4,5).

Nitrik oksit; nörotransmisyon, immun hücre sitotoksitesisi, vasküler düz kas gevşemesi, anjiogenezis ve sürfaktan maturasyonu ve sekresyonunu içerecek şekilde fizyolojik fonksiyonlara aracılık eder. Hayvan deneylerinde endojen NO; pulmoner yapının ve fonksiyonların maturasyonunda kritik öneme sahiptir, postnatal pulmoner adaptasyon, pulmoner vasküler tonusun düzenlenmesi ve pulmoner ödem gelişiminde major bir rol oynar (6,7). Yenidoğan bebeklerde respiratuvar distres patogenezinde sürfaktan maturasyonu, pulmoner adaptasyon, pulmoner damar tonusu ve ödem önemlidir (2,3). Bu bulgular RDS olan yenidoğan bebeklerde eNOS polimorfizminin de önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada amacımız; respiratuvar distres sendromu olan yenidoğanlarda, solunum sıkıntısına neden olan hastalıkların akciğer dolaşımı ve akciğer damar direnci ile ilgili patofizyolojisinden yola çıkarak, eNOS gen polimorfizmini, respiratuvar distres sendromu olan bebeklerde araştırmak, respiratuvar distes sendromu olmayan bebeklerle karşılaştırmak ve eNOS gen polimorfizmi ile hayatının ilk 24 saati boyunca respiratuvar distres sendromu olan bebekler arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Yenidoğan bebeğin özellikle de prematüre bir bebeğin solunum sistemi hastalıklarını anlamak için öncelikle embriyoloji ve fetal gelişim basamaklarının üzerinde durulması gerekir.

2.1. Akciğer Gelişimi

Yapısındaki anatomik değişikliklere bakılarak akciğer 5 farklı döneme bölünür: Embriyojenik dönem; gebeliğin 3-7. haftalarında büyük hava yolları gelişir. Embriyonik akciğer oluşumundaki defektler trakeoözofajiyal atrezi/fistül, pulmoner ageneziyi de içeren hastalıklara neden olurlar (8).

Pseudoglandüler dönem; gebeliğin 7-17. haftalarını içerir. Bu dönemde bronşial ağaç ve asiner tübüller gelişir. Plevral peritoneal boşluk kapanır ve diyafram kalınlaşır. Kapanmasındaki defektler diyafragmatik herni ve aynı taraflı akciğer hipoplazisine neden olur (8).

Kanaliküler dönem; gebeliğin 16-26. haftalarında hava ile kan arasındaki mezenşim dokusu ve damar yapıları gelişir. Bronşial ve alveoler epitelde hücrel farklılaşma tamamlanır. Sürfaktan sisteminin ilk elemanları bu dönemde görülür. Sürfaktan fosfolipidleri depolanmaya başlar. 23-24. haftadan sonra doğan prematüre bebeklerde RDS gelişir (8).

Sakküler dönem; 22-36. haftaları kapsar. Uç hava yollarının alveol kesesi şeklinde gelişimi tamamlanır, interstisyel doku kalınlığı azalır, alveoller arası septa oluşumunun ilk basamağı olan elastin birikimi başlar. Yine bu dönemde tübüller miyelin miktarı artar ve hava yollarında sekretuar formda surfaktan görülür. Prematüre doğumdan sonra periferik sakküller solunumu sağlayabilirler. Bu dönemde surfaktan eksikliğinden kaynaklanan RDS prematüre doğumun sık görülen bir komplikasyonudur (8).

Alveolar dönem; gebeliğin 36. haftasından itibaren başlar ve alveolar septasyon tamamlanana kadar sürer. İnce sekonder alveoler septa gelişimi ve kapiller remodelizasyon dönemidir. Bu süreçte erişkindeki akciğer yapısı oluşur. Erişkin akciğeri yaklaşık 300 milyon alveolden oluşur ve gaz değişimi için 10 metrekarelik bir alan yaratır. Böylece akciğerler gazın alveolden kana geçişi için maksimum yüzey alanı ve minimum alveol duvar kalınlığı oluşturacak şekilde organize olur. Postnatal dönemde bu durum alveol bozukluklarına yol açar (8).

2.2. Sürfaktan

Sürfaktan esas olarak alveollerdeki tip II epitel hücrelerinden salınan yüzey aktif bir materyaldir. Gebeliğin 24-28.haftalarında sentezlenmeye başlar. Yapısı %70-80 oranında fosfolipid ve %10 protein ve %10 nötral lipitten oluşur (9). Doymuş fosfotidilkolin surfaktanın esas yüzey aktif birleşenidir. Sürfaktan için daha spesifik olarak kullanılır. Fosfotidilgliserol ise %4-15 gibi daha az miktarlarda bulunur. Daha az doymuş fosfotidilkolin ise surfaktanla ilişkili değildir ve akciğerin lipidle ilgili bölümlerinde bulunur (10).

Pulmoner alveoler yüzeyi skuamoz epitel hücreler (tip I) döşer. Alveoler epitel arasında küboidal hücreler bulunur. Yüzey gerilimi artarsa alveolar kollaps olur ve inspirasyon sırasında alveollerin açılması zorlaşır, sonuçta RDS ortaya çıkar (9).

Sürfaktan fosfolipidleri tip II pnömositlerin endoplazmik retikulumunda sentezlendikten sonra golgi cisimciklerine transport edilir. Buradan küçük veziküllerin oluşturduğu lameller cisimcikler halinde sekrete edilir. Tübüler miyelin fosfolipid kompleksi olarak da adlandırılan bu form, alveolde hava ile sıvının karşılaştığı yüzeyde, tek katlı bir tabaka oluşturur ve yüzey gerilimini düzenler. Sürfaktanın ana görevi alveollerin yüzey gerilimini azaltmak ve atelektaziyi önlemektir. Sürfaktan yokluğunda, akciğerlerde yüzey gerilimi yaklaşık 70 mN/m iken surfaktan, bu gerilimi yaklaşık 1 mN/m'ye indirir. Klinik olarak yokluğunda küçük hava yolları kapanır, ilerleyici atelektazi ve proteinöz materyalin alveollere dolmasıyla gaz değişimi bozulur. Tedavi edilmediğinde hasta genellikle solunum yetmezliği ile kaybedilir (10).

Lamellar cisimciklerinin ana bileşeni olan surfaktan fosfolipidleri, sıkıca paketlenmiş iki tabaka şeklinde bulunur. Böylece akciğere spesifik hidrofobik peptid surfaktan protein B (SP-B) tarafından etkilenebilir. Sürfaktan protein A (SP-A) lamellar

cisimcikte bulunur. Tübüler miyelin birkaç lameller cisimcikten oluşur, en önemli fonksiyonunu SP-A ve SP-B sağlar. Surfaktan protein C (SP-C) lipid trafiğinde ve tubuler miyelin organizasyonunda rol oynar. Tübüler miyelin surfaktanın stabil olmayan bir formu olup alveoler yüzeye lipid eklenmesiyle ilişkili olabilir. Surfaktan protein A bu lipid eklenmesi sırasında çözünür ve surfaktan tabakası stabil hale gelir (10).

Prematüre yenidoğanlarda alveolar havuzun %50'sinde inaktif veziküller bulunur ve bunlar tekrar döngüye katılabilir. Surfaktan protein-D (SP-D), tip II epitelyal hücreler, Klara hücreleri, diğer hücre ve salgı bezlerinde üretilir. Major parçası lipidlerle beraberlik göstermez. Pulmoner savunmayla ilişkilidir. Fakat SP-A'nın aksine akut pulmoner lezyon varlığında artar (11).

Surfaktanın esas görevi yüzey gerilimini sağlamaktır. Böylece ekspiryum sonunda alveolar kollapsı önler (11). İnflamasyon, enfeksiyon ve oksidan strese karşı alveoler cevapta rol alır. Surfaktanın çoğu tip II hücreler içinde tekrar tekrar kullanılır ve makrofajlar tarafından endositoza uğrar (12). Surfaktan protein-C'nin tip II hücreye özgü olduğuna inanılmaktadır. Surfaktan protein-A, SP-B ve SP-D ise distal hava yollarını döşeyen siliyasız kolümner epitel hücre olan hem tip II hücrelerde hem de Klara hücrelerinde bulunur (13). Surfaktan protein-A1, SP-A2, SP-B, SP-C ve SP-D genleri SP'inin sık görülen varyantlardır. Respiratuvar distres sendromu, bronkopulmoner displazi, Respiratuvar Sinsityal Virüs (RSV) bronşiyolitiyle ilişkilidir (14).

Surfaktan sentezi primer olarak alveoler tip II epitel hücrelerinin yapısal ve biyokimyasal olarak farklılaşmasıyla ilişkilidir. Parakrin ve endokrin faktörler bu farklılaşmaya katkıda bulunurlar. İn vivo ve invitro çalışmalarda özellikle glukokortikoidlerin yapısal farklılaşma ve surfaktan sentezinde rol aldıkları gösterilmiştir. Tiroid hormonları, östrojen, prolaktin, epidermal büyüme faktörü ve β -adrenerjik ajanlar da pulmoner matürasyonda rol alırlar. Doğum olayı, ventilasyon şekli ve katekolaminler surfaktanın salınımını arttırırken, hiperglisemi ve hiperinsülinemi surfaktan fosfolipidlerinin salınımını engeller (10).

2.2.1.Surfaktan Protein A (SP-A)

10.kromozomda kodlanan (10q22-q23.1), suda eriyebilen kollajen tip lektin (kollektin) yapısında, 248 aminoasitten oluşan büyük bir proteindir (15). Surfaktan

protein A lameller cisimcik yapısında ve fonksiyonunda ayrıca kollektin olarak konak cevabında önemlidir. Kapsüllü bakteriyi bağlar, alveolar makrofajların antibakteriyel etkilerini, pneumocystis carini fagositozunu artırır. Surfaktan protein A akciğeri abartılı inflamatuvar cevaptan, nötröfil fonksiyonlarını inhibe ederek korur (9).

Surfaktan protein A için iki fonksiyonel gen vardır; SP-A1 ve SP-A2. Ayrıca bir de psödo gen vardır. Bu genlerin hepsi SP-A stabilitesi, fonksiyonu ve olgunlaşması için önemlidir. Ayrıca pulmoner savunma ve pulmoner inflamasyon işlemleriyle de ilişkilidirler. De novo sentezi lamellar cisimcik ve diğer surfaktan komponentlerinden bağımsız olarak devamlı bir şekilde gerçekleşir (13). Surfaktan protein A üçüncü trimesterde erken dönemde eksprese edilir. Surfaktan protein A ve RDS arasındaki ilişki gen-gen, gen-çevre etkileşimiyle veya intraselüler surfaktan proteini işleyişiyle ilişkilidir (16).

Surfaktan protein A, surfaktanın tübüler miyelin formasyonu için gereklidir ve yüzey etkinliğini azaltan inhibitörlere karşı surfaktanın direncini artırır. En önemli özelliklerinden biri de kollajen-karbonhidrat bağlayan uçlarıdır ve bu özelliği nedeniyle lokal pulmoner immünolojik fonksiyonlardan sorumludur (16,17).

Surfaktan protein A, mukozal immünitede bir dizi patojenin aglütinasyonunda opsonin gibi davranarak ve klirensi arttırarak fagositozla patojenleri öldürerek yer alır. Surfaktan protein A'sı çıkarılmış fareler Grup B Streptokok, RSV tarafından oluşturulan pulmoner enfeksiyonlara yatkındır. Surfaktan protein A opsonizasyonu artırır ve makrofajlarca RSV'nin reseptör aracılıklı alımını sağlar. F proteinine bağlanarak intraselüler alımını ve sinistisyum oluşumunu engeller. Surfaktan protein A, SP-B ve SP-C polimorfizmi RDS ile ilişkilidir. Spesifik allelleri prematürite derecesi, uterus boyutu, çoğul gebelik ve cinsiyet farklılığının da içinde olduğu çeşitli risk faktörleriyle etkileşir. Surfaktan protein A'nın major tipleri prematüre infantlarda RDS için herediter risk faktörü şeklinde davranırken, aynı haplotip terme yakın bebeklerde RDS'den koruyucu faktör olarak görev yapar (14).

Sonuç olarak SP-A proteini olmayan hiçbir yenidoğan bulunmamaktadır. İnsanlarda SP-A aleli değişkenlik gösterebilir (9).

2.2.2.Surfaktan Protein B (SP-B)

İkinci kromozomda kodlanan SP-B, suda erimeyen, 79 aminoasitten oluşan küçük bir peptiddir (15). Surfaktan protein B, lameller cisimcikteki fosfolipidlerle beraber depolanır. Alveollere salınır ve burada yüzey gerilimini azaltmak için lipid tabakasını stabilize eder. Surfaktan protein B ve prekürsörü proSP-B, yine SP-C'nin prekürsörü olan proSP-C, lameller cisimcik oluşumunun, tübüler miyelin yapımının, aktif surfaktan tabakasının oluşumunun ve surfaktan lipid ve proteinlerinin tekrar döngüsünün gerçekleşebilmesi için gereklidir. Surfaktan protein B gen delesyonu yenidoğan farelerde akciğer yapısını bozarak ölümcül RDS'ye neden olur (18). Yine SP-B insan genini kodlayan birkaç mutasyon da, yenidoğan bebeklerde ölümcül respiratuvar distrese neden olur (18,19). Farelerde SP-B yokluğunda lipid protein kompleksleri tip II alveolar hücreler tarafından sentezlenir ve bu hücrelerde matür SP-C bulunmaz ve surfaktan yüzey aktif değildir (9, 20).

Surfaktan protein B geninde ölümcül neonatal solunum yetmezliğine yol açan 27'den fazla fonksiyon mutasyon kaybı tanımlanmıştır. En sık görülen ve en şiddetli mutasyonu 121ins22 olarak bilinir ve mutant vakalarda %60-70 sıklıkla görülür. Bu mutasyonun sıklığı azdır ve neden olduğu fenotip infantlarda homozigot genotip sonucu ortaya çıkar. Mutasyonlar SP-B'nin azalmış salınımına neden olur ve ailesel özgünlük gösterir, respiratuvar distrese, bazen de daha kötüye giderek kronik respiratuvar yetmezliğe yol açabilir. İnsan SP-B geninin oluşturulması glukokortikoid tedavisiyle arttırılır. Bunun yanında SP-A geni ise cevaben azalır (9).

2.2.3.Surfaktan Protein C (SP-C)

8.kromozomda kodlanan, 35 aminoasitten oluşan, suda erimeyen küçük bir proteindir (15). Surfaktan Protein C, golgi kompleksinden lamellar cisimciğe posttranslasyonel işlem boyunca taşınması sırasında geniş kapsamlı uygulamalardan geçer. Alveolar lümen sekresyon öncesinde lamellar cisimciklerde depolanır. İntegral membran proteini şeklinde sentezlenen tek peptid olarak bilinir, salınımı luminal protein şeklinde yapılır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda interstisyel akciğer hastalığına neden olan 12'den fazla mutasyon bildirmişlerdir (21).

Olgun SP-C hem hava yollarında hem de lameller cisimciklerde bulunabilir. Tubuler miyelin yapısında esansiyel rol oynamaz. Düşük akciğer volümünde akciğer

stabilizasyonunda ve hücre içi surfaktan kompleks işleyişinde rol alır. Surfaktan Protein B, SP-C'nin hücre içi işleyişinde ve üretiminde yer alır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda SP-C geninin 4. intronunun ilk bazında ucuca eklenen mutasyonlu bir aile ve etkilenen bireylerde kronik interstisyel akciğer hastalığı gelişimi ve otozomal dominant kalıtsal geçiş gösterilmiştir (22).

Şimdiye kadar SP-C geninde 25'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Ancak SP-C geninin her iki alelinde SP-C eksikliği yapan bir mutasyon insan ırkında tanımlanmamıştır. SP-C'nin surfaktan parçalarının yeniden kullanılması görevinin yanı sıra bağışıklık sisteminde de etkili olmaktadır (23).

2.2.4.Surfaktan Protein D (SP-D)

Onuncu kromozomda, 355 aminoasiti olan, kollektin yapısında bir proteindir (15). Tip II pnömosit ve Klara hücrelerinde bulunur. Patojen mikroorganizmalara bağlanarak konakçı savunmasında rol alır ve klirensi artırır. Farelerde SP-D eksikliğinde surfaktan lipid havuzu artar, amfizemin hakim olduğu bir tablo gelişir ve akciğer enfeksiyonlarına duyarlılık artar (24). Surfaktan Protein D, SP-A ile beraber mikroorganizmalarla karşı konak savunmasının önemli bir parçasıdır. Her iki protein mikroorganizmanın membranına bağlanır ve lökosit fonksiyonunu düzenler, opsonize eder, mikroorganizmanın öldürülmesini artırır. Kalıtsal SP-D eksikliği insanlarda tanımlanmamıştır, ancak kistik fibrozlu hastalarda SP-A ve SP-D'de değişiklikler vardır (13).

Surfaktan Protein D'nin bugüne kadar üç tek nükleosid polimorfizmi tanımlanmıştır. Surfaktan Protein D polimorfizmi ile RDS ve bronkopulmoner displazi arasında bir ilişki bulunmamıştır. Yaşamın ilk günlerinde trakeal aspiratlarında SP-D düzeyi düşük bulunan bebeklerde daha sonra kronik akciğer hastalığı sıklığı yüksek bulunmaktadır (23). İnsanlarda bugüne kadar SP-D eksikliği ve SP-D geninde mutasyon tanımlanmamıştır (25). Wert ve arkadaşlarının (26), Botas ve arkadaşlarının (27) SP-D eksikliği olan farelerde yaptığı çalışmalar intraalveoler surfaktan klirensinin önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. Bu durumda alveollerin içinde surfaktan lipidleri ile SP-A ve SP-B giderek birikerek alveolar makrofajların aktivasyonuna, peribronşiyoler-perivasküler inflamasyon ve amfizem gelişmesine yol açar. Bu hayvanlarda enfeksiyonlara eğilim de artmıştır (27).

2.3. Respiratuvar Distres Sendromu (RDS)

2.3.1 Giriş

Gelişmiş ülkelerde yenidoğan bebek ölümlerinin dörtte birinden sorumlu olan RDS ve komplikasyonları premature bebeklerin en önemli morbidite ve mortalite nedenidir (28,2). Gelişmekte olan ülkelere doğum oranlarının daha da yüksek olduğu göz önüne alındığında RDS tanı ve tedavisinin ne kadar önemli olduğu anlaşılır. Bu nedenle, premature bebeklerin en önemli sorunu olan RDS'nin patofizyolojisi, tanı ve tedavisinin iyi bilinmesi gereklidir.

Respiratuvar distres sendromu ilk defa, 1903 yılında prematürite nedeni ile ölen bebeklerin akciğerlerindeki patolojik görünüme dayanılarak hyalen membran hastalığı olarak adlandırılmış ve amnion sıvısının aspirasyonuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Hyalen membran hastalığı terimi patolojik bir terimdir. Sürfaktan eksikliğine bağlı oluşan alveoler zedelenme ve eksüdasyonlar hyalen membranlarla karakterizedir. Hyalen membranların oluşması için belli bir süre geçmesi gerektiğinden erken dönemde kaybedilen bebeklerde görülmeyebilir. Hastalığın klinik bulgularını tanımlayan asıl terim ise 'respiratuvar distres sendromu' dur (28).

Respiratuvar distres sendromu konusundaki bilgilerimiz oldukça yenidir. Yaşadığımız yüzyılın ilk yarısına kadar RDS'nin amnion sıvısına bağlı olduğu sanılırken, 1950'lerin sonuna doğru olayın akciğerlerdeki surfaktan yetersizliğine bağlı olduğu anlaşılmış, 1960'larda surfaktan yapımı ve hücre içi mekanizmalar anlaşılmış, 1970'lerde ventilatör tedavisinin ilkeleri geliştirilmiş ve 1980'li yıllarda da RDS'li vakalara dışarıdan surfaktan verilmesinin tedavideki etkinliği kanıtlanmıştır (28,2). Yüzey aktif lipoprotein olan surfaktan alveolde hava sıvı yüzeyinde yüzey gerilimini azaltır, ekspirasyon sonunda alveolar kollapsı engeller. Sürfaktan kompleksinin lipid ve protein birleşenlerinin yapımı erken akciğer gelişimi döneminde uyarılır. Rooney ve arkadaşları (29), 1994'de surfaktan kompleksinin sentez ve salınımının gelişimsel olarak hormonlar ve büyüme faktörleriyle düzenlendiğini belirtmişlerdir.

Doğumdan 4-6 saat sonra başlayan, solunum sıkıntısı, ekspiratuar hırıltı ve inlemelerle karakterize olan bu akut hastalık daha çok prematüre bebeklerde görülmektedir. Her iki akciğerde yaygın atelektaziler oluşur ve akciğer grafisinde tipik retikülogranüler görünüm ortaya çıkar. Şiddetli vakalarda akciğerler, hava boşluklarındaki sıvı retansiyonlarına ve geniş atelektazilere bağlı olarak tamamen beyaz

görülebilmektedir. Respiratuvar distres sendromunun etyolojisinin temelinde surfaktan eksikliği vardır (30).

Respiratuvar distres sendromu ve komplikasyonları halen prematüre bebeklerin en önemli mortalite ve morbidite nedenlerinin başında gelmektedir. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin hizmete girmesi ventilatör tedavisindeki başarılı uygulamalar, nasal devamlı pozitif hava yolu basıncı (CPAP) kullanılması, akciğer maturasyonunu başlatmak için antenatal steroid kullanımı ekzojen surfaktan tedavisinin etkinliği ile RDS mortalitesi %60-70'lerden %10-20'lere kadar indirilebilmiştir.

2.3.2 İnsidans

Respiratuvar distres sendromu çoğunlukla prematürelde görülür, insidans gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır. Yirmisekizinci gebelik haftasının altında doğan bebeklerin %60-80'inde görülür. Bunların %15-30'unun gebelik yaşları 32-36 haftadır, 37 haftaya kadar %5 'inde görülürken zamanında doğan bebeklerde oldukça seyrek. Hastalığın görülme sıklığı ile gebelik yaşının 37 haftanın altında olması, çoklu gebelikler, sezaryen doğum, hızlı doğum eylemi, asfiksi, soğuk stresi ve önceki doğumlarda RDS görülmüş olması arasında bir ilişki vardır. Erkek ve beyaz ırk bebeklerinde en fazladır. Bir bebekte RDS olması riski annede opiat bağımlılığı, erken membran rüptürü ve antenatal steroid kullanımı ile azalır. İntrauterin büyüme geriliklerinde normal popülasyona göre RDS insidansı azalmıştır. Respiratuvar distres sendromu insidansı ile ilgili birkaç toplum temelli çalışma yapılmıştır. İtalya'da 1998 yılında yapılan bir çalışmada RDS insidansı %2.8 olarak bulunmuştur. İngiltere'nin Nottingham bölgesinde yapılan bir başka çalışmada RDS insidansı %2.1 bulunmuştur. 1981 yılında İsveç'te 32281 yenidoğanda yapılan bir çalışmada ise RDS insidansı %2.9 bulunmuştur (31). Amerika Birleşik Devletleri'nde yenidoğan bebek ölümlerinin beşte birinden RDS sorumludur. Ancak ülkemiz için belirlenmiş sağlıklı bir insidans yoktur.

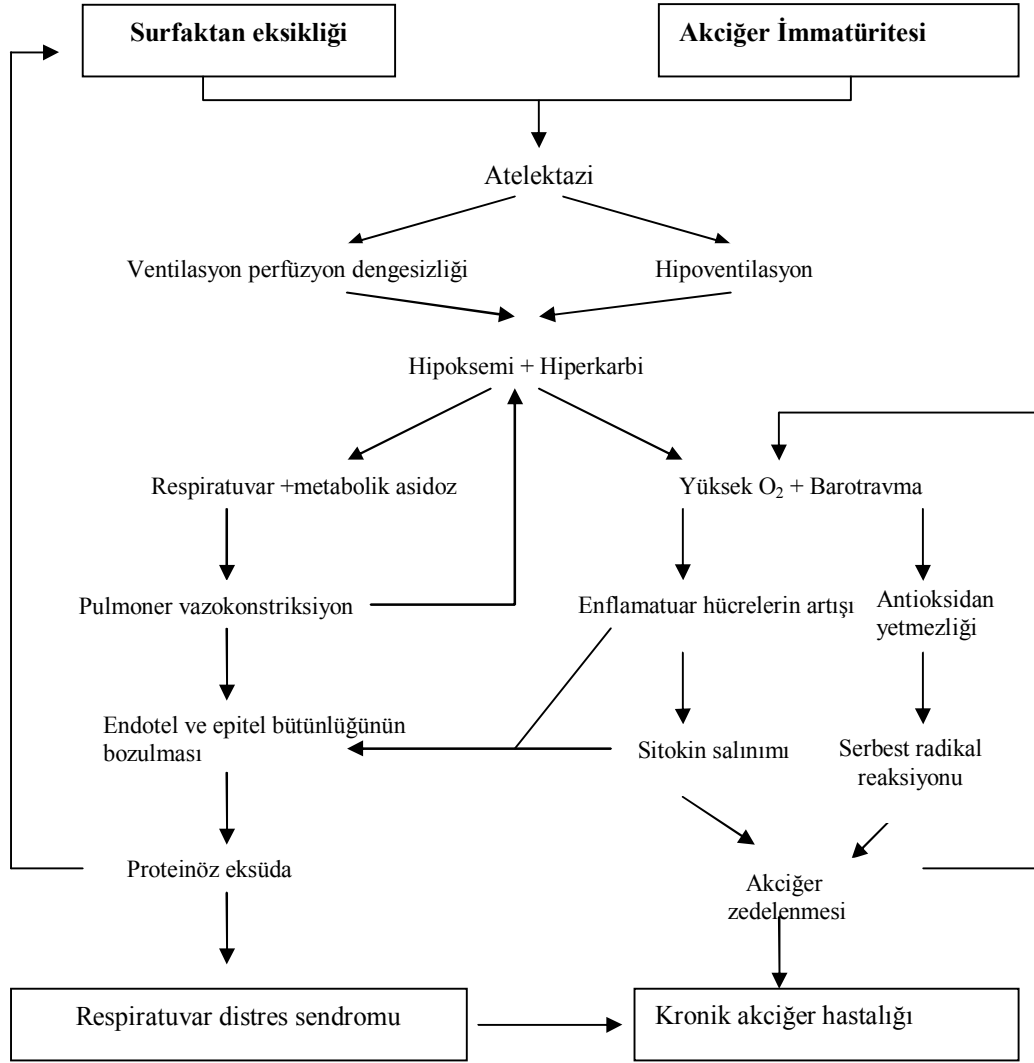
2.3.3 Patofizyoloji Etyoloji

Hastalıkta akciğerlerin makroskobik olarak görünümü karaciğere benzer; kırmızı renkte olan ve havalanmamış akciğer RDS için karakteristiktir. (2)

Respiratuvar distres sendromu olan yenidoğan bebeklerde doğumdan sonra yarım saat içinde alveolar epitelde nekroz olur ve hyalen membranlar oluşmaya başlar.

Mikroskopik olarak yaygın atelektaziler ve diffüz interstisyel ödem vardır. On saat içinde bu bulgular ağırlaşır. Daha çok damardan eksüde olan sıvının pıhtılaşmasına bağlı olarak oluşan membranlara hyalen membranlar denirse de bunların çoğu transparan veya buzlu cam şeklindedir. Zedelenmiş epitelden kaynaklanan kan ve hücre artıklarının oluşturduğu bu membranların içinde hücrelerin parçalanmasıyla oluşan granüler veya fibriler eozinofilik materyal vardır. Alveollerin içindeki bu plazma eksüdası ve membranlar, var olan az miktardaki surfaktanın da inaktivasyonuna neden olur (2). İyileşme döneminde tip 2 hücreleri de içeren alveoler hücreler tekrar oluşur (2).

Surfaktan eksikliği (azalmış yapım ve salınım) RDS'nin birincil nedenidir. Surfaktan tip 2 alveoler hücrelerden salgılanır. İmmaturite nedeni ile surfaktanın yeterince yapılamamış ve salgılanmamış olmasından dolayı doğum sonrası ihtiyaç karşılanamayabilir. Yirmi haftalık fetal akciğer homojenatlarında surfaktan yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır ancak bu zamana kadar akciğer yüzeyine henüz ulaşamamıştır (32). Bu olay 28-32. haftalarda gerçekleşir ve akciğer surfaktanı 35. haftadan sonra normal düzeylere ulaşır. Surfaktan sentezinin normal pH, ısı ve perfüzyona ihtiyacı vardır. Asfiksi, hipoksemi, pulmoner iske mi, hipovolemi ve hipotansiyon surfaktan sentezini baskılayabilir. Akciğer yüzeyinin yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz kalması ve solunum destek tedavileri de surfaktanın azalmasına neden olur (2). Alveoler atelektazi, hyalen membran oluşumu ve interstisyel ödem akciğer kompliansını azaltır, küçük alveol ve havayollarının daha çok basınç ihtiyacı duymasına neden olur. Düşük akciğer kompliansı, düşük tidal hacim, artmış fizyolojik ölü boşluk, solunum işleminin artması ve alveoler ventilasyonun azalması hiperkarbi ile sonuçlanır. Hiperkarbi, hipoksi ve asidozun bir arada olması pulmoner arterial vazokonstriksiyon oluşturur ve foramen ovaleden sağdan sola şantın artmasına yol açar. Pulmoner kan akımı azalır, surfaktan üreten hücreler iskemik zedelenmeye maruz kalır ve damar yataklarından alveoler boşluğa proteinöz materyal birikir. Yüksek miktarlarda oksijenin oluşturduğu barotravma ve volütravma proenflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınmasına yol açar. Bu mekanizma ile de epitel zedelenmesi ve surfaktan yapımının azalması gerçekleşebilmektedir (2,33). Bu mekanizma Şekil 1' de özetlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 1. Respiratuvar distres sendrom fizyopatolojisi

2.3.4 RDS' ye zemin hazırlayan faktörler

1- Prematürite: Respiratuvar distres sendromu için en önemli predispozan faktördür. Prematüre bebeklerde akciğer matürasyonu tamamlanmadığı için RDS daha sık görülür. Bebek ne kadar erken doğarsa RDS görülme olasılığı o kadar artar. Genellikle matür surfaktan sentezinin başladığı 32-34. gebelik haftasından itibaren sıklığı belirgin olarak azalır. Bununla birlikte nadir olarak term bebeklerde de surfaktan sentezindeki sorunlar nedeniyle RDS görülebilir (2). Herhangi bir surfaktan birleşiminin oluşumunu etkileyen faktörler özellikle de prematürelilik derecesi cinsiyet, etnik köken, inflamasyon ve genetik faktörler RDS riskini etkiler (34). Artmış gebelik haftasıyla

beraber RDS insidansında azalma görülür. Otuziki haftanın altında doğan fetüslerde %30-50 arasında RDS görülür iken term fetuslerde bu oran yaklaşık %1 civarındadır (35).

2- Doğum ağırlığı: Çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin doğumunda artış RDS insidansındaki artmayı açıklayabilir. Bin gram altındaki bebeklerin hastaneye yatma oranları %0.9-%4.0 arasında olup bu bebeklerin hemen hemen hepsi RDS tanısı alır. Bu büyük orandaki düşük doğum ağırlıklı bebeklerin dünyaya gelmesi RDS'de %3'e yakın bir artışa neden olur (36). Respiratuvar distres sendromunda yüksek oranda fetal distres, oksijen ihtiyacı, düşük 5.dakika APGAR skoru, ikiz doğumlarda ikinci ikiz bebek birincisinden daha iri doğarsa görülebilir (37).

3-Erkek Cinsiyet: Epidemiyolojik çalışmalar, çeşitli faktörlerin RDS etyolojisinde etkili olduğunu göstermektedir. Erkek cinsiyet RDS için risk faktörüdür (9,11). Kız çocukları erkek çocuklarla karşılaştırıldığında her gestasyon haftasında daha az sıklıkla RDS gelişimi gösterirler. Erkek fetuslerde olgunlaşmış lesitin/sfingomyelin oranı ve fosfatidilgliserolün gecikmiş olarak ortaya çıkışı surfaktan sentezi olgunlaşmasında androjenin neden olduğu ertelemeye bağlı olabilir (32). Erkeklerde androjen surfaktan üretimini inhibe eder, akciğer fibroblastları üzerinden etki ederek akciğer matürasyonunu geciktirir. Epidermal büyüme faktörü (EGF), pulmoner epitelyum gelişiminde önemli bir role sahiptir. Koyunlardaki infüzyonu RDS gelişimini engellemiş akciğer genişlemesini arttırmıştır. Mülleriyan inhibe edici faktör, EGF reseptörlerinin fosforilasyonunu engelleyerek akciğer matürasyonunu önler (38).

Östrojenin akut akciğer hasarında kritik bir rolü olduğu düşünülür. Kadın cinsiyet hormonları şokun indüklediği akciğer hasarını azaltırken erkek cinsiyet hormonları arttırır. Östrojen etkisini vasküler hücre adhezyon molekülleri ve proinflatuvar sitokin yapımı üzerinden gösterir. Pulmoner arter vazoreaktivitesinin akut akciğer hasarı ve şok sırasında fonksiyonel olmadığını gösteren birçok delil vardır. Östrojenin pulmoner vasküler yapı üzerindeki etkisi genetik veya genetik olmayan faktörlerle ilişkili olabilir. Prostatiklin salınımını ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) yapımını pozitif yönde kontrol ederek nitrik oksit yapımını arttırır. Fetal pulmoner endotelial hücreler östrojene maruz kaldıklarında mesajcı ribonükleik asit (mRNA) seviyesini ve eNOS aktivitesini arttırarak cevap verirler. Bu etkiler için östrojen reseptör aktivasyonu önemlidir. Östrojen potent vazokonstriktör ve mitojen

olan endotelin-1 (ET-1)'in genetik sunumunu etkiler. Antiinflamatuvar mekanizmalar östrojenin vazodilatatör etkilerine katkıda bulunur. Pulmoner arter damar reaktivitesi endotel hücre tabakasının ve vasküler yapının inflamatuvar durumundan etkilenir (39).

4- Perinatal asfiksi: Respiratuvar distres sendromu patofizyolojisinde sık görülen risk faktörleri arasında perinatal asfiksi sayılabilir (40,41). Asfiksideki alveoler epitel hücrelerindeki zedelenme ve surfaktan yapımındaki azalma, alveol içindeki surfaktanın inaktivasyonu ile RDS daha sık ortaya çıkar.

5-Enfeksiyon: İntrauterin enfeksiyonlar fetal ve maternal inflamatuvar cevabı ortaya çıkarır, bu durumun hem yararlı hem zararlı etkileri vardır. Zararlı etkiler arasında intrauterin ölüm, prematüre doğum, fetal nörolojik hasar ve neonatal sepsis sayılabilir. Fakat aynı zamanda neonatal RDS riskini azaltır (42). Maternal inflamatuvar cevap subkoryonit, koryonit, koryoamniyonit olarak karşımıza çıkabilir. Fetal cevap ise koryonik vaskülit, umblikal vaskülit, funizitle tanımlanır. Umblikal vaskülit olsa da olmasa da neonatal RDS ve koryoamniyonit yokluğu arasında anlamlı bir ilişki vardır (42). Annedeki alt üriner sistemin veya genital sistemin Ureaplasma urealyticum ile kolonizasyonunun bebekte pulmoner surfaktanı inhibe ederek RDS gelişimine neden olabildiği belirtilmektedir (43). Fetal akciğerin koryoamniyonite cevabı, akciğer matürasyonunun uyarılması ile olur. Bu durum ise RDS insidans ve şiddetinde azalmayla sonuçlanır (44).

6- Gebelikte diyabet: Respiratuvar distres sendromu gelişiminde maternal diyabet risk faktörleri arasındadır (40). Tip I diyabetli annelerin bebekleri hem RDS hem de yenidoğanın geçici takipnesi açısından risklidirler. Bu bebeklerde Tip II alveolar hücrelerde olgunlaşma geç başlar ve pulmoner surfaktan eksikliği de görüldüğünden daha sık RDS ortaya çıkar. İnsulin kortizolün fizyolojik olgunlaşma etkisini antagonize eder, ayrıca polisitemiye neden olur, persistan pulmoner hipertansiyonu indükler, bu da RDS'li bebekte kliniği daha da kötüleştirir (45).

7- Çoğul gebelik: Martilla ve arkadaşlarının (46) 4970 RDS'li hasta ile yaptıkları bir çalışmada ikiz doğumlarla tekil doğumlar arasında gebelik haftası göz önüne alınırsa RDS gelişimi açısından belirgin bir farklılık bulunmamıştır.

34-36 haftalar arası doğum ve 34 haftanın altında doğum karşılaştırılırsa ikiz gebeliklerin sezaryenlarında ikinci bebekte RDS riskinde artış, birinci ve ikinci bebeğin alt uterus segmentindeki değişimlere, kontraksiyonlara, angajmana farklı

maruziyetinden kaynaklanabilir. Bu etkiler RDS riski açısından erken prematüre (34 hafta ve altı) ve geç prematüreler (34-36 hafta) arasında farklılıklar yaratabilir. İkinci ikizler bütün yaş gruplarında RDS açısından daha risklidirler (37).

8- Gebeliğin indüklediği hipertansiyon: Gebeliğin indüklediği hipertansiyonda RDS riski artmıştır ancak sebep tam olarak bilinmemektedir (42). Preeklampside 32 haftanın altında doğan bebeklerde RDS riskinin artması fetal akciğer gelişiminin tamamlanmasının hızlanmadığını gösterir (47). Yine hemoliz, yükselmiş karaciğer enzimleri, düşük trombositleri olan (HELLP) sendromlu annelerin bebeklerinde RDS riski yüksek bulunmuştur (48).

9- Hipotermi: Respiratuvar distres sendromu gelişimi açısından soğuğa maruz kalma risk faktörleri arasındadır (40). Hipotermi (35.5°C), ölüme, ciddi intraventriküler kanamaya ve RDS'ye neden olabilir. Hipotermi neden veya sonuç olabilir. Bebeklerde RDS veya intraventriküler kanama uzamış resüsitasyon sonucu ortaya çıkabilir (49). Postnatal hipotermi prematüre bebeklerde prognozu kötü yönde etkiler. Hipotermik bebekte surfaktan fonksiyonu yetersizdir. Hipoterminin etkisi ile hipoksi ve asidemi de surfaktan sentezini azaltır (2,33)

10- Genetik faktörler: Respiratuvar distres sendromu gelişimi genetik faktörlere bağlı olabilir, klinikte sık görülen Deoksi Ribonükleik Asit (DNA) değişimleri SP-A, SP-B, SP-C, SP-D'de görülür (50). Son on yıllarda hem klinik hem hayvan çalışmalarında meydana gelen değişimler SP-B ve SP-C'yi kodlayan genlerde ve lipid transport proteini olan ABCA3 proteininde meydana gelen mutasyonların surfaktan hemostazında önemli rol oynadığını, akut ve kronik akciğer hastalığına neden olduğunu göstermiştir (51).

Ardı ardına gelen kardeşler arasında ilkinde RDS varsa diğerinde de bu risk artar. İkinci çocukta relatif risk ilk prematüre bebeği RDS olan kadınların ikinci bebeklerinde ilk pretem bebeği RDS olmayanlara göre 3.3 kat artmıştır. Bu bulgular RDS gelişiminde altta genetik ve ailesel faktörlerin yattığını gösterir (9). Epidemiyolojik bilgiler RDS etyolojisinin önemli genetik birleşenle birlikte multifaktöryel olduğunu göstermektedirler. Respiratuvar distres sendromu ile ilişkili kişisel değişiklikler, hastanın tedaviye cevabı parsiyel genetik varyasyona bağlı fenotipik çeşitliliği gösterebilir. Bazı genler örneğin SP-A ve SP-B proteinlerini kodlayan genler RDS patogenezinde rol alabilir (11).

11- Antenatal kortikosteroid kullanımı: Antenatal steroidlerin düşük sıklıkta kullanımı neonatal mortalitede ve RDS insidansında riski arttırır. Brezilya’da yapılan bir çalışmada 34 haftanın altında doğan bebeklerin %54’üne steroid ve gebeliği olan annelerin %79’una steroid verilmiştir. Neonatal dönemde surfaktan kullanımında azalma gözlenmiştir. Bu uygulama RDS şiddetini önlemiş veya azaltmıştır. Bu çalışmada analiz edilen bebeklerin %49’u en az bir doz surfaktan almıştır (52).

Respiratuvar distres sendromu gelişimi prematürelikle ilişkili olup genetik faktörler ve maternal steroid kullanımı da katkıda bulunur. Bu yönden en sık çalışılan proteinler surfaktan proteinleridir ve sıklıkla klinikle ilişkili olarak bu protein genlerinin DNA’sında değişiklikler tespit edilir (50). Smrcek ve arkadaşlarının (53) yaptığı bir çalışmada antenatal betametazon tedavisinin 28 haftalıktan büyük yenidoğanlarda perinatal mortalite ve morbiditeyi azalttığını gösterilmiştir. Yine bu çalışmada steroidin tekrarlayan dozlarıyla ne ters etki ne de fayda görülmüştür.

Son kortikosteroid tedavisi ve doğum arasında geçen sürenin RDS insidansını etkilemediği, prematüre doğumdan önce steroid kullanılmasının mortalitede belirgin bir azalmayla beraber hem RDS insidansını hem de intraventriküler kanama insidansını azalttığı belirtilmektedir (54). Perinatal tıpta iki strateji belirgin olarak RDS’nin insidans ve etkisini azaltmıştır. Prematüre doğum eylemi olan kadınlara steroid verilmesi doğacak bebekte RDS riskini yaklaşık %50 azaltmaktadır ve prematüre yenidoğanlara surfaktan uygulaması RDS şiddetini, ilerleyişini ve mortalite insidansını azaltmaktadır (55). Prematüre doğum öncesi steroid kullanımı akciğer olgunlaşmasını hızlandırır. Kronik stres durumunda fetal kortizol yapımı artar ve akciğer matürasyonu hızlanır, böylece RDS riskinde azalma görülür (47).

Yirmi otuz yıllık süre içerisinde perinatal uygulamadaki major gelişmeler örneğin, antenatal kortikosteroid kullanımı ve ekzojen surfaktan verilmesi RDS’li bebeklerdeki klinik iyileşmeyi olumlu yönde etkilemiştir. Deksametazon veya betametazon gibi plasentayı geçen kortikosteroidler prematüre doğum riski olan gebeliklere uygulanmaktadır. Fetal surfaktan yapımını ve akciğer matürasyonunu arttırmaktadırlar. 1970 ve 1980’lerde yapılan randomize kontrollü çalışmalarda kortikosteroid kullanımının mortaliteyi, respiratuvar distres sendromunu ve intraventriküler kanamayı %40 oranında azalttığı bulunmuştur. Antenatal uygulanan kortikosteroidin etkisi bir hafta sürer (56). Glukokortikoidlerin en azından prematüre

doğumdan 24-48 saat önce yapılması (7 günden daha uzun bir süre olmaması gerekmektedir) RDS insidans ve şiddetini azaltır (57).

12- Doğum şekli: Respiratuvar distres sendromu gelişimi, prematürite, maternal steroid kullanımı, doğum şekli ve genetik faktörlerle ilişkilidir (50). Sezaryenla doğan bebeklerde artmış oranda RDS riski gösterilmiştir (38). Sezaryen doğum RDS için bağımsız bir risk faktörüdür. Bu risk sezaryen doğumlar yapılmadan önce, doğumla beraber azalmaktaydı. Bu durum sezaryen öncesi akciğer olgunlaşmasını kesin teyit etmenin önemini göstermektedir (40). Bazı araştırmacılara göre normal vajinal yol (NVY) ile doğum, havayollarına surfaktan salınımına neden olur. Sezaryenla doğan bebeklerde persistan fetal dolaşım görülür ve pulmoner sıvı akciğerden dışarı çıkamaz. Bu durum da RDS'ye yol açar (40). Yine NVY ile doğum sırasında beta adrenerjik salınımın surfaktanın fetal akciğere yayılımında ve doğuma hazırlıkta önemli olduğu düşünülmüştür (40).

2.3.5 Klinik Bulgular

Respiratuvar distres sendromunda erken tanı konulması önemlidir. Respiratuvar distres sendromunun ilk ve en ağır bulgusu akciğerlerde yeterli havalanma olmamasıdır. Doğumdan hemen sonra prematüre bebeklerin akciğer alanları dinlenerek havalanmanın yeterli olup olmadığı değerlendirilmelidir. Özellikle iki taraflı havalanma yetersizliği RDS lehine değerlendirilmelidir. Bu bebeklerde pnömotoraks yönünden de dikkatli olunmalıdır. Hafif RDS vakalarında tanı sanıldığı kadar kolay değildir. Respiratuvar distres sendromu tanısında aşağıdaki bulgulardan yararlanılabilir:

- Solunum hızının dakikada 60' dan fazla olması ve bunun bir saatten fazla sürmesi.
- Ekspiryumda inleme olması; glottik kapanma refleksi nedeniyle kord vokallerin birbirine yaklaşması ile fizyolojik olarak PEEP arttırılarak alveollerin ve küçük hava yollarının kollabe olmaları önlenir.
- İnspiryumda suprasternal, interkostal, subkostal çekilmelerin olması.
- Bu bulguların doğumdan sonraki ilk dört-altı saat içinde olması ve 24 saatten fazla sürmesi

Bu bulgulara sahip olan bebeklerde respiratuar distres olduğundan bahsedilir, ancak surfaktan eksikliğine bağlı RDS dışında diğer bazı akciğer hastalıklarında da benzer bulguların olabileceği unutulmamalıdır (2,33).

2.3.6 Radyolojik Bulgular

Respiratuar distres sendromunun şiddetine göre değişen bulgular vardır. Hafif vakalarda minimal ince retikülogranüler görünüm varken daha ağır vakalarda yaygın atelektaziler nedeni ile diffüz retikülogranüler görünüm ile birlikte bunların arasındaki bronşioollerin hava ile dolmasına bağlı olarak ortaya çıkan hava bronkogramları görülür (2,33). Respiratuar distres sendromunun en ağır şeklinde ise tüm alveollerin atelektazisine bağlı olarak akciğerlerle kalp ve karaciğerin sınırlarının ayırt edilemediği “buzlu cam” görünümü ortaya çıkar. Ancak radyolojik değerlendirme yaparken bazı noktalara dikkat edilmelidir. Örneğin ekspiryumda çekilen grafilere bulgular inspiryumda çekilenlerden daha kötüdür. Ventilatörde izlenen bebeklerde radyolojik bulgular daha hafiftir. Bununla birlikte RDS’li bebeklerde akciğer grafileri tanıdan çok, ayırıcı tanı ve komplikasyonların belirlenmesinde daha büyük önem taşır (2,33).

2.3.7 Tedavi

Respiratuar distres sendromunun tedavisi yeterli bir ventilasyon eşliğinde, surfaktan tedavisinin yardımı ile dikkatli bir destek tedavisinden oluşur. İyi bir tedavi, yenidoğan problemlerini yakından bilen, deneyimli, teknik prosedürleri ve girişimleri rahatlıkla yapan bir ekiple mümkündür.

RDS tedavisinin temel ilkeleri alveolleri açık tutmak ve surfaktan sentezini inhibe eden hipoksi, asidoz, hipotermi gibi faktörleri ortadan kaldırmaktır.

- Sıvı tedavisi: Sıvı tedavisi iyi bir şekilde sağlanmalıdır. (vücutta ve pulmoner sistemde ödeme neden olabileceğinden dolayı sıvı yükünden kaçınmak gerekir. Bu durumda hipovolemi ve hipotansiyon ortaya çıkar)
- Diüretik tedavisi: Hematokrit düzeyine bakılarak furosemid tedavisi verilebilir.
- Asidoz tedavisi: Hastaların yeterli ventilasyonu sağlanarak yeterli respiratuar asidoz düzeltilebilir, ancak hipoksiye bağlı laktik asidoz ve böbrek yetmezliğine bağlı renal asidoz varsa dışarıdan baz verilmesi gerekebilir.

- Hipotansiyon tedavisi: Hipovolemiye veya miyokard fonksiyonlarının bozulmasına bağlı olarak hipotansiyon gelişebilir. Bu durumlarda dopamin 5-10 micro/kg/dk uygulanılabilir.
- Hipovolemi tedavisi: Pulmoner ve sistemik damarlara eksüdasyon nedeni ile plazma kaybı, karaciğerin immatür oluşu ve hipoksik zedelenmesi sonucunda oluşan hipoalbuminemi, akut intrakranial kanamalar, sık alınan kan örnekleri nedeni ile anemi oluşabilir. Tedavide bebeğin ihtiyacına göre plazma, taze kan, eritrosit süspansiyonu verilebilir.
- Antibiyotik tedavisi: Akciğerlerdeki hipoksik zedelenme nedeni ile enfeksiyona eğilim arttığından ve endotrakeal entübasyon, göbek kateterizasyonu gibi invazif işlemler yapıldığından; ayrıca grup B streptokok pnömonisinin klinik ve radyolojik olarak RDS den ayırımının her zaman mümkün olmadığından, uygun dozlarda ve kombinasyonlarda antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.
- Beslenme: Metabolik ihtiyaçları azaltmak ve beslenmeyi maksimuma çıkartmak amaçtır.
- Respiratuvar distres sendromu tedavi ve önleminde antenatal glukokortikoidler, CPAP, ve pozitif ekspiryum sonu basınç (PEEP), surfaktan replasman tedavisi kullanılır (57). Eksik olan surfaktanın intratrakeal yolla yerine koyulması, kan gazı parametrelerinin optimumda tutulması için solunum destek tedavisi verilmesi gerekir (1). Respiratuvar distres sendromu tedavisi, surfaktan tedavisinin yanı sıra genel destek tedavisinin uygulanması ventilasyonu kontrol ve ventilasyona yardım etmek eşsiz teknik prosedürlerle uğraşarak iyi bir ekip olarak detaylı ve yakın hasta gözlemini gerektirir (2). CPAP tedavisine, olabildiği kadar erken başlamak endotrakeal entübasyon oranlarını azaltır (36).

2.3.8 RDS' nin ve Mekanik Ventilasyonun Komplikasyonları

1. Pnömotoraks, pnömomediastinum, pulmoner intertisyel amfizem, pnömoperdikardium, pnömoperitonyum
2. Ekstübasyon atelektazisi, subglottik stenoz, nazal deformiteler
3. Trakeal erezyon, granüloma, perforasyon
4. Pnömoni, sepsis
5. Kardiyak fonksiyon bozukluğu

6. Kronik akciğer hastalığı, bronkopulmoner displazi
7. Oksijen toksisitesi
8. İntrakranial kanama, patent duktus arteriozus, prematürel retinopatisi, enteral beslenmede gecikme, parenteral beslenme komplikasyonları.

2.3.9 RDS' nin Önlenmesi

Respiratuvar distres sendromu yetersiz akciğer matürasyon problemi olduğundan, önlem için en uygun yol prematüre doğumların önlenmesidir. Bu amaç için etkili stratejiler; servikal sirkülaj, enfeksiyonların tedavisi ve tokoliz tedavilerinin kullanılmasıdır. Bu nedenle günümüzde en önemli yaklaşım prematüre doğum yapacak kadına fetal akciğer matürasyonunu hızlandırmak için antenatal glukokortikoid tedavisi uygulamaktır (58). 1972' den bu yana birçok randomize çalışma prenatal glukokortikoid tedavisinin RDS sıklığını ve şiddetini azalttığını göstermiştir. (59,60)

Bazı araştırmalara göre prenatal glukokortikoid verilmesi intraventriküler kanama, PDA, NEK ve kronik akciğer hastalığı insidansını azaltmıştır (61,62). Glukokortikoid tedavisi ayrıca ekzojen surfaktan, oksijen ve mekanik ventilasyon gereksinimi de azaltmaktadır (63). Glukokortikoidlerin bu etkileri sadece surfaktan sentezi üzerinden değil ayrıca akciğerlerin yapısal olgunlaşması (64), akciğer zedelenmesine karşı direncin artırılması (65) ve dolaşım sisteminin adaptasyonunun artırılması ile de gerçekleştirilebilir. Prenatal glukokortikoid tedavisi sadece akciğer matürasyonu değil kalp dolaşım sistemi matürasyonu ve doğum sonrası adaptasyonunun düzelmesine de destek olduğu prematüre koyunlar üzerinde gösterilmiştir (66). Ek olarak prenatal glukokortikoidler sinir sistemi hücrelerinin farklılaşmasını hızlandırır ve muhtemelen germinal matriks damarlarının olgunlaşmasına katkıda bulunurlar (67). Bu fonksiyonel değişiklikler glukokortikoidler tarafından artırılır ve intraventriküler kanama riskinde azalmaya yol açabilir. RDS nin önlenmesi için uygulanan prenatal glukokortikoid tedavisi birçok merkezde kabul görmüş ve halen sıkça kullanılan bir uygulama olmuştur.

2.4 Nitrik Oksit (NO)

Vasküler tonus nöral ve humoral birçok faktör tarafından düzenlenir. Bu faktörler arasında yer alan EDRF (endotel kaynaklı gevşeme faktörü) nin varlığı ilk defa

1980 yılında Furchgoot ve Zawadzki (68) tarafından tavşan aortasında asetilkoline bağlı gevşeme ile gösterilmiştir. Daha sonra Palmer ve arkadaşları (69) EDRF' nin kimyasal yapısının NO olduğunu ortaya koymuşlardır. Günümüzde NO' in vasküler endotelden sürekli olarak salıverildiği ve böylece vasküler tonusun regülasyonunda önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. NO endotel hücrelerinden başka birçok hücre tarafından da sentezlenmekte olup vasküler tonusun düzenlenmesi yanında bir mediatör olarak nöronal iletim, immün cevap ve hücrel adezyonun düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik olayda da önemli fonksiyonlara sahiptir. Oldukça aktif bir molekül olan NO' in vasküler endotel dışında farklı yapıdaki hücreler tarafından da sentezlenebilmesi, bu maddenin endojen kontrol mekanizmalarında önemli rolü olduğunu ortaya koymaktadır (70).

2.4.1. NO Oluşumu

Nitrik oksit düz kas, endotel hücresi ve diğer bir çok memeli hücresinde L-Arg amino asidinin nitrojeninin, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile oksitlenmesi sonucu sentez edilir. Sentez için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), kalmodulin, oksijen ve dört kofaktöre (hem, flavin mononükleotid, flavin adenin dinükleotid ve tetrahidrobiyopterin) ihtiyaç duyulmaktadır (70).

Nitrik oksit sentezine aracı olan NOS enziminin nöronal, endotelyal ve immünolojik (indüklenebilir) olmak üzere üç farklı izoformu vardır. Bunlardan nöronal ve endotelyal izoformlar yapısal NOS (cNOS) şeklinde isimlendirilmiştir. İzofomlar elde edildiği hücre isimlerine göre adlandırılırlar. Nöronal NOS (nNOS) ve endotelyal NOS (eNOS) kalsiyum bağımlıdır. İmmunolojik NOS ayrıca indüklenebilir NOS olarak da bilinir, immünolojik olaylardan ve nöronal zedelenmeden sonra üretilir (70).

2.4.2. Yapısal NO-sentaz (cNOS)

Hücre içinde sürekli bir şekil içinde var olan ve vasküler tonus ile nöronal aşırım için aralıklarla ve küçük miktarlarda NO üreten sistemdir. Nöronal yapılar, endotel hücreleri, endokard, miyokard ve trombositlerde bulunur. Kofaktör olarak Ca^{+2} kalmoduline bağımlı olup intraselüler Ca^{+2} düzeyini yükselten agonistlerle aktive edilir. Ca^{+2} 'un yükselmesi kalmodulinin NOS'a bağlanmasını uyarır ve süratli bir şekilde pikomolar düzeyde NO sentezlenir. Ca^{+2} 'la şelasyon yapan maddeler ve kalmodulin inhibitörleri ile bu şekilde oluşan NO sentezi önlenir (71).

2.4.3. İndüklenebilen NO-Sentaz (iNOS)

Endotoksin ve sitokinler (interlökin-1, tümör nekroze edici faktör, interferon gama) tarafından indüklenen ve indüklendiğinde daha uzun sürede ve büyük miktarlarda NO üreten, Ca^{+2} 'dan bağımsız bir sistemdir. İndüklenebilir NOS, makrofajlarda, epitel hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde bulunur (71).

L-Arg'den NO oluşumu, N-monometil-L-Arg (L-NMMA), N-nitro-L-Arg metil ester (L-NAME), N-nitro-L-Arg (L-NA), N-amino-L-Arg (L-NAA) ve N-iminoetil-L-ornitin (L-NIO) gibi ajanlar tarafından kompetitif olarak inhibe edilebilir (72).

Sentezlenen NO hücre membranları arasına difüze olur. Depolanma mekanizması henüz kesin olarak bilinmemektedir. Nitrik oksit dokularda ve oksijenlenmiş fizyolojik sıvılarda çabuk bir şekilde yıkılır. Nitrik oksitin eliminasyon yarılanma süresi dokuya ve türe göre değişmek üzere 10-60 saniye arasında bulunmuştur. Süperoksit dismutaz enziminin ortama katılması NO'nin inaktivasyonunu hızlandıran serbest oksijen radikallerini nötralize eder. Nitrik oksit yıkımı yavaşlar ve etkisi potansiyalize edilir (73).

2.4.4. Nitrik Oksit'in Fizyolojik Etkileri

Nitrik oksit lipofilik bir maddedir. Bu nedenle vasküler endotelden düz kas hücrelerine kolaylıkla geçerek guanilat siklaz enziminin hem grubuna bağlanır. Bu enzimi aktif hale getirip düz kas hücrelerinde siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyini yükseltir. Siklik guanozin monofosfat miktarının artması vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye, trombosit adezyon ve agregasyonunun inhibisyonuna neden olur (74).

İnsanlarda NO bazal durumda damar endotelinden sürekli olarak salıverilir ve oluşturduğu vazodilatör etki ile damar tonusunun düzenlenmesine katkıda bulunur. NO sentezinin L-NMMA verilerek inhibe edilmesinin sıçan, kobay ve tavşanlarda kan basıncını yükselttiği bulunmuştur. Bu olay L-Arg verilerek tersine çevrilebilir (74).

Venlerin arterlere göre genellikle daha düşük miktarlarda NO salıverdikleri bulunmuştur. Nitekim, koroner bypass ameliyatlarında yerleştirilen arteria Mammaria interna greftlerinin, safen venden yapılanlara göre daha uzun bir süre tıkanmadan kalması, arter endotelinin NO sentez ve salıverme kapasitesinin venlere göre daha yüksek olması ile açıklanmıştır (75).

Nitrik oksit bazal vasküler tonusun sağlanmasına ilaveten, trombosit aktivasyonunun önlenmesinde, endotele lökosit adezyonunun sınırlandırılmasında ve miyokard kontraktilitesinin regülasyonunda önemli role sahiptir. Bu nedenle NO yetersizliğinde deney hayvanlarında hipertansiyon, ateroskleroz ve diyabet gibi hastalıkların daha hızlı geliştirildiği gösterilmiştir (76). Nitrik oksitin fibroblastlarda ve kültürü yapılan düz kas hücrelerinde mitozu inhibe ettiği bulunmuştur. Bu antiproliferatif etki NO'nun ateroskleroz gelişimini önleyici etkisine katkıda bulunabilir.

Beyinde belirli nöronlarda NO sentezlenmesi, bu maddeden nörotransmitter işlevi yapabileceğini de düşündürmektedir (77). Deney hayvanlarında elde edilen sonuçlar NO sentezinin engellenmesi ile öğrenme yeteneğinin azaldığını ortaya koymaktadır. Nitrik oksitin görme, koklama, ağrı ve açlık duygusunu algılamada da rolü olabileceği bildirilmiştir (72). Otonom sinir sistemi ile ilişkili bir periferik "nitrejik" sistemin varlığını ortaya koyan kanıtlar da elde edilmiştir.

Nitrik oksit beynin bazı hücreleri tarafından L-Arg-sitrülin çevrimi ile NOS enzimi tarafından üretilir. Nitrik oksit üretimi glutamat ve bağımlı uyarıcı yüzey reseptörleri aracılığı ile özellikle kalsiyumun hücre içine alınımı ve kalmoduline bağlanmasını sağlar. Nitrik oksit birçok metabolik olaya katılır. Bunlardan biri de bir ikincil mesajcı olan guanilat siklazın aktivasyonu olup siklik guanozin monofosfat oluşturmaktadır. Nitrik oksit miktarında artış olması Ca ve eksitator aminoasitler için de geçerli olduğu gibi bir nörotoksik ajan gibi davranabilir. Erişkin hayvanlarda yapılan çalışmalarda fokal serebral iskemide NO eşlik eder ve NOS aktivitesinin inhibe edilmesi hücre kaybının şiddetini azaltır. Nöronal NOS ve iNOS'un serebral iskemiden kaçınmak için farmakolojik inhibisyonu koruyucudur, ancak eNOS'un inhibisyonu beyin zedelenmesini artırır.

Farelerde genetik olarak nNOS ve iNOS'un yokluğu vasküler inmeye karşı fareleri daha dirençli kılarken, eNOS'u olmayan farelerin vasküler tıkanıklık sonrası enfarkt hacimlerinde artış gösterilmiştir (2). Beyinde NO iskemik endotel nöronlar, reaktif glial ve infiltrat olmuş enflamatuar hücreler tarafından salınır. Nitrik oksit hızlıca süperoksit ile birleşir ve peroksinitroz asit oluşturur. Bu asit iki güçlü oksidan maddeyi meydana getirir; hidroksil radikali ve nitrojen radikali. Nitrik oksit fazlalığı DNA sarmallarının kırılmasına ve nöronal apoptozisin indüklenmesine yol açar. Nitrik oksit toksisitesi daha çok NMDA (N-Metil-D-Aspartat) reseptörü üzerinden olur.

NMDA nörotoksitesinin de %80'i NO ile ilgilidir. Nitrik oksit fonksiyonlarının nörotoksin olarak mekanizma göstermesi çok çeşitli olabilir. Serbest radikal olmasından dolayı diğer serbest radikallerle birleşebilir. Daha aktif olan hidroksil radikali gibi radikalleri oluşturabilir. Nitrik oksit ayrıca glikolitik bir enzim olan gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz enzimini inaktive eder. Nitrik oksit krebs siklusu enzimlerinden akonitazı inhibe eder. Bu nedenle oksidatif metabolizmaya da zarar verir. Nitrik oksit sentaz içeren nöronların bir sıra dışı özelliği de hipoksi ve iskeminin yol açtığı hasara dirençli olmalıdır. Bu koruyucu mekanizma hücre glutamat bağımlı reseptörlerle ilgili olabilir (2). Nitrik oksit bilinen diğer klasik nörotransmitterlerden farklıdır, gerektiği yerde, zamanda ve miktarlarda sentezlenerek üretildiği hücrelerden dışarıya difüze olur, özel reseptörleri yoktur (78).

Sonuç olarak, NO'nin güçlü bir vazodilatör olduğunu ve bu temel etkisine ilave olarak nörotransmitter, immünomodülatör ve yabancı etkenlere karşı sitotoksik etki gösterdiğini söylemek mümkündür.

Gastrointestinal sisteminde nöronal yapılarda ve pleksuslarda NOS enziminin varlığının gösterilmesi NO'nin bu sistemde gevşetici tonusa katkıda bulunduğunu ortaya koymaktadır. Nitekim, pılör stenozunda ve akalazyaya olgularında adı geçen enzimin kaybolduğu ve dolayısıyla NO sentez ve salıverilmesinin gerçekleşmediği saptanmıştır (79). Ayrıca penil ereksiyonun sağlanmasında NO'nin rolünü vazoaktif intestinal peptit ve P maddesine göre daha önemli olduğu ortaya konulmuştur (68). İnsanda uterus arterlerinde internal kalınlığın oluşumunda NO üretim ve salıverilmesinin rol oynadığı gösterilmiştir. Bu etkiye ilaveten NO'nin uterusu kasılması ve gevşemede de rolü olduğu öne sürülmüştür (80).

Nitrik oksit, yukarıda belirtilen organ sistemleriyle ilgili önemli etkilerine ilaveten, immün sistemde de bazı fonksiyonların kontrolüne katkıda bulunur. Nitekim makrofajların kanser hücrelerini öldürme yeteneklerini de kapsayan sitotoksik etkileri için NO'nin gerekli olduğu gösterilmiştir. Akut ve kronik iltihap olaylarında da NO'nin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Nitekim, NO'nin iltihap dokusunda makrofajlar tarafından fazla miktarlarda sentezlenip salıverildiği bulunmuş ve böylece makrofajların enfeksiyon etkeni mikroorganizma ve parazitler üzerindeki öldürücü etkilerine aracılık ettiği bildirilmiştir (81).

Nitrik oksit oldukça selektif ve etkin bir şekilde pulmoner vazodilatasyon sağlar. Bu nedenle, pulmoner hipertansiyonlu yenidoğanlarda, konjenital kalp hastalıklı çocuklarda, pulmoner hipertansiyonlu yetişkinlerde, konjenital alveolar bozukluklar ve bronkopulmoner displazide inhalasyon yoluyla kullanımı gündeme gelmiştir (82).

2.4.5. Nitrik Oksit ve Akciğerler

Nitrojen oksitler önceleri, havada bulunan toksik bileşikler olarak kabul edilirdi. Yeni çalışmalar bu bileşiklerin endojen olarak insan akciğerlerinde de oluştuklarını göstermiştir. Endojen NO'nin akciğerde bronkodilatör, vazodilatör ve immün sistem üzerine etkileri olduğu gösterilmiştir (83). Nitrik oksit düşük konsantrasyonlarda yararlı etki gösterirken, yüksek konsantrasyonlarda doku zedelenmesine ve enflamasyonda artışa yol açar. Nitrik oksit; nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenir. NOS akciğerlerde de üç izoformu tanımlanmış.

- 1-) Nöronal nNOS; nöron hücrelerinde
- 2-) Endotelyal eNOS pulmoner damarlarda endotelyal hücrelerde
- 3-) İndüklenebilir form iNOS alveoler makrofajlarda üretilir ve ekspresyonu inflamatuvar stokinler tarafından düzenlenir.

Yapısal NOS izoformları (nNOS ve eNOS) Ca^{+2} ve kalmodulin iyonları ile nitrik oksit salınımı düzenlenir. Nitrik oksit düşük düzeylerde kısa aralıklı piklerle salgılanır. Bu sınırlı NO üretimine rağmen nitrik oksitin varolan düzeyleri sistemik vasküler tonusun düzenlenmesinde, lökosit adezyonu ve platelet agregasyonunun inhibe edilmesinde yeterlidir. Endotelyal nitrik oksit sentaz ekspresyonu ve buna bağlı NO düzeyleri azalırsa veya NO reaktif oksijen radikalleri tarafından tüketilirse endotelyal disfonksiyon oluşur bu da pulmoner damarları etkileyen bir dizi patolojik olaylar zincirine yol açarak pulmoner hipertansiyon oluşumunda rol oynar. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz inflamatuvar stimulasyonla indüklenir. Kalsiyum ve kalmodulin iyonlarından bağımsızdır. Agresif bir stimulus olduğundan çok yüksek miktarlarda nitrik oksit salınır. Son çalışmalar ortaya çıkarmıştır ki; bu tür bir inflamasyondaki salınımı ile akciğerlerdeki ARDS gibi hastalıkları ağırlaştırmaktadır (82).

Nitrik oksitin pulmoner dolaşımındaki rolünü değerlendirmek için NOS izoformları çeşitli maddelerle inhibe edilmektedir. Nitrik oksit sentaz izoformları L-arginin analogları tarafından farmakolojik olarak inhibe edilebilir (L-NMMA gibi). Bu

analoglar NOS 'un yarışmalı inhibitörleridir. Çeşitli çalışmalar göstermiştir ki; NO inhibitörleri sistemik arteryel hipertansiyona yol açarken pulmoner arter basınçlarında daha az bir etkiye yol açarlar. Nitrik oksit inhibitörleri düşük dozlarda pulmoner hipertansiyon oluşumunda majör bir etki oluşturmazken yüksek dozlarda pulmoner hipertansiyon oluşumunda rolü vardır. Endotelyal nitrik oksit sentaz geni devre dışı bırakılmış hayvanlarda normal şartlarda pulmoner arter basınçlarında çok az miktarlarda yükseklik saptanırken bu hayvanlar hipoksiye maruz kaldıklarında pulmoner hipertansiyon önemli derecede artmaktadır. Bu da NO' in sadece bazal vasküler tonusun düzenlenmesinde değil; hipoksiye karşı vazokonstriktif cevabın düzenlenmesinde rolü olduğunu göstermektedir. Nitrik oksit üretimi pulmoner hipertansiyona karşı koruyucu bir etki oluşturmaktadır. Son çalışmalarda iNOS tarafından yüksek miktarlarda NO üretimi akut akciğer hasarını arttırdığı gösterilmiştir. Pulmoner vasküler endoteliumda oluşan inflamasyon, hipoksemi, nonkardiyojenik pulmoner ödem pulmoner hipertansiyonla sonuçlanmaktadır. İndüklenebilir nitrik oksit sentaz tarafından inflamasyonda çok yüksek oranlarda sentezlenen NO' den oluşan peroksinitrit anyonu oldukça yüksek reaktivite gösteren bir moleküldür. Tirozin rezidüleriyle reaksiyona girerek akciğer epitel hücrelerinde şiddetli fonksiyonel hasara yol açmaktadır. İnflamasyonda indüklenen iNOS tarafından oluşan nitrik oksit böylece akut akciğer hasarını daha da kötüleştirmektedir. Sonuç olarak iNOS inhibitörlerinin inflamasyonla giden akciğer hastalıkları ve pulmoner hipertansiyonda kullanılabileceği düşünülmektedir (84). Pulmoner hipertansiyonun mekanizması henüz yeterince açıklanamamıştır. Vazokonstriktif maddeler, pulmoner vasküler duvar hasarı, tromboz, endotelyal disfonksiyon, selüler proliferatif sitimulus patogeneizde önemli rol oynamıştır. Endotelyal disfonksiyon; vazodilatatör maddelerin (özellikle NO ve Prostosiklin) azalması, vazokonstriktif maddelerin (tromboksan A2, endotelin) artışı ile ilişkilendirilmiş.

Nitrik oksit bu özellikleri ile pulmoner damar hastalıkları, yenidoğanın pulmoner damar hastalıkları, yenidoğanın pulmoner hipertansiyonu (PPHN), RDS ve havayolu enflamasyonu ile giden hastalıklarda yeni tedavi seçenekleri arasına girmiştir. Son zamanlarda bu gazın akciğerlerde pek çok fizyolojik fonksiyonlara ve fizyopatolojik mekanizmalara katıldığı anlaşılmıştır. Nitrik oksit akciğerlerde oluşur ve ekspire edilen havada saptanabilir. Kaynağı kesin bilinmemekle birlikte alveolar makrofaj ya da hava

yolu epiteli kökenli olabileceği düşünülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda NO'nın vazodilatör, bronkodilatör, nonadrenerjik-nonkolinerjik transmitter ve enflamatuvar aracı olarak rol oynadığı yönünde bilgiler elde edilmiştir (72). Bu özellikleri nedeni ile NO'nın akciğer fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve bazı akciğer hastalıklarının fizyopatolojisinde önemli rolü olduğu sanılmaktadır. Nitrik oksit hücre içinde guanilat siklazı aktive eder ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) artar. Bu NO'nın pek çok nörojenik ve kardiyovasküler etkilerinin nedenidir. Nitrik oksit 'in cGMP'den bağımsız etkisi olduğuna ilişkin yayınlarda vardır (85), ancak bu konu henüz yeterince açık değildir.

Demir ve demir içeren bileşiklere güçlü bağlanma afinitesi gösteren NO, lipofilik yapısı sayesinde salgılandığı endotelden ya vasküler düz kas tabakasına geçer, ya da dolaşıma karışır. Difüzyon yoluyla vasküler düz kas hücrelerine geçen NO bu hücrelerdeki guanilat siklaz enzimin demiri ile reaksiyona girip siklik guanozin monofosfatı oluşturur. Siklik guanozin monofosfat (cGMP) düz kas hücresinin relaksasyonunu, dolayısıyla da damarın dilatasyonunu sağlar ki bunun sonucunda pulmoner yatağın o bölümünde basınç düşer ve o bölgeye daha fazla kan gelir (pulmoner vazodilatasyon). Öte yandan dolaşıma karışan NO demir içeren hemoglobin molekülüne bağlanıp methemoglobini oluşturur (86,87). Oluşan hemoglobin hızla methemoglobin redüktaz enzimi ile hemoglobin, nitrat ve nitrite dönüşür ki NO'nın son ürünleri olan bu moleküller demire afiniteleri olmadığından aktif maddeler değildirler, yani sistemik dolaşımda vazodilatasyona yol açmazlar. Bu şekilde sistemik hipotansiyon oluşturmaksızın yapılan vazodilatasyona selektif pulmoner vazodilatasyon diyebiliriz. Pulmoner vazodilatasyon vücutta hava yollarında endojen olarak salgılanan NO sayesinde oluşan fizyolojik bir olaydır ve patolojik pulmoner hipertansiyon durumunda inhale nitrik oksit tedavisinin temelini oluşturmaktadır (88). Pulmoner hipertansiyonda diğer bir alternatif tedavi yöntemi; inhale NO kullanımı pulmoner dolaşımda akut ve seçici bir vazodilatasyon oluşturarak hemodinamiği ve pulmoner fonksiyonları iyileştirmektedir. İn hale NO pulmoner vasküler düz kas hücrelerinde gevşemeye, pulmoner vasküler direncin ve pulmoner arteriyel basıncın düşürülmesinde rol oynarken hemodinamiği ve pulmoner fonksiyonları düzeltmektedir. İn hale nitrik oksit kullanımının beş yıllık sağ kalım oranlarında etkili olduğu gösterilmiştir. (88)

Nitrik oksitin endojen olarak salınmasının pulmoner vazokonstriksiyonu önleyici bir mekanizma olduğu anlaşılmaktadır (89). Nitrik oksit akciğer damarlarında seçici olarak vazodilatasyon yapmaktadır. Çünkü kana geçince hızla hemoglobinle birleşen NO inaktif olur ve sistemik vazodilatasyon oluşturmaz. Nitrik oksit salınımı hipoksiyi azaltmaktadır (90). Nitrik oksitin vazodilatatör etkisinin inhalasyonla oluşturulabileceği düşünülmüş ve bu konuda hem insan hem de hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda akciğerlerde vazodilatör etki izlenmiştir (91). Pulmoner hipertansiyonlu yenidoğan bebeklerde oksijen değişiminde ve parsiyel oksijen basıncından önemli düzeltilmeler sağlanmıştır (92).

Sonuç olarak NO endojen olarak oluşan, akciğerlerde seçici vazodilatör ve bronkodilatör etkisi olan, enflamasyona ve doku zedelenmesine de yol açabilen bir bileşiktir. Bu bileşiğin inhalasyon yolu ile kullanımı son on yılda yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde başarı ile gerçekleştirilmiş, klinik etkinliği kanıtlanmış ve bu konuda çok sayıda bilimsel araştırma yapılmasına neden olmuştur.

2.5 eNOS Gen Polimorfizmi

Endotelial hücrelerde NO; 7q35-36² kromozomda yerleşmiş eNOS (NOS3) tarafından sentezlenir (93). Gende birkaç çeşit allel çeşitliliği tanımlanmış. Bunlardan birtanesi 298. aminoasit pozisyonunda yer alan glutamat'ın aspartata yer değiştirmesi ile sonuçlanan Glu298Asp (G894T) polimorfizmidir. Bu varyant insanda miyokardiyal infarktüs (5) ve hipertansiyon (94) gibi kardiyovasküler hastalıklar NO azalmış endotelial cevapla ilişkilendirilmiş (5).

Hayvan deneylerinde endojen NO postnatal pulmoner adaptasyon, pulmoner vasküler tonusun düzenlenmesi ve pulmoner ödem gelişiminde major bir rol oynar (6,7). İnsanda endojen NO üretimi doğumdan sonra pulmoner vasküler direncin azalmasında hayati değer taşıyor (95). Klinik çalışmalarda inhale NO in preterm infantlarda solunum sistemine yararlı etkileri bildirilmiş (88). Nitrik oksitin; ölüm, kronik akciğer hastalığı, oksijen terapisine gereksinimi belirgin olarak azaltıyor. Hem insan hem hayvanlarda endojen NO pulmoner yapının ve fonksiyonların maturasyonunda kritik bir öneme sahiptir. Nitrik oksit geniş yelpazede nörotransmisyon, immün hücre sitotoksitesi, vasküler düz kas gevşemesi, anjiogenezis, sürfaktan maturasyonu ve sekresyonunu içerecek şekilde fizyolojik fonksiyonlara

aracılık eder. Hayvan çalışmalarında NO inhalasyonunun inflamasyonu azaltarak, surfaktan fonksiyonlarını arttırarak ve akciğer gelişimini destekleyerek akciğer hasarını azalttığı gösterilmiş. Birkaç klinik çalışmada inhale NO' in; bronkopulmoner displazili veya ciddi akciğer hasarına sahip pretem infantlarda doku oksijenasyonunu arttırdığı gösterilmiş (82).

Endotelial nitrik oksit sentaz genindeki G894T polimorfiziminin artmış kardiovasküler hastalık insidansı arasındaki ilişkiyi gösteren literatürde bazı çalışmalar, birkaç metaanaliz vardır (96,97). Çalışmalarda Glu298Asp polimorfizimin fonksiyonel önemi NO sentezinin azalmasına bağlı olarak sağlıklı gönüllülerde; endotelial bağımlı vazodilatasyonun olmaması ile ilişkilendirilmiştir. Bazı çalışmalarda Glu298Asp polimorfizmi taşıyan sağlıklı hamilelerde NO bağımlı dilatasyonun azaldığı gösterilmiş (98). Bu sonuçlar homozigot Glu298Asp polimorfizmi taşıyan bireylerde düşük NO seviyelerinin endotelial disfonksiyona yatkınlık oluşturduğu gösterilmiş.

3. BİREYLER VE YÖNTEM

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Yenidoğan Yoğunbakım Ünitesi'nde ve ilimizde bulunan Çocuk Hastanesi'nde Ekim 2009-Şubat 2010 yılları arasında yatarak izlenen gestasyon haftası 37 haftanın altındaki prematürelere yapılmıştır. Çalışmaya hasta grubu olarak bu süre içerisinde servislere yatırılan gebelik haftası 37 haftanın altındaki RDS olan 152 prematüre bebek alınmıştır. Hem hasta hem de kontrol grubunda genetik hastalık şüphesi olan bebekler çalışma gruplarına alınmadı. Kontrol grubu olarak 37 haftanın altındaki RDS olmayan 125 prematüre bebek alınmıştır. Bu hastaların eNOS gen polimorfizm incelemeleri, 1 ml EDTA'lı tüpe kan alınıp Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda çalışılmıştır. Çalışma için yerel (Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi) etik kurulun oluru alınmıştır (08.10.2009 Karar no:6).

3.1. Tanımlar

Hasta Grubu: Gebelik haftası 37 haftanın altındaki Respiratuvar Distres Sendromu tanısı alan, muayenesinde dismorfik bulgular olmayıp genetik hastalık şüphesi taşımayan bebekler hasta grubuna dahil edilmiştir.

Kontrol Grubu: Gebelik haftası 37 haftanın altındaki Solunum sıkıntısı geliştirmeyen ve diğer yönlerden de sağlıklı olan, genetik hastalık şüphesi taşımayan 125 prematüre bebek kontrol grubunu oluşturmuştur.

Gebelik haftası (GH): Gebelik haftası annenin son adet tarihine, ilk trimestirde yapılan ultrasonografiye (USG) ve/veya yeni Ballard skorlaması'na göre yapılmıştır (99). Anne son adet tarihini kesin olarak biliyorsa Naegle formülü kullanılarak GH hesaplanmış ve yeni Ballard skorlaması ile teyit edilmiştir (1). Naegle Formülü: Son adet tarihi + 7 gün – 3 ay (99). Anne son adet tarihini bilmiyorsa ilk trimestir USG sonucu ile ve/veya yeni Ballard skorlaması yapılarak gestasyon haftası belirlenmiştir (Ek 2).

Doğum ağırlığı (DA): Hastaların doğum ağırlıkları doğumdan hemen sonra yenidoğan yoğunbakım ünitesine yatış öncesinde dijital tartı ile çıplak olarak tartılmıştır. Transport edilen bebekler ilk 24 saatte kabul edildi ise yenidoğan yoğunbakım ünitesine yatış tartıları, aksi halde doğdukları merkezdeki dijital tartı değerleri kabul edilmiştir.

Konjenital anomali: Kalp, akciğer, santral sinir sistemi, ürogenital sistem ve gastrointestinal sistem gibi major konjenital anomalisi olan hastalar çalışma grubuna alınmamıştır.

Büyüme ve gestasyonel yaş ilişkisi: Ballard skoru kullanılarak gestasyon haftası belirlenmiştir.

Antenatal steroid: Doğumdan en az 24 saat önce anneye 12 mg betametazonun 24-34. gebelik haftaları arasında 24 saat arayla iki kez yapılmış olması antenatal steroid profilaksisi olarak kabul edilmiştir (30,100).

Apgar skorlaması: Bebeğin rengi, refleks iritabilitesi, solunumu, kalp atım hızı ve aktivitesini değerlendiren bu skorlama sisteminde her bir parametre için 0-2 puan verilmiştir (101). Hastaların 5. dakikalardaki puanları toplam 10 üzerinden kaydedilmiştir. Apgar skorları hasta dosyalarından veya epikrizlerinden alınmıştır.

Perinatal Asfiksi (PA): 5.dakika Apgar skorunun <5 olması, kord kanında pH<7.2 veya baz açığının >12 olması, hipoksik iskemik ensefalopati ve multi organ yetmezliği bulgularından en az ikisinin birlikteliği ile belirlenmiştir (102).

3.2. Hasta Gruplandırması

Bu çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde ve Gaziantep Çocuk Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi bulunan hastanelerde izlenen toplam 277 prematüre bebek alınmıştır. Bu bebeklerin 152'si RDS olan bebekler olup hasta grubunu oluşturmuştur. Respiratuvar Distres Sendromu tanısı yaşamın ilk saati içinde ortaya çıkıp en az 24 saat devam eden solunum sıkıntısı, CPAP dâhil mekanik ventilasyon desteği gerekmesi, tipik akciğer radyografik bulguları ve arteriyel kan gazları ile konulmuştur. Solunum sıkıntısı geliştirmeyen ve diğer yönlerden de sağlıklı olan 125 prematüre bebek kontrol grubunu oluşturmuştur.

Hem çalışma hem de kontrol grubunda genetik bir hastalık şüphesi olan bebekler çalışma grubuna dahil edilmemiştir.

Hem hasta hem de kontrol grubunun gebelik haftaları; annelerinin son adet tarihine ve postnatal 'Ballard' skorlama sistemine göre değerlendirilerek belirlenmiştir (99). Her iki grubun anne yaşları, Apgar skorları, doğum şekilleri (sezaryen/vajinal), doğum sırasında resüsitasyon gerekip gerekmediği, doğum ağırlıkları ve cinsiyetleri, anneye prenatal steroid verilmesi kaydedilmiştir.

Hasta grubunun hastanede yatış, mekanik ventilatörde kalma ve ekzojen surfaktan kullanma sayıları kaydedilmiştir.

3.3. Kan Örneklerinin Alınması ve Saklanması

Hasta ve kontrol grubundaki bebeklerden ise rutin laboratuvar incelemeleri sırasında intravenöz yoldan kan alınırken 1 ml EDTA'lı tüpe de çalışmamız için kan alındı ve hemen -20 °C ısıda DNA izolasyonu yapılabildiği kadar saklandı. Kontrol grubunun herhangi bir zamanda ancak bebeklere kan transfüzyonu yapılacaksa transfüzyon öncesi alındı.

3.4. Örneklerin incelenmesi

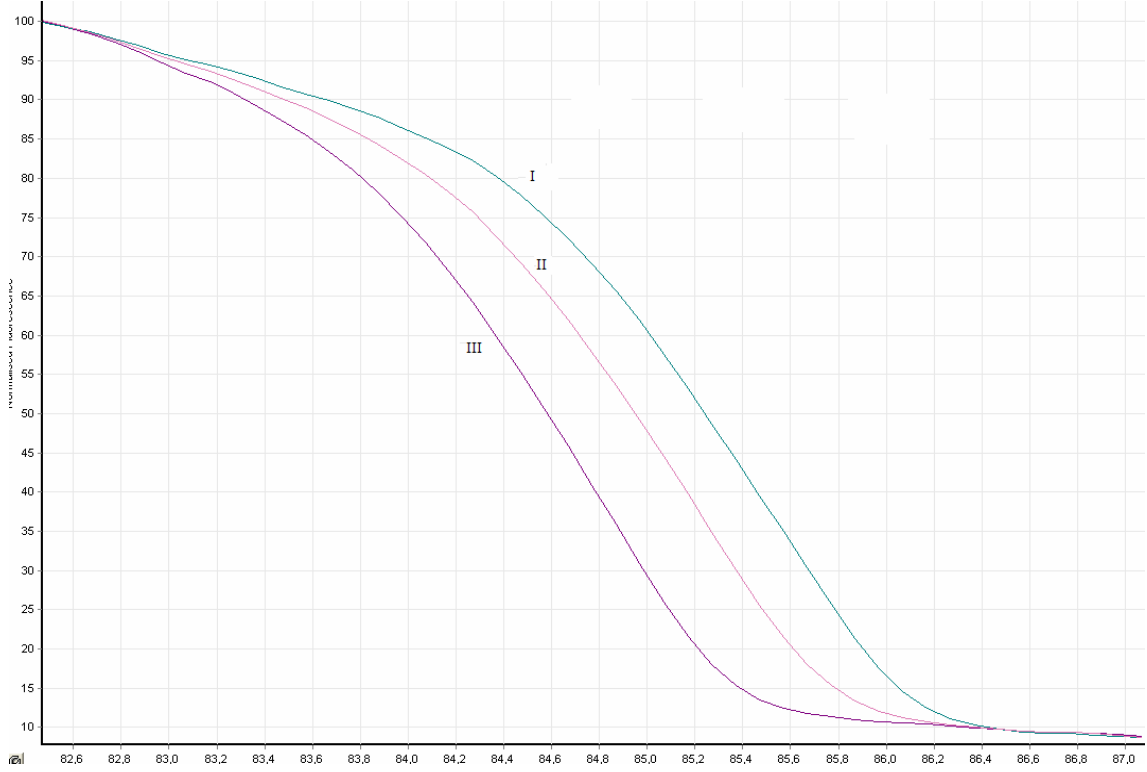
3.4.1. DNA izolasyonu

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda tam kan örneklerinden DNA izolasyonu Qiamp DNA mini kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak yapıldı. Bu yöntemde kan örneği santrifüj tüplerine koyulup üzerine Blood Lysis Buffer (Buffer BB) eklenir, vortekslenir. Üzerine proteinaz K eklenir ve inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası tüplerin üzerine ethanol eklenir. Karışım filtreli tüplere transfer edilir ve santrifüj edilir. Filtreli tüplerin üzerine Wash buffer 1 ve Wash buffer 2 eklenerek yıkanır ve santrifüj edilir. Elution buffer eklenir ve DNA eppendorf tüpe dilue edilir. İzole DNA sonraki işlemlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanır.

3.4.2. Real-PCR ile Polimorfizmin Tespiti

RT -PCR çalışmamız Corbett Rotor-Gene real time PCR cihazında HRM ile yapılmıştır. Burada DNA'lar izole edildikten sonra nanodrop spektrofotometre ile ölçülerek 10 ng` a dilue edilir. Reaksiyon miksi hazırlanır ( 2X HRM master mix: 12,5 µl+ Primer mix (rs:1799983):1.75 µl + RNase Free Water: 5,75 µl ). Negatif kontrol ve her hasta için hazırlanan 20 µl reaksiyon miksi 0.1 `lik PCR tüplerine dağıtılır. Miks

üzerine 5 µl distile su ve hasta DNA' ları eklenir. 95 °C'de 5 dakika 1 döngü, 95 °C'de 10 saniye (denatürasyon), 55 °C'de 30 saniye (bağlanma) ve 72 °C'de 10 saniye (uzatma) 40 döngü yapılır. 65 °C- 95 °C 2 saniye HRM yapıldı ve floresan PCR yöntemi kullanılarak erime eğrisi analizi yapılmaktadır (Şekil 2)



Şekil 2. Real-Tim PCR ile HRM yapılan Hastaların analiz görüntüsü. I. Heterozigot (Glu/Asp) , II.Wild Tip (Glu/Glu), III.Mutant (Asp/Asp)

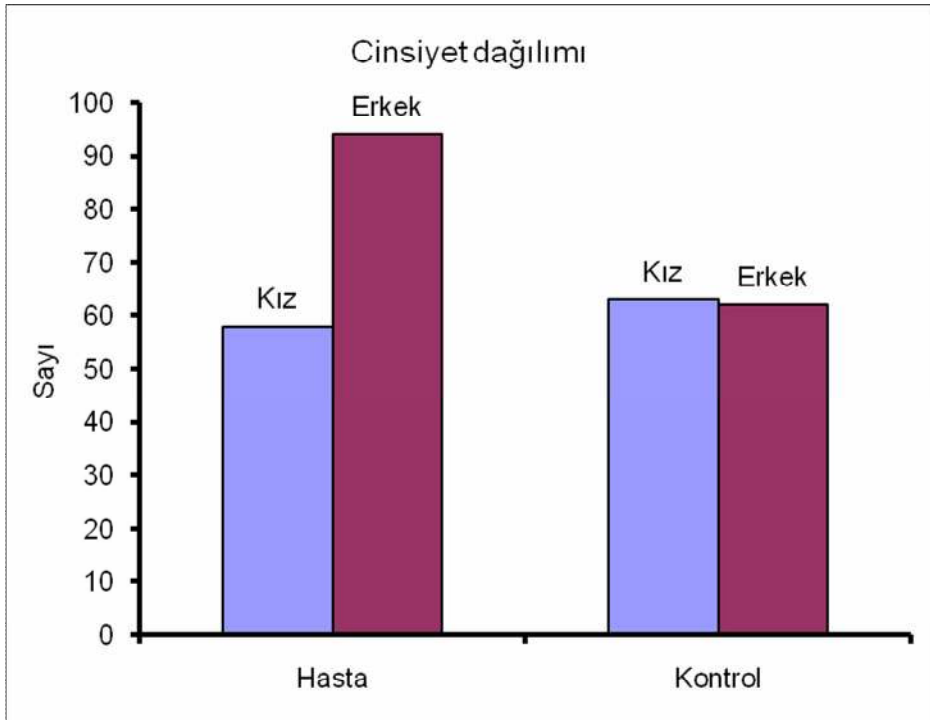
3.5.İstatistiksel Analiz

Bulgularda ortalama değerler, standart sapmalarıyla verilmiştir. Bulguların istatistiksel değerlendirmesi için “GraphPad Instat programı, versiyon 3.05, GraphPad Software Inc. San Diego, CA, USA” programı kullanılmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının genel özelliklerinin karşılaştırılmasında Student’s unpaired t testi, Mann-Whitney U testi, khi-kare (χ^2) testi kullanılmıştır. Hasta grubunda genotip ile hasta parametreleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için khi-kare ve “One-Way Anova” testleri uygulanmıştır. Hasta grubunda cinsiyete göre surfaktan ihtiyacının değerlendirilmesinde Student’s unpaired t testi uygulanmıştır. Hasta grubunda steroid alımı ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Fisher’s Exact Test kullanılmıştır. P değerinin 0.05’den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1.Sosyodemografik Özellikler

Çalışmaya RDS tanısı alan 152 prematüre bebek ve kontrol grubunu oluşturan 125 sağlıklı prematüre bebek olmak üzere toplam 277 bebek alındı. Hasta grubundaki prematüre bebeklerden (n=152), 94'ü (%61.8) erkek, 58'i (%38.2) kız cinsiyettedir. Bu grubun 136'sı (%89.4) sezaryen, 16'sı (%10.6) vajinal yolla doğmuştur. Hasta grubunda 83 bebek altta yatan esas hastalıkları (RDS) nedeni ile exitus olmuştur. Kontrol grubunun (n=125) bebeklerinin ise 62'si (%49.6) erkek, 63'ü (%50.4) kız cinsiyettedir. Kontrol grubundaki bebeklerin 111'i (%88.8) sezaryen, 14'ü (%11.2) vajinal yolla doğmuştur. Cinsiyet açısından bakıldığında hasta grubunda erkek cinsiyet kontrol grubuna göre anlamlı yüksektir (Şekil 3, Tablo 1) ($p<0.05$).



Şekil 3. Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı

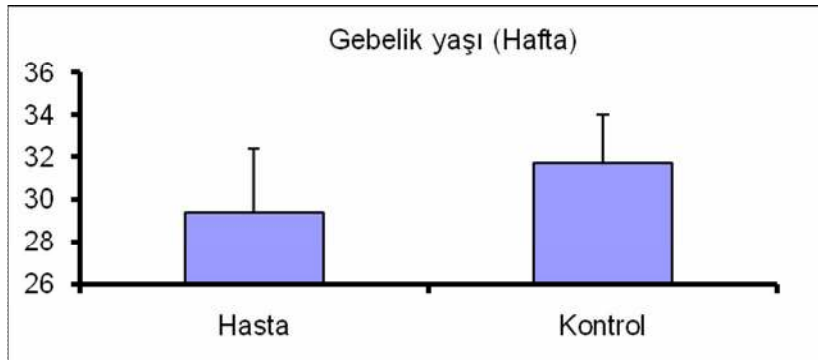
Tablo 1. Hasta ve kontrol gruplarının genel özelliklerinin karşılaştırılması

	<i>Hasta grubu</i> (n=152)	<i>Kontrol grubu</i> (n=125)	<i>p</i>
Gebelik yaşı (hafta)	29.4± 3.0	31.7± 2.3	<0.0001 ^a
Doğum ağırlığı (gram)	1313 ± 517	1694 ± 446	<0.0001 ^a
Apgar skoru (5. dakikada)	4.7 ± 1.7	8.0 ± 1.2	<0.0001 ^b
Cinsiyet (erkek/kız)	94/58	62/63	0.0409 ^c
Anne yaşı (yıl)	29.4 ± 5.9	28.9 ± 6.2	0.4595 ^a
Antenatal steroid kullanımı	16/136	22/103	0.1138 ^d
Doğum şekli (NVY/CS)	16/136	14/111	0.8575 ^d

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

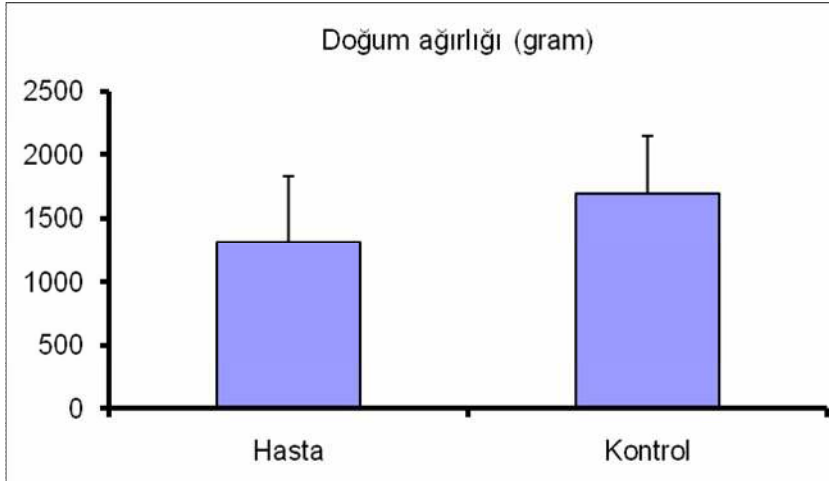
^a Student's unpaired t testi ^b Mann-Whitney U testi ^c Ki kare testi ^d Fisher'in kesin ki kare testi

Gebelik yaşı (haftası) , hasta grubunda 24-35 hafta arasında değişmekte olup ortalaması 29.4±2.98, kontrol grubunda 27-35 hafta arasında değişmekte olup ortalaması 31.7±2.3 bulunmuştur. Kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik tespit edilmiştir. (Şekil 4, Tablo 1) (p<0.05).



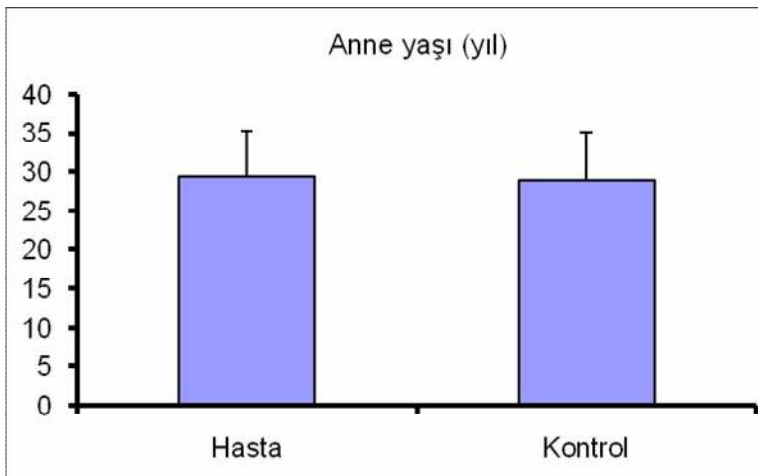
Şekil 4. Hasta ve kontrol grupları arasında gebelik yaşı (haftası) dağılımı

Doğum ağırlığı, hasta grubunda 560-2500 gram arasında değişmekte olup ortalaması 1313 ± 517 gram, kontrol grubunda 650-2700 gram arasında değişmekte olup ortalaması 1694 ± 446 gram bulunmuştur. Kontrol grubunda doğum ağırlıkları açısından hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmıştır (Şekil 5, Tablo 1) ($p < 0.05$).



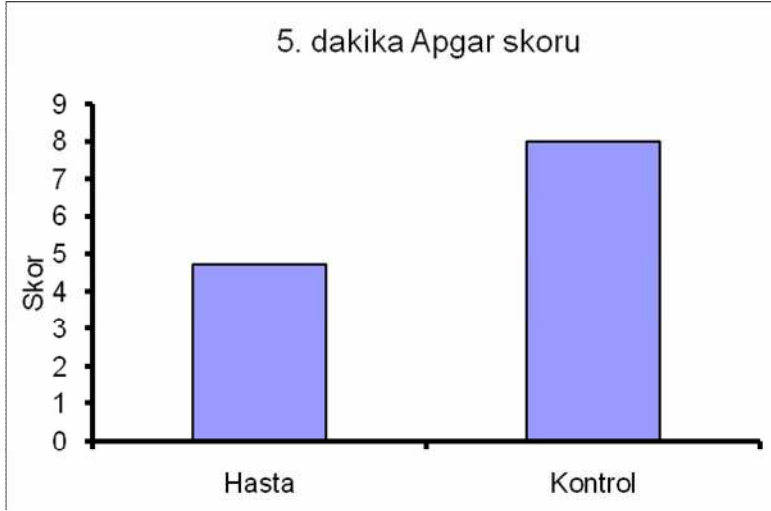
Şekil 5. Hasta ve kontrol grupları arasında doğum ağırlığı (gram) dağılımı

Anne yaşı (yıl) , hasta grubunda 19-44 yaş arasında değişmekte olup ortalaması 29.4 ± 5.9 yaş, kontrol grubunda 20-43 yaş arasında değişmekte olup ortalaması 28.9 ± 6.2 bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları arasında anne yaşı açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Şekil 6, Tablo 1) ($p > 0.05$).



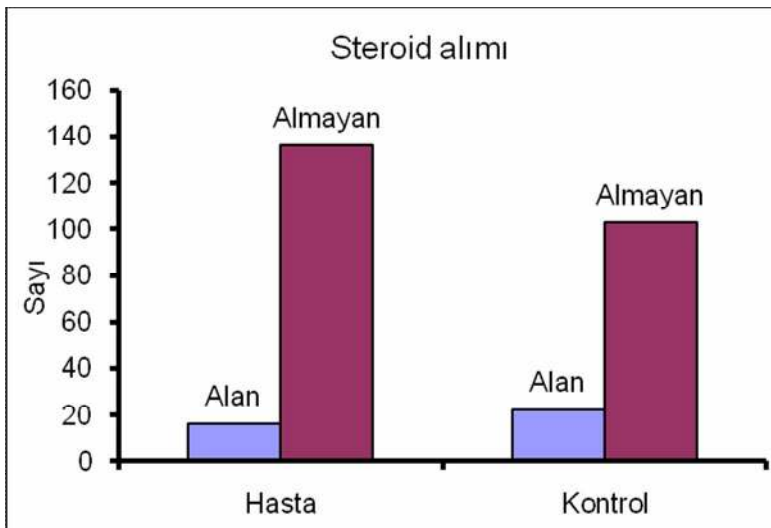
Şekil 6. Hasta ve kontrol grupları arasında anne yaşı (yıl) dağılımı

Hasta ve kontrol grupları 5. dakika Apgar skoru açısından değerlendirildiğinde; hasta grubunda 0-7 arasında değişmekte olup ortalaması 4,7, kontrol grubunda 6-10 arasında değişmekte olup ortalaması 8 bulunmuştur. Kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yükseklik tesbit edilmiştir (Şekil 7, Tablo 1) ($p<0.05$).



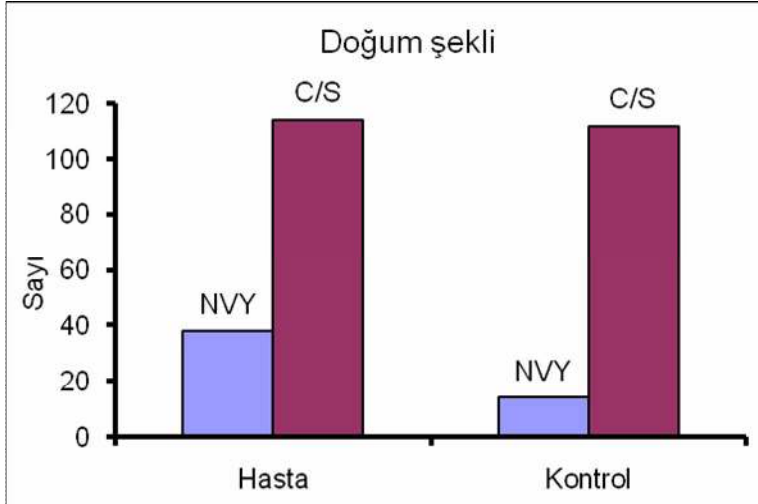
Şekil 7. Hasta ve kontrol gruplarının 5. dakika Apgar skorlarına göre karşılaştırılması

Hasta grubunda 152 hastanın 16'sı, kontrol grubunda ise 125 hastanın 16'sı antenatal steroid tedavisi almıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında antenatal steroid kullanımı açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Şekil 8, Tablo 1) ($p>0.05$).



Şekil 8. Hasta ve kontrol gruplarının antenatal steroid kullanımının karşılaştırılması

Hasta grubunda doğum şekliyle RDS gelişimi karşılaştırıldığında 152 hastanın 16'sı NVY ile 136'sı ise C/S ile doğduğu tespit edilmiştir. Doğum şekli ile RDS gelişimi arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.(Şekil 9, Tablo 1)



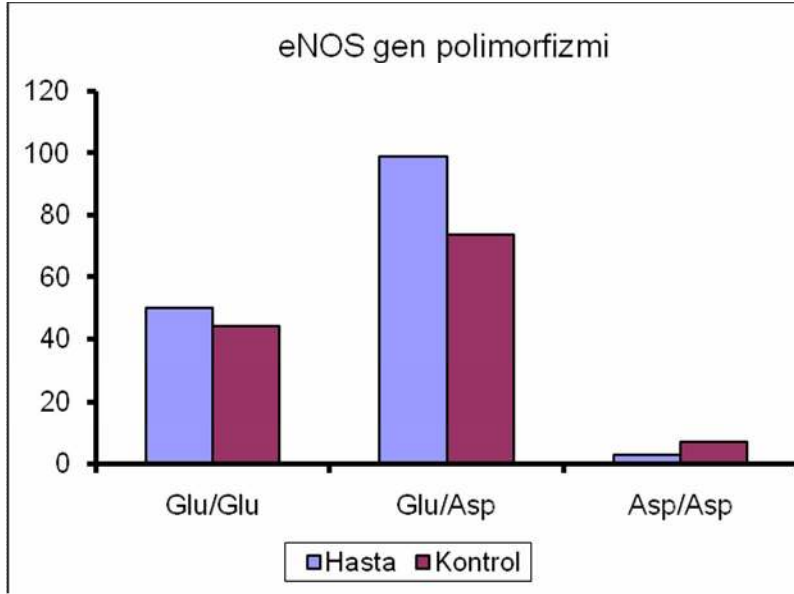
Şekil 9. Hasta ve kontrol gruplarının doğum şekli açısından karşılaştırılması

4.2.Hasta ve Kontrol Grubunda eNOS Gen Polimorfizmi

Hasta grubunun eNOS gen polimorfizmleri incelendiğinde 50 hastada (%32.9) Glu/Glu polimorfizmi, 99 hastada (%65.1) Glu/Asp polimorfizmi, 3 hastada (%2) ise Asp/Asp polimorfizmi saptanmıştır. Buna karşılık kontrol grubunda 44 bebekte (%35.2) Glu/Glu, 74 bebekte (%59.2) Glu/Asp ve 7 bebekte (%5.6) Asp/Asp polimorfizmi tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. (Tablo 2, Şekil 10) ($p>0.05$).

Tablo 2: RDS olan ve olmayan prematür bebeklerde eNOS geni Glu298Asp polimorfizm sıklığı

Genotip	Hasta grubu (n=152)	Kontrol grubu (n=125)
Glu/Glu	50 (%32.9)	44 (%35.2)
Glu/Asp	99 (%65.1)	74 (%59.2)
Asp/Asp	3 (%2.0)	7 (%5.6)
$\chi^2 = 2.992$, Serbestlik derecesi=2, $P=0.2240$		



Şekil 10: RDS olan ve olmayan prematüre bebeklerde eNOS geni polimorfizm sıklığı

Hasta grubunda eNOS gen polimorfizmi ile cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Glu/Glu polimorfizmi gösteren 50 bebekten 29'u(%58), Glu/Asp polimorfizmi gösteren 99 bebekten 62'si (%62.6), Asp/Asp polimorfizmi gösteren 3 bebekten 3'ü (%100) erkek cinsiyettedir. Hasta grubunda erkeklerde Asp/Asp polimorfizmi kızlarda ise Glu/Glu polimorfizmi daha fazla görülmüştür. İstatistiksel olarak ise hasta grubunda eNOS gen polimorfizmleri ile cinsiyetler arasında belirgin bir fark saptanmamıştır. (Tablo 3) ($p>0.05$).

Tablo 3: Hasta grubunda cinsiyet ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki

Polimorfizm	Cinsiyet		Toplam
	Erkek	Kız	
Glu/Glu	29 (%58)	21 (%42)	50 (%100)
Glu/Asp	62 (%62.6)	37 (%37.4)	99 (%100)
Asp/Asp	3 (%100)	0 (%0)	3 (%100)
Toplam	94 (%62)	58 (%38)	152 (%100)
$\chi^2=2.190$, $P=0.3346$			

Kontrol grubunda eNOS gen polimorfizmi ile cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığı incelenmiştir. Glu/Glu polimorfizmi gösteren 44 bebekten 19'u (%43.2), Glu/Asp polimorfizmi gösteren 74 bebekten 38'i (%51.3), Asp/Asp polimorfizmi gösteren 7 bebekten 5'i (%71.4) erkek cinsiyettedir. İstatistiksel olarak kontrol grubunda eNOS gen polimorfizmleri ile cinsiyet arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir (Tablo 4) ($p>0.05$).

Tablo 4. Kontrol grubunda cinsiyet ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki

	Cinsiyet		
Polimorfizm	Erkek	Kız	Toplam
Glu/Glu	19 (%43.2)	25 (%56.8)	44 (%100)
Glu/Asp	38 (%51.3)	36 (%48.7)	74 (%100)
Asp/Asp	5 (%71.4)	2 (%28.6)	7 (%100)
Toplam	62 (%49.6)	63 (%50.4)	125 (%100)
$\chi^2=2.150$, $P=0.3413$			

Hasta ve kontrol grupları arasında eNOS gen polimorfizmi ile erkek cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Hasta grubunun erkekleri ile kontrol grubunun erkekleri arasında eNOS gen polimorfizmi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 5) ($p>0.05$).

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun erkek cinsiyetleri arasında eNOS gen polimorfizm frekanslarının karşılaştırılması

	Erkek		
Polimorfizm	Hasta (n=94)	Kontrol (n=62)	Toplam(n=156)
Glu/Glu	29 (%60.4)	19 (%39.6)	48 (%100)
Glu/Asp	62 (%62)	38 (%38)	100 (%100)
Asp/Asp	3 (%37.5)	5 (%62.5)	8 (%100)
Toplam	94 (%60.2)	62 (%39.8)	156 (%100)
$\chi^2=1.857$, $P=0.3951$			

Hasta ve kontrol grupları arasında eNOS gen polimorfizmi ile kız cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Hasta grubunun kızları ile kontrol grubunun kızları arasında eNOS gen polimorfizmi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. (Tablo 6) ($p < 0.05$).

Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun kız cinsiyetleri arasında eNOS gen polimorfizm frekanslarının karşılaştırılması.

	Kız		
Polimorfizm	Hasta (n=58)	Kontrol (n=63)	Toplam(n=121)
Glu/Glu	21 (%45.7)	25 (%54.3)	46 (%100)
Glu/Asp	37 (%50.7)	36 (%49.3)	73 (%100)
Asp/Asp	0 (%0)	2 (%100)	2 (%100)
Toplam	58 (%47.9)	63 (%52.1)	121 (%100)
$\chi^2=2.159$, $P=0.3398$			

Hasta ve kontrol grubu arasında allel sıklığı karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. (Tablo 7) ($p > 0.05$).

Tablo 7. Prematür hasta ve kontrol grubu arasında eNOS geni Glu ve Asp allel sıklığı

Allel	Hasta grubu (n=304)	Kontrol grubu (n=250)
Glu	199 (%65.5)	162 (%64.8)
Asp	105 (%34.5)	88 (%35.2)
$\chi^2=0.0053$, Serbestlik derecesi=1, $P=0.9420$		

Respiratuvar distres sendromu olan yenidoğanlarda allel frekansı ile cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Hasta grubunda cinsiyet ile allel frekansı karşılaştırılmasında kızlarda Glu alleli ve erkeklerde Asp alleli istatistiksel olarak belirgin şekilde yüksek olarak tespit edilmiştir.(Tablo 8) ($p < 0.05$).

Tablo 8. Hasta grubunda cinsiyetler arasında allel frekanslarının karşılaştırılması

Allel	Erkek (n=188)	Kız (n=116)
Glu	120 (%63.8)	95 (%81.9)
Asp	68 (%36.2)	21 (%18.1)

$$\chi^2=10.453, P=0.0012$$

Kontrol grubunda allel frekansı ile cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Cinsiyet ile allel frekansı karşılaştırılmasında kızlarda ve erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 9) ($p>0.05$).

Tablo 9. Kontrol grubunda cinsiyetler arasında allel frekanslarının karşılaştırılması

Allel	Erkek (n=124)	Kız (n=126)
Glu	76 (%61.3)	86 (%68.2)
Asp	48 (%38.7)	40 (%31.8)

$$\chi^2=1.329, P=0.2490$$

Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansı ile erkek cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Hasta grubunun erkekleriyle kontrol grubunun erkekleri arasında allel frekansı açısından anlamlı farklılık tespit edilememiştir (Tablo 10) ($p>0.05$).

Tablo 10. Hasta ve kontrol grubunun erkek cinsiyetleri arasında allel frekanslarının karşılaştırılması

Allel	Hasta erkek (n=188)	Kontrol erkek (n=124)
Glu	120 (%63.8)	76 (%61.3)
Asp	68 (%36.2)	48 (%38.7)

$$\chi^2=0.2063, P=0.6497$$

Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansı ile kız cinsiyet arasında bir ilişki olup olmadığına bakılmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında allel frekansı ile kız cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tablo 11) ($p>0.05$).

Tablo 11. Hasta ve kontrol grubunun kız cinsiyetleri arasında allel frekanslarının karşılaştırılması

Allel	Hasta kız (n=116)	Kontrol kız (n=126)
Glu	79 (%68.1)	86 (%68.2)
Asp	37 (%18.1)	40 (%31.8)
$\chi^2=0.0006$, $P=0.9800$		

Hasta grubunda CPAP dahil mekanik ventilasyon süresi ile eNOS gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, mekanik ventilasyon süresi ile polimorfizmler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (Tablo 12) ($p>0.05$).

Tablo 12. Hasta grubunda eNOS gen polimorfizmlerine göre mekanik ventilasyon süresi.

Polimorfizm	n	Mekanik ventilasyon süresi (gün)
Glu/Glu	50	8.9 ± 14.1
Glu/Asp	99	8.8 ± 14.9
Asp/Asp	3	4 ± 1.73
Toplam	152	8.7 ± 14.4

$F=0.1633$, $P=0.8495$; Tek yönlü ANOVA testi

Hasta grubunda mortalite ile eNOS gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında, mortalite sayısı ile polimorfizmler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir (Tablo 13) ($p>0.05$).

Tablo 13. RDS’de mortalite ve eNOS gen polimorfizm ilişkisi

Polimorfizm	n	Hasta grubu Survival sayısı	Hasta grubu Mortalite sayısı
Glu/Glu	50	23	27
Glu/Asp	99	46	53
Asp/Asp	3	0	3
Toplam	152	69	83
$\chi^2=2.547$, $P=0.2798$			

Respiratuvar distres sendromlu 152 hastanın 16 tanesi antenatal steroid profilaksisi almıştır. Glu/Glu polimorfizmine sahip 50 hastadan 3’ü, Glu/Asp polimorfizmine sahip 99 hastadan 12 tanesi antenatal steroid profilaksisi alırken, Asp/Asp polimorfizmine sahip olan 3 hastadan 1’i steroid almıştır. (Tablo 14). Hasta grubunda steroid alımı ile eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Tablo 14. Hasta grubunda steroid alımı ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki

Polimorfizm	Steroid alan hasta sayısı (n=16)	Steroid alan kontrol sayısı (n=22)
Glu/Glu	3 (%18.7)	9 (%41)
Glu/Asp	12 (%75)	13 (%59)
Asp/Asp	1 (%6.3)	0 (%0)
Toplam	16 (%100)	22 (%100)
$\chi^2=3.172$ $P=0.2048$		

5. TARTIŞMA

Respiratuvar distress sendromu prematüre bebeklerin en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindendir. Her ne kadar prematür doğumların önlenmesine çaba gösterilse de; prematür doğumların sayısı halen önemli düzeyde olmakta yenidoğan yoğun bakımındaki hızlı gelişmeler ise daha erken doğmuş bebeklerin yaşamasına imkan sağlamaktadır. Bu durum morbiditede ciddi artışları beraberinde getirmiştir(2).

Yenidoğan bebeklerde RDS insidansı çeşitli çalışmalara göre farklılık göstermekle beraber, ortalama %2-3 oranında bulunmuştur(30). 26-28 gebelik haftalarında doğan bebeklerin yaklaşık %50'sinde, 30-31 haftalık bebeklerin %20-30'unda RDS görülür. (1) Doğum haftası arttıkça RDS insidansı azalmaktadır (1).

Nitrik oksit (NO), vasküler endotelde nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi tarafından sentezlenmektedir. Endojen NO; postnatal pulmoner adaptasyon, pulmoner vasküler tonusun düzenlenmesinde major bir rol oynar. Respiratuvar distress sendromu gelişiminde sürfaktan maturasyonu, pulmoner adaptasyon, pulmoner damar tonusu önemlidir (2,3). Bu bulgular RDS olan yenidoğan bebeklerde eNOS gen polimorfizminin de önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgulardan yola çıkarak bizim çalışmamızda RDS'li prematüre bebeklerle sağlıklı kontrol prematüre grubun eNOS gen polimorfizmi karşılaştırılmıştır.

Nitrik oksit düz kas, endotel hücresi ve diğer bir çok memeli hücrelerinde L-Arg amino asidinin nitrojeninin, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile oksitlenmesi sonucu sentez edilir. Nitrik oksit sentezine aracı olan NOS enziminin nöronal, endotelial ve immünolojik (indüklenebilir) olmak üzere üç farklı izoformu vardır. Nitrik oksit (NO), vasküler yapılarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi tarafından sentezlenen vazodilatasyonun ana mediatörüdür (72,73).

Nitrik oksit difüzyonla vasküler düz kas hücrelerine geçer, guanilat siklazı stimüle ederek cGMP(cyclic guanosine 3',5'-mono phosphate) sentezini artırır. Artan cGMP vasküler düz kas relaksasyonu ve vazodilatasyonuna neden olur (69). Bazal nitrik oksit salınımının bazal vasküler tonusun sağlanmasında ve kan basıncının düzenlenmesindeki rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (73).

Pulmoner endotelial hücreler ekstra-uterin hayata adaptasyonda çok önemli rol oynar. İntra-uterin hayatta pulmoner arter endotel hücreleri uzun, lümeni daraltacak şekilde ve daha dar tabanlıdır. Bu nedenle daha dar bir yüzeyde büyük hacim oluştururlar. Bu oluşum pulmoner arterleri daraltır ve akıma karşı pulmoner arterlerde yüksek direnç oluşumunu sağlar. Bununla birlikte intra-uterin düşük parsiyel oksijen basıncı, düşük prostaglandin ve nitrik oksit salınımı pulmoner vasküler direncin fetal hayat boyunca yüksek kalmasına neden olur. Doğum sonrası akciğer havalanması ile fetal akciğer sıvısının boşalması sonucu azalan hidrostatik basıncın mekanik etkisi kan parsiyel oksijen basıncının yükselmesi ve pulmoner gerilme reseptörlerinin uyarılması prostaglandin I₂ (PGI₂) ve nitrik oksit gibi pulmoner vazodilatörlerin salınımının artması sonucu pulmoner arter endotelinde yassılaşma, pulmoner vazodilatasyon ve sonuç olarak pulmoner basınçta doğum sonrası ciddi bir düşüş olmaktadır (38). Nitrik oksit yapımı azalırsa vazokonstriksiyon artar; vazodilatasyon azalır. Pulmoner vazokonstriksiyon RDS patogenezinde rol oynar. Pulmoner hipertansiyon ciddi hipoksiye neden olmaktadır. Hipoksi ise sürfaktanı inaktive eden önemli bir parametredir (2).

Hayvan çalışmalarında endojen nitrik oksitin akciğer vasküler gelişimi ile birlikte fetal akciğer oluşumunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (6,7). Endotel kaynaklı nitrik oksitin vasküler homeostazın düzenlenmesindeki olumlu etkileri çok iyi bilinmektedir. Mutant eNOS geni taşıyan deney farelerinde gelişen alveoler kapiler displaziyle beraber pulmoner vazokonstriksiyon yenidoğanlarda ölümcül solunum sıkıntısına yol açan pulmoner hipertansiyon, RDS gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (6,7).

İnhale nitrik oksit; oldukça selektif ve etkin bir şekilde pulmoner vazodilatasyon sağlamakta, hemodinamiği ve pulmoner fonksiyonları iyileştirmektedir. Nitrik oksit bu özellikleri ile son yıllarda yenidoğanda pulmoner hipertansiyon, RDS gibi hastalıklarda yeni tedavi seçenekleri arasına girmiştir. İn hale nitrik oksit kullanımı ciddi akciğer

hastalıklarında doku oksijenasyonunu artırarak 5 yıllık sağ kalım oranlarında etkili olduğu gösterilmiş (103,104). Yine hayvan çalışmalarında NO inhalasyonunun inflamasyonu azaltarak surfaktan fonksiyonunu artırarak ve akciğer gelişimini destekleyerek akciğer hasarını azalttığı gösterilmiştir (105,106).

Endotelyal nitrik oksit sentetaz (eNOS) genindeki Glu298 Asp polimorfizminin insanlarda artmış, kardiyovasküler hastalık riski ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur. Godfrey ve arkadaşlarının (5) genç sağlıklı gönüllülerde eNOS genindeki Glu298Asp polimorfizminin fonksiyonel önemini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada homozigot Asp/Asp genini taşıyan bireylerde asetilkolin bağımlı endotelyal kaynaklı vazodilatasyonda belirgin azalma görülmüştür, bu da endotelyal disfonksiyona yol açarak bireylerde erken ateroskleroz riskini artıran bir faktör olarak ortaya konmuştur.

Yoshimura ve arkadaşlarının (4) yaptıkları çalışmada Japonya'da koroner spazmlı hastalar ile eNOS genindeki Glu298 Asp polimorfizmi arasındaki ilişki incelenmiştir. Yine endotelyal kaynaklı nitrik oksitin vasküler tonusun düzenlenmesindeki öneminden yola çıkmışlar; homozigot Asp/Asp genini taşıyan koroner spazmlı hastalarda koroner arterlerde nitrik oksit ilişkili asetilkolin bağımlı vazodilatasyonun azaldığını göstermişler ve bunu da koroner spazm ile yakından ilişkilendirmişlerdir.

Casas ve arkadaşlarının (96) toplam 23028 hastanın yer aldığı 26 araştırmayı kapsayan metaanaliz çalışmasında eNOS genindeki homozigot Asp/Asp polimorfizmi taşıyan bireylerde istatistiksel olarak belirgin artmış iskemik kalp hastalığı riski saptamışlardır.

Yine Casas ve arkadaşlarının (97) eNOS gen polimorfizmi ile ilgili yaptıkları derlemede; eNOS genindeki Glu298 Asp polimorfizminin kardiyovasküler hastalıkların yanında hipertansiyon diyabet inme ve preeklampsi gibi hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği söylenmiştir. Bu hastalıklar ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki istatistiksel olarak kanıtlanamamıştır.

Savvidou ve arkadaşlarının (98) yaptığı bir çalışmada hamilelik sırasında nitrik oksit üretimi arttığından nitrik oksit üretimindeki genotip bağımlı değişikliklerin hamilelik sırasında daha belirgin olduğunu düşünmüşler ve erken hamilelikte eNOS Glu298Asp polimorfizminin endotelyal bağımlı vazodilatasyon üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Sağlıklı hamile kadınlarda brakial arterin akım bağımlı dilatasyonu

kaydedilmiş homozigot Asp/Asp genini taşıyan bireylerde belirgin azalmış akım bağımlı dilatasyon saptamışlardır. Bunun da düşük nitrik oksit seviyeleri ile birlikte endotelial disfoksiyona yatkınlık oluşturarak; artmış kardiyovasküler riski kadar preeklampsinin genetik temelinde de rol oynayabileceğini vurgulamışlardır.

Nitrik oksitin vasküler homeostazın düzenlenmesindeki rolünden yola çıkarak eNOS gen polimorfizmi ile başta kardiyovasküler hastalıklar olmak üzere diğer kompleks hastalıkların ilişkisini inceleyen birçok çalışma olduğu halde solunum sıkıntısına sahip olan bebeklerde eNOS gen polimorfizmini inceleyen tek çalışma Sivaslı ve arkadaşlarının (107) yaptığı çalışmadır. Bizim çalışmamızda da Sivaslı ve arkadaşlarının (107) yaptığı çalışmaya paralel olarak yenidoğanlarda solunum sıkıntısına neden olan hastalıkların akciğer dolaşımı ve akciğer damar direnci ile ilgili patofizyolojisinden yola çıkarak eNOS gen polimorfizmi ile respiratuvar distres sendromu arasındaki ilişkiyi inceledik. Sivaslı ve arkadaşlarının (107) çalışmasının sonucuna benzer olarak eNOS gen polimorfizmi ile RDS arasında anlamlı bir ilişki saptayamadık.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları prematüre bebeklerden oluşmaktaydı. Hasta ve kontrol grubuna cinsiyet dağılımı açısından bakıldığında hasta grubunda erkek cinsiyetin kız cinsiyete göre anlamlı yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Respiratuvar distres sendromu üzerine yapılan çalışmalarda erkek cinsiyetin RDS gelişimi üzerinde bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (9,11,38). Çalışmamız erkek cinsiyetin RDS gelişiminde risk faktörü olduğunu doğrulamaktadır. Kontrol grubu arasında ise cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı sayısal farklılık bulunamamıştır.

Gruplara eNOS gen polimorfizmi açısından bakıldığında, Glu/Asp polimorfizmi hem hasta hem kontrol grubunda daha fazla görülmüştür. Ancak RDS olan (hasta grubu) ve olmayan (kontrol grubu) prematüre bebekler eNOS geni Glu298Asp polimorfizm sıklığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Hasta ve kontrol gruplarında cinsiyet ve eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde; Glu/Glu polimorfizmi kızlarda, Asp/Asp polimorfizmi erkeklerde yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Her iki grubumuz allel sıklığı açısından incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Hasta grubunda cinsiyetler arasında allel frekansının

karşılaştırılmasında kızlarda Glu, erkeklerde Asp alleli istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Erkeklerde akciğer maturasyonu kızlara göre yaklaşık bir hafta geridir bu da erkek bebeklerde RDS sıklığının daha fazla olmasına yol açan faktörlerden biri olsa gerektir (9,11,38). Bu bulgular ışığında erkek cinsiyette daha fazla görülen Asp allelinin akciğerin matürasyonunda gecikmeye neden olabileceğini düşündürmektedir. Kontrol grubunda cinsiyetler arasında allel frekansının karşılaştırılmasında ise kızlarda Glu, erkeklerde Asp alleli yüksek oranda görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Hasta ve kontrol grupları gebelik yaşı açısından karşılaştırıldığında hasta grubunda gebelik yaşının anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür. Bilgilerimize göre doğum haftası arttıkça RDS insidansı azalmaktadır (1). Bizim çalışmamız da düşük doğum haftasının RDS oluşumunu artıran bir faktör olduğunu göstermektedir. Gebelik yaşı azaldıkça doğum ağırlığı da azalmaktadır. Hasta grubumuzda düşük gebelik yaşına paralel olarak doğum ağırlığı da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük saptanmıştır.

Respiratuvar distres sendromu patofizyolojisinde sık görülen risk faktörleri arasında perinatal asfiksi sayılabilir (40,41). Çalışmamızda perinatal asfiksi; 5.dakika Apgar skorunun <5 olması, kord kanında $pH < 7.2$ veya baz açığının >12 olması, hipoksik iskemik ensefalopati ve multi organ yetmezliği bulgularından en az ikisinin birlikteliği ile belirlenmiştir (102). Bu verilere uygun olarak bizim çalışmamızda da 5. Dakika Apgar skoru hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edilmiştir.

Respiratuvar distres sendromu gelişiminde doğum şeklinin etkili olduğu, sezaryen doğumun RDS gelişimi açısından risk taşıdığı bildirilmektedir (38,42). Ancak bizim çalışmamızda doğum şekli ile RDS gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki tesbit edilmemiştir.

Yapılan çalışmalar antenatal steroid alımının RDS'yi önlemede etkili olduğu, antenatal betametazon tedavisinin 28 haftalıktan büyük yenidoğanlarda perinatal mortalite ve morbiditeyi azalttığını göstermiştir (53,54). Bizim çalışmamızda steroid kullanımı ile RDS gelişimi arasındaki ilişkiyi değerlendirdiğimizde, hasta grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur. Ancak bu hasta ve kontrol grubunda steroid alan bebeklerin gebelik yaşlarının farklı olmasına da bağlı

olabilir. Hasta grubunda antenatal steroid alımı ve eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir. Çalışmamızdaki düşük steroid yapılma oranı, steroidin RDS üzerine etkisini değerlendirmeyi engellemektedir.

Çalışmamızda respiratuvar distres sendromlu bebeklerde mortalite oranları ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki değerlendirildiğinde her iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Yine aynı şekilde hasta grubunda mekanik ventilatörde kalma süreleri ile eNOS genotipleri ile arasındaki ilişki değerlendirildiğinde de farklılık bulunmamıştır. Bu veriler eNOS gen polimorfizminin RDS'nin şiddetini etkilemediğini göstermektedir.

Sonuç olarak; respiratuvar distres sendromu; oluşumunda bir çok faktörün rol oynadığı kompleks bir hastalıktır. Sınırlı sayıda hasta ile yaptığımız çalışmamızda RDS'li prematüre yenidoğanlarla RDS'li olmayan prematüre bebekler arasında eNOS gen polimorfizmi açısından bir farklılık saptanmamıştır. Erkek cinsiyette Asp allel frekansının yüksek olması bu cinsiyette akciğer matürasyonunu geciktiren bir faktör olabilir. Bu da erkek cinsiyette RDS'nin daha sık görülmesine neden olan faktörlerden biri olduğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. RDS'li prematüre yenidoğanlarla sağlıklı kontrol prematüre grup arasında eNOS gen polimorfizmi açısından bir fark saptanmamıştır.
2. Hasta grubunda erkek cinsiyetin kız cinsiyete göre anlamlı yüksek olduğu tesbit edilmiştir. Respiratuvar distres sendromu üzerine yapılan çalışmalarda erkek cinsiyetin RDS gelişimi üzerinde bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir (9,11,38). Çalışmamız erkek cinsiyetin RDS gelişiminde risk faktörü olduğunu doğrulamaktadır.
3. Asp alleli erkek cinsiyette kızlara göre akciğer matürasyonunun geri kalmasının nedenlerinden birisi olabilir.
4. Hasta grubunda gebelik yaşı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.
5. Hasta grubunda doğum ağırlığı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır.
6. Hasta ve kontrol grupları arasında anne yaşı açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır
7. 5. Dakika Apgar skoru hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edilmiştir.
8. Doğum şekli ile RDS gelişimi açısından istatistiksel olarak anlamlı ilişki tesbit edilmemiştir.
9. Hasta grubunda steroid alımı ile eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tesbit edilmemiştir.
10. Hasta grubunda mortalite ile eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir
11. Hasta grubunda CPAP dahil mekanik ventilatörde kalma süreleri ile eNOS gen polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktur.
12. eNOS gen polimorfizmi RDS şiddetini etkilememektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Whitsett JA, Rice WR, Warner BB, Wert SE, Pryhuber GS. Acute Respiratory Disorders. In: Avery's Neonatology Pathophysiology & Management of Newborn. 6th Ed. MacDonald, Mhairi G, Seshia, Mary M K, Mullett, Martha D. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2005;554-577.
2. Rodriguez RJ, Martin RJ, Fanaroff AA. Respiratory Distres Syndrome and its management. In: Neonatal –Perinatal Medicine. (8th Ed.) Fanaroff AA, Martin RJ (Eds). Mosby, St.Louis, 2006;1097-1107.
3. Greenough A, Robertson NRC. Respiratory Distres Syndrome. In: Neonatal Respiratory Disorders. 1st Ed. Greenough A, Milner AD, Robertson NRC. (Eds). Arnold, The Hodder Headline Group, London, 1996;238-279.
4. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, et al. A missense Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. Hum Genet 1998;103:65–69.
5. Godfrey V, Chan SL, Cassidy A, et al. The functional consequence of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene in young healthy volunteers. Cardiovasc Drug Rev 2007;25:280-288.
6. Hefler LA, Reyes CA, O'Brien WE, Gregg AR. Perinatal development of endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. Biol Reprod 2001;64:666-73.
7. Han RN, Stewart DJ. Defective lung vascular development in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. Trends Cardiovasc Med 2006;16:29-34.
8. Whitsett JA, Wert SE, Trapnell BC. Genetic disorders influencing lung formation and function at birth. Hum Mol Genet. 2004;13:207-215.
9. Yurdakök M. Inherited disorders of neonatal lung diseases. Turk J Pediatr. 2004;46:105-14.

10. Jobe AH. Lung Development and Maturation In: Neonatal-Perinatal Medicine. 8thEd. Fanaroff AA, Martin RJ (Eds). Mosby, St.Louis, 2006;1075-1077.
11. Lyra PP, Diniz EM. The importance of surfactant on the development of neonatal pulmonary diseases. Clinics. 2007;62:181-90.
12. Crouch E, Hartshorn K, Ofek I. Collectins and pulmonary innate immunity. Immunol Rev. 2000;173:52-65.
13. deMello DE. Pulmonary pathology. Semin Neonatol. 2004;9:311-29.
14. Hallman M, Haataja R. Surfactant protein polymorphisms and neonatal lung disease. Semin Perinatol. 2006;30:350-61.
15. Mallory GB Jr. Surfactant proteins: role in lung physiology disease in early life. Paediatr Respir Rev. 2001;2:151-158.
16. Ramet M, Haataja R, Marttila R, Flores J, Hallman M. Association between the Surfactant Protein A(SP-A) Gene Locus and Respiratory-Distress Syndrome in the Finnish Population. Am J Hum Genet. 2000;66:1569-1579.
17. Cole FS, Hamvas A, Nogee LM. Genetic Disorders of Neonatal Respiratory Function. Pediatr Res. 2001;50:157-162.
18. Whitsett JA, Wert SE, Xu Y. Genetic disorders of surfactant homeostasis. Biol Neonate. 2005;87:283-287.
19. Lyra PP, Vaz FA, Moreira PE, Hoffmann JW, Demello DE, Diniz EM. Comparison of surfactant protein B polymorphisms of healthy term newborns with preterm newborns having respiratory distress syndrome. Braz J Med Biol Res. 2007;40:779-786.
20. Whitsett JA, Weaver TE. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. N Engl J Med. 2002;347:2141-2148.
21. Mulugeta S, Beers MF. Processing of surfactant protein C requires a type II transmembrane topology directed by juxtamembrane positively charged residues. J Biol Chem. 2003;278:47979-47986.

22. Noguee LM, Dunbar AE III, Wert S, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA. Mutations in the surfactant protein C gene associated with interstitial lung disease. *Chest*. 2002;121:20-21.
23. Yurdakök M. Respiratuar distres sendromunun ve yenidoğanın geçici takipnesinin kalıtsal yönü. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2006;49:229-246.
24. Hallman M, Haataja R. Genetic influences and neonatal lung disease. *Semin Neonatol*. 2003;8:19-27.
25. Lahti M, Lofgren J, Marttila R, Renko M, Klaavuniemi T, Haataja R, et al. Surfactant protein D gene polymorphism associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res*. 2002;51:696-699.
26. Wert SE, Yoshida M, LeVine AM, Ikegami M, Jones T, Ross GF, et al. Increased metalloproteinase activity, oxidant production, and emphysema in surfactant protein D gene-inactivated mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:5972-5977.
27. Botas C, Poulain F, Akiyama J, Brown C, Allen L, Goerke J, et al. Altered surfactant homeostasis and alveolar type II cell morphology in mice lacking surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:11869-11874.
28. Yurdakök M. Respiratuar distres sendromu ve ventilatör tedavisinin ilkeleri. Tunçbilek E, Kınık E, Çevik N (ed), *Katkı Pediatri Dergisi Neonatal Respiratuar Distres Özel Sayısı*. 1991;12:299-370.
29. Rooney SA, Young SL, Mendelson CR. Molecular and cellular processing of lung surfactant. *FASEB J*. 1994;8:957-967.
30. Halliday HL. Respiratory Distres Syndrome. In: *Neonatal Respiratory Disorders*. 2nd Ed. Greenough A, Milner AD, (Eds). Arnold, The Hodder Headline Group, London, 2003;247-271.
31. Hjalmarson O. Epidemiology and classification of acute, neonatal respiratory disorders. A prospective study. *Acta Pediatr Scand*. 1981;70:773-783.

32. Kotecha S. Lung growth: implications for the newborn infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* Ed 2000; 82:69-74
33. Stoll Bj, Kliegman RM. The fetus and the neonatal infant. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics* (16th ed). Philadelphia; WB Saunders, 2000: 498-504.
34. Marttila R, Haataja R, Guttentag S, Hallman M. Surfactant protein A and B genetic variants in respiratory distress syndrome in singletons and twins. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003;168:1216-22.
35. McElrath TF, Colon I, Hecht J, Tanasijevic MJ, Norwitz ER. Neonatal respiratory distress syndrome as a function of gestational age and an assay for surfactant-to-albumin ratio. *Obstet Gynecol*. 2004;103:463-468.
36. Ersch J, Roth-Kleiner M, Baeckert P, Bucher HU. Increasing incidence of respiratory distress in neonates. *Acta Paediatr*. 2007;96:1577-1581.
37. Armson BA, O'Connell C, Persad V, Joseph KS, Young DC, Baskett TF. Determinants of perinatal mortality and serious neonatal morbidity in the second twin. *Obstet Gynecol*. 2006;108:556-564.
38. Greenough A, Milner AD. Pulmonary disease of the newborn In: Robertson's *Textbook of Neonatology*, (4th Ed.) Rennie JM (Eds). Philadelphia, Elsevier, 2005;445-467.
39. Lahm T, Crisostomo PR, Markel TA, Wang M, Weil BR, Novotny NM, et al. The effects of estrogen on pulmonary artery vasoreactivity and hypoxic pulmonary vasoconstriction: potential new clinical implications for an old hormone. *Crit Care Med*. 2008;36:2174-2183.
40. Gerten KA, Coonrod DV, Bay RC, Chambliss LR. Cesarean delivery and respiratory distress syndrome: does labor make a difference? *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193:1061-1064.
41. Rodriguez RJ. Management of respiratory distress syndrome: an update. *Respir Care*. 2003;48:279-286.

42. Lahra MM, Beeby PJ, Jeffery HE. Maternal versus fetal inflammation and respiratory distress syndrome: a 10 year hospital cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2009;94:13-16.
43. Cultrera R, Seraceni S, Germani R, Contini C. Molecular evidence of *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* colonization in preterm infants during respiratory distress syndrome. *BMC Infect Dis.* 2006;6:166.
44. Kramer BW. Antenatal inflammation and lung injury: prenatal origin of neonatal disease. *J Perinatol.* 2008;28:21-27.
45. Lafusco D, Stoppoloni F, Salvia G, Verneti G, Passaro P, Petrovski G, et al. Use of real time continuous glucose monitoring and intravenous insulin in type 1 diabetic mothers to prevent respiratory distress and hypoglycaemia in infants. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2008;8:23.
46. Marttila R, Kaprio J, Hallman M. Respiratory distress syndrome in twin infants compared with singletons. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:271-276.
47. Chang EY, Menard MK, Vermillion ST, Hulsey T, Ebeling M. The association between hyaline membrane disease and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;191:1414-1417.
48. Kim HY, Sohn YS, Lim JH, Kim EH, Kwon JY, Park YW, et al. Neonatal outcome after preterm delivery in HELLP syndrome. *Yonsei Med J.* 2006;47:393-398.
49. Bartels DB, Kreienbrock L, Dammann O, Wenzlaff P, Poets CF. Population based study on the outcome of small for gestational age newborns. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;90:53-59.
50. Harding D. Impact of common genetic variation on neonatal disease and outcome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92:408-413.
51. Whitsett JA. Genetic disorders of surfactant homeostasis. *Paediatr Respir Rev.* 2006;7:240-242.

52. de Almeida MF, Guinsburg R, Martinez FE, Procianoy RS, Leone CR, Marba ST, et al. Perinatal factors associated with early deaths of preterm infants born in Brazilian Network on Neonatal Research centers. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84:300-307.
53. Smrcek JM, Schwartau N, Kohl M, Berg C, Geipel A, Krapp M, et al. Antenatal corticosteroid therapy in premature infants. *Arch Gynecol Obstet*. 2005;271:26-32.
54. Gibson AT. Perinatal corticosteroids and the developing lung. *Paediatr Respir Rev*. 2002;3:70-6.
55. Moss TJ. The respiratory consequences of preterm birth. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2006;33:280–284.
56. Fraser J, Walls M, McGuire W. Respiratory complications of preterm birth, *BMJ*. 2004;329:962-965.
57. UCSF Children Hospital Website [homepage on the Internet]. San Fransisco: Respiratory Distress Syndrome (RDS), 2004. Available from: http://www.ucsfhealth.org/childrens/health_professionals/manuals/25_RDS.pdf
58. Yurdakök M (Çeviri Editörü). Avery’ nin Yenidoğan Hastalıkları El Kitabı (8th ed) Türkçe Çevirisi, Ankara, Güneş Kitabevi, 2004:248-262.
59. Liggins GC Howie RN A contolled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory disress syndrome in premature infants. *Pediatrics*. 1972;50:515-534.
60. Crowley P, Chalmers I, Keirse MJNC. The effects of cortitoid administration before premature delivery an overview of the evidence from controlled trials *Br J Obstrectic Gynecology* 1990;97:11-25
61. Bauer CR, Morrison JC, Poole WK, et al. A decreased incidence of necrotizing enterocolitis after prenatal glucocorticoid therapy. *Pediatrics* 1984;73:682-688
62. Garite TJ, Rumney PJ, Brigss GG, et al. A randomised, placebo-controlled trial of betamethasone fotr the prevention of respiratory distress syndrome at 24 to 28 weeks gestation *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:646-651

63. Kari MA, Hallman M, Eronen M, et al. Prenatal dexamethasone treatment in conjunction with rescue therapy of human surfactant: a randomized placebo controlled multicenter study. *Pediatrics* 1994;93:730-736.
64. Van Marter LJ, Leviton A, Kuban KCK, et al. Maternal glucocorticoid therapy and reduced risk of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics* 1990;86:331-336.
65. Frank L. Prenatal dexamethasone treatment improves survival of newborn rats during prolonged high O₂ exposure. *Pediatr Res* 1992;32:215-221
66. Stein HM, Oyama K, Martinez A, et al. Effects of corticosteroids in premature sheep on adaptation and sympathoadrenal mechanisms at birth. *Am J Physiol* 1993;264:763-769.
67. Meyer JS Biochemical effects of corticosteroids on neural tissues. *Physiol Rev* 1985;65:946-1020.
68. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373.
69. Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;333:664-666.
70. Morris SM, Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 1994;266:829-39.
71. Thiemermann C. The role of the L-arginine-nitric oxide pathway in circulatory shock. *Adv Pharmacol* 1994;28:45-79.
72. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;109-142.
73. Kiechle FL, Malinsky T. Nitric oxide: biochemistry, pathophysiology and detection. *Am J Clin Path* 1993;100:567-575.
74. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002-2012.

75. Kayaalp So. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Cilt 2. Ankara: Feryal Matbaası, 1992:1164-1176.
76. Busse R, Fleming I. Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J Vasc Res* 1996;33:181-194
77. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a novel neuronal messenger. *Neuron* 1992;8: 3-11.
78. Çakmakçı M. Nitrik oksit. *Hacettepe Tıp Dergisi* 1996;27:79-84
79. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and and medicine. *Lancet* 1994; 343:1199-1206.
80. Azuma H, Obayashi S, Hamasaki H, Koyama T, Aso T. Role of endothelium in the human uterine arteries during normal menstrual cycle. *Br J Pharm* 1995; 114:902-908.
81. Edwards Ad. The pharmacology of inhaled nitric oxide. *Arch Dis Child* 1995;72:127-130.
82. Kinsella JP, Abman SH. Methaemoglobin during nitric oxide therapy with high frequency ventilation. *Lancet* 1993;342:615.
83. Hecker M, Sessa WC, Harris HJ, Anggard EE, Vane JR. The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc Natl Acad USA* 1990;87:8612-8616.
84. Tanus-Santos JE, Dias-Junior CA, Assis Cau SB. Role of nitric oxide in the control of the pulmonary circulation: physiological, pathophysiological, and therapeutic implications. *J. Bras. Pneumol.* Vol.34 no.6 Sao Paulo June 2008
85. Garg UC, Hassid A. Nitric oxide decreases cytosolic free calcium in Balb Ic3T3 fibroblasts by a cyclic GMP dependent mechanism. *J Biol Chem* 1991;266:9-12.
86. Yoshida K, Kasama K. Biotransformation of nitric oxide, *Environ Health Perspect* 1987;73:201-206.

87. Wennmalm A. Dependence of the metabolism of nitric oxide in healthy human whole blood on the oxygenation of its red cell haemoglobin. *Br J Pharmacol* 1992;106:507-508
88. Canter B, Olguntürk R. Pediatric inhaled nitric oxide use. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2001;44:179-192.
89. Crawley DF, Lui SF, Avans TW, et al. Inhibitory role of endothelium derived nitric oxide in rat and human pulmonary arteries. *Br J Pharmacol* 1990;101:166-170.
90. Adhota S, Raffestin B, Eddamibi S, et al. Loss of endothelium dependent relaxant activity in the pulmonary circulation of rats exposed to chronic hypoxia. *J Clin Invest* 1991;87:155-162.
91. Frostell CG, Frattaci M, Wain JC, et al. Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator reverses hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation of rats exposed to chronic hypoxia. J Clin Invest* 1992;91:216-223.
92. Moniardd J, Pillet O, Castaing Y, et al. Inhaled nitric oxide: Effects on pulmonary circulation and gas exchange in man. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:A207.
93. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 1993;268:17478–17488.
94. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:361-368
95. Endo A, Shimada M, Ayusawa M, et al. Nitric oxide and endothelin 1 during postnatal life. *Biol Neonate* 1996;70:15-20.
96. Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation* 2004;109:1359-1365.

97. Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, Smeeth L, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006;164:921-935.
98. Savvidou MD, Vallance PJ, Nicolaides KH, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and maternal vascular adaptation to pregnancy 2001;38:1289-1293.
99. Ballard JL, Khoury JC, Weding K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr*. 1991;119:417-423.
100. Armangil D, Yiğit Ş, Tekinalp G, Tekin Durukan T, Yurdakök M, Korkmaz A. Antenatal kortikosteroidlerin neonatal mortalite ve morbidite üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2007;50:79-90.
101. Phibbs RH. Delivery Room Management. In: Avery's Neonatology Pathophysiology & Management of Newborn. 6thEd. MacDonald, Mhairi G, Seshia, Mary M K, Mullett, Martha D. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2005;248-269.
102. Hill A, Volpe JJ. Neurologic Disorders. In: Avery's Neonatology Pathophysiology & Management of Newborn. 6thEd. MacDonald, Mhairi G, Seshia, Mary M K, Mullett, Martha D. Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2005;1117-1139.
103. Schreiber MD, Gin-Mestan K, Marks JD, Huo D, Lee G, Srisuparp P. Inhaled nitric oxide in premature infants with the respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 2003;349:2099-2107.
104. Ballard RA, Truog WE, Cnaan A, et al; NO CLD Study Group. Inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. *N Engl J Med* 2006;355:343-353
105. Cotton RB, Sundell HW, Zeldin DC, et al. Inhaled nitric oxide attenuates hyperoxic lung injury in lambs. *Pediatr Res* 2006;59:142-146.
106. McCurnin DC, Pierce RA, Chang LY, et al. Inhaled NO improves early pulmonary function and modifies lung growth and elastin deposition in a baboon model of neonatal chronic lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288:L450-L459.

107. Sivasli E, Babaoğlu M, Yaşar U, Yurdakök M, Bozkurt A, Korkmaz A, Yiğit S, Tekinalp G. Association between the Glu298Asp and T(-786)C polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene and respiratory distress in preterm neonates. *Turk J Pediatr.* 2010 Mar-Apr;52(2):145-9

8. EKLER

8.1. Ek-1

Genetik Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

**Araştırmanın Adı : Respiratuvar Distres Sendromlu Yenidoğan Bebeklerde
Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) gen polimorfizmi**

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Respiratuvar Distres Sendromu olan hasta bebeklerin tedavisini etkileyen genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Respiratuvar Distres Sendromlu Yenidoğan Bebeklerde Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz Gen Polimorfizmi”’dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni bebeğinizin zamanından önce doğmuş (prematüre) olmasından dolayı Respiratuvar Distres Sendromu hastalığı tanısının konulmuş olmasıdır. Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Bebeğinizde herhangi bir şikâyet olmazsa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 277’ tır.

Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için bebeğinizin kolundan 1ml (1 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kan bebeğinizden rutin kan alma işlemleri sırasında gerçekleşecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Rutin kan alma işlemleri sırasında gerçekleşeceği için ek bir risk taşımamaktadır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Size ait elde edilen sonuçların gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Dr Ayşe Demirçubuk tarafından Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili bilgiler bana aktarıldı. Çalışmaya bebeğimin sağlığı ve bu hastalığa yakalan bütün bebekler açısından kendi isteğimle katılmak istiyorum

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

AÇIKLAMALARI YAPAN ARAŞTIRICININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

RIZA ALMA İŞLEMİNE BAŞINDAN SONUNA KADAR TANIKLIK EDEN KURULUŞ GÖREVLİSİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

8.2. Ek-2

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GEBELİK YAŞININ BELİRLENMESİ (Yeni Ballard'a göre)

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Neonatoloji ünitesi

Doğum Tarihi | | |

[illegible]