

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŐEFLİĐİ

**YENİDOĞAN SIÇANLARDA OMEGA-3 YAĞ
ASİTLERİNİN HİPEROKSİK AKCİĞER HASARI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Erdoğan GÖNÜL
Tbp.Yzb.

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Tıpta Uzmanlık Tezi

İSTANBUL
2013

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI SERVİS ŐEFLİĐİ

**YENİDOĞAN SIÇANLARDA OMEGA-3 YAĞ
ASİTLERİNİN HİPEROKSİK AKCİĞER HASARI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Erdoğan GÖNÜL

Tbp.Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Servisi'nin

Tıpta Uzmanlık Eğitimi İçin Öngördüğü

TIPTA UZMANLIK TEZİ

olarak hazırlanmıŐtır.

TEZ DANIŞMANI

Mustafa KUL

Doç.Tbp.Kd.Alb.

İstanbul

2013

Gülhane Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına;

“Yenidoğan sıçanlarda omega-3 yağ asitlerinin hiperoksik akciğer hasarı üzerine etkileri” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Servisi'nde Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç.Tbp.Alb.Mustafa KUL ()

Üye : Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb.Selami SÜLEYMANOĞLU ()

Üye : Doç.Tbp.Kd.Alb.Mustafa KUL ()

Üye : Doç.Hv.Tbp.Alb.Turan TUNÇ ()

Üye (Yedek) : Prof.Svl.Tbp.Ferhan KARADEMİR ()

ONAY:

Tbp.Yzb.Erdoğan GÖNÜL'ün 17/06/2013 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER
Prof.Tbp.Tümgeneral
GATA Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca bilgi, görgü ve tecrübeleri ile bana önderlik ederek bu çalışmayı gerçekleştirebilecek düzeye gelmemi sağlayan ve her konuda desteklerini sürekli yanımda hissettiğim hocalarım; Sayın Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb.İsmail GÖÇMEN'e, Prof.Svl.Tbp.Ferhan KARADEMİR'e, Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb.Selami SÜLEYMANOğLU'na, Doç.Hv.Kd.Tbp.Alb.Seçil AYDINÖZ'e, Doç.J.Tbp.Kd.Alb.Cihan MERAL'e, Doç.Dz.Tbp.Kd.Bnb.Gökhan AYDEMİR'e ve Tbp.Bnb.İlhan Asya TANJU'ya minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin tüm aşamalarında katkıda bulunan ve desteğini esirgemeyen tez danışmanım Doç.Tbp.Kd.Alb.Mustafa KUL'a şükranlarımı sunarım.

Asistanlığımın en zor günlerinde hiçbir yardım isteğimi geri çevirmeyen her zaman beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve tüm klinik personeline teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemi sağlayan, aileme sonsuz şükranlarımı sunarım.

Erdoğan GÖNÜL

Tbp.Yzb.

ÖZET

Yenidoğan Sıçanlarda Omega-3 Yağ Asitlerinin Hiperoksik Akciğer Hasarı Üzerine Etkileri,

Bronkopulmoner displazi preterm bebeklerde önemli bir morbidite nedenidir. İnflamasyon hastalığının patogenezinde merkezi rol oynar. Omega-3 yağ asitlerinin ise antiinflamatuvar etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada omega-3 yağ asidi desteğinin hiperoksik akciğer hasarı üzerine olan etkisini araştırdık. Üç günlük yenidoğan sıçanlar, iki hafta süreyle oksijen konsantrasyonu %90-95 olan hiperoksik ortamda tutularak deneysel hiperoksik akciğer hasarı oluşturuldu. Sıçanlar plasebo, düşük doz omega-3 ve yüksek doz omega-3 olarak üç gruba ayrıldı. İki haftalık çalışma süresinde düşük ve yüksek doz omega-3 grubuna sırasıyla 300 ve 600 mg/kg/gün omega-3 (DHA ve EPA) verilirken, plasebo grubuna aynı miktarda serum fizyolojik verildi. İki haftalık çalışma sonunda tüm sıçanların akciğerleri çıkarılarak ışık mikroskopisi altında morfolojik değerlendirme yapıldı. Ortalama kord uzunluğu (L_m), alveolar yüzey alanı (S_A) ve alveol duvar kalınlıkları (W_t) hesaplanarak gruplar arasındaki istatistiksel fark araştırıldı. Gruplar arasında benzer alveol gelişimi gözlemlendi. Ortalama L_m değerleri arasında fark gözlenmedi. Alveolar yüzey alanı yüksek doz omega-3 grubunda daha yüksek bulunsa da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. En geniş alveol duvar kalınlığı plasebo grubunda izlenirken, yüksek doz omega-3 grubu ile plasebo grubunun alveol duvar kalınlıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (plasebo $W_t = 17,8 \pm 2,3$ μm , düşük doz omega-3 $W_t = 15,6 \pm 2,5$ μm , yüksek doz omega-3 $W_t = 14,2 \pm 2$ μm) ($p < 0,05$). Sonuç olarak omega-3 yağ asitlerinin hiperoksik akciğer hasarı üzerine belirgin etkisi olmasa da alveol duvar kalınlaşmasını bir miktar önlediği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler : Bronkopulmoner displazi, omega-3 yağ asitleri

Destekleyen Kurumlar : Yok

Yazar Adı : Tbp.Yzb.Erdoğan GÖNÜL

Danışman : Doç.Tbp.Kd.Alb.Mustafa KUL

SUMMARY

The effects of Omega-3 Fatty Acids on The Newborn Rat Hyperoxic Lung Injury

Bronchopulmonary dysplasia is a significant reason of morbidity for preterm infants. Inflammation has a central role in the pathogenesis of BPD. Omega-3 fatty acids are known to have anti-inflammatory effects. We look into the effects of omega-3 fatty acid supplementation on the hyperoxic lung injury in this study.

Three days-old newborn rats have been kept in a hyperoxic chamber containing %90-95 O₂ for two weeks. Rats have been divided into three groups as plasebo, low and high dosage omega-3. Throughout the two weeks study time, 300 and 600 mg/kg/day omega-3(DHA and EPA) has been given to low and high dosage omega-3 groups respectively, although same portion of serum physiologic has been given to plasebo group. At the end of study time, morphological evaluation of the lungs all rats has been carried out under the light microscopy. By calculating the mean cord length (L_m), alveolar surface area (S_A) and alveolar wall thickness (W_t), the statistical difference between the groups has been researched.

The difference between the average L_m values is not observed. Although higher alveolar surface has been detected in high dosage omega-3 group, no statistically significant difference has been observed. The difference of alveolar wall thickness between placebo and high dosage omega-3 group has been evaluated statistically significant (plasebo = 17,8±2.3 µm, low dosage omega-3 = 15,6±2,5 µm, high dosage omega-3 = 14,2±2 µm) (p=0,02). As a conclusion, it has been detected that omega-3 fatty acids does not have explicit effect on hyperoxic lung injury but it prevents alveolar wall thickening to a certain extend.

Keywords : Bronchopulmonary dysplasia, omega-3 fatty acids

Supported by: None

Author : MD, Erdoğan GÖNÜL

Counsellor : MD, Mustafa KUL

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
İNGİLİZCE ÖZET.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar.....	xi
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bronkopulmoner Displazi.....	3
2.1.1 Bronkopulmoner Displazi Tanımı ve Epidemiyolojisi.....	3
2.1.2. Yeni BPD Klinik Özellikleri.....	3
2.1.3. BPD İnsidansı.....	4
2.1.4. Bronkopulmoner Displazi Risk Faktörleri.....	4
2.1.4.1. Prematürite/İmmatürite.....	5
2.1.4.2. Mekanik Ventilasyon (barotravma/volotravma).....	5
2.1.4.3. Hiperoksi/Oksidan Stres.....	6
2.1.4.4. İnflamasyon.....	7
2.1.4.5. Akciğer Ödemi (PDA ve aşırı sıvı verilmesi).....	7
2.1.5. Bronkopulmoner Displazi Patogenezi.....	7
2.1.6. Bronkopulmoner Displazi ve İnflamasyon.....	7
2.1.7. BPD Patolojisi.....	11
2.1.8. Bronkopulmoner Displazi Tedavisi.....	12
2.1.8.1. Ventilasyon Stratejileri.....	12
2.1.8.2. Oksijen Tedavisi.....	13
2.1.8.3. İlaçlar.....	13
2.1.8.4. Sıvı Kısıtlaması ve Beslenme.....	13
2.1.8.5. Diğer İlaçlar.....	14

2.1.9. BPD Prognozu.....	14
2.2. Omega-3 Yağ Asitleri.....	14
2.2.1. Poliansatüre Yağ Asitleri (PUFA'lar).....	14
2.2.2 Esansiyel Yağ Asitleri (EFA'lar).....	15
2.2.3 Omega-3 Yağ Asitleri.....	15
2.2.4 Omega-3 Yağ Asitleri ve İnflamasyon.....	16
2.2.4.1. Eikozanoidler.....	16
2.2.4.2. Eikozanoid Üretimine Etkileri Dışındaki Antiinflamatuar Etkileri.....	18
2.2.4.3. Omega-3 yağ asitleri ve İnflamatuar Gen Ekspresyonu.....	19
2.2.5. Klinik Uygulamalar.....	19
GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. Deney Hayvanları.....	21
3.2. Hiperoksik Ortamın Sağlanması.....	22
3.3. Omega-3 Yağ Asidi Verilmesi.....	22
3.4. Dokularının Hazırlanması.....	23
3.5. Akciğer Morfometrisi.....	23
3.6. İstatistiksel Analiz.....	24
BULGULAR.....	26
4.1. Ortalama Kord Uzunluğu (L_m).....	26
4.2. Alveolar Yüzey Alanı (S_A).....	26
4.3. Alveol Duvar Kalınlığı (W_t).....	27
TARTIŞMA.....	29
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR.....	34

SİMGELER VE KISALTMALAR

GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
L_m	: Ortalama Kord Uzunluğu
S_A	: Alveolar Yüzey alanı
VD_t	: Doku Hacim Dansitesi
W_t	: Alveol Duvar Kalınlığı
AA	: Araşidonik Asit
ALA	: Alfa-linolenik Asit
BPD	: Bronkopulmoner Displazi
COX	: Siklooksijenaz
DHA	: Dokozaheksaenoik Asit
EFA	: Esansiyel Yağ Asitleri
EPA	: Eikozapentaenoik Asit
HE	: Hemotoksilen-Eozin
IL	: İnterlökinler
ICAM-1	: Hücre İçi Adezyon Molekülü-1
LT	: Lökotrienler
LOX	: Lipooksijenaz
NCPAP	: Nazal Devamlı Pozitif Havayolu Basıncı
PAF	: Platelet Aktive Edici Faktör
PDA	: Patent Duktus Arteriozus
PG	: Prostaglandinler
PI	: Proteinaz İnhibitörü
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asitleri
RDS	: Respiratuar Distres Sendromu
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
TX	: Tromboksanlar
TNF- α	: Tümör Nekrotize Edici Faktör Alfa
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Bronkopulmener displazi oluşumunda muhtemel patogenetik olaylar dizisi	8
2.2. Çoklu doymamış yağ asitlerinin sentez ve metabolizması	16
2.3. Araşidonik asit ve dokozahekzaenoik asitten eikozanoid sentezi	17
3.1. Deney protokolünün şematik görünümü	23
4.1. Grupların vücut ağılıklarında postnatal değişiklikler	26
4.2. Grupların ortalama kord uzunlukları ve alveolar yüzey alanları	27
4.3. Grupların alveol duvar kalınlıkları	28

TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1. Bronkopulmoner displazi risk faktörleri	4
Tablo 2.2. Akciğerlerin fetal ve embriyonel gelişimi	5
Tablo 2.3. Eski ve yeni BPD patolojik özellikleri	12
Tablo 2.4. Fazlara göre önerilen BPD tedavisi	13

GİRİŞ

Erken doğum ve prematürite halen önemli bir sağlık sorunudur ve sıklığı giderek artmaktadır. Son yıllarda bu hastaların yönetiminde önemli gelişmeler sağlansa da mortalite ve morbidite riski halen yüksektir. Bronkopulmoner displazi 1500 g altında doğan bebeklerin %43'ünü etkilemektedir (1). Uzun dönemde kötü nörogelişimsel sonuçlara ve zayıf akciğer fonksiyonuna neden olmaktadır. Oksijen, mekanik ventilasyon, enfeksiyon gibi çeşitli faktörlerin immatür akciğerler üzerine olan zararlı etkilerinin hastalığın oluşumuna neden olmaktadır ve bu süreçte inflamasyon merkezi rol oynamaktadır. Patogenezi artık daha iyi anlaşılrsa da BPD'nin önlenmesi ve tedavisinde kullanımı önerilen tedavi yöntemi çok azdır. İnflamasyonu azaltmaya yönelik yapılan deneysel ve klinik çalışmaların bir kısmında umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Fakat halen postnatal steroidler dışında BPD tedavisinde kullanımı önerilen antiinflamatuvar ajan bulunmamaktadır.

Balık ve balık yağında bol miktarda bulunan omega-3 yağ asitlerinin inflamasyonu azaltıcı ve düzenleyici etkilerinin olduğu bilinmektedir. Önemli pro-inflamatuvar özellikleri olan AA kaynaklı eikozanodlerin sentezini azaltarak bu etkilerini gösterdikleri düşünülmektedir. Ayrıca inflamatuvar hücre adezyon ve kemotaksisini azalttığı, BPD patogenezinde de rol alan birçok proinflamatuvar sitokinlerinin oluşumunu azalttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Birçok inflamatuvar hastalıkta etkilerini araştıran deneysel ve klinik çalışmalar yapılmıştır. Romatoid artrit, astım ve inflamatuvar barsak hastalığında faydası gösterilmiştir (2).

Literatürde omega-3 yağ asitlerinin BPD üzerine etkisini araştıran çok az çalışma bulunmaktadır. Manley ve ark. (3) tarafından yapılan klinik çalışmada, yüksek doz DHA ilavesinin BPD insidansını azalttığı gösterilmiştir.

Omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar özellikleri sayesinde BPD displazinin önlenmesi ve tedavisinde faydası olabilir.

Çalışmamızın amacı yenidoğan sıçanlarda oluşturulan hiperoksik akciğer hasarı modelinde, düşük ve yüksek doz omega-3 yağ asidi (DHA ve

EPA) desteğinin hiperoksik akciğer hasarı üzerine olan morfolojik etkilerini saptamaktır.

GENEL BİLGİLER

2.1. Bronkopulmoner Displazi

2.1.1. Bronkopulmoner Displazi Tanımı ve Epidemiyolojisi

Bronkopulmoner displazi prematüre bebeklerde akciğer hasarına bağlı oluşan kronik akciğer hastalığıdır ve infantlarda kronik akciğer hastalığının en sık nedenidir (4). İlk olarak Northway ve ark. (5) tarafından tanımlanmıştır. Kısaca 36. gestasyon hastasından sonra ve ≥ 28 gün süreyle oksijen gereksinimi olması olarak tanımlanır. Halen çok düşük ağırlıklı bebeklerde önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Prematüre bebeklerin bakımındaki gelişmelerle birlikte sağkalım oranlarının artması bu hastalarla daha sıklıkla karşılaşmamıza yol açmıştır. Fakat sürfaktan, antenatal steroidler ve daha az travmatik ventilasyon stratejilerinin kullanılmasıyla birlikte klasik BPD sıklığını azaltmıştır. Genelde başlangıçta RDS'si olmayan ya da hafif olan, apne ve zayıf solunum çabası nedeniyle uzun süren mekanik ventilasyon desteğinden sonra sağ kalan küçük prematürelere görülen daha hafif formu bunun yerini almıştır (Yeni BPD) (6). Bu hastalar klasik BPD patogenezindeki iki ana faktör olan yüksek havayolu basıncı ve yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalmamaktadır ve şu anda BPD geliştiren bebeklerin çoğu bu gruptadır.

2.1.2. Yeni BPD Klinik Özellikleri

Nadir istisnalar dışında BPD erken yaşamda mekanik ventilasyonu takiben oluşur. Mekanik ventilasyon endikasyonları RDS, pnömoni nedeniyle solunum yetmezliği ve zayıf solunum çabasını içerir. Çok sayıda bebeğin hafif solunum hastalığı vardır ve başlangıçta düşük basınç ve düşük oksijen ile ventile edilirler. Sıklıkla bunu oksijen ihtiyacının çok az olduğu ya da olmadığı birkaç günlük iyilik hali (balayı periyodu) izler. Sonra bu çocukların akciğer fonksiyonları progresif olarak bozulur ve oksijen ihtiyacı artar. Bu bozulma sıklıkla bakteriyel enfeksiyon ile tetiklenir ya da PDA'ya sekonder olarak gerçekleşir (7).

Radyografik özellikleri geç dönemde oluşur ve aşırı havalanma, homojen olmayan akciğer dokuları ve daha ciddi formlarında perifere uzanan

ince ya da kaba dansiteler gözlenir. Hafif formlarında radyografik değişiklikler daha az belirgindir ve temel olarak diffüz puslu görünüm vardır.

2.1.3. BPD İnsidansı

Hastalık 32 gestasyon haftasından sonra doğanlarda çok nadirdir ve bu yüzden epidemiyolojik çalışmalar daha çok 32 hafta ve 1500 gr altında doğan bebekleri kapsamaktadır. İnsidansı ile ilgili farklı veriler vardır. 500 g ile 1500 g arası doğan bebeklerde farklı merkezlerde insidansı %3 ile %43 arasında değişmektedir (1). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise BPD insidansı (tanı kriteri olarak 36. postmenstrüel yaş kullanıldığında) %42 (doğum ağırlığı = 501-750 g), %25 (doğum ağırlığı = 751-1000 g), %11 (doğum ağırlığı = 1001-1250 g) ve %5 (doğum ağırlığı = 1251-1500 g) olarak bulunmuştur (8). BPD'li hastaların %97'sini doğum ağırlığı 1250 gramdan düşük bebekler oluşturmaktadır (9).

2.1.4. Bronkopulmoner Displazi Risk Faktörleri

Tek başına ya da birlikte birçok faktör BPD patogenezinde rol alır. Hastalık hemen hemen sadece mekanik ventilasyon ve oksijen desteği alan prematüre bebeklerde gözlenir. Bu nedenle prematüre, mekanik travma ve oksijen toksisitesi ana faktörler olarak bilinmektedir (10). Diğer faktörler arasında inflamasyon (enfeksiyonla ilişkili ya da değil), akciğer ödemi (PDA ya da aşırı sıvı verilmesi, beslenme yetersizliği ve erken adrenal yetmezlik yer alır (6) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Bronkopulmoner displazi risk faktörleri.

– Prematürite/immatürite	– Hava yolu reaktivitesine yatkınlık
– Mekanik ventilasyon	– Beslenme sorunları
– Hiperoksi/oksidan stres	– Erken sürrenal yetmezlik
– İnflamasyon/enfeksiyon	– Gebelik haftası ve doğum ağırlığı
– Antenatal faktörler	– Respiratuar distress sendromunun şiddeti
– Pulmoner ödem	– Erkek cinsiyet
– Genetik etkiler	

2.1.4.1. Prematürite/İmmatürite: Antenatal dönemde akciğerlerin gelişimi beş dönemde gerçekleşir ve postnatal dönemde de devam eder (Tablo 2.2). Bunlardan 26-28. haftalarda tamamlanan kanaliküler dönem çok önemlidir. Bu dönemden önce akciğerleri etkileyecek prenatal ve postnatal faktörler akciğerlerin gelişimini önemli ölçüde bozar. Alveolar septasyon tamamlanmadığı ve alveolar öncüller tersiyer sakkülere bölünemediği için alveol sayısı azalır ve pulmoner hipoplazi benzeri durum oluşur. Sakküler dönem (>26-28 hafta) ve sonrasındaki faktörler ise daha hafif patolojiye neden olur. Bu dönemdeki etkiler daha çok alveollerin yapısı basitleştirir ve gelişimini duraklatır (11).

Tablo 2.2. Akciğerlerin fetal ve embriyonel gelişimi.

Embriyonel dönem (ilk 7 hafta)

- Hava yolları bronkopulmoner segmentlere kadar uzanır

Psödoglandüler dönem (7 ve 16. haftalar arası)

- Asinülara kadar 16-25 jenerasyon ikili hava yolları bölünmüş olur
- Solunum epitel ve kıkırdak doku farklılaşır
- Preasiner vasküler yapıların damarsal gelişimi tamamlanır

Kanaliküler dönem (16 ve 26-28. haftalar arası)

- Uç epitel hücreleri kübik yapı alır
- Tip 2 epitel hücrelerinin farklılaşması başlar
- Distal pulmoner dolaşım gelişir
- Gaz değişim ünitelerinin incilmesi ile beraber interstisiyel doku azalır

Sakküler dönem (26-28 ve 32-36. haftalar arası)

- Sakküler duvarların interstisiyel aralığı belirgin azalır
- Sekonder tomurcukla silendirik sakküllere bölünür
- Bu tomurcuklar çift kapiller tabaka içerir ve alveollerin öncüleridir

Alveolar dönem (32-36 hafta ve postnatal 2 yaş arası)

- Sekonder tomurcuklar inceliyor genişleyerek asiner kompleksiteyi artırır
 - Kapillerler alveol oluşturmak üzere füzyona uğrar
-

2.1.4.2. Mekanik Ventilasyon (barotravma/volotravma): Yüksek basınçlı ya da yüksek hacimli ventilasyon akciğerlerde inflamasyon ve hasara yol açabilir. Bu hasar, normal yenidoğanlarda dahi ortaya çıkabilir ancak pretermdeki zararı daha belirgindir. Mekanik ventilasyon sonucu oluşan akciğerlerdeki aşırı gerilme, endotel hasarına, pulmoner damar direncinde

artıŖa, n6trofillerin pulmoner dolaŖımda tutulmasına ve inflamatuvar d6zenleyicilerin salınımına yol açabilir.

2.1.4.3: Hiperoksi/Oksidatif Stres: Bronkopulmoner displazi ilk tanımlandığında, y6ksek oksijen d6zeyi bir risk fakt6r6 olarak belirlenmiŖ ve serbest radikaller ile iliŖkilendirilmiŖtir (12). Fakat sonraki yıllarda oksidatif stresin sadece hiperoksiyle değil kendi baŖına da bu hastalığın geliŖiminde risk fakt6r6 olabileceği anlaŖılmıŖtır (13). Genel olarak oksidatif stres pro-oksidan ve anti-oksidan g6ler arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Preterm bebeklerde aŖaėıdaki nedenlerden dolayı pro-oksidan s6re daha baskındır;

1. Preterm bebekler sıklıkla y6ksek miktarda oksijene maruz kalır.
2. Anti-oksidan defansı daha azdır ve daha az etkindir.
3. Preterm bebeklerde sıklıkla enfeksiyon ve inflamasyon sonucu oluŖan pro-inflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen 6r6nlerinin 6retimini aktive eder.
4. Premat6re bebeklerin doku ve plazmalarında term bebeklere oranla daha fazla serbest demir bulunur.

Y6ksek oksijen verilmesi ve immat6ritenin yanında yetersiz beslenme, inflamasyon ve ventilasyon oksidatif strese katkıda bulunarak kalıcı akciğer hasarına neden olan deėiŖiklikleri tetikler.

Oksijen toksik bir bileŖiktir. Fetal fare ve yenidoğan sıçanlarda %50 ve daha fazla oksijen verilmesinin pulmoner b6y6meyi ve DNA sentezini geri d6n6Ŗs6ms6z olarak inhibe ettiği g6sterilmiŖtir (14, 15).

Oksijen radikalleri ya da reaktif oksijen 6r6nleri aŖırı sitotoksiktir ve proteinler, lipidler, karbonhidratlar ve hatta DNA gibi esansiyel h6cre komponentleri ile etkileŖebilir ya da yapılarını deėiŖtirebilir. Ana reaktif oksijen 6r6nleri s6peroksit radikali, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve tek oksijendir. Bu 6r6nlerin ana kaynağı ise mitokondrial solunumdur. Hipoksantin-ksantin oksidaz, p450 sistemi, araŖidonik asit ve katekolaminlerin oksidasyonu ve daha birçok sistem de serbest radikalleri

üretebilir. Nitrojen oksit (NO) bir serbest radikaldir ve süperoksit radikali ile etkileşime girerek toksik peroksinitrite dönüşür.

2.1.4.4. İnflamasyon: İnflamasyonun BPD patogenezindeki rolüne dair kanıtlar giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalarda nazokomiyal enfeksiyonların BPD riskini belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir ve bu risk eş zamanlı PDA var ise daha fazladır (7, 16). Özellikle koryoamniyonit olmak üzere maternal enfeksiyonların da BPD riskini arttırdığına dair kanıtlar artmaktadır. Ayrıca enfeksiyöz olmayan birçok faktör (oksijen, serbest radikaller, pozitif basınçlı ventilasyon, artmış pulmoner kan akımı) inflamasyonu tetikleyebilir.

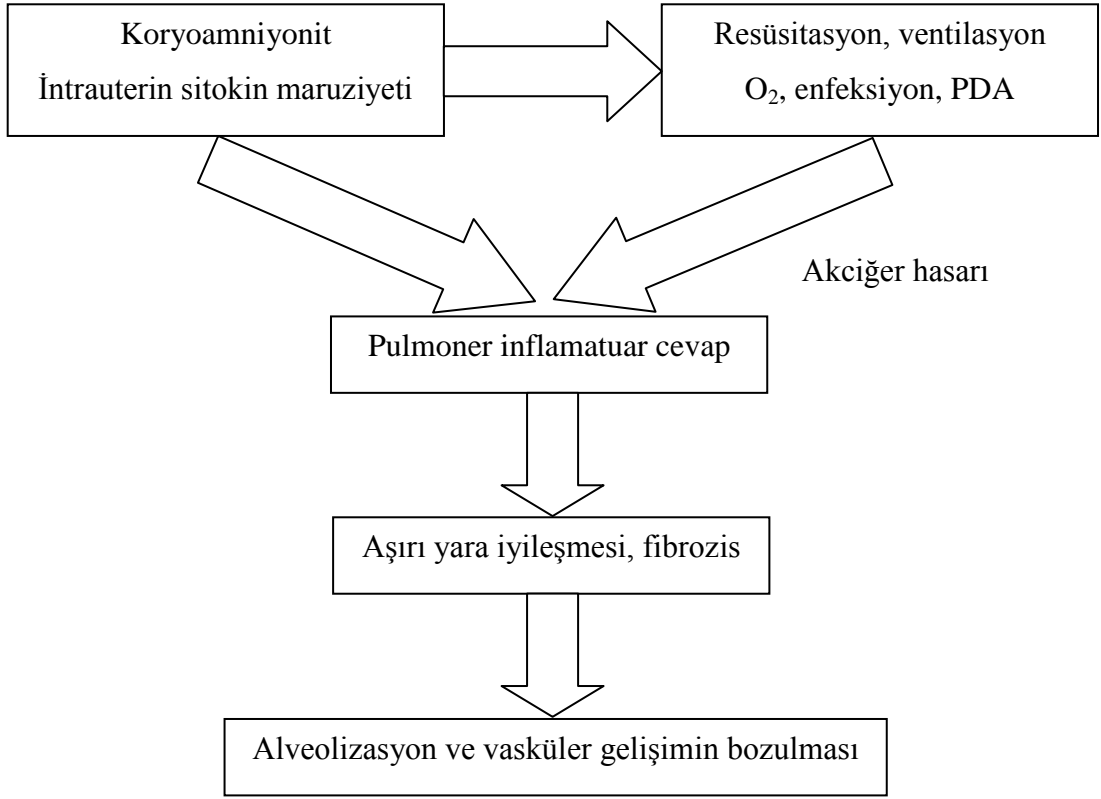
2.1.4.5. Akciğer Ödemi (PDA ve aşırı sıvı verilmesi): Yaşamın erken döneminde daha fazla sıvı alan ve diürezi olmayan RDS'li bebeklerde BPD insidansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (17, 18). Bu faktörler PDA insidansını artırabilir. Patent duktus arteriosus pulmoner kan akımını ve interstisyel akciğer sıvısını artırarak akciğer kompliansını azaltır ve havayolu direncini arttırır. Ek olarak artmış pulmoner kan akımı nötrofil marginasyon ve aktivasyonunu tetikleyebilir. Tüm bu olaylar PDA ve artmış BPD riski arasındaki ilişkinin açıklaması olabilir.

2.1.5. Bronkopulmoner Displazi Patogenezi

Son yıllarda BPD patogenezini daha iyi anlaşılmıştır. Hastalığın temelinde yukarıda bahsettiğimiz çeşitli çevresel faktörlerin (enfeksiyon, hiperoksi, barotravma/volutravma) gelişmekte olan immatür akciğer dokusu üzerine zararlı etkileri yatmaktadır. Bu faktörlerin tetiklediği zararlı inflamatuvar cevap BPD'li pretermelerde normal alveolizasyon ve pulmoner vasküler gelişimi olumsuz etkilemektedir. Sonuçta BPD'nin patolojik özellikleri olan daha az sayıda, basitleşmiş alveoller ve dismorfik pulmoner vasküler yapılar oluşur (Şekil 2.1).

2.1.6. Bronkopulmoner Displazi ve İnflamasyon

İnflamasyon bu hastalığın patogenezindeki ana mekanizmadır. Alta yatan kesin mekanizma tam bilinmese de önemli bilgiler elde edilmiştir.



Şekil 2.1. Bronkopulmoner displazi oluşumunda muhtemel patogenetik olaylar dizisi (19).

Bronkopulmoner displazide inflamatuvar yanıt, nötrofil ve makrofajlarla birlikte proinflamatuvar sitokinlerin birikimi ile karakterizedir. Proinflamatuvar sitokinlerin yanında toksik oksijen radikalleri, lipid mediatörler ve potent proteazlar akut akciğer hasarından sorumlu olabilir. Genel olarak proinflamatuvar ve antiinflamatuvar faktörler arasında dengesizlik söz konusudur ve normal akciğer gelişimini olumsuz etkilemektedir (19, 20).

Prematüre hayvanların akciğerlerinde mekanik ventilasyon başlanmasından hemen sonra çok sayıda nötrofil tespit edilebilir (21). Bronkoalveolar sıvıdaki nötrofillerin görünümü akciğer ödeminin derecesi ile uyumlu ve BPD gelişimi için erken belirteç olarak bulunmuştur (21). Ayrıca birkaç çalışmada değişik derecelerde BPD geliştiren prematürelere çok daha fazla sayıda inflamatuvar hücre gözlenmiştir (22-24). Sekresyonlardaki baskın olan hücre

nötrofillerdir ve RDS'den iyileşen bebeklerde sayıları azalırken, BPD gelişenlerde haftalarca yüksek kaldığı gösterilmiştir (22-24). Respiratuar distres sendromu gelişen bebeklerin havayolu örneklerinde makrofajların arttığı ve devamında BPD gelişen bebeklerde sayılarının azalmadığı gösterilmiştir (24, 25).

Bronkopulmoner displazili bebeklerin havayolu sekresyonlarında çeşitli kemotaktik ve kemokinetik faktörlerin varlığı gösterilmiştir (19). Bronkopulmoner displazili bebeklerde kemotaktik aktivite RDS'den iyileşenlere göre belirgin olarak daha yüksektir (23). Bu faktörler arasında C5a, LTB₄, TNF- α , IL-8, PAF, ICAM-1, fibronektin, elastin yıkım ürünleri ve 5-hidroksi-eikozatetraenoik asit bulunur (19, 23, 26-28). Bunların içinde IL-8 muhtemelen en önemli olanıdır ve BPD gelişen bebeklerin sekresyonlarında artışını nötrofil artışının izlediği gösterilmiştir (19, 29). Ayrıca monosit ve makrofaj kemotaksisini arttıran β -kemokinler de (MIP-1- α , MKP, GRP) BPD'li bebeklerde tespit edilmiştir (19). Adezyon moleküllerinin de (L-selektin, ICAM-1, E-selektin) BPD'li bebeklerin havayolu ve dolaşımında arttığı gösterilmiştir (30-32).

Mekanik ventilasyondaki RDS'li bebeklerde pıhtılaşma, fibrinoliz, kinin-kallikrein ve kompleman sisteminin spontan aktivasyonu gözlenmiştir (33, 34). Bu plazma protein sistemlerinin aktivasyonu pulmoner yatakta nötrofil ve plateletleri aktive ederek alveolokapiller membranı direk ve indirek olarak etkileyebilir.

İnflamatuar süreçte çeşitli proinflamatuvar düzenleyicilerin zararlı etkileri olabilir ve bunlar hücre bütünlüğünü bozup, apoptozisi başlatabilir. Endotel hücreleri, alveolar makrofajlar, tip II pnömositler ve fibroblastlar hipoksi, hipekoksi, bakteriyel antijenler gibi çeşitli etkenlere cevap olarak bu düzenleyicileri sentezleyebilir. Bunlar arasında önemli olanlar IL-8, TNF- α , IL-1 ve IL-6'dır. Bronkopulmoner displazi geliştiren bebeklerin havayolu sekresyonlarında protein düzeylerinin ve mRNA ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (35-37). İnterlökin-1'in preterm bebeklerde sitokin yolağındaki rolü ve muhtemel etkileri daha önce tanımlanmıştır (38) ve IL-1 reseptör antagonistlerinin sürfaktan eksik tavşanlarda aerosol şeklinde verilmesinin

akciğer hasarını ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (39). Ciddi RDS'den ölen bebeklerde TNF- α pozitif makrofajların akciğer dokusuna girişi belirgin endotelial bazal membran kaybı ve interstisyel glikozaminoglikanların yıkımı ile ilişkili bulunmuştur (40). Respiratuar distres sendromundan ölen bebeklerin alveol epitelinde artmış IL-8 mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (41). Tüm bu pro-inflamatuar sitokinlerin artışı yanında preterm bebeklerde inflamasyonu dengeleyecek anti-inflamatuar IL-10 ekspresyonu yeterli olmayabilir ve birçok RDS bebeğın havayolu örneklerinde tespit edilememiştir (36).

Mekanik ventilasyonun neden olduğu barotravma ve volutravmanın normal ya da septik akciğerlerdeki inflamasyon üzerine belirgin etkileri vardır ve lokal ya da sistemik inflamatuvar cevabı başlatabilir ya da arttırabilir (42). Epidemiyolojik veriler koryoamniyonit ve BPD gelişimi arasındaki güçlü ilişkiyi göstermiştir. Amniyotik sıvıda artmış proinflamatuar sitokin düzeyi BPD için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (43). Koryoamniyonit sırasında fetal kord kanında IL-1 ve IL-6 düzeylerinin artışı da BPD gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak bulunmuştur (44). Ayrıca koryoamniyonitli fetusların akciğer dokularında da artmış inflamatuvar yanıt gösterilmiştir. Belirgin inflamatuvar hücre infiltrasyonunun yanında artmış IL-8, mRNA ekspresyonu fetal akciğerlerde tespit edilmiştir (41). Benzer sonuçlar hayvan çalışmalarında da elde edilmiştir. Genel olarak antenatal enfeksiyonlar, akciğerlerde minimal hasar verici olaylar sonrasında yoğun inflamatuvar cevaba neden olabilir. Erken başlangıçlı bakteriyel enfeksiyonlar ve BPD gelişimi arasındaki ilişkinin olduğu da gösterilmiştir (45). Sistemik nazokomiyal enfeksiyonlar BPD için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır (16). Bu enfeksiyonlar sırasında duktus kapanmasını etkili biçimde önleyebilen 6-ketoprostoglandin F_{1 α} arttığı gösterilmiştir (7). Ayrıca enfeksiyöz ve inflamatuvar düzenleyicilerin hemodinamik etkileri de duktus kapanmasını etkileyebilir (19).

Güçlü bir nötral proteinaz olan elastaz, nötrofillerin azurofilik granüllerinde depolanır ve preterm bebeklerin akut ve kronik akciğer hasarında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (19). Normal şartlarda α_1 -proteinaz inhibitörü tarafından inaktive edilir. Bazı RDS ve BPD'li bebeklerin

akciğerler sekresyonlarında artmış elastaz ve azalmış α_1 -PI düzeyleri göstermiştir (46, 47). Bu ikisi arasındaki dengesizlik pretermdeki akciğer hasarının önemli öğelerinden olabilir (48). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, preterm bebeklerin sekresyonlarında serbest demir ve hidrojen peroksit varlığının yoğun hidrojen radikal oluşumuna yol açtığı gösterilmiştir. Ventile edilen bebeklerin çoğunun havayolu örneklerinde yüksek konsantrasyonda serbest demir bulunmuştur (49). Serbest elastazın makrofajları, hidrojen peroksit gibi toksik oksijen radikallerinin salınımını arttırmak için uyardığı gösterilmiştir (50). Bronkopulmoner displazili bebeklerin makrofajları kontrol hücrelere göre daha fazla hidrojen peroksit üretmektedir (25). Oksidatif stresin ekstrasellüler matriksi yıkan çeşitli matriks metalloproteinazların aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (51, 52).

2.1.7. BPD Patolojisi

Erken doğum gerçekleştiğinde yukarıda belirttiğimiz gibi preterm bebeğin akciğeri henüz gelişimini tamamlamamıştır. Bu akciğerleri dış etkenlere duyarlı yapar ve nitekim bu faktörleri oluşturduğu hasar ve inflamasyon sonucunda BPD'ye patolojik değişiklikler gözlenebilir. Akciğerlerde aşırı havalanma, atelektazi alanları görülür. Bronkopulmoner displazinin ilk tanımlanan formunda daha ciddi lezyonlar görülmüştür. Tedavideki gelişmeler sonucunda artık daha sıklıkla gördüğümüz yeni BPD'de patolojik bulgular daha farklı ve daha hafiftir. Bu nedenle patolojik lezyonları eski ve yeni BPD'ye ait bulgular olarak ayırabiliriz (Tablo 2.3).

Eski BPD'de ciddi havayolu epitel lezyonları (hiperplazi ve skuamoz metaplazi) vardır ve havayolu düz kas dokusu hiperplaziktir. Yoğun fibroproliferasyon, belirgin vasküler hipertansif lezyonlar olabilir ve internal yüzey alanı ve alveol sayısı azalmıştır.

Yeni BPD patolojik değişiklikleri klinikle uyumlu olarak daha hafiftir. Belirgin özellik sayıları azalmış azalmış, geniş ve basitleşmiş alveollerdir (alveol hipoplazisi, azalmış asiner kompleksite). Arteryal ve arteriolar vasküler lezyonlar daha hafiftir. Kapiller yapılar azalmış ve dismorfiktir. Değişken derecede interstisyel fibroproliferasyon ve havayolu düz kas

hiperplazisi gözlenir. Havayolu epitel lezyonları göz ardı edilebilir derecede azdır.

Tablo 2.3. Eski ve yeni BPD patolojik özellikleri.

Eski BPD	Yeni BPD
Atektazi ve aşırı havalanma alanları	Alveoller az sayıda, geniş ve basittir
Ciddi epitel lezyonları	Havayolu epitel lezyonları azdır
Ciddi düz kas hipertrofisi	Değişken derecede düz kas hipertrofisi
Aşırı fibroproliferasyon	Değişken derecede fibroproliferasyon
Belirgin vasküler hipertansif lezyonlar	Vasküler lezyonlar daha hafiftir
Azalmış alveol sayısı ve alveol iç yüzeyi	Az ve dismorfik kapillerler

2.1.8. Bronkopulmoner Displazi Tedavisi

Hastalığın patogenezinin daha iyi anlaşılması ve yeni ventilasyon teknikleri ile beraber hastalığın tedavisinde önemli gelişmeler sağlanmıştır. Mevcut tedaviler hastalığın şiddetini azaltsa da küçük prematürelere sıklıkla karşımıza çıkmaktadır ve önemli bir morbidite nedenidir.

İdeal olanı hastalığın önlenmesidir . Erken doğumların önlenmesi tek etkili koruyucu yöntemdir. Her ne kadar çalışmalar BPD için faydasının olmadığını ya da çok az faydasının olduğunu göstermiş olsa da antenatal steroidler halen akciğer matürasyonu için tek ve en etkili tedavidir. Hastalığın kompleks yapısı düşünüldüğünde bir çok faktör bu tedavinin faydalarını gizleyebilir ve bu sonuç şaşırtıcı sayılmaz (53). Antenatal ve postnatal inflamasyonun BPD patogenezinde rolü nedeniyle intramniyotik enfeksiyonlarda antibiyotik kullanımı önerilmiştir. Fakat antenatal ve postnatal antibiyotiklerin faydası gösterilememiştir (54).

BPD'deki terapötik yaklaşımlar tedavinin zamanına göre üç faz olarak sınıflandırılabilir. Erken faz doğumdan sonraki ilk haftayı kapsar. Gelişme fazı postnatal birinci hafta ile gestasyonun 36. haftası arasında verilen tedavileri içerir. Hastalığın olduğu gestasyonun 36. haftasından sonraki döneme ise gelişmiş faz denir. Fazlar arasındaki tedaviler bazı yönlerden farklılık gösterir.

2.1.8.1. Ventilasyon Stratejileri: Hastalığın önlenmesi ve tedavisindeki en önemli yaklaşım ventilasyon stratejileridir. Amaç hastayı hiperoksi ve volutravma/barotravmadan korumaktır. Hasta tetiklemeli

ventilasyonun faydası gösterilememiştir (55, 56). En doğru olanı ventilasyondan kaçınmaktır. Erken sürfaktan verilmesinin ve erken NCPAP'ın

Tablo 4.2. Fazlara göre BPD tedavisi.

Erken faz	Gelişme fazı	Gelişmiş faz
Oksijen tedavisi	Oksijen tedavisi	Oksijen tedavisi
Ventilasyon stratejisi	Ventilasyon stratejisi	Ventilasyon stratejisi
Metilksantinler	Metilksantinler	Steroidler
Vitamin A	Vitamin A	Diüretikler
Sıvı tedavisi	Steroidler	β -agonistler
Beslenme	Diüretikler	Antikolinergikler
	Beslenme	Beslenme
		İmmünizasyon

faydası gösterilmiştir (57). Ventilasyon stratejisinin ana amacı hastaya mümkün olduğunca düşük basınç ve hacimde solunum desteği vermektir.

2.1.8.2. Oksijen Tedavisi: Temel amaç hastanın oksijen saturasyonunu kabul edilebilir düzeyde tutacak şekilde, mümkün olduğunca az oksijen vermektir. Hedef oksijen saturasyonu için önerilen değerler farklılık gösterse de genel olarak %95 altında olması önerilmektedir (58).

2.1.8.3. İlaçlar: Metilksantinler başarılı ekstübasyon oranını arttırmakta ve BPD riskini azatmaktadır (59, 60). Az da olsa Vitamin A tedavisinin faydası gösterilmiştir (61, 62). Deksametazon ventilatörden ayırmada etkilidir. Fakat erken kullanımı nörolojik sekel riskini arttırmaktadır (63-65). Furosemidin günlük ya da gün aşırı kullanımı akciğer fonksiyonlarında geçici düzelme sağlamaktadır (66). Spironolakton ve tiazidlerin kronik kullanımı akciğer fonksiyonunu düzeltmekte ve oksijen gereksinimini azaltmaktadır (66). Beta agonistlerin tek başına ya da antikolinergikler ile kombine kullanımı kompliansı arttırıp ve akciğer direncini azaltarak geçici rahatlama sağlamaktadır (64, 67). Fakat BPD insidansı ve şiddeti üzerine etkileri yoktur (68).

2.1.8.4. Sıvı Kısıtlaması ve Beslenme: Sıvı kısıtlaması akciğer ödemi ve muhtemelen PDA riskini azaltarak BPD azaltabilir (17, 18, 69).

Yeterli ağırlık artışının BPD üzerine olumlu etkileri vardır ve bu bebeklerde yeterli enerji alımı sağlanmalıdır.

2.1.8.5. Diğer İlaçlar: İki randomize kontrollü çalışmayı kullanan bir metanalizde inozitol kullanımının mortalite ve BPD insidansında belirgin azalma sağladığı gösterilmiştir (70). Makrolit antibiyotiklerin faydası gösterilememiştir (20). N-asetil sistein denenmiş fakat faydası bulunamamıştır (20).

Antiinflamatuvar protein olan Clara Cell 10-kilodalton protein kullanımında başlangıç olarak umut verici sonuçlar elde edilmiştir (20).

Anti-oksidan süperoksit dismutazın, 27 hafta altın doğanlarda hastaneye yatışları ve acil servis başvurularını azatlığı gösterilse de prognoz üzerine faydası gösterilememiştir (71).

Hastalığın kompleks yapısı düşünüldüğünde tek bir tedavinin başarılı olması muhtemel değildir. Bir çok farmakolojik tedavi ile birlikte yeterli beslenme, uygun sıvı verilmesi, optimal oksijen satürasyonunun sağlanması ve ventilasyon stratejileri bu hastalığın tedavisindeki hedefler olarak düşünülebilir.

2.1.9. BPD Prognozu

Hastalığın uzun dönem prognozu ilgili çoğu çalışma antenatal steroid ve sürfaktan kullanımından öncedir. Hastaların tekrar hastaneye yatış oranı en çok ilk bir yaştadır (72, 73). Solunum semptomları, iki yaşımdan okul öncesi döneme, adölesan hatta erken erişkinliğe kadar uzanabilir (58, 74, 75). Prematürite ya da BPD şiddetinin, solunum semptomlarının devamlılığını etkileyip etkilemediği bilinmemektedir.

2.2. Omega-3 Yağ Asitleri

2.2.1. Poliansatüre Yağ Asitleri (PUFA'lar)

Çoklu doymamış yağ asitleri birden fazla çift bağlı karbon zinciri içeren yağ asitleridir. Hücre membranının iç tabakasında yer alırlar ve hücre mebranının akışkanlığını ve fonksiyonunu etkilerler (76). Plazma lipoprotein partikülleri içerisinde fosfolipidler, trigliseridler ve kolesterol esterlerinin ana

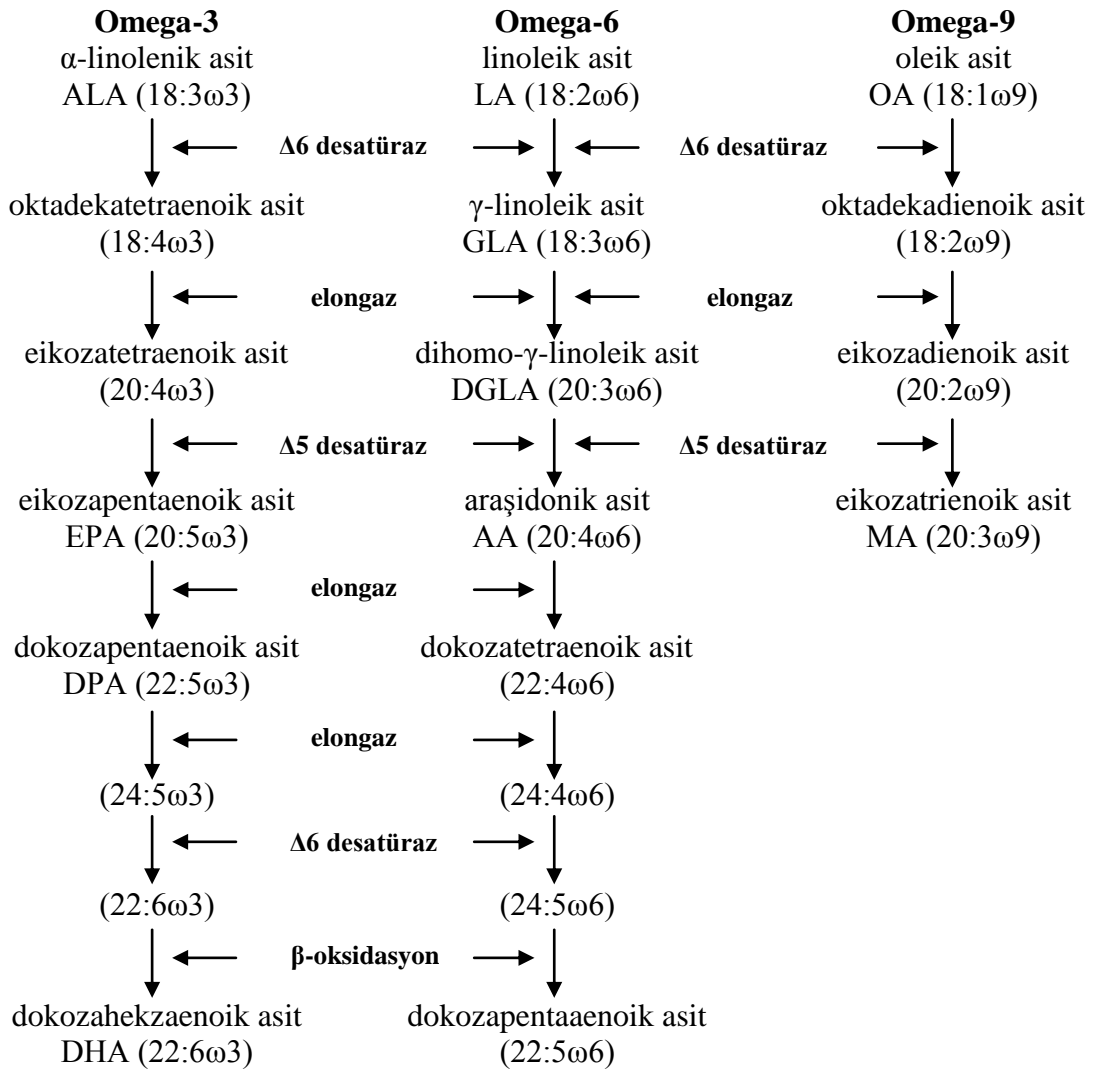
unsurudurlar. Omega-3, omega-6 ve omega-9 olarak üç ana PUFA ailesi mevcuttur ve hepsi aynı grup enzimler tarafından metabolize edilirler. Bunlardan sadece omega-9 PUFA'lar memeli hücrelerince sentez edilebilir. Çoklu doymamış yağ asitleri birçok biyoaktif metabolit üretirler (Şekil 2.3). Oluşan bu metabolitler inflamatuvar cevabı düzenler, sekonder haberci olarak görev yaparlar ve platelet aggregasyonu ve vasküler tonus gibi çeşitli fonksiyonları düzenlerler.

2.2.2 Esansiyel Yağ Asitleri (EFA'lar)

Esansiyel yağ asitleri büyüme, gelişme ve organ fonksiyonları için esansiyel besinlerdir. Memeliler tarafından sentezlenemez bu yüzden diyetle alınması zorunludur. Alfa-linolenik asit (ALA, omega-3) ve linoleik asit (LA, omega-6) esansiyel yağ asitleri olarak kabul edilirler (Şekil 2.2). Esansiyel yağ asitlerinden sentezlenebilen ürünlerden fizyolojik önemi olanlar araşidonik asit (AA, omega-6), dokozahekzaenoik asit (DHA, omega-3) ve eikozapentaenoik asittir (EPA, omega-3). Bu ürünler birçok fizyolojik ve biyokimyal süreci düzenleyen eikozanoidler ve prostanooidlerin öncülleridir. Araşidonik asit, lökotrien 4 serisi ve prostaglandin 2 serisi için substrat görevi görürken, EPA ve DHA, lökotrien 5 ve prostaglandin 3 serisi için substrat olarak görev yapar.

2.2.3 Omega-3 Yağ Asitleri

Bu grubun en önemli iki üyesi EPA ve DHA'tir. Alfa-linolenik asitten sentezlenirler ve ayrıca diyetten de alınabilirler. Diyetle balık ve balık yağında bol miktarda bulunur. Omega-6 kaynaklı eikozanoidlerin aksine omega-3 kaynaklı eikozanoidlerin daha az proinflamatuvar ya da antiinflamatuvar olduğu gösterilmiştir (77-79). Ayrıca EPA'nın rezolvin E1'in öncülü olduğu gösterilmiştir. Rezolvin E1 inflamatuvar cevabı azaltmada önemli rol oynayan bir lipid düzenleyicidir. Hücre yüzey adezyonunu üzerinden lökosit ekstravazasyonunu düzenler, lökosit yuvarlanmasını azaltır ve platelet agregasyonunu azaltır (80, 81). Dokozahekzaenoik asit, nöronları ve retinal hücreleri oksidatif stresin tetiklediği apoptozdan koruduğu gösterilmiş bir lipid düzenleyici olan nöroprotektin D1'in öncülüdür (82).



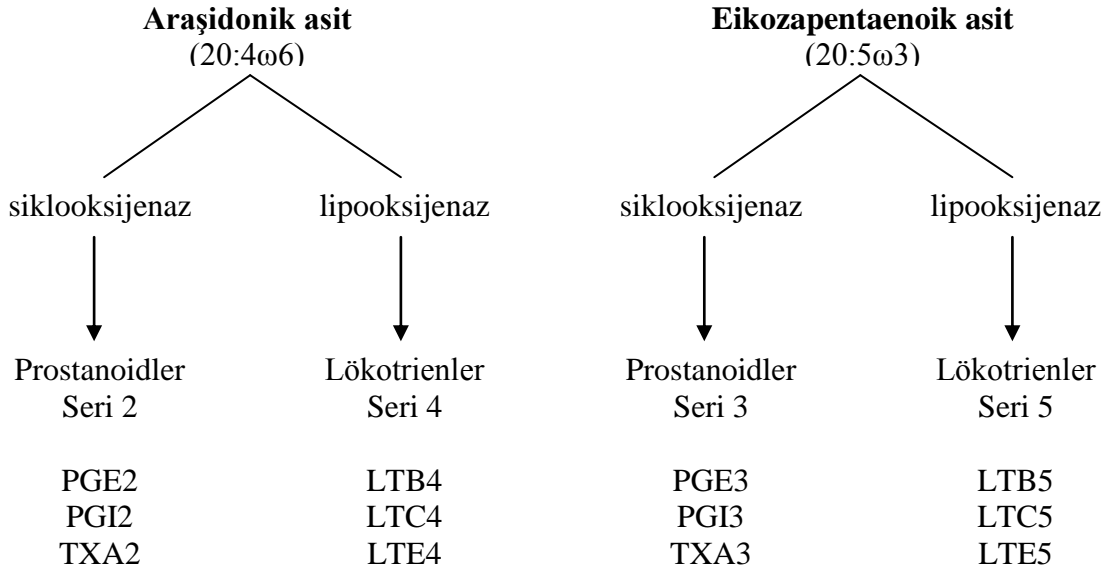
Şekil 2.2. Omega-3, omega-6 ve omega-9 poliansatüre yağ asitlerinin sentez ve metabolizması (83)

2.2.4 Omega-3 Yağ Asitleri ve İnflamasyon

2.2.4.1. Eikozanoidler: Yağ asitleri ve inflamasyon arasındaki anahtar ilişki hücre membranındaki 20 karbonlu PUFA'lardan üretilen eikozanoidlerdir (84) (Şekil 2.3). Batı tipi diyet tüketen insanların inflamatuvar hücrelerinin membran fosfolipidlerinin yağ asitleri %20'si oranında n-6 PUFA araşidonik asit içerir. Eikozapentaenoik asitte bu oran %1'in altındadır. Bu yüzden genellikle araşidonik asit eikozanoid sentezi için dominant substrattır. Hücre membranındaki araşidonik asit fosfolipaz A2 enzimi tarafından serbest bırakılarak eikozanoid sentezi için substrat görevi görür. İnflamatuvar

hücrelerdeki siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimleri inflamatuvar uyarıya cevap olarak araşidonik asitten seri 2 prostaglandinleri ve seri 4 lökotrienleri üretebilirler. Monosit ve makrofajlar büyük miktarda PGE₂ ve PGF_{2α} üretebilir. Nötrofiller orta miktarda PGE₂ üretirken, mast hücreleri PGD₂ üretebilir. Lökotrien C₄, LTD₄ ve LTE₄, mast hücreleri, bazofiller ve eozinofiller tarafından üretilme eğiliminde iken nötrofil, monosit ve makrofajlar LTB₄ üretir. Prostaglandin E₂'nin çeşitli proinflamatuvar etkileri vardır. Ateş, vasküler permeabilitede artış, vazodilatasyon iyi bilinen etkileridir. Diğer ajanların neden olduğu ağrı ve ödemi artırır. Siklooksijenaz 2'yi uyararak kendi üretimini arttırabilir ve ayrıca makrofajlar tarafından IL-6 üretimini arttırır (85). Lökotrien B₄ vasküler geçirgenliği arttırır, lökositler için potent kemotaktik ajandır, lizozomal enzimlerin salınımını arttırır. Reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu ve TNF-α, IL-1, IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırır. Lökotrien C₄, LTD₄ ve LTE₄ hipersensitiviteyi uyarır, vasküler geçirgenliği arttır ve bronkokonstriktördür (84).

Eikozanoidlerin öncülleri



Şekil 2.3. Araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asitten eikozanoid sentezi (83)

Omega-3 (EPA ve DHA) tüketiminin artması, bunların inflamatuvar hücre membran fosfolipidlerindeki oranlarının artmasına neden olurken, araşidonik asit oranı azalır. Böylece substrat azalmasına bağlı olarak araşidonik kaynaklı eikozanoidlerin üretiminde azalma olabilir (86-92). İnsan diyetine balık yağı ilavesinin inflamatuvar hücrelerde PGE₂, LTB₄, LTE₄, TXB₂, ve 5-HETE üretiminde azalma ile sonuçlandığı gösterilmiştir (86, 88). Ayrıca EPA, LOX ve COX enzimleri substrattır ve seri 3 prostoglandinler ile seri 5 lökotrienlerin üretimini artırır. İnsan diyetine balık yağı ilavesinin inflamatuvar hücrelerde LTB₅, LTE₅ ve 5-hidroksieikozapentaenoik asit üretiminde artış ile sonuçlandığı gösterilmiştir (86, 88). Prostoglandin E₃ oluşumunu göstermek zor olsa da EPA kaynaklı eikozanoidler AA kaynaklı olanlara göre sıklıkla daha az potenttir. Lökotrien B₅, LTB₄'e göre 10-100 kat daha az potent nötrofil kemotaktik ajandır. Prostoglandin E₃ fibroblastlarda COX-2 gen ekspresyonunu ve makrofajlarda IL-6 üretimini uyarmada PGE₂'e göre daha az potenttir.

Ayrıca son çalışmalarda yeni grup düzenleyiciler olan E-seri rezolvinlerin COX-2/LOX tarafından EPA'dan oluşturulduğu gösterilmiştir ve antiinflamatuvar etkilerinin olduğu düşünülmektedir (84). Ek olarak DHA'dan oluşan D-serisi rezolvinler de (dokozatrienler ve nöroprotektinler) COX-2/LOX tarafından bazı koşullar altında oluşturulur ve antiinflamatuvar oldukları düşünülmektedir (84).

2.2.4.2. Eikozanoid Üretimine Etkileri Dışındaki Antiinflamatuvar Etkileri: Araşidonik asit metabolizması üzerine antagonist etkileri anahtar rol oynasa da birçok farklı antiinflamatuvar etkileri olabilir ve bu etkiler eikozanoid üretimi ile bağlantılı ya da bağımsız olabilir.

Uzun zincirli n-3 PUFA'lar lökositler ve endotel hücreleri arasındaki etkileşimde rol alan hücre yüzey adezyon molekülerinin ekspresyonunu etkiler ve dolayısıyla lökositlerin inflamasyon bölgesine infiltrasyonunu etkilerler (93). Bu ilk olarak Caterina ve ark. (93) tarafından gösterilmiştir ve insan venöz endotel hücrelerinin DHA ile kültüründe, sitokinlerin uyardığı E-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 yüzey ekspresyonunun belirgin olarak azaldığı ve monositlerin ligand bağımlı adezyonunun bozulduğu tespit edilmiştir.

Ayrıca EPA'nın, insan venöz endotel hücrelerinde bu üç adezyon molekülünün endotoksinin indüklediği ekspresyonunu inhibe ettiği ve monosit bağlanmasını azalttığı gösterilmiştir (94). Dietsel balık yağının, sıçan makrofajlarının yüzeyinde ICAM-1 ekspresyonunu ve daha yaşlı bireylerde dolaşımdaki çözünür VCAM-1 düzeyini azalttığı bildirilmiştir (95, 96).

Uzun zincirli n-3 PUFA'lar, PGE₂ tarafından düzenlenen inflamatuvar sitokinlerin sentezini de etkileyebilir. Hücre kültür çalışmalarında hem EPA, hem de DHA'nın monositler tarafından TNF- α ve IL-1 β ile venöz endotel hücreleri tarafından IL-6 ve IL-8 üretimini inhibe edebildiği gösterilmiştir (97-99). Balık yağı ile beslemenin, kemirgen makrofajlarında in vitro TNF- α , IL-1 β ile IL-6 üretimini azalttığı ve farelerde deneysel endotoksemide bu sitokinlerin dolaşımdaki konsantrasyonunu azalttığı bildirilmiştir (100).

2.2.4.3. Omega-3 yağ asitleri ve İnflamatuvar Gen Ekspresyonu: De Caterina ve ark. (93) DHA'nın, VCAM-1 gen ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Sığır kondrosit kültürlerinde EPA ve DHA'nın sitokin aracılığı COX-2, TNF- α ve IL-1 α gen ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (101). Omega-3 yağ asitlerinin inflamatuvar gen ekspresyonu üzerine olan etkileri NF κ B transkripsiyon faktörünün inhibisyonu ile olmaktadır (84).

2.2.5. Klinik Uygulamalar

İnflamasyon insanlardaki birçok hastalığın patogenezinde rol almaktadır. Uygunsuz ya da aşırı immün yanıt çeşitli vücut bölümlerine zararlı olabilir. Omega-3 yağ asitlerinin anti-inflamatuvar etkileri düşünüldüğünde, bunların mutlak ya da rölatif eksikliği inflamatuvar süreçte katkıda bulunabilir. İnflamatuvar hastalığı olanlara diyetsel desteğinin fayda sağlayacağı teorik olarak düşünülebilir. Muhtemel terapötik hedefler olarak romatoid artrit, Crohn hastalığı, ülseratif kolit, SLE, kistik fibrozis, tip 1 DM, astım, alerjik hastalıklar, psöriazis, travma ve cerrahi sonrası gibi inflamatuvar hastalıklar gösterilebilir. Bu hastalıkların çoğunda omega-3 yağ asitleri çalışılmış ve bir kısmında anti-inflamatuvar etkileri gösterilmiştir. Fakat klinik fayda sadece romatoid artritte gösterilmiş, diğer hastalıklardaki veriler halen yetersizdir (84).

Bronkopulmoner displazi inflamatuvar bir hastalıktır ve inflamasyon hastalığın oluşmasında ana mekanizmayı oluşturur. Yapılan çalışmalarda, inflamasyonun hücreler ve düzenleyicileri içeren birçok bölümünün bu hastalığın patogeneğinde rol aldığı gösterilmiştir. Omega-3 yağ asitlerinin gerek eikozanoidler ile gerek eikozanoid dışı antiinflamatuvar etkileri bilinmektedir. Bu antiinflamatuvar etkilerinin altında yatan mekanizmalarının çoğunun BPD patogeneğinde rol aldığı gösterilmiştir. Bu etkileri göz önünde bulundurulduğunda BPD'nin önlenmesi ya da şiddetinin azaltılması amacıyla kullanılmasının hastalara fayda sağlayabileceği düşünülebilir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi (YÜDETAM) ve GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Laboratuvarlarında Mart 2013 ile Mayıs 2013 tarihleri arasında yapıldı. Yeditepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulunun 02.02.2013 tarih ve 307 sayılı onayı ile çalışmaya başlandı.

3.1. Deney Hayvanları

Deney hayvanı olarak yenidoğan sıçanlar kullanıldı. Gebe Sprague-Dawley sıçanları ile çalışmaya başlandı. Bütün sıçanlar aynı ortamda, her anne ve yavruları için ayrı olan kafeslerde kaldı (Resim 3.1). Yavrular anneleri tarafından emzirildi. Annelerin su ve gıda alımı serbest bırakıldı. Saat 07.00 ve 19.00 arasında ışık sağlandı. Sıçan yavruları plasebo, yüksek doz omega-3 ve düşük doz omega-3 olmak üzere üç gruba ayrıldı. Doğumdan sonra tüm yenidoğan sıçanlar iki gün süreyle postnatal adaptasyonun sağlanması amacıyla oda havasında anneleri beraber kaldı. Postnatal 3. günden itibaren tüm sıçanlar hiperoksik kafes içerisinde tutuldu.

Plasebo grubu : 2 hafta hiperoksi + Serum fizyolojik (n:7)

Düşük doz Omega-3 grubu : 2 hafta hiperoksi + Düşük doz Omega-3 (n:7)

Yüksek doz Omega-3 grubu: 2 hafta hiperoksi + Yüksek doz Omega-3 (n:8)



Resim 3.1. Deney hayvanları kafesi

3.2. Hiperoksik Ortamın Sağlanması

Postnatal 3. günden itibaren tüm sıçanlar %90-95 O₂ içeren 200 litrelik pleksiglas hiperoksik kafes içerisine yerleştirildi (Resim 3.3). Hiperoksi 1 lt/dk hızında %100 O₂ verilerek sağlandı (Resim 3.2). Kafes içi O₂ konsantrasyonu oksijen analiz cihazı (MX300-I, Teledyne Analytical Instruments, CA, USA) ile günde üç kez kontrol edildi. Oksijen toksisitesini önlemek için anne sıçanlar günde dört saat oda havasında tutuldu. Omega-3 dozunu hesaplamak için 2 günde bir tüm sıçanların vücut ağırlığı ölçüldü. Çalışma süresi olan 14 gün boyunca sıçanlar hiperoksik kafes içerisinde tutuldu.



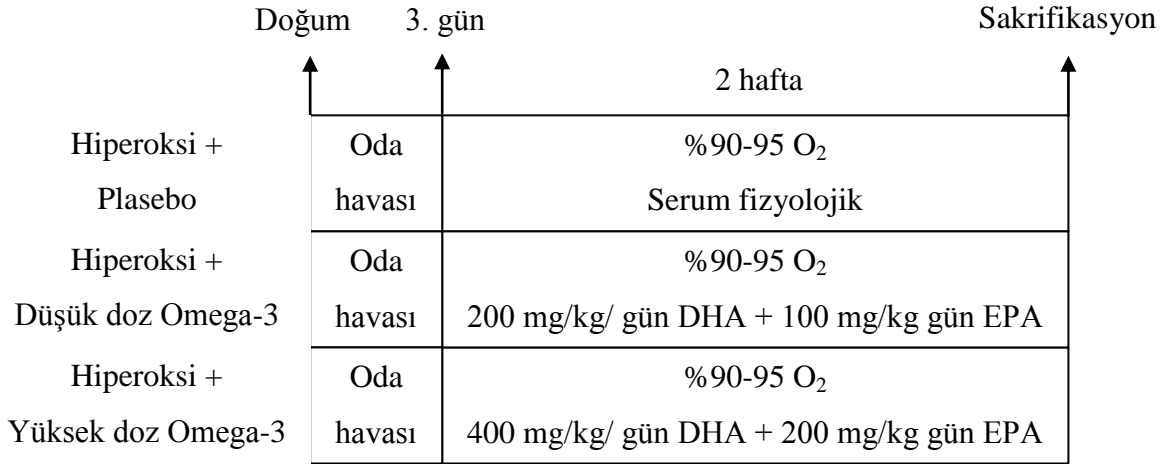
Resim 3.2. %100 oksijen kaynağı



Resim 3.3. Hiperoksik kafes

3.3. Omega-3 Yağ Asidi Verilmesi

Omega-3 yağ asidi numunesi olarak 300 mg/ml omega-3 (200 mg DHA, 100 mg EPA) içeren solüsyon (O-Mega-Zen³+EPA liquid, NuTru, USA) kullanıldı. Çalışmanın ilk gününden itibaren yüksek doz omega-3 grubuna 600 mg/kg/gün (400 mg/kg/gün DHA ve 200 mg/kg/gün EPA), düşük doz omega-3 grubuna 300 mg/kg/gün omega-3 (200 mg/kg/gün DHA ve 100 mg/kg/gün EPA) 14 gün süreyle ağızdan damlatma yoluyla tek dozda verildi. Plasebo grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik aynı yöntemle verildi.



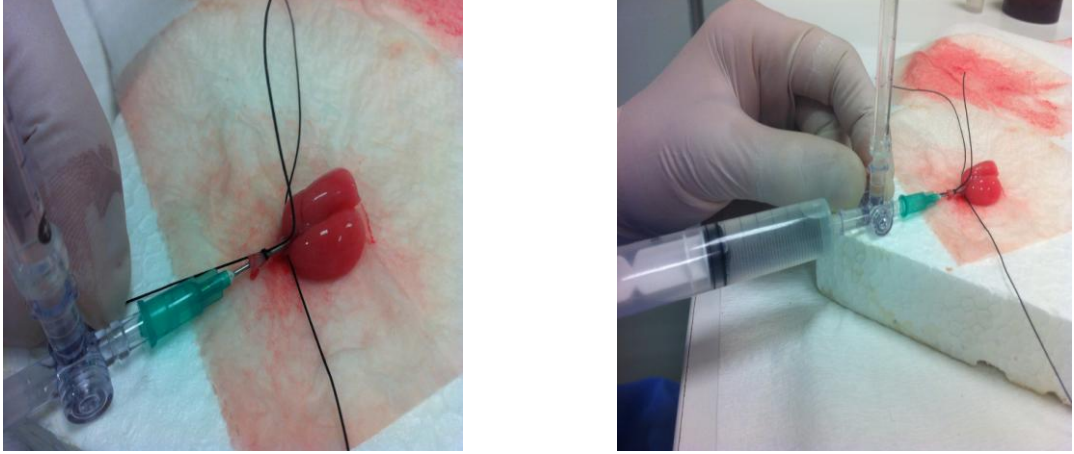
Şekil 3.1. Deney protokolünün şematik görünümü

3.4. Dokularının Hazırlanması

14 gün süren çalışmanın sonunda tüm sıçanlara intraperitoneal ketamin (50 mg/kg) ve ksilazin (50 mg/kg) anestezisi verilerek torakotomi yapıldı. Her iki akciğer ve kalp görünür hale getirildi. Aorta ve vena kava inferior kesildi. Sol ventrikül insizyonunu takiben sağ ventrikül kanüle edildi. 3 ml PBS 25 cmH₂O sabit basınçta verilerek akciğer perfüzyonu yapıldı. Akciğerler trakea ile beraber göğüs boşluğundan çıkarıldı. Trakea kanüle edilerek tamponlanmış paraformaldehit solüsyonu (PBS içinde çözülmüş %4 paraformaldehit, pH:7.4) ile 25 cmH₂O sabit basınçta 15 dakika süreyle instilasyon yapıldı (Resim 3.4). İstilasyon işleminin tamamlanmasından hemen sonra kanül çıkarılarak trakea bağlandı. Akciğerler tespit için formaldehit solüsyonu içerisine yerleştirildi. Dokuların en az bir gün oda ısısında paraformaldehit solüsyonu içerisinde kalmasından sonra sol akciğerlerler kullanılarak 4 mikron kalınlığında parafin kesitler alındı. Her hayvandan 10 preparat hazırlandı. Preparatlar HE ile boyanarak ışık mikroskopisi ile incelendi.

3.5. Akciğer Morfometrisi

Örnekler GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Laboratuvarı tarafından hazırlanarak incelendi. Çalışmaya katılan patoloğa çalışma öncesinde çalışmanın amacı ve gruplar hakkında bilgi verilmedi. Preparatlar



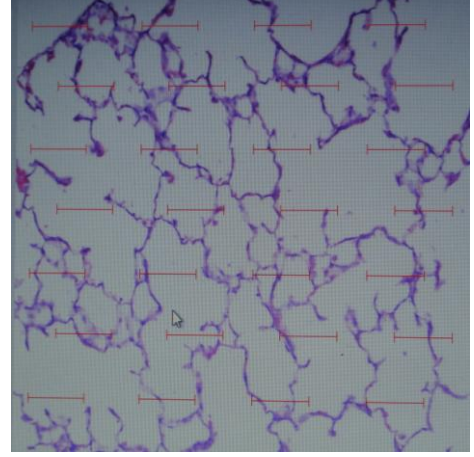
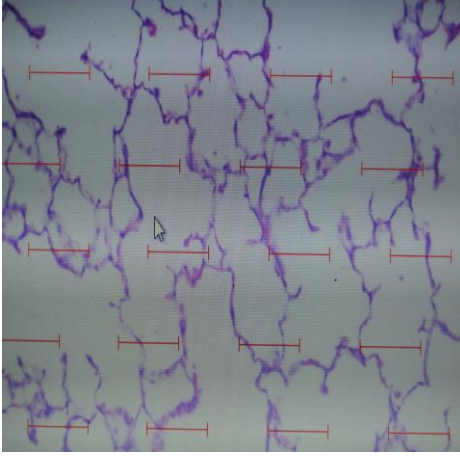
Resim 3.4. Akciğerlerin sabit basınçta instilasyonu

yüksek rezolüsyonlu ışık mikroskobu (Nikon Eclipse E600) ile incelenerek x200 büyütmede fotoğraflar çekildi. Görüntüler JPEG dosyaları olarak kaydedildi. Elde edilen görüntüler bilgisayarlı ortama aktarıldı. Fotoğraflar Weibel tarafından tanımlanan yöntemle stereolojik inceleme için kullanıldı (102, 103). Stereolojik inceleme için stereoloji yazılımı (www.stepanizer.com) kullanılarak ortalama kord uzunluğu (L_m), alveolar yüzey alanı (S_A) ve alveol duvar kalınlığı (W_t) ölçüldü. Ortalama kord uzunluğu her biri 21,1939 μm uzunluğundaki 4x8 çizgi gridler kullanılarak (Resim 3.5), $L_m = 2 \times d \times P_A/I_A$ formülü ile hesaplandı (101). Alveolar yüzey alanı 4x8 çizgi gridler (Resim 3.6, 3.7) ve 10x10 nokta gridler (Resim 3.6) kullanılarak, $S_A = S_{(v)}(\text{alvepi}/\text{par}) \times V_{(v)}(\text{par}/\text{lung}) \times V(\text{lung})$ formülü ile hesaplandı (103). Alveol duvar kalınlığı hesaplanmasında ise $W_t = VD_t \times L_m$ formülü kullanıldı (104).

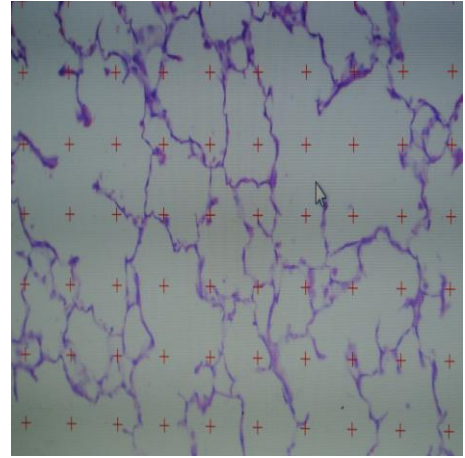
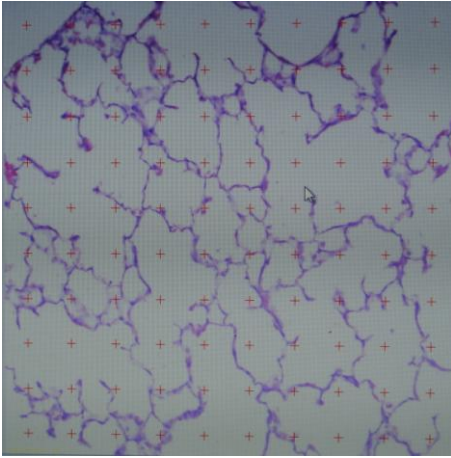
3.6. İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen ham bilgilerin veri haline dönüştürülmesi ve analizi için IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences for Windows 20) istatistik yazılım paket programı kullanıldı. Verilerin analizi yapılırken tanımlayıcı istatistiklerden aritmetik ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri kullanıldı. Araştırma verilerinin normal dağılıma uygunluğuna Kolmorov-Smirnov testi ve grafiksel gösterimlerle bakıldı. Verilerin çoğu normal dağılıma uygunluk gösterdiği için ANOVA

(posthoc:Bonferroni), diğ erleri için Kruskal Wallis ile Mann Whitney U testi kullanıldı. Sonuç lar %95'lik güven aralı ğ ında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değ erlendirildi.



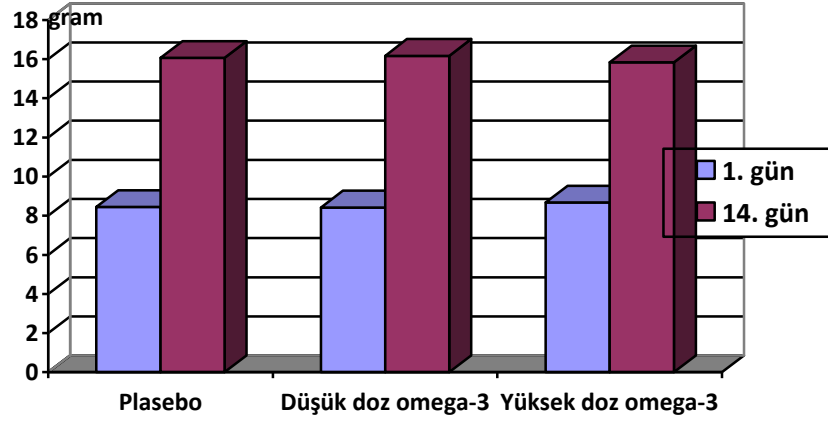
Resim 3.5. Ç izgi gridler



Resim 3.6. Nokta gridler

BULGULAR

Çalışmada plasebo grubunda yedi, düşük doz omega-3 grubunda yedi ve yüksek doz omega-3 grubunda sekiz olmak üzere toplam 22 yenidoğan sıçan kullanıldı. Çalışma boyunca ölen sıçan olmadı. Çalışma başlangıcında plasebo grubunun ortalama ağırlığı $8,45 \pm 0,8$ g, düşük doz omega-3 grubunun ortalama ağırlığı $8,42 \pm 0,93$ g ve yüksek doz omega-3 grubunun ortalama ağırlığı ise $8,67 \pm 1,17$ g olarak hesaplandı. Gruplar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Çalışmanın sonundaki ortalama vücut ağırlıkları sırasıyla $16,07 \pm 3,44$ g, $16,17 \pm 3,53$ g, $15,83 \pm 3,53$ gr olarak hesaplandı ve gruplar arasında belirgin farklılık gözlenmedi (Şekil 4.1).

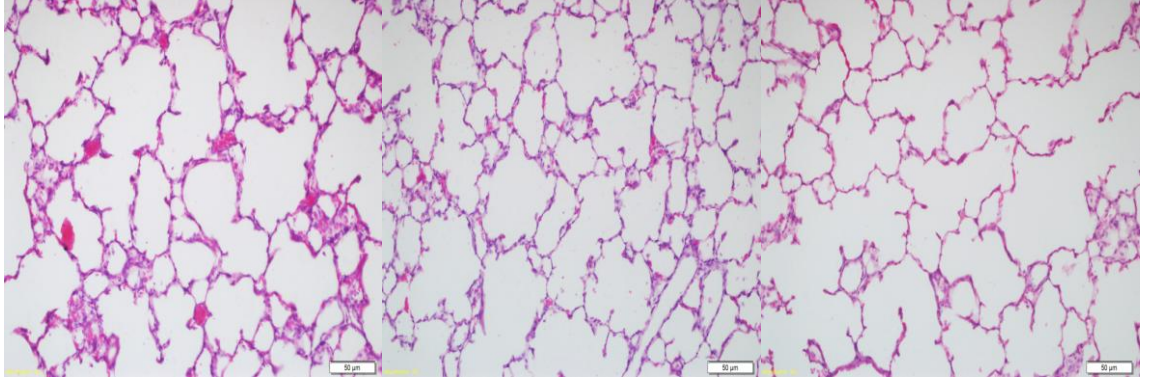


Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlıklarında postnatal değişiklikler

Işık mikroskopisi ile yapılan değerlendirmede tüm gruplarda alveolarizasyonda gecikme gözlemlendi. Gruplar arasında alveol gelişiminde belirgin bir farklılık gözlenmedi (Resim 4.1).

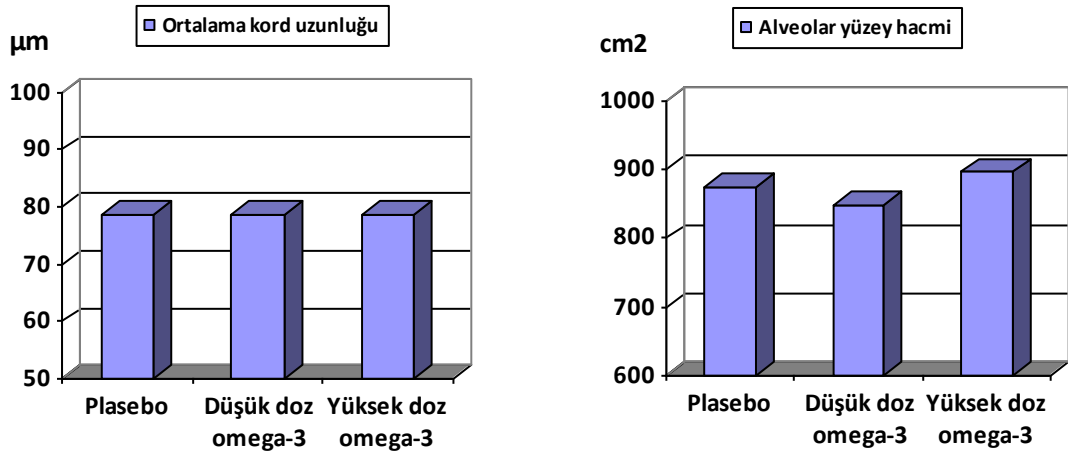
4.1. Ortalama Kord Uzunluğu (L_m): Ortalama kord uzunluğunda gruplar arasında farklılık görülmedi (plasebo grubu L_m değeri = $78,6 \pm 2,8$ μm , düşük doz omega-3 grubu L_m değeri = $78,6 \pm 4,7$ μm , yüksek doz omega-3 grubu L_m değeri = $78,7 \pm 4,8$ μm) (Şekil 4.2).

4.2. Alveolar Yüzey Alanı (S_A): Ortalama S_A değeri plasebo grubunda 874 ± 114 cm^2 , düşük doz omega-3 grubunda 848 ± 115 cm^2 ve yüksek doz omega-3 grubunda 896 ± 81 cm^2 olarak hesaplandı (Şekil 4.2). Yüksek doz



Resim 4.1. Sırasıyla plasebo, düşük doz omega-3 ve yüksek doz omega-3 gruplarına ait kesitlerin ışık mikroskobisi ile görünümü (x200).

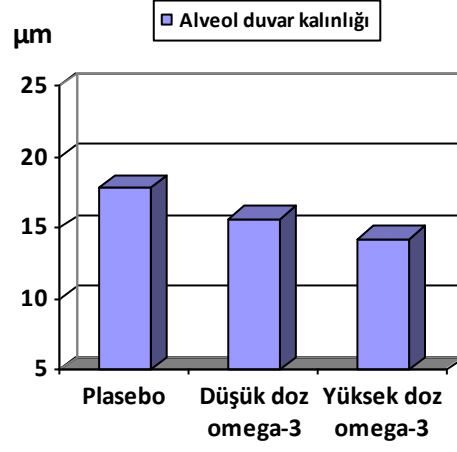
omega-3 grubunun alveolar yüzey alanı daha yüksek bulunsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.



Şekil 4.2: Grupların ortalama kord uzunlukları ve alveolar yüzey alanları.

4.3. Alveol Duvar Kalınlığı (W_t): En geniş alveol duvar kalınlığı plasebo grubunda izlendi ($17,8 \pm 2,3 \mu\text{m}$). Düşük doz omega-3 grubunda daha ince olarak hesaplanırken ($15,6 \pm 2,5 \mu\text{m}$), en ince duvar kalınlığı yüksek doz omega-3 grubunda bulundu ($14,2 \pm 2 \mu\text{m}$). İstatistiksel olarak plasebo ile düşük doz omega-3 grubu ve düşük doz omega-3 ile yüksek doz omega-3 grubu arasında belirgin fark gözlenmedi. Yüksek doz omega-3 ile plasebo

grubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,02$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Grupların alveol duvar kalınlıkları.

TARTIŞMA

Bronkopulmoner displazi patogenezindeki ana nedenlerden biri olan oksijen toksisitesi hayvan çalışmalarında BPD modeli oluşturmak amacıyla kullanılmış ve hiperoksinin akciğerlerde alveolizasyonu engellediği, daha geniş ve basit alveollerin olduğu gösterilmiştir. Choi ve ark.'nın (104) yaptığı çalışmada bir ve iki haftalık hiperoksinin, tek başına ve antenatal lipopolisakkarit enjeksiyonu ile kombine olarak yenidoğan sıçanlardaki etkileri araştırılmıştır. Hiperoksinin akciğer gelişimini belirgin olarak duraklattığı gösterilmiştir. Lipopolisakkarit enjeksiyonunun, bir haftalık hiperoksinin etkisini artırırken, iki haftalık hiperoksinin neden olduğu hasara etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Lipopolisakkarit enjeksiyonu ile kombine ya da tek başına iki haftalık hiperoksinin en belirgin morfometrik özellikleri gösterdiği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda yenidoğan sıçanlarda tek başına iki haftalık hiperoksi sağlanarak BPD modeli oluşturulmuştur. Alveolizasyonun kantitatif değerlendirmesinde benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda, yenidoğan sıçanlarda hiperoksik akciğer hasarı modelinde, düşük ve yüksek doz omega-3 desteğinin ortalama kord uzunluğu ve alveolar yüzey alanı üzerine plasebo grubuna göre etkisi gözlenmemiştir. Yüksek doz omega-3 verilen grupta alveol duvar kalınlığını plasebo grubuna göre daha ince bulunmuştur. Tüm gruplarda benzer alveol gelişimi gözlenmiştir.

Yenidoğan sıçanların kan-hava bariyeri kalınlığı erişkin sıçanlara göre 3,5 kat daha fazladır ve matürasyonla birlikte inceler (105). Bronkopulmoner displazide matürasyonun gecikmesi ve interstisyel fibroproliferasyon, septum ve alveol duvar kalınlığında artmaya neden olmaktadır. Çalışmamızda yüksek doz omega-3 desteği yapılan grupta plasebo grubuna göre alveol duvar kalınlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu sonuç omega-3 yağ asitlerinin, hiperoksik BPD modelinde akciğer matürasyonu ve morfolojisi üzerine olumlu etkisinin kanıtı olabilir. İnflamasyon ve hatalı tamir mekanizmalarının fibroproliferasyon ve akciğer matürasyonu üzerine etkileri göz önünde bulundurulduğunda, bu etkinin

omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar özelliklerinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Omega-3 yağ asitlerinin eikozanoid ve eikozanoid dışı mekanizmalar ile olan inflamasyonu azaltıcı etkileri bildirilmiştir. Omega-3 yağ tüketiminin arttırılmasının, proinflamatuvar olduğu bilinen AA kaynaklı eikozanoidlerin üretimini azaltırken, antiinflamatuvar olarak düşünülen ALA kaynaklı eikozanoidlerin üretimini arttırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (86-92). Lökositler ve endotel hücreleri arasındaki etkileşimde rol alan hücre yüzey adezyon moleküllerinin (ICAM-1, VCAM-1, E-selektin) ekspresyonunun omega-3 yağ asitleri ile azaldığı bildirilmiştir (93-96). Ayrıca omega-3 yağ asitlerinin, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 gibi önemli proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azalttığı gösterilmiştir (97-100). Omega-3 yağ asitlerinin, inflamatuvar genler üzerine etkisi olduğu bilinen NF κ B transkripsiyon faktörünü inhibe ettiği tespit edilmiştir. Son çalışmalarda yeni grup düzenleyiciler olan E serisi rezolvinler ve D serisi rezolvinler omega-3 yağ asitlerinden üretilmektedir ve antiinflamatuvar oldukları düşünülmektedir (84). Omega-3 yağ asitlerinin bu etkileri, inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu, kemotaksisini, adezyonunu azaltarak inflamasyonu sınırlandırabilir. Doku hasarını ve dolayısıyla hatalı doku tamirini azaltabilir. İnflamatuvar sürece olan bu etkileri, çalışmamızda bulduğumuz plasebo ve yüksek doz omega-3 gruplarının alveol duvar kalınlıkları arasındaki farkın altında yatan mekanizma olabilir.

Periferik akciğer yapılarının kullanışlı bir parametresi olan ortalama kord uzunluğu, hava boşlukları (alveoller ve duktal hava boşlukları) arasındaki ortalama serbest mesafeyi tanımlar. Özellikle amfizemli hastaların değerlendirilmesinde sıkça kullanılmaktadır. Bronkopulmoner displazide daha geniş ve basit alveollerin olması nedeniyle alveoler kompleksitenin azalmasına bağlı olarak uzunluğu artar. Çalışmamızda tüm gruplarda ortalama kord uzunluğunun arttığı gözlenirken, omega-3 verilmesinin etkisi gösterilememiştir. Akciğer matürasyonuna paralel olarak akciğerlerin hacmi ve alveollerin kompleksitesi arttıkça yüzey alanı da artar. Çalışmamızda yüksek doz omega-3 ilave edilen grupta alveoler yüzey alanının hafif yüksek

olduğu gözlense de gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Akciğerlerin, hastalığa neden olan faktörlere maruz kaldığındaki gelişim evresi önemlidir. Kanaliküler dönem kritik dönem olarak sayılmaktadır. Bu evreden sonra akciğerleri etkileyen faktörler daha hafif patolojiye neden olurlar. Sıçanlar ise kanaliküler evreyi tamamlamış olarak doğarlar. Postnatal dönemde sağlanan hiperoksinin yenidoğan sıçanlarda alveolizasyon üzerine etkileri de daha az olabilir ve omega-3 yağ asitlerinin akciğer morfolojisi üzerine etkilerini azaltabilir. Antenatal dönemde maruz bırakılacak faktörler (antenatal lipopolisakkarit) ile kombine olarak oluşturulan BPD modelinde, omega-3 yağ asitlerinin morfolojik etkileri daha belirgin olabilir.

Ayrıca alveoler yüzey alanı, akciğer hacmindeki küçük farklılıklardan belirgin olarak etkilenmektedir. Çalışmamızda akciğer hacimlerini hesaplarken sıvı boşaltma yöntemini kullandık. Sıçan akciğerleri gibi çok küçük hacimli dokularda bu yöntemi kullanırken oluşabilecek küçük farklılıkların sonuca belirgin etkisi olabilir.

Bronkopulmoner displazi multifaktöryel bir hastalıktır ve patogeneğinde birçok risk faktörü (oksijen toksisitesi, mekanik ventilasyon, enfeksiyon, PDA gibi) bulunur. Sadece hiperoksi oluşturulan modeller, tek risk faktörünü hedef alan diğer çalışmalarda olduğu gibi, bu çalışma için de kısıtlayıcı faktördür ve uygulanan tedavinin etkilerini maskeleyebilir. Daha fazla risk faktörünü kullanarak oluşturulan modellerde, omega-3 yağ asitlerinin etkileri daha kesin olarak değerlendirilebilir.

Literatürde omega-3 yağ asitlerinin hiperoksik akciğer hasarına olan etkilerini araştıran deneysel çalışma bulunmamaktadır ve etkili olabilecek omega-3 dozu bilinmemektedir. Manley ve ark. (3) tarafından yapılan randomize kontrollü çalışmada yüksek doz DHA ilavesinin preterm bebeklerde solunum ve alerji sonuçları üzerine etkileri araştırılmış ve 33 hafta altında doğan erkek bebeklerde ve 1250 g altında doğan tüm bebeklerde BPD insidansını azalttığı gösterilmiştir. Bu klinik çalışmada, alınan günlük omega-3 miktarı alınan günlük toplam yağ asitlerinin yaklaşık %1'ini (kontrol

grubunda %0,6) oluşturmaktadır. Çalışmamızda alveol duvar kalınlığında doz artışı ile birlikte azalma gözlenmiştir. Daha yüksek dozlarda omega-3 desteğinin akciğer morfolojisi üzerine belirgin etkileri olabilir.

Bronkopulmoner displazi tedavisi oksijen kontrolü, ventilasyon stratejileri, beslenme gibi birçok faktörü içermektedir. Yapılan deneysel çalışmaların çoğunda tek bir tedavi yöntemi ve ajanın etkileri araştırılmıştır. Fakat hastalığın kompleks yapısı düşünüldüğünde tek bir yöntemin başarılı olmaması etkisiz olduğu anlamına gelmeyebilir. Çalışmamızda omega-3 yağ asitlerinin hiperoksik akciğer hasarı üzerine tek başına etkisi araştırılmıştır. Akciğer morfolojisi üzerine belirgin etkisi olmasa da diğer yöntemlere ek olarak kullanılmasının faydası olabilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Omega-3 yağ asitlerinin antiinflamatuvar etkileri ile BPD'de inflamasyonu azaltabileceği, akciğer matürasyonu ve morfolojisi üzerine olumlu etkileri olabileceğini düşünerek oluşturduğumuz bu hiperoksik akciğer hasarı modelinde, yüksek doz omega-3 alan grupta plasebo grubuna göre alveol duvar kalınlığının daha ince olduğu gösterilmiştir. Bu sonuç omega-3 yağ asitlerinin BPD'deki inflamasyon üzerine olumlu etkilerinin olduğunu işaret edebilir.

Akciğer matürasyonunu değerlendirmek için kullandığımız parametreler olan ortalama kord uzunluğu ve alveolar yüzey alanı üzerine etkisi gösterilememiştir. Fakat akciğerlerinin gelişimini, kanaliküler evre tamamlanmadan etkileyen antenatal faktörler ile yapılan çalışmalarda daha kesin sonuçlar elde edilebilir. Bronkopulmoner displazinin multifaktöryel yapısı düşünüldüğünde bu sonuç şaşırtıcı olmayabilir. Hastalığın tedavisinde ventilasyon stratejileri, kontrollü oksijen verilmesi, enfeksiyonların tedavisi, yeterli beslenme ve ilaçlara ek olarak fayda sağlayabilir. Fakat bronkopulmoner displazi üzerine olan etkinliğinin tam belirlenebilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Lemons JA, Bauer CR, Oh W, Korones SB, Papille LA, Stoll BJ. Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1995 through 1996. *Pediatrics* 2001;107:1-8
2. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(6 Suppl):1505S-1519S
3. Manley BJ, Makrides M, Collins CT, McPhee AJ, Gibson RA, Ryan P, Sullivan TR, Davis PG. High-dose docosahexaenoic acid supplementation of preterm infants: respiratory and allergy outcomes. *Pediatrics*. 2011 Jul;128(1):e71-7
4. Baraldi E, Filippone M, Chronic Lung disease after premature birth. *N Engl J Med*. 2007;357(19):1946-1955
5. Northway WH Jr, Rosen RC, Porter DY. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline membrane disease: bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1967;276:357-68
6. Bancalari E, Claure N, Sosenko I. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. *Seminars in neonatology* 2003;8-63-71
7. Gonzales A, Sosenko IRS, Chandar J, Hummler H, Claure N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr*. 1996;128:470-478
8. Fanarof AA, Stoll BJ, Wright LL, et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birth weight infants. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196(2):147.e1-147e8

9. Walsh MC, Szeffler S, Davis J, et al. Summary proceedings from the bronchopulmonary dysplasia group. *Pediatrics*. 2006;117(3 pt 2):S52-S56
10. Palta M, Gabbert D, Weinstein MR, Peters ME. Multivariate assessment of traditional risk factors for chronic lung disease in very low birth weight neonates. *J Pediatr*. 1991;119:285–292
11. Sarıcı SU. Bronkopulmoner Displazi: Tanımı, Patogenezi, Epidemiyolojisi ve Patolojisinde Yeni Görüşler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006; 49: 60-70
12. Bonta VW, Gawron ER, Warshaw JB. Neonatal red cell superoxide dismutase enzyme levels: possible role as a cellular defense mechanism against pulmonary oxygen toxicity. *Pediatr Res*. 1977;11:754–757
13. Saugstad OD, Hallman M, Abraham J, Cochrane CG, Epstein B, Gluck L. Hypoxanthine and oxygen induced lung injury: a basic mechanism of tissue damage?. *Pediatr Res*. 1984;18:501–504
14. Wilborn AM, Evers LB, Canada AT. Oxygen toxicity to the developing lung of the mouse: role of reactive oxygen species. *Pediatr Res*. 1996;40:225–232
15. Han RN, Buch S, Tseu I, Young J, Christie NA, Frndova H, et al. Changes in structure, mechanics, and insulin-like growth factor-related gene expression in the lungs of newborn rats exposed to air or 60% oxygen. *Pediatr Res*. 1996;39:921–929
16. Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, Silva-Neto G. Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr*. 1995;126:605–610
17. Spitzer AR, Fox WW, Delivoria-Papadopoulos M. Maximum diuresis: a factor in predicting recovery from respiratory distress syndrome and the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1981;98:476-9

18. Van Marter LJ, Leviton A, Allred EN, Pagno M, Kuban KC. Hydration during the first days of life and the risk of bronchopulmonary dysplasia in low birth weight infants. *J Pediatr* 1990;116:942-9
19. Speer CP. Pulmonary inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *J perinatol*. 2006;26:S57-S62
20. Bhandari A, Bhandari V. Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics*. 2009;123:1562
21. Carlton DP, Albertine KH, Cho SC, Lont M, Bland RD. Role of neutrophils in lung vascular injury and edema after premature birth in lambs. *J Appl Physiol*. 1997;83:1307–1317
22. Arnon S, Grigg J, Silverman M. Pulmonary inflammatory cells in ventilated preterm infants: effect of surfactant treatment. *Arch Dis Child*. 1993;69:44–48
23. Groneck P, Goetze-Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high risk preterm infants. *Pediatrics*. 1994;93:712–718
24. Ogden BE, Murphy SA, Saunders GC, Pathak D, Johnson JD. Neonatal lung neutrophils and elastase/proteinase inhibitor imbalance. *Am Rev Respir Dis*. 1984;130:817–821
25. Clement A, Chadelat K, Sardet A, Grimfeld A, Tournier G. Alveolar macrophage status in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res*. 1988;23:470–473
26. Groneck P, Oppermann M, Speer CP. Levels of complement anaphylatoxin C5a in pulmonary effluent fluid of infants at risk for chronic lung disease and effects of dexamethasone treatment. *Pediatr Res*. 1993;34:586–590

27. Kunkel SL, Standiford T, Kasahara K, Strieter RM. Interleukin-8 (IL-8): the major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res.* 1991;17:17–23
28. Stenmark KR, Eyzaguirre M, Westcott JY, Henson PM, Murphy RC. Potential role of eicosanoids and PAF in the pathophysiology of bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis.* 1987;136:770–772
29. Munshi UK, Niu JO, Siddiq MM, Parton LA. Elevation of interleukin-8 and interleukin-6 precedes the influx of neutrophils in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol.* 1997;24:331–336
30. Little S, Dean T, Bevin S, Hall M, Ashton M, Church M, et al. Role of elevated plasma soluble ICAM-1 and bronchial lavage fluid IL-8 levels as markers of chronic lung disease in premature infants. *Thorax.* 1995;50:1073–1079
31. Kotecha S, Silverman M, Shaw RJ, Klein M. Soluble L-selectin concentrations in bronchoalveolar fluid obtained from infants who develop chronic lung disease. *Arch Dis Child.* 1998;78:F143
32. Ramsay PL, O'Brian Smith E, Hegemier S, Welty SE. Early clinical markers for the development of bronchopulmonary dysplasia: soluble E-Selectin and ICAM-1. *Pediatrics.* 1998;102:927–932
33. Brus F, van Oeveren W, Okken A, Bambang Oetomo S. Activation of the plasma clotting, fibrinolytic, and kinin-kallikrein system in preterm infants with severe idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 1994;36:647–653
34. Brus F, van Oeveren W, Okken A, Bambang Oetomo S. Activation of circulating polymorphonuclear leukocytes in preterm infants with severe idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 1996;39:456–463
35. Rindfleisch MS, Hasday JD, Taciak V, Broderick K, Viscardi RM. Potential role of interleukin-1 in the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Interferon Cytokine Res.* 1996;16:365–373

36. Jones CA, Cayabyab RG, Kwong KY, Stotts C, Wong B, Hamdan H, et al. Undetectable interleukin (IL)-10 and persistent IL-8 expression early in hyaline membrane disease: a possible developmental basis for the predisposition to chronic lung inflammation in preterm newborns. *Pediatr Res.* 1996;39:966–975
37. Jónsson B, Tullus K, Brauner A, Lu Y, Noack G. Early increase of TNF α and IL-6 in tracheobronchial aspirate fluid indicator of subsequent chronic lung disease in preterm infants. *Arch Dis Child.* 1997;77:F198
38. Speer CP, Groneck P. Oxygen radicals, cytokines, adhesion molecules and lung injury in neonates. *Semin Neonatol.* 1998;3:219–228
39. Narimanbekov IO, Rozyiki HL. Effect of IL-1 blockade on inflammatory manifestations of acute ventilator-induced lung injury in a rabbit model. *Exp Lung Res.* 1995;21:239–254
40. Murch SH, Costeloe K, Klein NJ, Rees H, McIntosh N, Keeling JW, et al. Mucosal tumor necrosis factor- α production and extensive disruption of sulfated glycosaminoglycans begin within hours of birth in neonatal respiratory distress syndrome. *Pediatr Res.* 1996;40:484–489
41. Schmidt B, Cao L, Mackensen-Haen S, Kendziorra H, Klingel K, Speer CP. Chorioamnionitis and inflammation of the fetal lung. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;194:173–177
42. Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS. Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest.* 1997;99:944–952
43. Yoon BH, Romero R, Jun JK, Park KH, Park JD, Ghezzi F, et al. Amniotic fluid cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8) and the risk for the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177(4):825–830

44. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:194–202
45. Groneck P, Schmale J, Soditt V, Stützer J, Goetze-Speer B, Speer CP. Bronchoalveolar inflammation following airway infection in preterm infants with chronic lung disease. *Pediatr Pulmonol.* 2001;31:331–338
46. Merritt TA, Cochrane CG, Holcomb K, Bohl B, Hallman M, Strayer D, et al. Elastase and α_1 -proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. *J Clin Invest.* 1983;72:656–666
47. Gerdes JS, Harris MC, Polin RA. Effects of dexamethasone and indomethacin on elastase, α_1 -proteinase inhibitor, and fibronectin in bronchoalveolar lavage fluid from neonates. *J Pediatr.* 1988;113:732–737
48. Merritt TA, Cochrane CG, Holcomb K, Bohl B, Hallman M, Strayer D, et al. Elastase and α_1 -proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. *J Clin Invest.* 1983;72:656–666
49. Gerber CE, Bruchelt G, Stegmann H, Schweinsberg F, Speer CP. Presence of bleomycin-detectable free iron in the alveolar system of preterm infants. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:218–222
50. Speer CP, Pabst M, Hedegaard HB, Rest RF, Johnston RB. Enhanced release of oxygen metabolites by monocyte-derived macrophages exposed to proteolytic enzymes: activity of neutrophil elastase and cathepsin G. *J Immunol.* 1984;133:2151–2156
51. Schock BC, Sweet DG, Ennis M, Warner JA, Young IS, Halliday HL. Oxidative stress and increased type-IV collagenase levels in bronchoalveolar lavage fluid from newborn babies. *Pediatr Res* 2002;50:29–33
52. Sweet DG, McMahon KJ, Curley AE, O'Connor CM, Halliday HL. Type I collagenases in bronchoalveolar lavage fluid from preterm babies at risk of developing chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2001;84:F168–F171

53. Gagliardi L, Bellù R, Rusconi F, Merazzi D, Mosca F. Antenatal steroids and risk of bronchopulmonary dysplasia: a lack of effect or a case of over-adjustment? *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007;21 (4):347– 353
54. Watterberg K. Anti-inflammatory therapy in the neonatal intensive care unit: present and future. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2006;11 (5):378– 384
55. Ambalavanan N, Carlo WA. Ventilatory strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006;30(4):192– 199
56. Greenough A. How has research in the past 5 years changed my clinical practice? *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2007;92 (5):F404– F407
-
57. Early versus delayed selective surfactant treatment for neonatal respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001456
-
58. Halvorsen T, Skadberg BT, Eide GE, Roksund OD, Carlsen KH, Bakke P. Pulmonary outcome in adolescents of extreme preterm birth: a regional cohort study. *Acta Paediatr.* 2004;93 (10):1294– 1300
-
59. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, et al. Caffeine therapy for apnea of prematurity. *N Engl J Med.* 2006;354 (20):2112– 2121
60. Henderson-Smart DJ, Davis PG. Prophylactic methylxanthines for extubation in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD000139
61. Tyson JE, Wright LL, Oh W, et al. Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med.* 1999;340 (25):1962– 1968
-
62. Darlow BA, Graham PJ. Vitamin A supplementation to prevent mortality and short and long-term morbidity in very low birthweight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(4):CD000501
-

63. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW. Delayed (>3 weeks) postnatal corticosteroids for chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD001145
64. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW. Moderately early (7–14 days) postnatal corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD001144
65. Halliday HL, Ehrenkranz RA, Doyle LW. Early postnatal (<96 hours) corticosteroids for preventing chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(1):CD001146
66. Baveja R, Christou H. Pharmacological strategies in the prevention and management of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006;30(4):209– 218
-
67. Brundage KL, Mohsini KG, Froese AB, Fisher JT. Bronchodilator response to ipratropium bromide in infants with bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142 (5):1137– 1142
68. Ng GY, da S, Ohlsson A. Bronchodilators for the prevention and treatment of chronic lung disease in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2001;(3):CD003214
-
69. Bell EF, Acarregui MJ. Restricted versus liberal water intake for preventing morbidity and mortality in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008;(1):CD000503
70. Howlett A, Ohlsson A. Inositol for respiratory distress syndrome in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003;(4):CD000366
71. Davis JM, Parad RB, Michele T, Allred E, Price A, Rosenfeld W. Pulmonary outcome at 1 year corrected age in premature infants treated at birth with recombinant human CuZn superoxide dismutase. *Pediatrics.* 2003;111(3):469– 476
72. Smith VC, Zupancic JA, McCormick MC, et al. Rehospitalization in the first year of life among infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr.* 2004;144 (6):799– 803

73. Jeng SF, Hsu CH, Tsao PN, et al. Bronchopulmonary dysplasia predicts adverse developmental and clinical outcomes in very-low-birthweight infants. *Dev Med Child Neurol.* 2008;50 (1):51– 57
74. Vrijlandt EJ, Boezen HM, Gerritsen J, Stremmelaar EF, Duiverman EJ. Respiratory health in prematurely born preschool children with and without bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr.* 2007;150 (3):256– 261
75. Vrijlandt EJ, Gerritsen J, Boezen HM, Duiverman EJ. Gender differences in respiratory symptoms in 19-year-old adults born preterm. *Respir Res.* 2005;6 :117
76. Le HD, Meisel JA, de Meijer VE, Gura KM, Puder M. The essentiality of arachidonic acid and docosahexaenoic acid. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2009;81(2-3):165-70
77. Grimminger F, Wahn H, Mayer K, Kiss L, Walmrath D, Seeger W. Impact of arachidonic versus eicosapentaenoic acid on exotoxin-induced lung vascular leakage: relation to 4-series versus 5-series leukotriene generation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997;155:513–519
78. Grimminger F, Mayer K, Kiss L, Wahn H, Walmrath D, Seeger W. Synthesis of 4- and 5-series leukotrienes in the lung microvasculature challenged with *Escherichia coli* hemolysin: critical dependence on exogenous free fatty acid supply. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1997;16:317–324
79. Lee TH, Mencia-Huerta JM, Shih C, Corey EJ, Lewis RA, Austen KF. Effects of exogenous arachidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids on the generation of 5-lipoxygenase pathway products by ionophore-activated human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1984;74:1922–1933
80. Dona M, Fredman G, Schwab JM, et al. Resolvin E1, an EPA-derived mediator in whole blood, selectively counterregulates leukocytes and platelets. *Blood.* 2008;
-

81. Serhan CN, Hong S, Gronert K, et al. Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals. *J. Exp. Med.* 2002;196:1025–1037
82. Mukherjee PK, Marcheselli VL, Serhan CN, Bazan NG. Neuroprotectin D1: a docosahexaenoic acid-derived docosatriene protects human retinal pigment epithelial cells from oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004;101:8491–8496
83. Lee S, Gura KM, Kim S, Arsenault DA, Bistrain BR, Puder M. Current clinical applications of omega-6 and omega-3 fatty acids. *Nutr. Clin. Pract.* 2006;21:323–341
-
84. Calder PC. Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochem Soc Trans.* 2005;33(Pt 2):423-7.
85. Bagga D, Wang L, Farias-Eisner R, Glaspy JA, Reddy ST. Differential effects of prostaglandin derived from ω -6 and ω -3 polyunsaturated fatty acids on COX-2 expression and IL-6 secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003;100:1751–1756
86. Lee TH, Hoover RL, Williams JD, Sperling RI, Ravalese J, Spur BW, et al. Effects of dietary enrichment with eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N. Eng. J. Med.* 1985;312:1217–1224
-
87. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JMW, et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N. Eng. J. Med.* 1989;320:265–271
88. Sperling RI, Benincaso AI, Knoell CT, Larkin JK, Austen KF, Robinson DR. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids inhibit phosphoinositide formation and chemotaxis in neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1993;91:651–660
-

89. Gibney MJ, Hunter B. The effects of short- and long-term supplementation with fish oil on the incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into cells of the immune system in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1993;47:255–259
90. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor α and interleukin 1β production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am. J. Clin. Nutr.* 1996;63:116–122
91. Yaqoob P, Pala HS, Cortina-Borja M, Newsholme EA, Calder PC. Encapsulated fish oil enriched in α -tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. *Eur. J. Clin. Invest.* 2000;30:260–274
-
92. Healy DA, Wallace FA, Miles EA, Calder PC, Newsholme P. The effect of low to moderate amounts of dietary fish oil on neutrophil lipid composition and function. *Lipids.* 2000;35:763–768
93. De Caterina R, Cybulsky MI, Clinton SK, Gimbrone MA, Libby P. The omega-3 fatty acid docosahexaenoate reduces cytokine-induced expression of proatherogenic and proinflammatory proteins in human endothelial cells. *Arterioscler. Thromb.* 1994;14:1829–1836
-
94. Kim DN, Schmee J, Thomas WA. Dietary fish oil added to a hyperlipidemic diet for swine results in reduction in the excessive number of monocytes attached to arterial endothelium. *Atherosclerosis.* 1990;81:209–216
95. Miles EA, Wallace FA, Calder PC. Dietary fish oil reduces intercellular adhesion molecule 1 and scavenger receptor expression on murine macrophages. *Atherosclerosis.* 2000;152:43–50
96. Miles EA, Thies F, Wallace FA, Powell JR, Hirst TL, Newsholme EA, et al. Influence of age and dietary fish oil on plasma soluble adhesion molecule concentrations. *Clin. Sci.* 2001;100:91–100
-

97. Novak TE, Babcock TA, Jho DH, Helton WS, Espat NJ. NF- κ B inhibition by ω -3 fatty acids modulates LPS-stimulated macrophage TNF- α transcription. *Am. J. Physiol.* 2003;284:L84–L89
98. Zhao Y, Joshi-Barve S, Barve S, Chen LH. Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF- α expression by preventing NF- κ B activation. *J. Am. Coll. Nutr.* 2004;23:71–78
99. Khalfoun B, Thibault F, Watier H, Bardos P, Lebranchu Y. Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv. Exp. Biol. Med.* 1997;400:589–597
100. Sadeghi S, Wallace FA, Calder PC. Dietary lipids modify the cytokine response to bacterial lipopolysaccharide in mice. *Immunology.* 1999;96:404–410
101. Curtis CL, Rees SG, Little CB, Flannery CR, Hughes CE, Wilson C, et al. Pathologic indicators of degradation and inflammation in human osteoarthritic cartilage are abrogated by exposure to n-3 fatty acids. *Arth. Rheum.* 2002;46:1544–155
102. Hsia CC, Hyde DM, Ochs M, Weibel ER; ATS/ERS Joint Task Force on Quantitative Assessment of Lung Structure. An Official Research Policy Statement of the American Thoracic Society/European Respiratory Society: Standards for Quantitative Assessment of Lung Structure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010 Feb 15;181(4):394-418
103. Mühlfeld C, Knudsen L, Ochs M. Stereology and Morphometry of Lung Tissue. *Methods Mol Biol.* 2013;931:367-90
104. Choi CW, Kim BI, Hong JS, Kim EK, Kim HS, Choi JH. Bronchopulmonary Dysplasia in a Rat Model Induced by Intra-amniotic Inflammation and Postnatal Hyperoxia: Morphometric Aspects. *Pediatr Res.* 2009 Mar;65(3):323-7
105. Gomi T, Kimura A, Adriaensen D, Timmermans JP, Scheuermann DW, De Groodt-Lasseel MH, Kitazawa Y, Kikuchi Y, Naruse H, Kishi K.

Stages in the development of the rat lung: morphometric, light and electron microscopic studies. *Journal of Anatomy*. 1994;69(4):392-405

