



T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ

HİPEROKSİ-REOKSİJENİZASYON İLE AKCİĞER HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA PROFLAKTİK VİTAMİN A VE İZOTRETİNOİN'İN
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Dr. Naile KAYA YILDIRIM
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
(UZMANLIK TEZİ)

TEZ DANIŞMANLARI
Prof. Dr. Oğuz TUNCER
Doç. Dr. Nihat DEMİR

VAN-2018



T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ

HİPEROKSİ-REOKSİJENİZASYON İLE AKCİĞER HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA PROFLAKTİK VİTAMİN A VE İZOTRETİNOİN'İN
HİSTOPATOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ETKİLERİ

Dr. Naile KAYA YILDIRIM
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
(UZMANLIK TEZİ)

TEZ DANIŞMANLARI

Prof. Dr. Oğuz TUNCER

Doç. Dr. Nihat DEMİR

VAN-2018

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından **TTU-2017-5965** nolu proje olarak desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden çok şey öğrendiğim Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Oğuz Tuncer hocama,

Tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde her aşamasında klinik bilgi ve deneyimleriyle çalışmayı yönlendiren, bilimsel ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç.Dr. Nihat Demir'e,

Yine asistanlık sürem boyunca klinik bilgi ve tecrübelerinden büyük ölçüde yararlandığım değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Ahmet Fayik ÖNEN'e, Doç. Dr. Kamuran Karaman'a, Doç. Dr. İbrahim Ece'ye, Doç. Dr. Kaan Demirören'e, Doç. Dr. Gülsüm İclal Bayhan'a, Dr. Öğr. Üyesi Mecnun Çetin'e, Dr. Öğr. Üyesi Nesrin Ceylan'a ve yetişmemde emeği olan diğer hocalarıma,

Tez çalışması aşamasında hayvan deneyleri konusunda bilgi ve tecrübesini bizimle paylaşan Doç. Dr. Yıldırar BAŞBUĞAN'a,

Patoloji Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Remzi ERTEN'e,

Genel Cerrahi Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Abbas ARAS'a

Tetkiklerin çalışılması aşamasında büyük emekleri olan Biyokimya Bölümü'nden Sayın Dr. Öğr. Üyesi Erdem Çokluk'a ve Dr. Halil İbrahim Akbay'a,

İstatistik aşamasında özveriyle büyük katkı sunan, değerli vaktini ve güler yüzünü esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Sıddık Keskin'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve tez çalışmama önemli katkılarda bulunan Uzm. Dr. İbrahim DEĞER ve Uzm. Dr. Murat BAŞARANOĞLU'na, yan dal asistanları, başasistanlar, uzman doktorlar ve tez çalışmam süresince büyük özveriyle katkı sunan tüm asistan arkadaşlarıma,

Yaşamımın her anında bana maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme, yakın dostlarıma,

Bu değerli ve zorlu süreçte, iyi ve kötü günümde daima yanımda olan, bana destek olan sevgili eşim Erkan YILDIRIM'a ve çocuklarıma sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	v
TABLO DİZİNİ.....	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Bronkopulmoner Displazi.....	1
1.1.1. Tanım	1
1.1.2. Tarihçe.....	2
1.1.3. Görülme Sıklığı.....	2
1.1.4. Patofizyoloji	3
1.1.4.1. Normal akciğer gelişimi	3
1.1.4.2. Embriyonik dönem	3
1.1.4.3. Psödoglandüler dönem (7-16 GH arası)	4
1.1.4.4. Kanaliküler dönem (16-26 GH arası)	4
1.1.4.5. Sakküler dönem (Üçüncü trimester veya 26/28 – 32/36 GH arası).....	4
1.1.4.6. Alveolar dönem ve mikrovasküler matürasyon.....	4
1.1.5. Bronkopulmoner displazide akciğer gelişiminde duraklama	5
1.1.6. Eski ve Yeni Bronkopulmoner Displazi Patolojisi	7
1.1.7. Bronkopulmoner Displazi Risk Faktörleri	12
1.1.7.1. Prematürite/İmmatürite.....	12
1.1.7.2. Mekanik Ventilasyon (barotravma/volotravma/atelektotravma/ biyotravma).....	12
1.1.7.3. Hiperoksi/Oksidatif Stres	13
1.1.7.4. İnflamasyon	14
1.1.7.5. Enfeksiyonlar.....	14
1.1.7.6. Akciğer Ödemi	15
1.1.7.7. Yetersiz Beslenme	15
1.1.7.8. Sürfaktan Eksikliği/Disfonksiyonu	15
1.1.7.9. Adrenal Yetmezlik.....	15

1.1.7.10. Genetik Faktörler	16
1.1.7.11. Vitamin A	16
1.1.8. Klinik bulgular ve prognoz	16
1.1.9. Radyolojik Bulgular	17
1.1.10. Bronkopulmoner Displazinin Önlenmesi / Tedavi	18
1.1.10.1. Mekanik Ventilasyon.....	18
1.1.10.2. Oksijen Tedavisi	19
1.1.10.3. Beslenme Tedavisi.....	20
1.1.10.4. Diüretik tedavisi	21
1.1.10.5. İnhalasyon Bronkodilatör Tedavisi.....	21
1.1.10.6. Sistemik Bronkodilatör Tedavisi	22
1.1.10.7. Anti-inflamatuvar Tedavi	22
1.1.10.8. Nitrik Oksit Tedavisi	23
1.1.10.9. PDA'nın Kapatılması	23
1.1.10.10. A Vitamini	24
1.2. A Vitamini	24
1.2.1. A Vitamininin Tarihçesi.....	24
1.2.2. A Vitamininin Metabolizması.....	24
1.2.3. A Vitamininin Besinsel Kaynakları	26
1.2.4. Günlük A Vitamini Gereksinimi	27
1.2.5. A Vitamini Emilimi, Transportu, Metabolizması ve Atılımını Etkileyen Durumlar.....	28
1.2.6. A Vitamininin Fonksiyonları	29
1.2.7. A Vitamini Eksikliği	29
1.2.7.1. A Vitamini Eksikliğinin Tanımı	29
1.2.7.2. A Vitamini Eksikliğinin Bulguları	30
1.2.7.2.1. A Vitamini Eksikliğinin Göz Bulguları	30
1.2.7.2.2. A Vitamini Eksikliğinin Göz Dışı Bulguları	30
1.2.7.3. A Vitamini Eksikliğinin Nedenleri ve Riskli Gruplar	31
1.2.7.4. A Vitamini Eksikliğini Düzeltme Yolları.....	33
1.2.8. İzotretinoin	35
1.3. Sitokin Ailesi	38
1.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF).....	38
1.3.2. İnterlökin-1 (IL-1)	40

1.3.3. İnterlökin-6 (IL-6).....	41
1.3.4. İnterlökin-8 (IL-8).....	42
1.3.5. İnterlökin-10 (IL-10).....	43
1.4. IL'LER ve BPD	43
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	45
2.1. Hayvan Modeli ve Tedaviler	45
2.2. İlacın Uygulanması	46
2.3. Biyokimyasal Analizler	47
2.4. İstatistiksel Yöntem	50
3. BULGULAR	51
3.1. Dokuların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi	51
3.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	61
4. TARTIŞMA.....	63
5.SONUÇLAR.....	72
6. KAYNAKLAR.....	74

KISALTMALAR

BPD	: Bronkopulmoner displazi
NIH	: Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü
RDS	: Respiratuar Distress Sendrom
PBV	: Pozitif Baınçlı Ventilasyon
NICHD	: United States National Institute of Child Health and Human Development
ÇDDA	: Çok Düşük Doğum Ağırlığı
GH	: Gebelik haftası
VEGF	: Vasküler Endoteliyal Growth Factor
PECAM-1	: Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1
PDF	: Platelet Derived Factor
FGF	: Fibroblast Growth Factor
TGF	: Transforming Growth Factor
α 1-PI	: α 1-proteinaz inhibitörü
PDA	: Patent duktus arteriozus
IUGG	: İntrauterin Büyüme Geriliğı
SGA	: Small for Gestasyonel Age, doğum ağırlığı gebelik yaşına göre düşük
AGA	: Appropriate for Gestational Age, doğum ağırlığı gebelik yaşına uygun
PEEP	: Positive End Expiratory Pressure, ekspirasyon sonu pozitif basınç
CPAP	: Continuous positive airway pressure
SaO ₂	: Arteriyel Oksihemoglobin Satürasyonu
ESPGHAN	: Pediatrik Gastroenteroloji Avrupa Topluluğı, Hepatoloji ve Beslenme
NO	: Nitrik oksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
UNICEF	: Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu

RBP	: Retinol Bağlayıcı Protein
RAE	: Retinol Activity Equivalents
PEM	: Protein Enerji Malnütrisyonu
IVACG	: Uluslararası A vitamini Danışma Grubu
RA	: Retinoik Asit
IFN	: İnterferon
CSF	: Koloni Stimüle Edici Faktörler
TNF	: Tümör Nekrozis Faktör
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule 1
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule 1
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
IL-1	: İnterlökin-8
IL-1	: İnterlökin-10
SMA	: Düz Kas Aktin
ELİSA	: Enzyme - Linked Immunosorbent Assay
H&E	: Hematoksilen-Eozin
MT	: Masson-Trikrom
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ROP	: Prematüre Retinopatisi
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
IVH	: İntraventriküler Kanama
HİE	: Hipoksik İskemik Ensefalopati
TIMP	: Doku İnhibitör Metalloproteinaz

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Türk Neonatoloji Derneği BPD Korunma, Tedavi ve İzlem Rehberi, 2014.	2
Tablo 2. Doğum ağırlığına göre bronkopulmoner displazi sıklığı.....	3
Tablo 3. BPD patolojisinde yıllar içinde gözlenen değişimler.	8
Tablo 4. Bronkopulmoner displazi risk faktörleri.	12
Tablo 5. BPD'nin prognozu.	17
Tablo 6. A vitaminin besinsel kaynakları ve besin içindeki miktarları.	27
Tablo 7. Günlük A vitamini gereksinimi.	27
Tablo 8. A vitamini emilimi, transportu, metabolizması ve atılımını etkileyen durumlar	28
Tablo 9. A Vitamininin Fonksiyonları.....	29
Tablo 10. Serum retinol seviyesine göre klinik sınıflandırma.....	30
Tablo 11. A vitamini eksikliğinin göz dışı bulguları	31
Tablo 12. Tedavi edici olarak A vitamini uygulaması.....	34
Tablo 13. Koruyucu olarak A vitamini uygulaması.....	35
Tablo 14. Sitokinlerin sınıflandırılması	38
Tablo 15. Gruplara göre karşılaştırma sonuçları	51
Tablo 16. Akciğerde Histopatolojik Değerlendirme.....	53
Tablo 17. Akciğerde Alveol Yüzey Alanının Semikantitatif Ölçümü.....	54
Tablo 18. Akciğerde Fibrozis (MT).....	56
Tablo 19. Karaciğerde Yağlanma	57
Tablo 20. (10) BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Sayısı.....	58
Tablo 21. (10) BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre ortalaması	59
Tablo 22. Karaciğerde Fibrozis (MT).....	60
Tablo 23. Deney gruplarının sol akciğer dokusu sitokin düzeyleri ve karşılaştırılması.....	61
Tablo 24. Kilo alımı	62

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. Akciğer gelişim evreleri Mohammed Al-Onaizi: The Respiratory System.....	5
Şekil 2. Bronkopulmoner displazi oluşumunda muhtemel patogenetik olaylar dizisi	9
Şekil 3. Hafif bronkopulmoner displazi	18
Şekil 4. Ağır bronkopulmoner displazi	18
Şekil 5. A vitamini metabolizması	26
Şekil 6. A vitamini eksikliğinin bulguları	31
Şekil 7. Deney düzeneği.....	45
Şekil 8. Histopatolojik ve histokimyasal değerlendirme	47
Şekil 9. (1) BBA’da Akciğerde SMA ile Boyanan Hücre Sayısı (x400’lük büyütme)...	52
Şekil 10. (10) BBA’da Karaciğerde Hidropik Dejenere Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması, Karaciğerde Yağlanma, Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması (HE)	53
Şekil 11. Akciğerde histopatolojik değerlendirme	53
Şekil 12. Akciğerde Histopatolojik Değerlendirme (HE)	54
Şekil 13. Akciğerde alveol yüzey alanının semikantitatif ölçümü şekillerdeki yazımında.....	55
Şekil 14. Akciğerde Alveol Yüzey Alanının Semikantitatif Ölçümü (HE) (x200’lük büyütme)	56
Şekil 15. Akciğerde fibrozis (MT)	56
Şekil 16. Akciğerde fibrozis (MT)	57
Şekil 17. Karaciğerde yağlanma.....	58
Şekil 18. (10) BBA’da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Sayısı	58
Şekil 19. (10) BBA’da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Ortalaması.....	59
Şekil 20. Karaciğerde Fibrozis (MT)	60
Şekil 21. Karaciğerde Fibrozis (MT)	61

ÖZET

Hiperoksi-Reoksijenizasyon ile Akciğer Hasarı Oluşturulan Ratlarda Profaktik Vitamin A ve İzotretinoin'in Histopatolojik ve Biyokimyasal Etkileri

Bronkopulmoner displazi (BPD) prematüre bebeklerde önemli morbidite ve mortalite nedeni olan kronik akciğer hastalığıdır. BPD patogeneğinde inflamasyon ve oksidatif hasar önemli rol oynamaktadır. Günümüzde etkinliği kanıtlanmış bir tedavi modeli bulunmamaktadır. Çalışmamızda hiperoksi-reoksijenizasyon ile akciğer hasarı oluşturulan ratlarda profaktik Vitamin A ve İzotretinoin'in histopatolojik ve biyokimyasal etkileri araştırıldı. Postnatal üçüncü günde başlayıp 13. güne kadar devam eden deneyde yenidoğan rat yavruları randomize olarak 4 gruba ayrıldı: Grup 1 (Oda havası+Kontrol, n=12), Grup 2 (Serum Fizyolojik+Hiperoksi, n=12), Grup 3 (Vitamin A+Hiperoksi, n=12) ve Grup 4 (İzotretinoin+Hiperoksi, n=12).

Grup 1 ve 2'ye intraperitoneal serum fizyolojik, Grup 3'e haftada 3 gün intraperitoneal olarak insülin enjektörü ile Vitamin A 5000 IU/gün verildi, Grup 4'e hergün gastrik lavajla soya yağı içine konmuş İzotretinoin 1 mcg/gr verildi. Vitamin A ve İzotretinoin akciğer dokusu üzerine olan histopatolojik etkileri; alveol yüzey alanı, fibrozis ve düz kas aktin (SMA) skoru olarak, karaciğer dokusu üzerine olan histopatolojik etkileri; karaciğerde yağlanma, karaciğerde hidropik dejenerasyon, karaciğerde apoptotik hücre, karaciğerde fibrozis olarak, biyokimyasal parametreler üzerine olan etkisi olarak IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8, TNF- α düzeyleri değerlendirildi.

Çalışma sonunda, Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasında akciğerde fibrozis açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Kontrol grubunda alveol yüzey alanının belirgin olarak normal saptandı ($p<0,001$). SF+Hiperoksi grubunda alveol yüzey alanında diğer gruplara kıyasla daha belirgin azalma saptandı ($p<0,001$). İzotretinoin+Hiperoksi grubunda akciğer yüzey alanının Vitamin A+Hiperoksi grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı oranda artmış olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasında akciğer fibrozisi açısından istatistik açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi gruplarında SF+Hiperoksi grubuna göre akciğerde SMA ile boyanan hücre sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmış saptandı ($p<0.01$). Vitamin A ile İzotretinoin proinflamatuvar sitokinlere

etkisi bulunmazken; bir anti-inflamatuvar olan IL-10 düzeyi Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubunda SF+Hiperoksi grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,001$).

Vitamin A ve İzotretinoin'in karaciğer dokusuna histopatolojik açıdan herhangi bir yan etkiye yol açmadığı görüldü.

Sonuç olarak, Vitamin A ve İzotretinoin tedavisinin ratlarda gerçekleştirdiğimiz hiperoksik akciğer hasarı modelinde plasebo tedaviye göre üstün olduğu, Vitamin A ve RA kullanımı sonrası karaciğer dokularında herhangi bir patolojik bulgu gözlenmediği, İzotretinoin bir anti-inflamatuvar olan IL-10 düzeyini artırdığı, bu verilerle İzotretinoin kullanımının güvenli olabileceği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Bronkopulmoner displazi, İzotretinoin, Vitamin A.

ABSTRACT

Histopathological and Biochemical Effects of Prophylactic Vitamin A and Isotretinoin on Rats That are Given Lung Defect Using Hyperoxia-Reoxygenation

Bronchopulmonary dysplasia (BPD) is a chronic lung disease that causes significant morbidity and mortality in premature infants. Inflammation and oxidative defect play an important role in BPD pathogenesis. Currently there is no treatment model proved to be effective in that area. In our study, we researched histopathological and biochemical effects of prophylactic Vitamin A and Isotretinoin on rats that are given lung defect using hyperoxia-reoxygenation. In our experiment, which started on the third day of postnatal period and ended on the 13th day, neonatal baby rats were classified randomly into four groups: Group 1 (Room air+Control, n=12), Group 2 (Serum Physiologic+Hyperoxia, n=12), Group 3 (Vitamin A+Hyperoxia, n=12) and Group 4 (Isotretinoin+Hyperoxia, n=12).

Group 1 and 2 were given intraperitoneal serum physiologic; Group 3 was given 5000 IU/day Vitamin A with intraperitoneal insulin injector for 3 days per week; and Group 4 was given daily 1 mcg/gr Isotretinoin that was put in soya oil using gastric lavage. In order to observe the effects of Vitamin A and Isotretinoin: alveolar surface area, fibrosis and smooth muscle actin (SMA) score were evaluated for their histopatologic effects on lung tissue; fattening, hydropic degeneration, apoptotic cells and fibrosis in liver were evaluated for their histopatologic effects on liver tissue; and IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8 and TNF- α levels were evaluated for their effects on biochemical parameters.

Findings of our study shows no statistically meaningful difference found between Vitamin A+Hyperoxia group and Isotretinoin+Hyperoxia group in terms of fibrosis in lungs ($p>0.05$). Alveolar surface area was apparently normal in the control group ($p<0,001$). Reduction in alveolar surface area was more apparent in SP+Hyperoxia group compared to other groups ($p<0.001$). Level of increase in lung surface area was statistically meaningful in Isotretinoin+Hyperoxia group compared to Vitamin A+Hyperoxia group ($p<0.001$). There was no meaningful difference between Vitamin A+Hyperoxia group and Isotretinoin+Hyperoxia group in terms of lung fibrosis ($p>0.05$). There was a statistically meaningful decrease in the number of SMA-painted cells in Vitamin A+Hyperoxia group and Isotretinoin+Hyperoxia group compared to SP+

Hyperoxia group ($p<0.01$). While there was no effect of Vitamin A or Isotretinoin on proinflammatory cytokines; level of anti-inflammatory IL-10 was statistically higher in Vitamin A+Hyperoxia group and Isotretinoin+Hyperoxia group compared to SP+Hyperoxia group ($p<0.001$). Histopathologically, no adverse effect caused by Vitamin A or Isotretinoin was found in liver tissue.

In conclusion, we observed that Vitamin A and Isotretinoin therapy was superior to placebo therapy in our hyperoxic lung defect model in rats; there was no pathologic finding in liver tissues after using Vitamin A and RA; Isotretinoin increases anti-inflammatory IL-10 (an anti-inflammatory) level; and Isotretinoin usage may be considered safe based on data.

Key Words: Bronchopulmonary dysplasia, Isotretinoin, Vitamin A.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Bronkopulmoner Displazi

1.1.1. Tanım

Bronkopulmoner displazi (BPD) oksijen ve pozitif basınçlı ventilasyon ile tedavi edilmiş preterm bebeklerde gelişen kronik akciğer hastalığıdır. BPD ilk olarak mekanik ventilatör bağımlı preterm bebeklerde klinik, patolojik ve radyolojik değişiklikler olarak tanımlanmıştır (1).

Günümüzde yaygın kabul gören tanımlama ve sınıflandırma sistemi ise Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından 2001 yılında yayımlanan ölçütlere dayanmaktadır. Bu tanımlama ve sınıflandırmaya göre kronik akciğer hastalığı terimi, yenidoğan dönemi sonrası akciğer hastalıklarını da kapsadığı için yenidoğanın kronik akciğer hastalığını tanımlamada “BPD” teriminin tercih edilmesi gerektiği ve tanımlamada mutlaka hafif/orta/ağır şeklinde sınıflandırma yapılması gerektiği belirtilmiştir. BPD’nin ortaya çıkışında gebelik haftasında etkili olması nedeniyle 32. gebelik haftasının altındaki ve üzerindeki bebeklerin ayrı ayrı ele alınması gerektiği, postkonsepsiyonel 36. haftada oksijen bağımlılığının devam etmesi ve toplam olarak 28 günden fazla oksijen bağımlılığının bulunması gerektiği vurgulanmıştır (2).

Türk Neonatoloji Derneğinin 2014 BPD klavuzunda da BPD hafif/orta/ağır olmak üzere sınıflandırılmış (Tablo 1).

Tablo 1. Türk Neonatoloji Derneği BPD Korunma, Tedavi ve İzlem Rehberi, 2014.

Değerlendirme zamanı	Gebelik Yaşı <32 hafta Postmenstrüel 36. haftada veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense)	Gebelik Yaşı ≥32 hafta >28. gün<56. gün veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense)
Hafif BPD	En az 28 gün ≥%21 O ₂ gereksinimi + PM 36. haftada veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) ek O ₂ gereksiniminin olmaması	En az 28 gün ≥%21 O ₂ gereksinimi + Postnatal 56. gün veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) ek O ₂ gereksiniminin olmaması
Orta BPD	PM 36. hafta veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) <%30 ek O ₂ gereksiniminin olması	Postnatal 56. gün veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) <%30 ek O ₂ gereksiniminin olması
Ağır BPD	PM 36. hafta veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) ≥%30 O ₂ gereksinimi ve/veya pozitif basınç (PBV veya nCPAP) gereksinimi	Postnatal 56. gün veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense) ≥%30 O ₂ gereksinimi veya pozitif basınç (PBV veya nCPAP) gereksinimi

PBV: pozitif basınçlı ventilasyon

1.1.2. Tarihçe

Bronkopulmoner displazideki tarihsel gelişime baktığımızda; Northway ve arkadaşları 1967 yılında, ağır Respiratuar Distress Sendrom (RDS) gelişen prematüre bebeklerde, altı günü aşan sürede aralıklı pozitif basınçlı mekanik ventilasyon ve yüksek konsantrasyonda oksijen tedavisi sonrası ortaya çıkan yeni bir kronik akciğer hastalığı olarak BPD'yi tanımladı (3).

1.1.3. Görülme Sıklığı

Değişik toplumlarda hastalığın sıklığı, tedavide uygulanan farklı protokoller (kabul edilen oksijen düzeyinin sınırı) ve uzun yıllar boyunca hastalığın yerleşik bir tanımlaması olmamasından dolayı değişkenlik göstermektedir. BPD'li vakaların %97'si 1250 gramdan düşük doğum ağırlıklı bebekleri içerir (4).

BPD'nin sıklığı doğum ağırlığı azaldıkça artar. NICHD (United States National Institute of Child Health and Human Development raporuna göre)'nin 1997-2002 yılları arasında yapılan çalışmasında 18.000 üzerinde ÇDDA (Çok Düşük Doğum Ağırlıklı)'lı bebek alınmış ve BPD sıklığı (postnatal 36. haftada oksijen gereksiniminin devam etmesi olarak tanımlanmış) %25 olarak tesbit edilmiştir (5).

Bu çalışmada doğum ağırlığına göre BPD sıklığı Tablo 2’de görülmektedir.

Tablo 2. Doğum ağırlığına göre bronkopulmoner displazi sıklığı (5)

Doğum ağırlığı (gram)	Sıklık (%)
1251-1500	6
1001-1240	14
751-1000	33
501-750	46

Altı yenidoğan yoğun bakım ünitesinin olgularının alındığı 1994-2002 yılları arasında yapılan sekiz yıllık bir kohort çalışmasında BPD sıklığı, erken gestasyonel yaşta doğan bebeklerin yaşama oranının artmasına rağmen, 33. gebelik haftasından önce doğan preterm bebekler için %12 olarak saptanmıştır. Ayrıca, ağır BPD oranında düşüş izlenmiştir. Şiddetli BPD riskinin azalması, yoğun bakım ünitelerindeki ilerlemiş tedavi değişikliklerine bağlanmaktadır (örn: antenatal steroid tedavisi, postnatal sürfaktan tedavisi, agresif ventilatör ve oksijen tedavisinden kaçınma gibi) (6).

1.1.4. Patofizyoloji

1.1.4.1. Normal akciğer gelişimi

Akciğer gelişimi mekanik ve humoral birçok faktörden etkilenir (7, 8). Mevcut bilgiler ışığında insanlarda akciğer gelişimi aşağıda belirtilen 5 bölüme ayrılabilir (Şekil 1).

1.1.4.2. Embriyonik dönem

(Konsepsiyon sonrası 26. gün ile yedinci gebelik haftası (GH)): Primordiyal ön barsaktan köken alan bir ventral divertikülüm, proksimal trakeayı oluşturmak için kaudale doğru uzanır. Bu trakea, sonrasında dallanıp her iki akciğerin ana bronşlarını oluşturur. Büyüme faktörleri bu dönemde önemli düzenleyici etkilere sahiptir (9).

1.1.4.3. Psödoglandüler dönem (7-16 GH arası)

Havayolunun terminal bronşiyolları oluşturmak üzere gelişimi ve solunumsal epitelyum ve kartilaj dokuda farklılaşma, preasiner damarlarda anjiogenik gelişimi belirgindir. Asinüs düzeyine kadar 16-25 dikomotoz dallanma olur (9).

1.1.4.4. Kanaliküler dönem (16-26 GH arası)

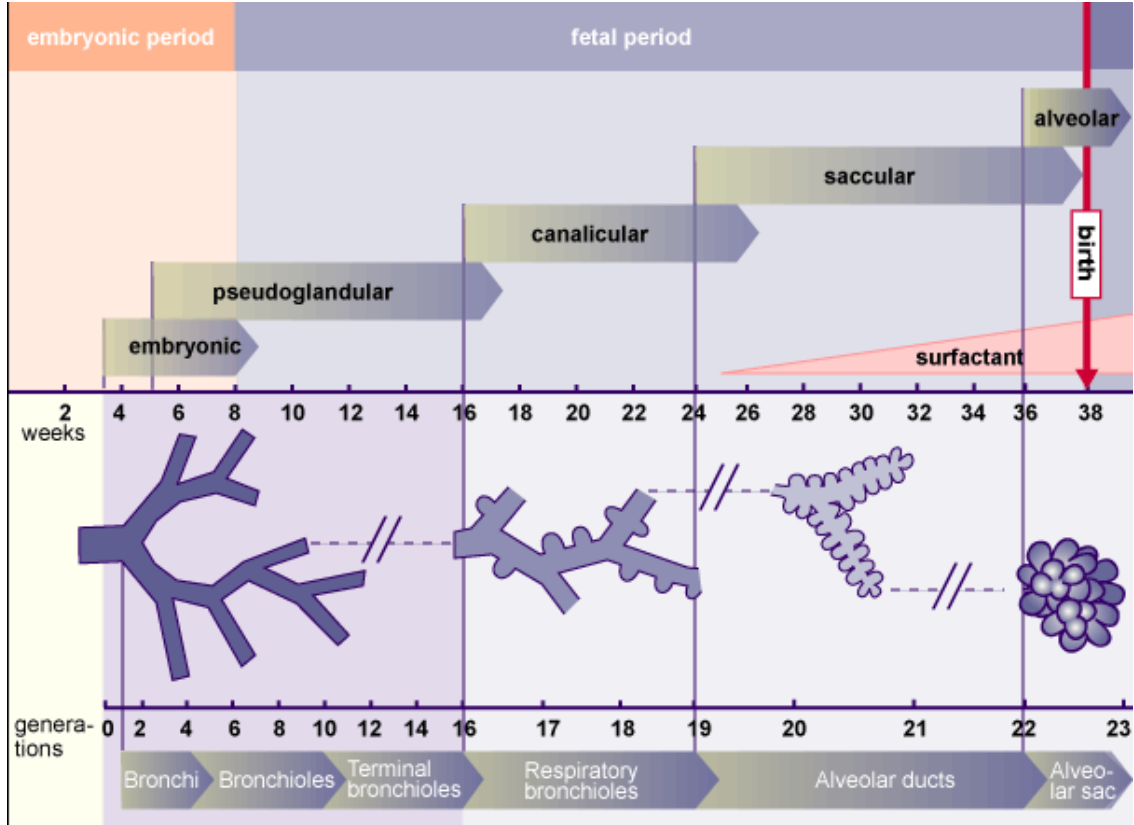
Tip 2 epitel hücrelerinin farklılaşması, bronşiyal epitelyumdan farklılaşır ve kuboidal hücrelere döner. Solunumsal bronşiyoller oluşur. Özellikle vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) etkisi ile mezenkimal damarlanma artar. 20. gebelik haftasında kapillerlerin oluşması ile vaskülogenez ile distal pulmoner dolaşım gelişir ve ilerideki gaz değişim üniteleri intertisyel dokuların azalması ile inceler. Distal küboid epitelin tip I ve II epitel hücrelerine farklılaşması tamamlanır (9).

1.1.4.5. Sakküler dönem (Üçüncü trimester veya 26/28 – 32/36 GH arası)

Sakküler duvarların intersitisyel boşluklarında belirgin azalma olur. Sekonder yarıklar (alveoler gelişimin öncüleri) silindirik sakküllere bölünür. Bu yarıktaki çift 6 kapiller tabaka vardır. Pulmoner parankimin boyutlarının arttığı bu dönemde sürfaktan sistemi olgunlaşır ve apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengesiyle hava boşlukları arasında yer alan bağ dokusu inceler (9).

1.1.4.6. Alveolar dönem ve mikrovasküler matürasyon

32/ 36 GH'da başlar ve postnatal 8 yaşa kadar devam eder. Sakküler akciğerde mevcut olan primer septanın üzerinde sekonder krestin belirmesiyle alveoller oluşur. İmmatür alveolar septanın çift kapiller tabakasının tek tabakaya dönüşmesi sonucunda mikrovasküler matürasyon gerçekleşir. 32. GH'da doğum olması durumunda akciğerlerde olgun alveollere rastlanabilir, ancak tüm alveollerin olgunlaşması 36. GH itibarıyla gerçekleşir (7, 9).



Şekil 1. Akciğer gelişim evreleri Mohammed Al-Onaizi: The Respiratory System

1.1.5. Bronkopulmoner displazide akciğer gelişiminde duraklama

Zamanından önce doğum ile akciğer gelişimindeki sıra kesintiye uğrar. Sonuç olarak izlenen histolojik bulgu; alveollerde basitleşme (büyük ama sayıca azalmış alveoller), septasyonda azalma ve bozulmuş damarsal büyümedir. BPD'nin çeşitli hayvan modellerinde ve BPD nedeniyle ölen insan otopsilerinde sayıca azalmış küçük arterler ve distal akciğer damarlarında normal olmayan dağılım gözlenmiştir (10, 11).

Uzun ve kısa süre mekanik ventilasyon uygulanan bebeklerin ölüm sonrası akciğerlerinde mikrovasküler büyümeyi niceliksel olarak değerlendiren bir çalışmada, arterlerde damarsal dallanmanın azalmış olduğu doğrulanmıştır. Fakat ilginç olarak, bir endotelial hücre belirteci olan, akciğer trombosit endotelial hücre adhezyon molekülü-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1, PECAM-1) proteini kısa süre mekanik ventilasyon uygulanıp ölen bebeklerde azalmışken, uzun süre mekanik ventilasyon uygulananlarda artmıştır. Bu bulguya göre; damar sayısının azalmış olarak kalmasına rağmen endotel çoğalmasında geçici bir azalma, ardından ani bir çoğalma cevabı olmaktadır (12).

Öyleyse BPD’de bozuk biçimdeki akciğer büyümesi her zaman endotelial hücrelerin sayıca azalması ile sonuçlanmaz. BPD’de bozuk büyümeye ek olarak, akciğer damar yatağında hipertansif yapısal yeniden şekillenme vardır. Büyük arterlerin medial tabakasında aşırı büyüme ve küçük periferik arterlerde distal kas tabakasında artış izlenir (13).

Alveolarizasyona katkıda bulunan birçok yolak vardır; elastin, trombosit türevi faktör (Platelet-Derived Factor, PDF), fibroblast büyüme faktörü (Fibroblast Growth Factor, FGF), dönüştürücü büyüme faktörü (Transforming Growth Factor, TGF) bunlardan bazılarıdır (14).

Normal alveolar gelişim için gereken mekanizmanın ve sinyal-iletim yolağının nasıl kesintiye uğradığı halen açık değildir. Öne sürülen hipotezlere göre, akciğer gelişiminin kritik döneminde anjiogenezde duraklama alveolarizasyonu bozmakta olduğu ve akciğerin gelişimini olumsuz etkilediği ileri sürülmüştür (15).

Buna göre:

- Anjiogeneziste duraklama alveolarizasyonu bozmaktadır,
- BPD’de, damarlarda azalma ve şekil bozukluğu, alveollerde ve anjiogenik büyüme faktörlerinde azalma olmaktadır,
- Anjiogenezin artırılması ve endotelial kaybın önlenmesi, damarsal ve alveolar büyümeyi uyarak deneysel BPD modelinde akciğer yapısını iyileştirir (16-18).

Deneysel ve insan yenidoğan BPD çalışmalarında, distal hava yolunun koordinasyonunun ve damarsal büyümenin normal alveolarizasyon için temel olduğu belirtilmektedir. Birkaç anjiogenik faktör içinde VEGF’in rolü kesinlikle çok önemlidir. VEGF etkin bir endotelial hücre mitojenidir. Damar büyümesini ve yeniden şekillenmesini uyarır. VEGF reseptörlerinin (VEGF-1 ve VEGF-2) her birinin baskılandığı araştırmalarda ölümcül fenotipler oluşmuş, bunlarda endotelial hücrelerin düzeninin bozulduğu izlenmiştir. VEGF’in birçok izoformu (VEGF120, VEGF164, VEGF188) vardır (19).

1.1.6. Eski ve Yeni Bronkopulmoner Displazi Patolojisi

Yenidoganlara mekanik ventilasyon uygulaması baslamadan önce ağır RDS geçiren bebekler ya ölmekte ya da sekelsiz iyilesmekteydiler. Mekanik ventilasyon uygulanmaya basladıktan sonra ortaya çıkan bu hastalık ilk defa Northway ve arkadasları tarafından 1967 yılında tanımlandı. Gelişmekte olan akciğerin havayollarında ve parankiminde hem hasar hem de kısmi onarım görüldüğü için hastalığa bronkopulmoner displazi adı verildi (3).

Bronkopulmoner displazisinin klasik patolojik özellikleri sürfaktan tedavisi öncesi döneme ait olup, bozukluklar trakeobronşial ağacın her düzeyinde (bronş, bronşiol, alveol, vasküler yatak) görülmekteydi. Bronş, bronşiol ve alveolar bölgede inflamasyon, alveolar septa yıkımı, fibroproliferasyon; bronş ve bronşiol etrafında ise musküler ve submukozal bez hiperplazisi ile mukozal-skumöz metaplazi görülmekteydi. Musküler hipertrofi, endotelial hücre hiperplazisi ve azalmış arteriöl sayısı vasküler yatakta görülen değışikliklerdi (20).

Günümüzde, antenatal kortikosteroidlerin yaygın kullanımı, postnatal sürfaktan ve daha az agresif mekanik ventilasyon gibi iyileştirilmiş neonatal yoğun bakım uygulamaları sonucunda, akciğer gelişimini tamamlamamış ÇDDA'lı prematürelerin hayatta kalma oranı artmaktadır (21).

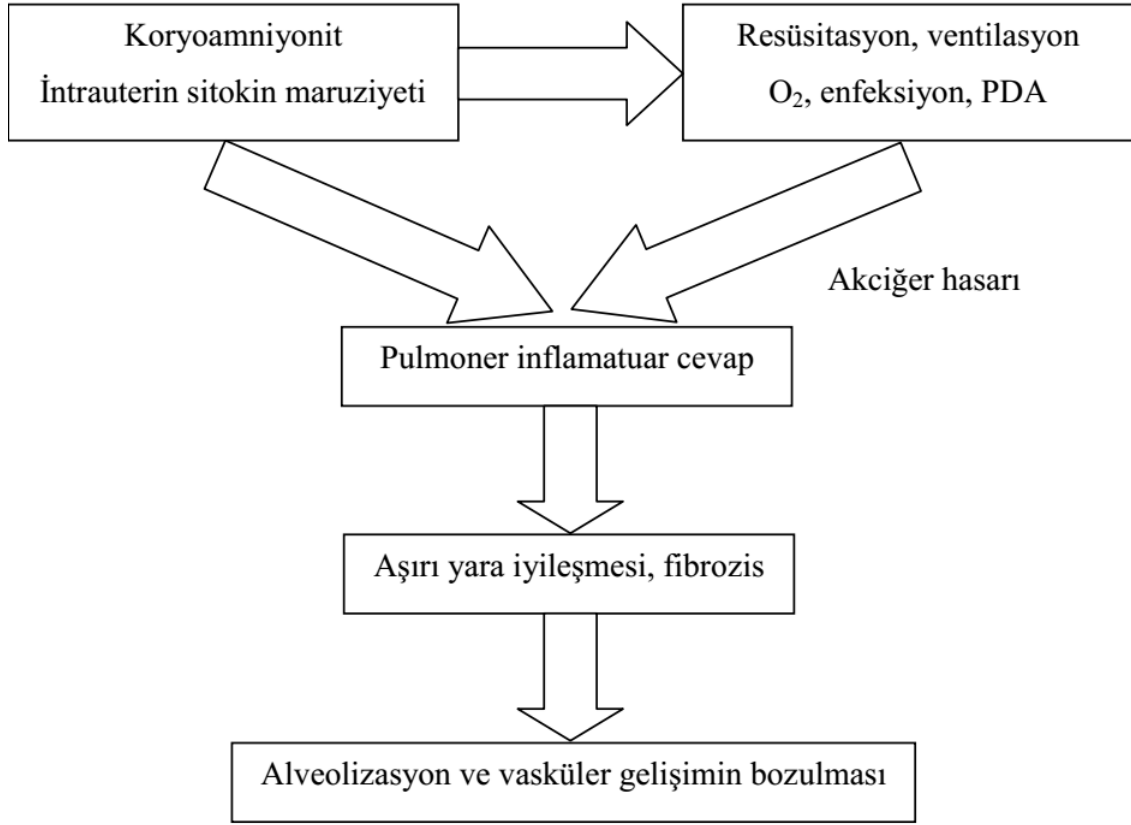
Son yıllarda, BPD nedeniyle ölen bebeklerde fibrozis daha az belirgin olup, havalanmanın tüm akciğer alanlarında daha eşit olarak dağılım gösterdiği bildirilmektedir. Büyük ve küçük havayollarında epitelyal metaplazi, düz kas hipertrofisi ve fibrozis daha az izlenmekte, bunların yerine septasyonda aksama ve akciğer gelişim dönemlerinden sakküler dönemde duraklama, alveolar döneme geçememeye işaret eden az sayıda, ilkel ve büyük boyutta alveoller ön plana çıkmaktadır (22).

Tablo 3. BPD patolojisiinde yıllar içinde gözlenen değisimler (23).

BPD	Eski BPD	Yeni
Yer yer atelektatik, yer yer asırı havalandan alanlar	+	-
Havayolu epiteli hasarlanması	Yogun	Hafif
Havayolu düz kas hiperplazisi	Yogun	Değişken
İnterstisyel fibroproliferasyon	Yogun	Hafif
Vasküler hipertansif lezyonlar	Yogun	Hafif
Az sayıda alveol	+	+
Alveolar hipoplazi	-	+

Son dönemlerde BPD patogenezi daha iyi anlaşılmıştır. Hastalığın temelinde 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) (24).

İnflamasyon bu hastalığın patogenezindeki mekanizmalardan biridir. Altta yatan kesin mekanizma tam bilinmese de önemli bilgiler elde edilmiştir (24).



Şekil 2. Bronkopulmoner displazi oluşumunda muhtemel patogenetik olaylar dizisi (24).

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 (24, 25). Prematüre hayvanların akciğerlerinde mekanik ventilasyon başlanmasından hemen sonra çok sayıda nötrofil tespit edilebilir (26). Bronkoalveolar sıvıdaki nötrofillerin görünümü akciğer ödeminin derecesi ile uyumlu ve BPD gelişimi için erken belirteç olarak değerlendirilmiştir (26). Ayrıca birkaç çalışmada değişik derecelerde BPD geliştiren prematürelerin havayolu sekresyonlarında RDS'den iyileşen prematürelerde çok daha fazla sayıda inflamatuvar hücre gözlenmiştir (27, 28). Sekresyonlardaki baskın olan hücre nötrofillerdir ve RDS'den iyileşen bebeklerde sayıları azalırken, BPD gelişenlerde haftalarca yüksek kaldığı gösterilmiştir (27, 28). RDS gelişen bebeklerin havayolu örneklerinde makrofajların arttığı ve devamında BPD gelişen bebeklerde bu makrofajların sayısının azalmadığı gösterilmiştir (28, 29).

Bronkopulmoner displazili bebeklerin havayolu sekresyonlarında çeşitli kemotaktik ve kemokinetik faktörlerin varlığı gösterilmiştir (24). Bronkopulmoner displazili bebeklerde kemotaktik aktivite RDS'den iyileşenlere göre belirgin olarak daha yüksektir (30). Bu faktörler arasında C5a, LTB₄, TNF- α , IL-8, PAF, ICAM-1, fibronektin, elastin yıkım ürünleri ve 5-hidroksi-eikozatetraenoik asit bulunur (24, 30, 31, 32). Bunların içinde IL-8 muhtemelen en önemli olanıdır ve BPD gelişen bebeklerin sekresyonlarında artışını nötrofil artışının izlediği gösterilmiştir (24, 33). Ayrıca monosit ve makrofaj kemotaksisini arttıran β -kemokinler de (MIP-1- α , MKP, GRP) BPD'li bebeklerde tespit edilmiştir (24). Adezyon moleküllerinin de (L-selektin, ICAM-1, E-selektin) BPD'li bebeklerin havayolu ve dolaşımında arttığı gösterilmiştir (34, 35). Mekanik ventilasyondaki RDS'li bebeklerde pıhtılaşma, fibrinoliz, kinin-kallikrein ve kompleman sisteminin spontan aktivasyonu gözlenmiştir (36, 37).

Endotel hücreleri, alveolar makrofajlar, tip II pnömositler ve fibroblastlar hipoksi, hiperoksi, bakteriyel antijenler gibi çeşitli etkenlere cevap olarak bu düzenleyicileri sentezleyebilir. Bunlar arasında önemli olanlar IL-8, TNF- α , IL-1 ve IL-6'dır (38).

Bronkopulmoner displazi geliştiren bebeklerin havayolu sekresyonlarında protein düzeylerinin ve mRNA ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (38, 39). IL-1'in preterm bebeklerde sitokin yolağındaki rolü ve muhtemel etkileri daha önce tanımlanmıştır (40) ve IL-1 reseptör antagonistlerinin sürfaktan eksik tavşanlarda aerosol şeklinde verilmesinin akciğer hasarını ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (41). Ciddi RDS'den ölen bebeklerde TNF- α pozitif makrofajların akciğer dokusuna girişi belirgin endotelyal bazal membran kaybı ve interstisyel glikozaminoglikanların yıkımı ile ilişkili bulunmuştur (42). Respiratuar distres sendromundan ölen bebeklerin alveol epitelinde artmış IL-8 mRNA ekspresyonu gösterilmiştir (43). Tüm bu pro-inflamatuar sitokinlerin artışı yanında preterm bebeklerde inflamasyonu dengeleyecek anti-inflamatuar IL-10 ekspresyonun yetersiz olduğu, hatta birçok RDS'li bebeğin havayolu örneklerinde IL-10 tespit edilemediği vurgulanmıştır (44). 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 mevcut inflamasyonu arttırabilir (45).

Epidemiyolojik veriler koryoamniyonit ve BPD gelişimi arasındaki güçlü ilişkiyi göstermiştir. Amniyotik sıvıda artmış proinflatuar sitokin düzeyi BPD için risk faktörü olarak tanımlanmıştır (46). Koryoamniyonit sırasında fetal kord kanında IL-1 ve IL-6 düzeylerinin artışı da BPD gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak bulunmuştur (47). Ayrıca koryoamniyonitli anne fetuslarının akciğer dokularında da artmış inflammatuar yanıt gösterilmiştir. Belirgin inflammatuar hücre infiltrasyonunun yanında artmış IL-8, mRNA ekspresyonu fetal akciğerlerde tespit edilmiştir (43). Genel olarak antenatal enfeksiyonlar, akciğerlerde minimal hasar verici olaylar sonrasında yoğun inflammatuar cevaba neden olabilir. Erken başlangıçlı bakteriyel enfeksiyonlar ve BPD gelişimi arasındaki ilişkinin olduğu da gösterilmiştir (48).

Sistemik nazokomiyal enfeksiyonlar BPD için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır (49). Bu enfeksiyonlar sırasında duktus kapanmasını etkili biçimde önleyebilen 6-ketoprostoglandin F1 α arttığı gösterilmiştir (50). Ayrıca enfeksiyöz ve inflammatuar düzenleyicilerin hemodinamik etkileri de duktus kapanmasını etkileyebilir (24).

Güçlü bir nötral proteinaz olan elastaz, nötrofillerin azurofilik granüllerinde depolanır ve preterm bebeklerin akut ve kronik akciğer hasarında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (24). Normal şartlarda α 1-proteinaz inhibitörü (α 1-PI) tarafından inaktive edilir. Bazı RDS ve BPD'li bebeklerin akciğer sekresyonlarında artmış elastaz ve azalmış α 1-PI düzeyleri gösterilmiştir (51, 52). Bu ikisi arasındaki dengesizlik pretermdeki akciğer hasarının önemli öğelerinden birisi olabileceği vurgulanmaktadır (53). 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 (54). Serbest elastazın makrofajları, hidrojen peroksit gibi toksik oksijen radikallerinin salınımını arttırmak için uyardığı gösterilmiştir (55). Bronkopulmoner displazili bebeklerin makrofajları kontrol hücrelere göre daha fazla hidrojen peroksit üretmektedir (29). Oksidatif stresin ekstrasellüler matriksi yıkan çeşitli matriks metalloproteinazların aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (56, 57).

1.1.7. Bronkopulmoner Displazi Risk Faktörleri

Tek başına ya da birlikte birçok faktör BPD patogeneğinde rol alır. Bu nedenle prematürelilik, mekanik travma ve oksijen toksisitesi gibi multifaktöriyel risk etmenlerinin olduğu bilinmektedir (58).

Diğer faktörler arasında inflamasyon (enfeksiyonla ilişkili ya da değil), akciğer ödemi (Patent Duktus Arteriozus (PDA) ya da aşırı sıvı verilmesi), beslenme yetersizliği ve erken adrenal yetmezlik yer alır (59) (Tablo 4).

Tablo 4. Bronkopulmoner displazi risk faktörleri (59).

• 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 distres sendromunun şiddeti • Pulmoner ödem • Erkek cinsiyet • Genetik etkiler
--	--

1.1.7.1. Prematürite/İmmatürite

Antenatal dönemde akciğerlerin gelişimi beş dönemde gerçekleşir ve postnatal dönemde de devam eder. 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 yapısını basitleştirir ve gelişimini duraklatır (60).

1.1.7.2 Mekanik Ventilasyon (barotravma/volotravma/atelektotravma/biyotravma)

Yenidoğanlarda solunum sıkıntısı olduğunda kaçınılmaz tedavi yöntemi olan mekanik ventilasyon, aynı zamanda, yüksek basınçlar nedeniyle barotravma, akciğer hacminin artmasıyla volutravma, yetersiz sürfaktana sahip alveollerde tekrarlayan

açılma ve kapanmalar yapmasıyla atelektotravma ve sonuçta artmış proenflamatuvar sitokinler nedeniyle biyotravmaya yol açarak akciğer hasarına neden olur (61, 62).

Mekanik ventilatörün neden olduğu hasar, artmış hava yolu basıncından dolayı alveoller ve hava yollarının aşırı gerilmesine neden olan yüksek tidal volümlere (volütravma) bağlıdır (63, 64). BPD patogeneğinde agresif mekanik ventilasyon kullanımının kanıtlanmasından dolayı yenidoğan ventilasyonunda daha konservatif yaklaşımlar uygulanmaktadır (örneğin; yüksek tidal volümlerden kaçınılması gibi). Bu yaklaşım BPD'nin hafif formu ile sonuçlanır. Sonuç olarak, BPD için karakteristik olan önemli hava yolu hasarı daha az ve sadece şiddetli BPD'li bebeklerde görülür. İmmatür akciğerlere yüksek volümlerin uygulanması enflamasyonla sonuçlanır ve akut akciğer hasarı gelişir. Bu da BPD'de görülen kronik değişikliklere yol açar. Yüksek tidal volümleri içeren daha agresif mekanik ventilasyonun bir ölçütü olan arteriyal CO₂'nin azalması BPD riskini artırır (65, 66).

Pozitif basınçlı ventilasyon, tipik bronşiyoler lezyonlara neden olur. Hava yollarının bozulması tedavinin erken döneminde ortaya çıkabilir ve pulmoner direncin artışı ile görülebilir. Doğumdan sonra ilk 5 günde ventile edilen preterm bebeklerde yapılan bir çalışmada, ortalama pulmoner direnç, ventile edilmeyenler ile karşılaştırıldığında BPD gelişenlerde anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır (67).

1.1.7.3. Hiperoksi/Oksidatif Stres

Bronkopulmoner displazi ilk tanımlandığında, yüksek oksijen düzeyi bir risk faktörü olarak belirlenmiş ve serbest radikaller ile ilişkilendirilmiştir (68).

Oksijen organizma için hayati bir gereksinimdir. Ancak, tıbbi nedenler ile oksijen uygulamasının akciğer üzerine hasarlı etkileri hem insan hem de hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Oksijen güvenli maruziyet süresi ve konsantrasyonunu tam bilinmemektedir. Yenidoğan hayvanlara sadece oksijen uygulaması sonucunda bile BPD patolojisi ile çok benzer bulgular elde edilmiştir. Verilen oksijenin düzeyi arttıkça ortaya çıkan hasarın boyutu da artmaktadır (69).

Ayrıca sonraki yıllarda oksidatif stresin sadece hiperoksiyle değil kendi başına da bu hastalığın gelişiminde risk faktörü olabileceği anlaşılmıştır (70).

Oksijen toksik bir bileşiktir. Fetal fare ve yenidoğan sıçanlarda %50 ve daha fazla oksijen verilmesinin pulmoner büyümeyi ve DNA sentezini geri dönüşümsüz olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (71, 72).

1.1.7.4. 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 varlığı ile daha da belirginleşmektedir (49, 50).

Düşük şiddette, asendan gelişen koryoamnionit hem erken doğuma yol açmakta hem de mekanik ventilasyon veya oksijen tedavisi almayan bebeklerde pulmoner inflamasyona neden olarak BPD riskini arttırmaktadır (73, 74).

1.1.7.5. Enfeksiyonlar

Doğum öncesi ve sonrası gelişen enfeksiyonlar BPD ile ilişkilidir. Avustralya’da ortalama gebelik yaşı 27 hafta 4 gün olan 798 erken doğan bebeklerde yapılan bir çalışmada; yenidoğan sepsisinin BPD riskini arttırdığı, kandidemisi olan bebeklerde bu riskin en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (75).

Doğum öncesi gelişen enfeksiyonlar da BPD gelişimine katkıda bulunurlar. BPD gelişen bebeklerin amniyon sıvısında proinflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-1 β , IL-8) yoğunluğu artmış olarak bulunmuştur. Proinflamatuvar sitokinlere antenatal maruziyet, bronkopulmoner displazi gelişimi için bir risk faktörüdür. Amniyotik boşluğun mikrobiyal invazyonuna sıklıkla IL-1, TNF ve IL-8 gibi proinflamatuvar sitokinlerin yüksek amniyotik sıvı konsantrasyonlarının varlığı eşlik eder.

Mikroorganizmalar, proinflamatuvar sitokinler ve diğer biyoaktif maddeler (trombosit aktive edici faktör) fetal solunum sırasında aspire edilebilir, intrauterin pnömoniye yol açar, akciğer barotravma ve oksijen toksisitesi ile hasara daha duyarlı hale gelir ve BPD riskini artırır (76).

Özellikle Ureaplasma urealyticum enfeksiyonlarında yangısal cevabın bozulduğu ve bunun akciğer gelişimini bozarak BPD gelişimine neden olduğu gözlenmiştir (77, 78).

1.1.7.6. Akciğer Ödemi

Yaşamın erken döneminde daha fazla sıvı alan ve diürezisi olmayan RDS'li bebeklerde BPD insidansının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (79, 80). Fazla sıvı uygulanmasının PDA gelişimine yol açarak bu riski artırdığı düşünülmektedir. PDA, BPD gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. PDA'ya bağlı olarak akciğerde kan akımının artması interstisyel sıvıyı artırarak akciğer kompliyansını azaltmaktadır (80). Bu durumda havayolu direncinin artması ile birlikte akciğer ventilasyon ihtiyacı artmakta, daha fazla oksijen ve basınca maruz kalmakta böylece BPD gelişimine eğilim ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, pulmoner kan akımının artması nötrofilleri uyarak inflamatuvar kaskadın ilerlemesine yol açmakta, böylece BPD gelişimine katkıda bulunmaktadır (81).

1.1.7.7. Yetersiz Beslenme

Bahsedilen etiyolojik faktörlerin tümü preterm bebeklerde yetersiz beslenme nedeniyle ağırlaşmaktadır. Yetersiz besin alımı akciğerin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Yeterli besin desteği ile alveol sayısında azalmanın önlenileceği belirtilmektedir (82).

1.1.7.8. Sürfaktan Eksikliği/Disfonksiyonu

Ventilatör bağımlı prematüre bebeklerin yer aldığı bir çalışmada bebeklerin %75'inin trekeal aspiratında yüzey geriliminin anormal derecede düşük olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada devamlı solunum desteği gereken prematüre bebeklerde geçici sürfaktan disfonksiyonu ve eksikliği saptanmış; bu durumun bebeklerin klinik durumlarını etkileyebildiği sonucuna varılmıştır (83).

1.1.7.9. Adrenal Yetmezlik

Preterm bebeklerde hipotalamus-hipofiz-adrenal bez aksının immatüritesi inflamatuvar akciğer hasarına yanıtta yetersizliğe neden olmakta ve BPD riskinde artışa yol açmaktadır (84).

1.1.7.10. Genetik Faktörler

BPD gelişiminin; alveologenezisi etkileyen büyüme faktörleri, sitokinler, ligandlar, reseptörler, sinyal molekülleri, transkripsiyon faktörleri, matrix proteinleri, retinoidler ve elastin gibi pek çok faktör mekanizmalarındaki sorundan kaynaklanabileceği düşünülmekte ve araştırmalar devam etmektedir (85). Genetik faktörlerden; cinsiyet ve ırk farklılıkları, Sürfaktan Protein-B geninin intron 4 bölgesindeki polimorfizm ve Sürfaktan Protein-C genindeki dominant mutasyonlar BPD ile ilişkili olabileceği ifade edilmektedir (86).

1.1.7.11. Vitamin A

Vitamin A özellikle akciğer hasarından sonra epitel hücrelerinin gelişimini ve farklılaşmasını düzenlemede kritik bir role sahiptir. 28 hafta altı preterm yenidoğanlarda vitamin A düzeyi düşüktür. Düşük vitamin A düzeyi BPD riskinin artışı ile ilişkili bulunmuştur (87).

İntrauterin büyüme geriliği (IUGG) olan prematürelerde RDS ve BPD riski artmaktadır. Neonatal Araştırma Grubu, aşırı düşük solunum ağırlıklı (ELBW) pretermelerde A vitamini desteğinin, BPD gelişme riskini azalttığını göstermiştir. Bu çalışmada SGA (Small for Gestasyonel Age, doğum ağırlığı gebelik yaşına göre düşük) grubu ile AGA (Appropriate for Gestational Age, doğum ağırlığı gebelik yaşına uygun) grubu karşılaştırılmış; her iki gruba haftada 3 kez 5000 IU/kg vitamin A intramüsküler enjeksiyonu yapılmış. Çalışmanın sonunda AGA'lı bebeklerde BPD riskinin ve BPD'ye bağlı mortalitenin azaldığı bulunmuş. Bu da SGA'lı olanlara daha yüksek vitamin A verilerek yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucunu ortaya koymuştur. (88).

1.1.8. Klinik bulgular ve prognoz

Mekanik ventilasyon öncesi dönemde, RDS'li infantlar ölmekte veya solunum sıkıntısı olmaksızın iyileşmekteydi (3). Sürfaktan ve antenatal steroid uygulaması ile BPD epidemiyolojisi, patolojisi ve kliniği belirgin olarak değişmiştir (89). Günümüzde BPD'li infantların yaklaşık üçte ikisinin doğum ağırlığı 1000 gramdan az ve doğum haftası 28 haftanın altındadır. Bu infantların postnatal dönemde solunum desteği

almasının nedeni ağır RDS'den daha sık olarak, apne ve yetersiz solunum çabasıdır. PDA, pnömoni veya sepsis gibi etmenler solunum destek süresini uzatan ve inflamasyonu arttıran diğer faktörler olarak öne çıkmaktadır (89).

Günümüzde Northway ve arkadaşlarının tanımladığı radyolojik görünüm karşımıza nadir olarak çıkmaktadır (3). Bunun yerine, akciğer grafisinde atelektazi, havalanma artışı alanları, çizgisel interstisyel opasiteler ve kistik alanlar görülebilmektedir (90, 91). Hastalığın kısa ve uzun dönemde istenmeyen sonuçları mevcuttur (92, 21) (Tablo 5). Özellikle persistan BPD bulguları gösteren bebeklerde hayatın ilk birkaç yılında özellikle solunum yolu enfeksiyonlarından dolayı hastaneye yatış sıklığı artmaktadır. Nörogelişimsel süreç açısından prematüre doğum tek başına bir risk faktörü olmakla birlikte, bazı çalışmalar BPD varlığının bu sürece olumsuz katkısı olduğunu düşündürmektedir. Sürfaktan tedavisi sonrası dönemde mortalite azalmakla birlikte hastalığın kendisi ve komplikasyonları günümüzde de mortalitenin önemli sebeplerinden olmaya devam etmektedir (3, 21).

Tablo 5. BPD'nin prognozu (92).

Yenidoğan dönemi	Uzamış mekanik ventilasyon ve oksijen desteği Havayolu reaktivitesi Pulmoner hipertansiyon Sistemik hipertansiyon Hastanede uzamış kalım Büyüme geriliği Ölüm
Uzun dönem	Geç mortalite Anormal kardiyopulmoner fonksiyon Azalmış egzersiz toleransı Hastaneye tekrarlayan yatışlar Büyüme geriliği Nörogelişimsel gerilik

1.1.9. Radyolojik Bulgular

BPD ilk kez Northway tarafından radyolojik bozukluklar olarak tanımlanmıştır.

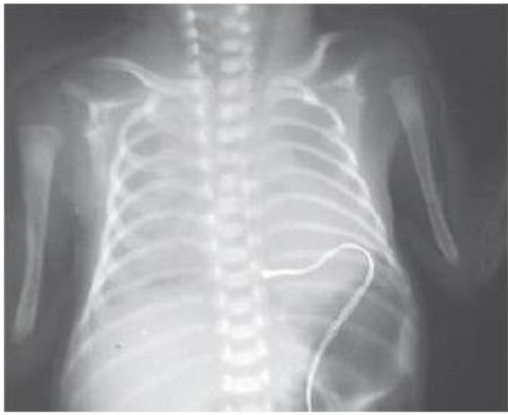
Northway hastalığın ağırlık derecesine göre dört radyolojik evre tarif etmiştir;

Evre I (1-3 gün): RDS'ye benzer bulgular; hava bronkogramları ve retikülogranüler görünüm vardır.

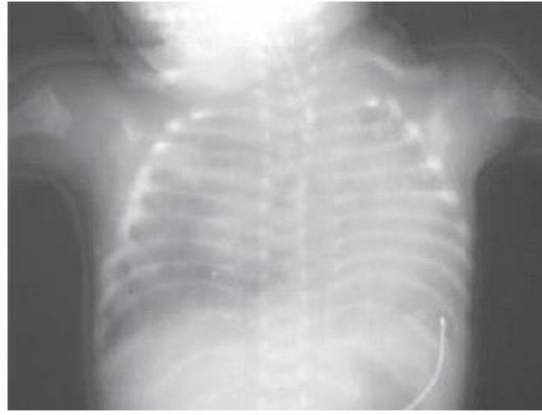
Evre II (4-10 gün): Parankimde opasiteler, akciğer hacminde azalma. Yaygın akciğer ödemi veya sıvı yüklenmesinden ayırdedilemez.

Evre III (11-30 gün): Aşırı havalanma ve kistik alanlarla atelektatik alanların birlikteliği vardır.

Evre IV (1. aydan sonra): Heterojen görünüm vardır. Yer yer aşırı havalanan bölgeler ve kistik alanlar, yer yer opasiteler, düzensiz fibröz bantlar ve kalpte büyüme bulunur. BPD gelişmekte iken akciğer grafisinde yaygın puslu görünüm baskındır. Bu atelektazi, yangı ve/veya akciğer ödemi yansıtır. Atelektazik alanlar yanında, hava yolunun salgılar veya epitel artıkları ile tıkanması sonucu hava tuzaklanması olan alanlar bulunur (93, 94).



Şekil 3. Hafif bronkopulmoner displazi (Yaygın puslu görünüm)



Şekil 4. Ağır bronkopulmoner displazi (Aşırı havalanma ve heterojen görünüm)

1.1.10. Bronkopulmoner Displazinin Önlenmesi / Tedavi

BPD tedavisi; nutrisyonel destek, sıvı kısıtlaması, ilaç tedavileri, oksijen tedavisi ve enfeksiyon tedavisi gibi durumları kapsamaktadır. Tedavide esas altta yatan major patofizyolojiyi düzeltmektir. Pulmoner ödem varlığında diüretiklerle tedavi, bronkokonstriksiyon ve havayolu hiperreaktivitesi varlığında bronkodilatatör tedavi, inflamasyon varlığında steroidler, kor pulmonale varlığında vasodilatatörler, kronik akciğer hasarı varlığında antioksidanlar, nütrisyon, enfeksiyondan korunma şeklinde tedavi uygulanmalıdır (95).

1.1.10.1. Mekanik Ventilasyon

Yeterli solunum çabası olmayan ve resüsitasyon ihtiyacı olan küçük prematüre bebeklerde BPD ile sonuçlanan akciğer hasarının doğum salonunda uygulanan ilk

pozitif basınçla başladığı bilinmektedir. Doğum salonunda fizyolojik bir fonksiyonel rezüdiel kapasite ve oksijenasyon sağlamaya çalışırken, barotravma, volutravma, atelektotravma ve surfaktan inaktivasyonunun en aza indirilebilmesi için ölçülebilen PEEP (Positive End Expiratory Pressure, ekspirasyon sonu pozitif basınç) ile CPAP (Continuous positive airway pressure) uygulaması en uygun ve kanıt değeri en yüksek yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (95).

Solunum yetersizliği olan prematüre bebeklerde mekanik ventilasyon ile destek süresi en aza indirilmeli ve sürfaktan tedavisi mümkün olan en erken sürede uygulanmalıdır. Akciğerlerin aşırı havalanmasından kaçınılmalıdır (96). Ventilatördeki hastanın hedeflenen kan gazı değerleri pH 7.25-7.45 arası, PaO₂ 60-80 mmHg ve PaCO₂ 45-65 mmHg aralığında olmalıdır (97). Geç dönemde ventilasyon stratejisi kan gazı değerlerine göre ayarlanır. Erken ekstübasyon ve nazal CPAP son yıllarda hacim / basınç travması ve oksidatif hasardan korumak için en çok önerilen solunum desteği yöntemleridir (98).

1.1.10.2. Oksijen Tedavisi

Yapılan araştırmalara göre düşük veya yüksek oksijen saturasyonu BPD gelişimini etkilememektedir (99).

Ventilasyon perfüzyon dengesizliğine bağlı alveolar hipoksemisi sonucu BPD gelişir. Akciğerin vasküler gelişimi bozulur, akciğerde perivasküler alanlardaki oksijen seviyesi azalır. BPD'li bebeklerde, kronik alveolar hipoksemi sonucunda pulmoner arter basıncı artar ve pulmoner hipertansiyon, kor pulmonale, sağ ventrikül yetmezliği ve yavaşlamış somatik ve beyin gelişimi olur (100). Güncel uygulama nazal kanül yardımı ile bebek uyanık iken arteriyel oksihemoglobin saturasyonunu (SaO₂) %90-95 arasında olacak şekilde oksijen desteğinin yapılmasıdır (101). Klinik ve ekokardiyografik pulmoner hipertansiyon bulguları varsa, SaO₂ %95-96 olmalıdır (102). Bebek uyanık iken 10 dakika süreyle oda havasında oksijen saturasyonu %92'nin üzerinde ise oksijen kesilmelidir. Oksijen terapisi ilk olarak uyanık iken azaltılır. Taburculuktan 2-3 ay sonra destek oksijen ihtiyacı artmış veya yetersiz kalmışsa eşlik eden gastroözefagiyal reflü, aspirasyon, daha önce tanı almamış doğumsal siyanotik kalp hastalığı gibi durumların varlığına bakılmalıdır. Geçici olarak beslenme veya ajitasyon sırasında destek oksijen

tedavisi önerilmemiştir. Eğer hipoksi uzarsa idame destek oksijen dozu ya çok düşüktür veya bebeğin artmış sağdan sola şanlı epizodik pulmoner hipertansiyonu olabilir. Oksijen tedavisi diüretik ve sıvı kısıtlaması sonlandırıldıktan sonra kesilmelidir (103). Oksijen tedavisi kesildikten sonra yeterli kalori alımına rağmen ilerleyen haftalarda hastanın kilo alımı %20'den daha fazla azalıyor veya duruyorsa, anlamlı intermittan hipokseminin güçlü bir kanıtı olarak düşünülmeli ve oksijen tedavisi yeniden başlatılmalıdır (101). Ev oksijen tedavisinin amacı gelişmekte olan akciğerin büyüme tamirini hızlandırmak, hematokrit değerlerini normal aralıkta tutmak, pulmoner hipertansiyon riskini azaltmak, sağ ventrikül performansını iyileştirmek, büyümeyi hızlandırmak ve nörogelişimsel durumu en iyi duruma getirmektir (104).

1.1.10.3. Beslenme Tedavisi

Malnütrisyon; akciğer büyümesini, maturasyonunu ve tamir mekanizmalarını olumsuz etkiler. Bunun nedenleri arasında intrauterin büyüme kısıtlılığı, yetersiz protein ve enerji alımı, solunum iş yükünün fazla olması, enflamasyon, steroid tedavisi, artmış katabolizma ve beslenme intoleransı, gastroözofagial reflü gibi enteral beslenme sorunları sayılabilir (105). Pediatrik Gastroenteroloji Avrupa Topluluğu, Hepatoloji ve Beslenme (ESPGHAN) prematüre bebeklerde yeterli enerji olarak 110-135 kcal/kg/gün önermektedir (106). Fakat BPD'nin aktif döneminde 140-150 kcal/kg/gün enerji alımı gerekebilir (107). ESPGHAN'ın beslenme komitesi doğum ağırlığı <1000 gram olan bebeklerde 4-4,5 g/kg/gün, 1000-1800 gram olan bebeklerde 3,5-4 g/kg/gün protein alımını önermektedir. Minimal lipit alımı esansiyel yağ asidi eksikliğini önleyecek şekilde 0,5-1 g/kg/gün ile başlanmalıdır. ESPGHAN'ın beslenme komitesi ise anlamlı bir lipit alımının 4,8-6,6 g/kg/gün veya 4,4-6 g/100kcal olarak bildirmiştir (106). Prematüre beslenmesinde; gerekli supplementer besinler (24-30 kal/30 ml formül mama), protein ve yağ asitleri yeterli büyümenin sağlanması için desteklenmelidir (108). BPD'li bebeklerde prematüre osteopenisi riski yüksek olduğu için 120-140 mg/kg/gün kalsiyum tuzları, 60-90 mg/kg/gün fosfat, 800-1000 IU (yaşamın ilk aylarında) D vitamini önerilmektedir. Prematüre bebeklerde antioksidan olan vitamin A düzeyi düşüktür (105). A vitamini desteği verilen prematüre bebeklerde yapılan bir meta analizde BPD gelişimini %17 oranında azalttığı gösterilmiştir (109). Fakat oral vitamin A tedavisinin faydası yoktur, intramüsküler uygulanması bir dezavantajdır (110). Bakır,

Çinko ve manganez gibi eser elementler ise akciğerlerin antioksidan savunmasını arttırmırlar. Çok merkezli bir çalışmada intratrakeal olarak uygulanan insan rekombinant bakır çinko süperoksit dismutazın BPD sıklığını değiştirmediği fakat akciğer iyileşmesine katkı sağlayarak hastanede kalış süresini kısalttığı görölmüştür (111).

1.1.10.4. Diüretik tedavisi

BPD tanısı almış akut sıvı yükleme si olan bebeklerde kısa süreli diüretik tedavisi, akciğerde oksijen ve ventilasyon ihtiya cını azaltabilir. Diüretik olarak furosemid 1 mg/kg/doz intravenöz günde iki kez veya 2 mg/kg/gün oral tek doz uygulanır. Loop diüretikleri pulmoner intersitisyel amfizemi ve pulmoner vasküler direnci azaltır, pulmoner fonksiyonları geliştir ve mekanik ventilasyonla oksijenden ayrılmayı kolaylaştırır. Fakat uzun süreli diüretik kullanımının hiponatremi, hipokalemi, alkaloz, azotemi, hipokalsemi, hiperkalsiüri, kolelitiazis, renal taş, nefrokalsinozis ve ototoksisite yan etkileri vardır. Diüretik tedavi olarak BPD’li hastalarda aldesteron inhibitörleri ile beraber tiazid diüretikleri kullanılabilir. BPD’li bebeklerde spironolaktan ile tiazid diüretiklerinin birlikte kullanımı sonucu da artan idrar çıkışı ile akciğer kompliance iyileşir (108).

1.1.10.5. İn hale Bronkodilatötör Tedavisi

Bronkodilatötörler, bronşial düz kas hücrelerinde gevşeme sağlayarak hava yolu direncini azaltırlar. Bronkodilatötör ilaçlar; beta-2 agonistler ve antikolinerjikler olarak ikiye ayrılır. Beta-2 agonistler içinde albuterol en sık kullanılan ilaçtır. Akciğerde etkisi 4-6 saat içinde başlar. Albuterolün hipertansiyon ve taşikardi yan etkileri olabilir. Antikolinerjik ilaçlar içinde ipratropiyum bromid en sık kullanılan ilaçtır. Albuterol ve ipratropiyum bromidin birlikte kullanımı tekli kullanımlarından daha etkilidir ve yan etkileri çok azdır. Mevcut aerosol uygulamaları ile özellikle mekanik ventilatöre bağlı iseler, BPD’li bebeklerin hava yolu ve akciğerine giden ilaç miktarının ne kadar olduğu belirsizdir. Çünkü akciğerlerde düz kas gevşemesi yaşamın ilk birkaç haftasında görünmez. Bu nedenle BPD’nin erken evrelerinde aerosol tedavi endikasyonu yoktur (108).

1.1.10.6. Sistemik Bronkodilatatör Tedavisi

Metilksantinler; solunumu uyarır, apneyi önler, diafragma kontraktilitesini artırır. Metilksantinler aynı zamanda BPD'li bebeklerde, direkt düz kaslarda gevşeme yaparak; pulmoner vasküler direnci azaltır ve akciğer kompliyansını artırır. Metilksantinlerin diüretik etkisi de vardır. Tüm bu etkileri ile mekanik ventilasyondan ayrılmayı kolaylaştırır. Teofilin ve diüretikler arasında sinerjistik bir etki vardır. Teofilin 30-40 saat içinde karaciğerde kafeine metabolize olur. Taşikardi, gastroözofagial reflü, ajitasyon, nöbet gibi yan etkileri olabilir. Kafeinin etki süresi teofilinden daha uzundur. İntravenöz veya enteral uygulanabilirler (108). Kafeinin, düşük doğum ağırlıklı bebeklerde BPD oranını azalttığı bildirilmiştir (112).

1.1.10.7. Anti-inflamatuvar Tedavi

Sistemik kortikosteroidlerden deksametazon BPD'yi önleme ve ekstübasyonu hızlandırmada kullanılabilir. Erken (<96 saat), orta erken (7-14 gün) ve geç (>3 hafta) dönem uygulamaları mevcuttur. Erken ve orta erken tedavi BPD insidansını azaltmaktadır (113). Ancak hipertansiyon, hiperglisemi, gastrointestinal kanama ve perforasyon, hipertrofik kardiyomyopati, sepsis, kilo alım azlığı, baş çevresi büyümesi, nörogelişimsel gecikme, serebral palsy gibi yan etkiler sıktır (108). Ağır akciğer hastalığı olmadıkça rutin deksametazon kullanımı önerilmemektedir. Kısa süreli tedavi amacıyla 0,25 mg/kg/gün dozunda 5-7 gün verilebilir. BPD tedavisinde sistemik steroidler ancak 3 haftadan sonra kısa süreli kullanılmak üzere önerilmektedir. Nörogelişimsel sorunların erken ve uzun süreli steroid tedavisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (114). İn hale beklametazonun ise BPD'yi önlemediği fakat sistemik steroid kullanımını azalttığı ve mekanik ventilatörden ayrılmayı kolaylaştırdığı gösterilmiştir (108).

Erken inhale steroid (postnatal ilk iki hafta içinde) tedavisi verilen ventilatöre bağlı pretermilerin yer aldığı, yedi çalışmayı içeren bir meta-analizde mortalite ve BPD üzerine bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (115). Geç dönem inhale steroid (postnatal birinci haftadan sonra) tedavisi verilen ventilatöre bağlı pretermilerin yer aldığı, sekiz çalışmayı içeren başka bir metaanalizde ölüm ve BPD sıklığının azalmadığı belirtilmiştir (116).

Cole ve arkadaşları tarafından yapılan çok merkezli, randomize bir çalışma 253 BPD'li olguyu içermektedir. Bu çalışmada; tamamı <33 hafta ve <1250 gr olan hasta grubuna yaşamın 3-14. günleri arasında 40 mcg/kg/gün olarak başlanan ve 4 haftada 5 mcg/kg/gün'e kadar azaltılarak kesilen inhale beklametazon tedavisi verilmiştir. Bu çalışma ile inhale beklametazon tedavisinin; postnatal 28. gün ve postmenstrüel 36. haftada BPD insidansını etkilemediği, ancak sistemik steroid kullanım oranını %50, bronkodilatör tedavi ihtiyacını %40 ve postnatal birinci ayda mekanik ventilatöre bağımlılık oranını %26 azalttığı gösterilmiştir (117). Çift-kör, randomize, plasebo kontrollü başka bir çalışmada Fok ve ark. inhale flutikazon propiyonat tedavisini denemiş ve günde iki kez 250 mcg olarak verilen 14 günlük tedavi sonunda flutikazon grubunda oksijen ihtiyacında azalma gözlenmesine rağmen anlamlı farklılık olmadığını bildirilmişlerdir (118). Budezonid ile yapılan bir çalışmada ise; postnatal 3. günde ventilatör bağımlı olan 24 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve 4x400 mcg/gün inhale tedavi verilen ve verilmeyen hastaların tamamının postmenstrüel 36. haftada oksijen ihtiyaçlarının kaybolduğu bildirilmiştir (119). Denjean ve ark. 173 ventilatör bağımlı prematüre bebek ile yaptıkları prospektif, randomize çalışmada postnatal 10. günde başlanan 4x250 beklametazon tedavisinin BPD'nin önlenmesinde etkili olmadığını bildirmişlerdir (120). Zimmerman ve ark. da ≤ 1300 g 39 olgu ile yaptıkları çalışmalarında beklametazon için aynı kanıya varmışlardır (121).

1.1.10.8. Nitrik Oksit Tedavisi

Nitrik oksit (NO) damar tonusunu gevşetici özelliği ile sistemik kan basıncını düşürmeyen potent seçici pulmoner vazodilatatördür. Düşük doz inhale NO'nin, BPD gelişiminde akciğer fonksiyonu, kardiyak fonksiyon ve oksijenizasyon üzerine akut etkisi yoktur. Fakat düşük doz inhale NO kullanımı; ağır BPD'li bebeklerin oksijenizasyonunu artırabilir, FiO₂ ve ventilasyon ihtiyacını azaltabilir (108).

1.1.10.9. PDA'nın Kapatılması

Kanıtlar PDA'nın önlenmesi veya tedavisinin BPD'yi önlediğini desteklememektedir (122).

1.1.10.10. A Vitamini

Bir cochrane sistematik derlemesinde, ÇDDA yenidoğanlarında A vitamini desteğinin rolünü değerlendirdi ve 28 günlük yaşamda BPD riskine karşı A vitamininin yararlı etkisi olduğu gösterildi. Bu çalışma ayrıca mortalite ve BPD'nin birleştirilmiş sonuçlarında anlamlı bir azalma olduğunu ortaya çıkardı (123). Bu meta-analizde vitamin A desteğinin 1000 gr altı yenidoğanlarda BPD gelişimini önlediği gösterilmiştir (123).

1.2. A Vitamini

1.2.1. A Vitamininin Tarihçesi

A vitamini tarihte ilk kez MÖ 1500 yıllarında eski Mısırlılar, daha sonra Yunanlılar tarafından gece körlüğünün tedavisinde pişmiş karaciğerden elde edilen sıvının göze sürülmesi şeklinde uygulanmıştır (124). 1928 yılında ilk kez balık yağı desteğinin kızamıkta mortaliteyi azalttığı bildirilmiştir ve 1937'de de A vitamininin kimyasal yapısı ortaya konmuştur (125). Bundan sonra yaklaşık 50-60 yıl süresince A vitamininin önemi üzerinde durulmamış ve ancak 1980'lerden sonra, gelişmekte olan ülkelerde, eksikliği ile ilgili sorunlar tekrar gündeme getirilmiştir. A vitamininin kızamık mortalite ve morbiditesine azaltıcı etkisinin çalışmalarla gösterilmesinden sonra, 1987 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Birleşmiş Milletler Çocuklara Yardım Fonu (UNICEF) tarafından ilk kez A vitamini ile ilgili rapor sunulmuştur. Bu raporda A vitamini eksikliği olan ülkelere kızamık tanısı konan bütün çocuklara A vitamini desteği verilmesi önerilmiştir (126).

1.2.2. A Vitamininin Metabolizması

A vitamini terimi genellikle çeşitli biyolojik aktif A moleküllerinin tümü için kullanılır. Retinoidler terimi ise A vitamini aktivitesi gösterebilir ya da göstermez A vitamininin doğal ve yapay şekillerini içerir (2). A vitaminin alkol (retinol), aldehit (retinal) ve asit (retinoik asit) olmak üzere üç aktif formu vardır. Hayvansal kaynaklardan elde edilen retinol (all-trans-retinol); doymamış düz zincirli β -iyon halkası içeren primer alkoldür. Retinol hayvansal dokularda uzun zincirli yağ

asitlerinin oksidasyonu ile retinil esterleri olarak bulunur, retinol dehidrogenaz enzimi yardımıyla retinale (retinaldehit, all-trans-retinal) çevrilebilir. Retinal görme olayında aktif olan A vitamini molekülüdür, retinal dehidrogenaz enzimi yardımıyla retinoik asite dönüşebildiği gibi, retinaldehit redüktaz enzimi yardımıyla retinol şeklinde depolanabilir. Retinoik asit ise retinaldehitin, retinal dehidrogenaz enzimi yardımı ile oluşan asit türevidir ve vücutta retinale ya da retinole dönüşümü gerçekleşemez (Şekil 5) (127, 128).

Karotenoidler bitkisel kaynaklı A vitamini öncülleridir. Bitkilere sarı, turuncu ve kırmızı rengi veren bir grup pigmenttir. Bitkisel kaynaklardan elde edilen en önemli A vitamini öncülü β -karoten olmakla birlikte likopen, lutein ve zeoksantin gibi diğer karotenoid formları da bulunmaktadır. β -karoten ince barsakta β -karoten dioksijenaz enzimi yardımıyla parçalanarak iki molekül retinale dönüşür. Gereksinim halinde retinaldehit redüktaz enzim yardımıyla retinole dönüştürülerek dolaşıma verilmektedir (Şekil 5) (127, 128).

A vitamininin transport ve depolanmasında karaciğerin önemli bir rolü vardır. İnsanlarda A vitaminin %50-80'i burada depolanır. Geriye kalan kısım ise adipoz doku, akciğer ve böbrek hücrelerinde bulunur. Sağlıklı bir erişkinde A vitamini depoları yaklaşık 6 ay-1 yıl ihtiyacı karşılamaya yeterlidir, ancak bu süre çocukluk yaş grubunda azalmaktadır (129, 130). A vitaminin en önemli depo şekli olan retinil esterleri, hidrolize edilerek retinol ve serbest yağ asitlerine dönüşür. Retinol ince barsak mukoza hücresinde sellüler retinol bağlayıcı proteine bağlanır ve lesitin retinol açıltransferaz enzimi yardımıyla tekrar esterleştirilerek şilomikronların bir bileşeni olarak lenfatik sisteme verilir. Şilomikronlardaki retinol esterleri yeniden karaciğere ulaştırılır ve depolanır. Gerek duyulması halinde yeniden retinole dönüştürülerek dolaşıma verilir (Şekil 5) (131).

Serbest retinol karaciğerin parankimal hücrelerinde sentezlenen retinol bağlayıcı protein (RBP), albumin ve prealbumin (transthyretin) ile konjuge edilerek karaciğer dışı dokulara taşınır. Retinol bağlayıcı protein, retinol ile bire bir kompleks oluşturarak retinolü taşır (132). Hepatik RBP sentezi protein malnutrisyonunda veya inflamasyonda akut faz yanıtı olarak azalabilir (133). Retinol-RBP kompleksi (holoRBP) çevre doku hücrelerinin yüzeyinde bulunan ve retinolün hücre içine

Tablo 6. A vitaminin besinsel kaynakları ve besin içindeki miktarları (136).

BESİN	A vitamini miktarı (µg retinol/100 g)	A vitamini miktarı (IU/100 g)
Balık ve balık yağları	27000	90000
Tereyağı	800	2670
Margarin	900	3000
Yumurta	150	520
Süt	50	170
Peynir (yağlı)	300	1000
Dana karaciğeri	10000	33330
Havuç	2000	6600
İspanak	2430	8100
Domates suyu	240	800
Taze kayısı	810	2700

1.2.4. Günlük A Vitamini Gereksinimi

Besinlerin A vitamini değeri retinol ekivalanı olarak belirlenir (retinol activity equivalents: RAE). 1 RAE=1mg retinol=3.33 IU=12 mg β-karoten=24 mg diğer karotenoidlere denk gelir. Yeni veriler β-karoten emiliminin bilinenin aksine daha az olduğunu göstermektedir (emilim oranının eski verilerde %33, yeni verilerde %14 olduğu belirtilmektedir). Diğer bir deyişle önceden bilinenin aksine aynı düzeyi elde etmek için diyetle yaklaşık iki kat fazla alım gerekmektedir. Diyet ile alınması gereken miktarlar retinol üzerinden ve günlük mikrogram olarak belirlenmiştir. Bebekler için almaları gereken retinol miktarı anne sütünde mevcuttur. Erişkinler için önerilen retinol alımı, karaciğer depolarına ve vücut oranlarına göre değişiklik gösterir. Gebelik ve emzirme döneminde gereksinim artmıştır (Tablo 7) (135).

Tablo 7. Günlük A vitamini gereksinimi (135).

Yaş	Retinol (µgr)	IU
0-6 Ay	400	1330
7-12 Ay	500	1665
1-3 Yaş	300	1000
4-8 Yaş	400	1330
9-13 Yaş	600	2000
14-18 Yaş		
Erkek	900	3000
Kadın	700	2330
Gebelik	750	2500
Laktasyon	1200	4000
19 Yaş ve Üstü		
Erkek	900	3000
Kadın	700	2330
Gebelik	770	2565
Laktasyon	1300	4335

1.2.5. A Vitamini Emilimi, Transportu, Metabolizması ve Atılımını Etkileyen Durumlar

A vitamini emilimi, transportu, metabolizması ve atılımını etkileyen durumlar tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. A vitamini emilimi, transportu, metabolizması ve atılımını etkileyen durumlar (137, 138, 139, 140).

Protein- enerji malnutrisyonu	Diyetteki protein ve yağ oranı azaldıkça A vitamini emilimi azalır RBP sentez hızı düşer, A vitamini depolarının immobilizasyonuna neden olur
Pankreas ve karaciğer hastalıkları	Normal sindirim ve emilim bozulur steatoreye neden olur Hastalıklı karaciğer fazla retinol depolayamaz ve RBP sentezleyemez
Ascaris lumbricodes ve Giardia lamblia gibi parazit enfestasyonları	Emilimi bozar
Yağ içeriği düşük diyet	Emilim oranı azalır
Tekrarlayan gastroenterit	Emilimi bozar
Kızamık enfeksiyonu	Metabolik ihtiyaç artar
Büyüme çağındaki çocuklar ve lohusalar	Metabolik ihtiyaç artar
Hipotiroidi, diabetes mellitus	Bitkisel kaynaklı provitamin A’nın aktif metabolite dönüşemez ve hiperkarotenemiye rağmen A vitamini eksikliği bulguları görülür
Bozulmuş böbrek fonksiyonları	Üriner A vitamini kaybı artar

1.2.6. A Vitamininin Fonksiyonları

A vitamini fonksiyonları tablo 9’da verilmiştir (141).

Tablo 9. A Vitamininin Fonksiyonları (141).

Göz	Aldehid şekli (retinal) opsin ile birleşip karanlıkta görmede önemli olan rod hücreleri için gerekli rodopsin pigmentinin oluşmasına yardım eder
Deri ve mukoza	Deri, göz, gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve genitoüriner sistem epitelinin oluşumunda, farklılaşmasında ve hücre zar stabilitesinin korunmasında görev alır
İmmün sistem	T hücre aracılıklı immün yanıtta etkilidir. T hücrelerinin apoptozunu azaltır proliferasyonunu indükler. B hücrelerinin ise proliferasyonunu inhibe eder
Üreme	Spermatogeneziste rol alır
Büyüme	Büyüme faktörüdür: osteoblast aktivitesi ile osteoklast aktivitesini düzenler
Diğer fonksiyonları	Antioksidan özelliği vardır Birçok genin ekspresyonunu etkiler. Gen ekspresyonundaki değişiklikler, hücre farklılaşması, immünite ve diğer A vitamini bağımlı fonksiyonlarda görülen değişiklikleri açıklamaktadır

1.2.7. A Vitamini Eksikliği

1.2.7.1. A Vitamini Eksikliğinin Tanımı

Dünya Sağlık Örgütü A vitamini eksikliğini klinik olarak kseroftalminin kanıtı olmasa da A vitamininin doku konsantrasyonlarının sağlıklı olumsuz etkileyecek şekilde düşük olması olarak tanımlamıştır (142). Normal A vitamini seviyesi; A vitamini eksikliğinin sonuçlarının görülmediği, hastalık durumunda artmış metabolik ihtiyaçları karşılayacak veya ishal ve parazitik enfestasyon gibi azalmış emilimde ve diyetle alımdaki farklılıkları dengeleyecek yeterli karaciğer depolarının olduğu durumdur (142). Klinik A vitamini eksikliği; klasik eksiklik bulgularının görüldüğü durumdur. Subklinik A vitamini eksikliğinde ise eksikliğe özgü bulgular henüz ortaya çıkmamıştır ancak spesifik olmayan bulgular görülebilir ve serum retinol seviyesi düşüktür. A vitamini eksikliğinin serum retinol seviyesine göre klinik sınıflandırılması Tablo 10’da gösterilmiştir (143).

Tablo 10. Serum retinol seviyesine göre klinik sınıflandırma (143).

Serum retinol seviyesi ($\mu\text{mol/L}$)	Serum retinol seviyesi ($\mu\text{g/dL}$)	Klinik korelasyon
>1.05	>30	Normal A vitamini seviyesi
0.71-1.04	21-30	Suboptimal A vitamini seviyesi
0.36-0.7	11-20	Subklinik eksiklik
<0.35	<10	Klinik eksiklik

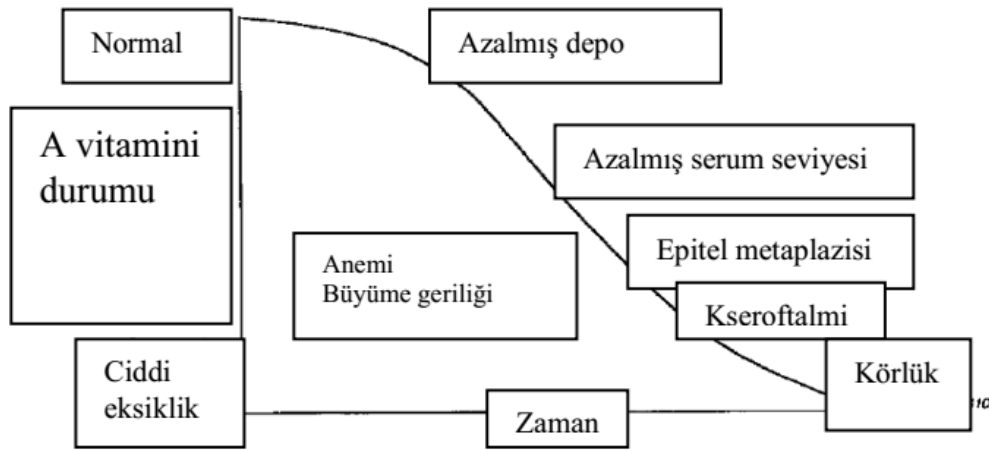
1.2.7.2. A Vitamini Eksikliğinin Bulguları

1.2.7.2.1. A Vitamini Eksikliğinin Göz Bulguları

A vitamini eksikliğinin sonuçları farklı dokularda farklı şekilde görülmektedir. Gözdeki semptom ve bulgulara bir arada kseroftalmi denir. Göz bulguları eksikliğin spesifik fakat geç göstergesidir. Kseroftalmi; A vitamin durumunu değerlendirmede ve klinik A vitamini eksikliği tanısını koymada önemli bir kriterdir. A vitamini eksikliğinde öncelikle karanlığa uyum bozular ve gece körlüğü gelişir. Geç dönemde önce konjuktiva, sonra kornea kurur. Bu tabloya kserozis denir. Eksiklik ilerlerse kornea saydamlığını ve kayganlığını kaybeder ve keratomalazi gelişir. Bulber konjunktivada Bitot lekeleri denen küçük, gri-beyaz, kuru plaklar oluşur. Fotofobi gelişir. Tedavi edilmeyen vakalarda körlük oluşur (144).

1.2.7.2.2. A Vitamini Eksikliğinin Göz Dışı Bulguları

Artmış enfeksiyon morbiditesi, büyüme geriliği ve anemi diğer klasik eksiklik bulgularıdır. Bozulmuş demir mobilizasyonu, bozulmuş hücre farklılaşması, azalmış immün cevap ise subklinik eksiklikte görülür (143). Şekil 6'da klinik ve subklinik eksiklik bulguları verilmiştir (145).



Şekil 6. A vitamini eksikliğinin bulguları (145).

A vitamini eksikliğinin göz dışı bulguları tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. A vitamini eksikliğinin göz dışı bulguları (145, 146, 147, 148, 149).

Mortalite	Anne ve bebek ölüm hızında artış
Morbidite	Hastalık insidansında süresinde ve sıklığında artış
Deri ve mukoza	Hiperkeratinizasyon, epitelyal dokulardaki goblet hücrelerinde sayıca azalma, mukus sekresyonlarının ve antimikrobiyal içeriğin azalması
İmmün sistem	Humoral ve sellüler immünitede bozulma, solunum yolu epitelinde keratinizasyon, azalmış mukus sekresyonu sonucunda enfeksiyonlara karşı bariyerlerin zayıflaması, özellikle solunum ve sindirim sistemi enfeksiyonlarında artış
Büyüme	Büyüme geriliği
Üreme	Fertilite sorunları, düşük, ölü doğum, preterm doğum
Hematolojik sistem	Anemi, lökopeni
Konjenital anomali	Mikrosefali, nöral tüp defektleri, konjenital kalp hastalıkları, intrauterin büyüme geriliği
Mental gelişim	Öğrenme güçlükleri, apati

1.2.7.3. A Vitamini Eksikliğinin Nedenleri ve Riskli Gruplar

Genel olarak besin ögesi eksikliklerinin oluşmasında bazı faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında diyetle alımın azalması ve absorbsiyon bozukluğu, gereksinimin artması, vücutta kullanılamaması ve kayıpların artması

sayılabılır. Uzun süre diyetle düşük miktarda A vitamini alımı eksikliğe yol açan en önemli faktörlerden biridir. A vitamin eksikliğinin gelişmesinde kızamık, sık tekrarlayan ishal ve solunum sistemi hastalıkları gibi enfektif durumlar da rol oynar. Ateş katabolizmayı artırır, iştahsızlık A vitamini alımını azaltır. Enfeksiyonun kendisi intestinal emilimi azaltırken, retinol sirkülasyonu bozulur ve üriner retinol atılımı artar. Bu nedenlerle geçirilen enfeksiyonlar depoların zamanla tükenmesine ve A vitamini eksikliğine bağlı sonuçların doğmasına yol açar (150, 151). A vitamini ihtiyacı değişik yaş gruplarında farklılıklar gösterir. Özellikle bebeklik, çocukluk, gebelik ve emzirme dönemleri A vitamini eksikliği yönünden riskli dönemlerdir (150).

Bebeklik Dönemi

Yenidoğan bebeklerin özellikle annenin A vitamini durumu yetersiz ise daha düşük vitamin düzeyi ile doğacakları gerçektir. Kolostrum ve matür anne sütü A vitamini yönünden zengin kaynaklardır. Çoğu bebek ilk 6-12 ay için ihtiyacını direkt anne sütünden karşılar, eğer annede A vitamini eksikliği mevcutsa anne sütündeki miktar azalır. A vitamininden zengin gıdalarla beslenen annelerin bebeklerinde doğumdan sonra ilk yıl kseroftalmi riski belirgin olarak düşük bulunmuştur (152). Prematür bebekler de A vitamini eksikliği açısından riskli gruptadır. Retinol seviyeleri gestasyon boyunca artar, en yüksek düzeye 3. trimesterde ulaşır. Retinol seviyesi annenin beslenme ve sosyoekonomik durumunu ile anneden bebeğe geçiş miktarından etkilenir. Bu nedenlerle prematür bebek düşük karaciğer deposu ve düşük serum veya plazma retinol seviyesi ile doğar (153, 154). Desteklenmesine rağmen retinol seviyelerini yükseltmek zor olur. Bu durum prematür bebeğin yetersiz alımına, yetersiz absorpsiyonuna, artmış ihtiyacına, yetersiz transport ve/veya yetersiz metabolize edilmesine bağlı olabilir (155).

Çocukluk Dönemi

A vitamini eksikliği en çok okul öncesi dönemdeki çocukları etkiler. Bu dönemdeki çocuklarda hızlı olan büyüme eksikliğe katkıda bulunur. Ayrıca sık geçirilen enfeksiyonlar katabolizmayı arttırmaktadır. Çocukluk döneminde protein enerji malnütrisyonu (PEM) daha çok bu yaşlarda görülür. A vitamini eksikliği mortalitenin bu yaş grubunda yüksek görülmesine katkıda bulunmaktadır (156).

A vitamini eksikliğinin en sık görüldüğü durumlardan biri PEM'dir. PEM, gelişmekte olan ülkelerde önemini koruyan bir halk sağlığı sorunudur. Gelişmekte olan ülkelerde çocukların beslenme durumu; ailelerin gelir düzeyi, eğitim seviyesi, demografik özellikleri, aşılama durumu ve çocukluk çağı hastalıkları ile yakından ilişkilidir (151). PEM T hücrelerinin sayısı, fonksiyonları ve makrofajların işlevleri, sekretuar immünglobulinlerin ve kompleman sisteminin aktivitesi azalmakta, bu durum da enfeksiyonlara eğilim yaratmaktadır. Sık gelişen enfeksiyonlar da PEM'de A vitamini metabolizmasını bozmaktadır (153). A vitamini eksikliğinin semptom ve bulguları PEM'de daha belirgin hale gelir. Kseroftalmi vakalarının okul öncesi dönemde sık görüldüğü PEM'in en sık bu yaş grubundaki çocuklarda görüldüğü ile ilgili olabilir (157). PEM'de RBP yapımının azalması ve diyetle az miktarda yağ alımı, yağda eriyen vitaminlerden biri olan retinol seviyesinin düşüklüğüne yol açar (150).

Gebelik ve Laktasyon Dönemi

A vitamini eksikliği için diğerk riskli bir grup da özellikle gebelik ve laktasyon döneminde olan kadınlardır. Maternal A vitamini eksikliği gece körlüğüne yol açar, alımın az olduğu ve malnutrisyonun endemik olduğu toplumlarda annedeki mortalite oranını yükseltir (158).

A vitamini eksikliği yağ malabsorbsiyonuna yol açan kistik fibrozis ve kolestatik karaciğerk hastalıklarında (bilier atrezi, Alagille sendromu, progresif ailesel intrahepatik kolestaz gibi), Down sendromunda, aktif ve pasif sigara maruziyetinde de sık görülmektedir (159, 160).

1.2.7.4. A Vitamini Eksikliğini Düzeltme Yolları

Dünya Sağlık Örgütü'nün gelişmekte olan ve A vitamini eksikliğinin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu ülkeler için önerisi; ilk 6 ay sadece anne sütüne devam edilmesi, tamamlayıcı beslenmede A vitamini yönünden zenginleştirilmiş besinlerin kullanılması, diyetin düzenlenmesi, eksikliğe neden olabilecek hastalıkların tedavisi, yaşam standartlarının yükseltilmesi ve destek programlarıyla A vitamin kapsüllerinin verilmesidir. Sık aralarla verilen düşük doz tedavinin kısa sürede verilen yüksek doz tedaviden daha etkili olduğu gösterilmiştir (161).

Gıda zenginleştirilmesi; pirinç, bisküvi, makarna, margarin, ekmek gibi

besinlere A vitamini ilavesiyle yapılmaktadır. Burada önemli olan zenginleştirilen gıdanın ülkenin her bölgesindeki hedef gruplara ulaşabilmesidir. Türkiye’de bazı besin maddeleri; margarin, bisküvi ve çerez A vitamini ile zenginleştirilmektedir (162).

Bangladeş, Endonezya ve Hindistan’da yenidoğanlara uygulanan 50.000 IU A vitamini desteği bu ülkelerde 6 aydan küçük çocuklarda mortaliteyi sırasıyla %15, %64 ve %23 oranında azaltmıştır. Ayrıca Endonezya ve Hindistan’da, ishale bağlı mortalitede %50 ve %60 oranında azalma olmuştur. Endonezya’da pnömoni, Hindistan’da febril hastalıklara bağlı mortalite oranı %40 azalmıştır. Yeterli, zamanında ve etkili A vitamini desteğinin doğumların %90’dan fazlasının evde olduğu güney Asya’da yenidoğanlara yarar sağlayacağı belirtilmektedir (163).

Dünya Sağlık Örgütü A vitamini eksikliğinin endemik olduğu yerlerde gebelik ve laktasyon dönemi boyunca A vitamini desteğini önermektedir. A vitamini desteği; anne ve bebeklerde mortalitede, morbiditede, anemi ve infeksiyonlarda azalma sağlamaktadır (164). XX. Uluslararası A vitamini danışma grubunun (IVACG) 2002 yılı kararlarına göre A vitamini desteği ile ilgili tedavi edici ve koruyucu olmak üzere 2 şema önerilmektedir (165).

Tedavi edici olarak: Kseroftalmi, ciddi malnutrisyon ve kızamıklı çocuklara yüksek doz A vitamini verilmesi önerilmektedir (Tablo 12) (165).

Tablo 12. Tedavi edici olarak A vitamini uygulaması (165).

Hastalık	Yaş Grubu	Doz (IU)	Süre
Ağır PEM, kızamık, kseroftalmi	0-5 ay	50.000	Ağır PEM’de 1 gün, kızamıkta 1 ve 2.gün, kseroftalmide 1., 2. ve 14.gün
	6- 11 ay	100.000	
	>12 ay	200.000	
Gece körlüğü, Bitot lekesi	13-49 yaş arası kadınlar	10.000/gün-5.000/hafta	3 ay süreyle
Aktif korneal lezyon		200.000	1., 2. ve 14. günlerde

Koruyucu olarak: A vitamini eksikliğinin önemli halk sağlığı problemi olduğu ülkelerde, süt çocukluğu ve çocukluk yaş grubunda rutin aşı şemalarına ve ulusal aşı kampanyalarına denk getirilerek, lohusalarda ise kesin infertil dönem olarak kabul edilen doğum sonrası ilk 6 hafta içinde yüksek doz A vitamini kapsüllerinin verilmesi önerilmektedir (Tablo 13) (166).

Tablo 13. Koruyucu olarak A vitamini uygulaması (166).

Yaş Grubu	Doz (IU)	Süre
0-5 ay	50.000	3 doz DBT aşılama sırasında
6-11 ay	100.000	Kızamık aşılama sırasında
12-59 ay	200.000	4-6 ayda bir
Postpartum ilk 6 hafta	200.000	Toplam 2 doz (24 saat ara ile)

Retinoik Asit (RA)'in akciğer büyümesi üzerine olan etkisi değişik çalışmalar ile araştırılmıştır. A vitamini ve onun prekürsörü olan RA akciğerin normal gelişimi için gereklidir (167).

A vitamini verilmesi akciğerlerin büyümesi ve olgunlaşmasının artmasına sekonder olarak, nitrofen ile indüklenen konjenital diyafragmatik herninin insidansı ve ciddiyetini azaltır. Bu deney RA'nın akciğer hasarının tedavisindeki etkinliğini kanıtlamaktadır (168).

A vitamini özellikle akciğer hasarından sonra epitel hücrelerinin gelişimini ve farklılaşmasını düzenlemede kritik bir role sahiptir. 28 haftanın altında preterm yenidoğanlarda A vitamini düzeyi düşüktür. Düşük A vitamini düzeyi BPD riskinin artışı ile ilişkilidir (169). Dokuz çalışmayı içeren bir meta-analizde A vitamini desteğinin 1000 gr altı yenidoğanlarda BPD gelişimini önlediği gösterilmiştir (123).

1.2.8. İzotretinoin

Oral İzotretinoin (13-cis retinoik asit), 1982 yılında şiddetli nodüler akne tedavisinde kullanımı onaylanmış, A vitamini metabolizmasıyla oluşan doğal, fizyolojik bir bileşiktir. Bunun yanı sıra diğer tedavilere yanıtız, skar bırakma eğilimi gösteren ve psikolojik sorunlara yol açan orta ve şiddetli akne, akne fulminans, pyoderma fasiyale ve gram (-) follikülit tedavisinde de etkili olduğu gösterilmiştir (170, 171, 172).

İzotretinoin akne vulgaris tedavisinde %70-89 oranında remisyon sağlayan etkili bir tedavi ajanıdır. Lezyonlarda tam veya tama yakın iyileşme sağlamakta ve bu dramatik yanıtın akne patogenezinden sorumlu dört basamak üzerinde etkili olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (173, 174, 175).

İzotretinoin etki mekanizması tam olarak bilinmese de, hücre siklusu, hücre farklılaşması, hücre sağ kalımı ve apoptozu üzerinde etkili olduğu

bildirilmiştir. Sebase bezlerdeki bazal hücrelerin olgunlaşmasını inhibe etmekte ve bu sayede sebase bezlerin atrofisine neden olmaktadır. Altı haftalık kullanım sonrasında sebum üretiminde %90'lara varan azalma sağlamaktadır. Bunun dışında duktal *Propionibacterium acnes* kolonizasyonunu engellemekte ve folliküler keratinizasyonu normale döndürmektedir. Antiinflamatuvar etkisi olduğu da gösterilmiş ve bunu konakçı defans mekanizmalarını artırarak, monosit kemotaksisini modifiye ederek yaptığı ileri sürülmüştür (170, 172).

İzotretinoin oral biyoyararlanımı %25 iken bu oran yağlı yiyeceklerle birlikte alındığında maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Yarılanma ömrü ortalama 18 saattir. Hipotezlere göre all-trans retinoik asit veya 9-cis retinoik asit gibi aktif metabolitlere dönüşerek retinoid reseptörlerine bağlandığı düşünülmektedir. Karaciğerde ilk geçiş metabolizmasına uğrayarak enterohepatik sirkülasyona girmekte ve %99 oranında plazma albuminine bağlanmaktadır. İlaç alımından 30 dakika sonra kanda saptanmakta ve maksimum konsantrasyona 2-4 saatte ulaşmaktadır. Metabolitleri idrar ve feçesle atılmaktadır. Tedavi sonlandırıldıktan yaklaşık 14 gün sonra tüm metabolitlerin teratojenik olmayan seviyelere ulaştığı bilindiğinden tedavi bitiminden bir ay sonrasına kadar sağlanan kontrasepsiyonun yeterli güvenlik aralığı sağladığı ileri sürülmektedir (170, 174).

Vücudun hemen her yerinde retinoik asit reseptörleri bulunduğundan İzotretinoin geniş bir yan etki profiline sahiptir. Teratojenite dışındaki yan etkilerin görülme sıklığı ve şiddeti doz bağımlıdır, ilacın kesilmesiyle geri dönmektedir. En sık görülen yan etkiler deri ve mukoz membranlarla ilişkilidir. Değişen derecelerde keilit hastaların hemen tamamında görülmektedir. Olguların yarısından fazlasında ise mukozalarda kuruluk, kserozis ve pruritus izlenmektedir. Nadir de olsa özellikle soğuk ve kuru havalarda retinoid erupsiyonu olarak adlandırılan ekzematöz lezyonlara da rastlanabilmektedir. Daha az sıklıkta saçlarda incelme ve granülomatöz paronişyal lezyonlar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kseroftalmi, gece körlüğü, konjunktivit, keratit ve optik nörit gibi oftalmolojik yan etkiler görülebilmektedir. İzotretinoine bağlı korneal opasiteler, geçici ve kalıcı işitme kaybı geliştiği de bildirilmiştir (170, 171, 176).

Bulantı, kusma, özefajit, gastrit ve kolit gibi gastrointestinal yan etkiler nadiren görülmektedir. Oldukça nadir de olsa akut hepatit gelişebilmektedir (171).

Myalji İzotretinoin kullanan hastalarda en sık görülen kas-iskelet sistemi yan etkisidir ve hastaların %15'inde gelişmektedir. Uzun süre İzotretinoin alan hastalarda hiperostozis, periostozis, demineralizasyon, şiddetli kemik ağrısı ve çocuklarda epifizlerin erken kapanması gibi yan etkiler görülebilmektedir. Ayrıca artralji, artrit, sırt ağrısı ve osteoporoz da gelişebilmektedir. Kemik üzerindeki yan etkiler diğer yan etkilerin aksine tedavi bitiminden sonra büyük oranda kalıcı olmakta ve birkaç yıl sonraki radyografilerde de izlenebilmektedir. 12 yaşından küçük çocuklarda kullanımı önerilmemektedir (170,171,172).

İzotretinoin tedavisi başlanan hastalarda tedaviye başlamadan önce ve tedavi süresince laboratuvar değerlendirilmeleri yapılmalıdır. Hastaların %25-45'inde serum trigliserid artışı ve %31'inde de total kolesterol artışı izlenmektedir; fakat bu değişiklikler genellikle doz düzenlemesi gerektirmemektedir. Ayrıca hastaların %11'inde serum transaminaz seviyelerinde artış görülmektedir. Nadiren lökopeni, trombositopeni, trombositoz ve eritrosit sedimentasyon hızında artış gibi anormallikler saptanabilmektedir. Tüm bu değişiklikler tedavi kesildikten sonra kendiliğinden düzelmektedir (170).

Oral İzotretinoin'in bir diğer kullanım alanı yenidoğan bebeklerde gözlenen iktiyozisin ağır formlarıdır (177).

Harlequin iktiyozis, ciddi morbidite ve mortalite ile ilişkili tüm etnik grupları etkileyen nadir bir hastalıktır. Önceki raporlar, birçok bebeğin doğumdan hemen sonra öldüğünü göstermektedir. Hastalar doğumda klasik bir klinik prezentasyona sahiptir ve hayatta kalma şansını en üst düzeye çıkarmak için neonatal yoğun bakım ünitelerinde tedavi edilmelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Erken oral retinoid tedavisinin, harlequin iktiyozisi olan hastalarda sağkalımı artırdığı gösterilmiştir (177). Harlequin iktiyozisi olan olguların %80'nine yaşamın ilk haftası içinde oral retinoid tedavisine başlanmıştır. Başlangıç retinoid dozu, 0.5 ila 2.5 mg/kg arasında olup klinik cevaba göre doz azaltılabilmektedir. Hastalar klinik durumlarına göre yaklaşık olarak 6 ay ile 4 yıl arasında tedavi edilmişlerdir. Hafif derecede saç dökülmesi, kaşıntı, tırnak deformiteleri ve 1 mg/kg/gün'den yüksek dozları alan çocuklarda yan etkiler görülmektedir. Tedavi başlangıcından sonra belli aralıklarla olası yan etkiler açısından serum lipit düzeyleri ve karaciğer fonksiyon testlerinin (1 - 3 ay) kontrol edilmesi önerilmektedir (177).

1.3. Sitokin Ailesi

Sitokinler; çeşitli hücreler tarafından üretilen, fizyolojik yanıtlarda önemli roller üstlenen, birçok farklı hastalığın patofizyolojisinde yer alan ve terapötik potansiyeli olan, lenfokin, monokin, interlökin ve interferon olarak adlandırılan bir grup protein olarak ifade edilir (178). Bugün hücrelerarası iletişimde yer alan büyüme, laktasyon, adipozite, hematopoez gibi temel biyolojik süreçleri düzenleyen 50'den fazla sitokin olduğu bilinmektedir (179).

Tablo 14. Sitokinlerin sınıflandırılması (180).

İnterlökinler
TNF
İnterferonlar (IFN)
Koloni stimüle edici faktörler (CSF)
Transforme edici büyüme faktörleri (TGF)
Kemokinler
Proinflamatuvar sitokinler: TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IFN- γ
Antiinflamatuvar sitokinler: IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β

Sitokinler, sıklıkla pro (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IFN- γ) ya da anti-inflamatuvar (IL-4, IL-10, IL-13, TGF- β) aktivitelerine göre de sınıflandırılırlar (180). Sitokinlerin özellikle, inflamatuvar ve immün yanıtları düzenlemede ve hem doğal hem de edinilmiş immünitinin kontrolünde çok önemli fonksiyonları vardır (180).

1.3.1. Tümör Nekrozis Faktör (TNF)

Alfa ya da Beta formunda olabilen TNF'ler, tümör hücrelerinde hemorajik nekroza neden olurlar. Öncelikle aktive monosit ve/veya makrofajlar tarafından olmak üzere aktive T hücreler, B hücreler, NK hücreler, mast hücreleri, endotelyal hücreler, fibroblastlar, keratinositler, mikrogliya, astrositler, kupffer hücreleri, düz kas hücreleri, sinovyal hücreler ve basofiller tarafından üretilir. Pleitropik bir sitokin olan ve kaşektin, sitotoksin, makrofaj sitotoksik faktör, nekrozin, hemorajik faktör gibi isimlerle de tanınan TNF- α ile lenfotoksin ya da sitotoksin olarak da bilinen TNF- β hem yapısal hem de biyolojik olarak benzerdir (181).

TNF- α doğal immun cevapta rol oynayan en önemli sitokin olup, ağır

infeksiyonlarda görülen sistemik komplikasyonlardan sorumludur. Düşük konsantrasyonlarda lokal TNF etkileri şöyle özetlenebilir:

1. Endotelyal hücrelerden adezyon moleküllerinin ekspresyonu (TNF'nin en önemli fizyolojik lokal etkisi olan inflamasyonun lokalize olduğu bölgede lökosit birikmesi),

2. Mikroorganizma ya da tümör hücrelerine karşı savaşmak için inflamatuvar lökositlerin aktivasyonu (özellikle nötrofiller ama aynı zamanda eozinofiller ve mononükleer fagositler için),

3. Mononükleer fagositler ve diğer hücrelerce sitokin (IL-1, IL-6, TNF'nin kendisi) sentezinin uyarılması,

4. Virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etkiler (180, 181).

TNF'nin bu etkileri mikroorganizma ve tümörlere karşı inflamatuvar yanıtta kritik öneme sahiptir. Eğer yeterli miktarda TNF ortamda bulunmuyorsa, organizma infeksiyonu baskılamada başarısız olabilir (181).

TNF- α orta konsantrasyonlarda, bir endokrin faktör gibi davranarak kan akımına katılır. Bu durumdaki etkileri şöyle sıralanabilir (181, 182).

1. Endojen bir pirojen gibi davranışı (IL-1 ile birlikte) ve artmış PG sentezine aracılığı,

2. Mononükleer fagositler ve endotelyal hücrelerden dolaşıma IL-1 ve IL-6 salgılanmasının uyarılması,

3. IL-1 ve IL-6 ile birlikte karaciğerden akut faz proteinlerinin sentezinde artışa neden olması (IL-6 $\rightarrow$ fibrinojen, IL-1/TNF $\rightarrow$ serum amiloid protein),

4. Koagülasyon sisteminin aktivasyonu,

5. Kemik iliği kök hücre bölünmesinin baskılanması,

6. Kaşeksi (TNF ile indüklenen iştah baskılanmasıyla),

Gram-negatif bakteriyal sepsislerde TNF'ler yüksek konsantrasyonlarda üretilirler ve septik şokun karmaşık sitokin ağında kritik öneme sahiptirler. Çok yüksek konsantrasyonlardaki öldürücü etkileri şöyle sıralanabilir (180, 181):

1. Miyokardial kontraktilitenin deprese edilmesiyle doku perfüzyonunda azalma (NO sentaz indüklenmesiyle NO üretiminin artması miyokardial kontraktilitiyi inhibe eder),
2. Vasküler düz kas tonusu relaksasyonu, kan basıncında ve doku perfüzyonunda azalma,
3. İntravasküler tromboz (endotelial ve mononükleer fagosit değişikliklerinin kombinasyonunun koagülasyonuna yol açması ve nötrofil aktivasyonu-yaygın intravasküler koagülasyon),
4. Ciddi metabolik bozukluklar (yaşamla bağdaşmayacak düzeydeki kan glukoz düzeylerinde düşüklükler).

1.3.2. İnterlökin-1 (IL-1)

IL-1'in kaynaklandığı ana hücreler aktive mononükleer fagositler olmakla birlikte diğer önemli kaynakları, monosit ve makrofajlar, Langerhans hücreleri, dendritik hücreler, B lenfositler, endotelial hücreler, T hücreler, NK hücreler, astrositler, keratinositler ve fibroblastları da içine alan antijen sunucu hücrelerdir (181, 183, 184).

TNF gibi doğal immun sistemin en önemli sitokinidir. IL-1 ile TNF'nin etkileri hemen hemen tamamen aynıdır. Yapıları ve reseptörlerinin farklı olmasına karşın, etkilerinin bu kadar benzer olmasının temelinde her ikisinin de aynı transkripsiyon faktörlerini aktive etmesi yatmaktadır. Ancak TNF'den farklı olarak IL-1 apoptoza neden olmaz. Tam aksine apoptoza önleyici bir özelliğe sahiptir.

Biyolojik etkileri: IL-1 inflamatuvar yanıt ve doku tamirinde merkezi bir role sahiptir. Hematopoez, lösemi, ateroskleroz ve solid tümör büyümesindeki rolü de tartışılmaktadır. Biyolojik aktivitesi salınan sitokin miktarına bağlıdır. Düşük konsantrasyonlarda, lokal immunoinflamatuvar reaksiyon aracısı gibi davranır, birçok hücrede (makrofaj, endotelial hücre, fibroblast, sinovyal hücre, keratinosit) sekonder sitokin kaskadını indükler, lökosit ve/veya endotelial hücre adezyonunu artırır, CD4 T hücre çoğalmasını ve B hücre büyüme ve farklılaşmasını indükler. IL-1 α , sitokin kaskadını indükleyebilmesiyle fonksiyonel otokrin yolda merkezi bir rol oynar, IL-1 α

otokrin yolla önemli bir kontrol noktasıdır. Yüksek konsantrasyonlarda IL-1 kana difüze olur ve ardından beyin, karaciğer, adrenal ve diğer organlarda endokrin etkiler gösterir. Endojen pirojen gibi davranarak ateşi ve kaşeksiyi indükler, akut faz proteinlerinin sentezini uyarır. T hücreler üzerine olan etkisi tam olarak bilinmese de hücre siklusunu etkilediği bilinmektedir. İmmünitede taşıdığı asıl önem antijen sunucu hücrelerce T hepler lenfosit aktivasyonunu artırabilmesinde yatmaktadır. Otokrin mekanizmada IL-1, antijen sunucu hücre yüzeyinde çeşitli adezyon moleküllerinin, IFN- γ reseptörlerinin ve Klas II MHC proteinlerinin ekspresyonunu artırır. Bu artışla, antijen sunucu hücreler Th hücrelere bağlanır ve onları aktive eder (181).

IL-1 β , TNF- α ile birlikte pro-inflamatuar sitokinlerin başlıcalarıdır ve enflamasyonun erken evrelerinde salınırlar. IL-1 β 'nın esas etkileri hücre sağkalımı, hücre çoğalması, ateş, yanı sıra devam eden inflamasyon alanındaki immün hücrelerin salınımı, aktivasyonu ve diferansiyasyonunu içerir (185, 186).

Klinik önemi: IL-1 romatoid artrit, septik şok, periodontitis, malignite, tüberküloz ve HIV enfeksiyonlarının patogeneğinde rol almaktadır. IL-1 ayrıca, inflammatuar yanıt sırasında intestinal epitelyal hücreleri sitokin ve akut faz proteini üretmesi için uyaran olarak etkili olmasından dolayı inflammatuar intestinal hastalıklarla da ilişkilidir (181).

1.3.3. İnterlökin-6 (IL-6)

T ve B lenfositler, monosit ve/veya makrofajlar, fibroblastlar, endotelyal hücreler, mast hücreleri, nöronal hücreler, astrositler, mikrogliya, mezengial hücreler, osteoblastlar, epidermal langerhans adacıkları, dendritik hücreler, keratinositler ve kemik iliği stromal hücrelerini de içine alan çeşitlilikteki hücrelerce salgılanan bir lenfokindir. B hücrelerden immunoglobulin üretimini uyarır (181). Başlıca görevi akut faz proteinlerinin sentezini sağlamak ve granüloksit koloni stimule edici faktör ile beraber çalışarak kemik iliğinde nötrofil üretimini arttırmaktadır. Koagülasyon üzerine etkisi TNF ile benzerdir (181).

Biyolojik etkileri: Diğer sitokinlerin üretimi üzerinde bir etkisi olmayan IL-6, onların etkilerini artırır gibi görünmektedir. Ayrıca antijen ya da mitojenle aktive B hücrelerde farklılaşma ve büyümede, Ig salgılanmasının olgunlaşması ve artırılmasında

görev alır. Mukozal IgA yanıtının indüklenmesi ve düzenlenmesinde, Th2 hücrelerden salınan IL-6 ve IL-10 önemli dengeleyici roller oynar. Akut faz yanıtının temel indükleyicisi olan IL-6, hepatositler CRP gibi akut faz proteinlerinin, komplement komponentlerinin, haptoglobin, fibrinojen, proteaz inhibitörlerinin sentezini sağlar. Akut faz yanıtında IL-1 ve TNF ile sinerjistik etki gösterir. T hücre ve timositler için ko-stimülatördür. T hücreden IL-10 üretimi, IL-6 tarafından artırılır. NK-hücre aktivitesini tetikler. IL-6, endotelial hücrelerin lenfositlere yapışabilmesini artırmada rol oynar ve bunu Intercellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1), Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) ve E-selektin ekspresyonunu artırarak yapar. IL-1 ve TNF ile birlikte endojen pirojen gibi davranarak ateşi indükler. IL-6, Adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını ve adrenal bezlerden glukokortikoid üretimini indükler (181).

1.3.4. Interlökin-8 (IL-8)

Kemokinler olarak adlandırılan küçük molekül ağırlıklı sitokinlerden oluşan geniş bir ailenin üyesidir. Özellikle makrofajlar ve endotel hücrelerinden üretilir, enflamasyon ve hücre göçünde önemlidir. Başlangıçta nötrofil kemotaktik faktör olarak bilinen IL-8'in aynı zamanda T lenfosit, bazofil, doğal öldürücü hücreler için de kemotaktik faktör rolü vardır (185, 186).

IL-8 akciğerlere sürekli enflamatuvar hücre göçünü uyarır. Akciğere gelen hücreler kronik akciğer hastalığı gelişiminde rolü olan ürünler (örneğin; elastaz) salgırlar (179, 187).

Kronik akciğer hastalığı ile akciğerde nötrofil sayısı ilişkili bulunmuştur (188, 189). IL-8 nötrofiller için güçlü bir kemotaktik faktördür (190, 191). Erişkin respiratuvar distressi ve yenidoğan RDS'si arasında benzerlikler vardır, her iki durumda da akciğerlerde bulunan ana hücre nötrofildir. Yapılan çalışmalarda kronik akciğer hastalığı gelişen yenidoğan bebeklerde IL-8 düzeyinin bronkoalveolar lavajlarda arttığı görülmüştür (192, 193).

1.3.5. İnterlökin-10 (IL-10)

Lenfoid ve myeloid hücrelerin regülasyonunda rolü olan, pleitropik etkili, antiinflamatuvar ve immünoregülatuar bir sitokindir.

CD4 T lenfositlerin Th0 ve Th2 alt birimlerinden, aktive B hücrelerden, CD8 T hücrelerden, bazı Th1 hücrelerden, aktive makrofajlardan, regülatuar T hücrelerden ve eozinofil, dendritik hücre ve keratinosit gibi diğer hücrelerde üretilir (181, 194).

Diğer sitokinlerden farklı olarak antiinflamatuvar özelliğe sahiptir. Bu özelliğini aktive olmuş makrofaj ve dendritik hücreleri inhibe ederek gösterir. Bu sayede saldırgan patojen ortadan kaldırılır ve inflamasyonun sonlanması sağlanır (144).

Nötrofil ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin salınımını engeller. Sitokin sentez inhibitör faktörü olarak bilinir. Sitotoksik veya inflamatuvar yanıtların ve antikör yanıtlarının arttırılması ile ilişkili çeşitli işlevleri vardır. IFN- γ üretimini, antijen sunumunu ve makrofajların uyarılmasını inhibe eder. IL-1, IL-6, IL-8, TNF ve IL-12 gibi birçok sitokinin yapımını inhibe eder. Aktive B hücrelerinin çoğalmasını arttırır ve plazma hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Aktif B hücrelerinde IgG, IgA, IgM sentezini arttırır (186, 195).

Mononükleer hücrelerden proinflamatuvar sitokin sentezini (TNF- α , IL-1, IL-12) antijen sunucu hücre fonksiyonunu, hücre-aracılı immüniteyi, antijen spesifik T hücre çoğalmasını inhibe eder ve damar duvarında inflamatuvar yanıtı baskılar. Antikör üretimiyle sonuçlanan B hücrelerin plazma hücrelerine farklılaşmasını indükler. Th1 lenfositler ve NK hücrelerden sitokin ekspresyonunu baskılayarak hücre aracılı immüniteyi azaltıp, humoral yanıtı artırır. IL-6 ve PGE2 salınımını baskılar. Makrofajda, IFN- γ ile indüklenen NO ve reaktif oksijen radikalleri üretimini inhibe eder. CD8 T hücreleri için kemoatraktandır (181, 187, 196).

1.4. IL'LER ve BPD

Bronkopulmoner displazi gelişiminde önemli patofizyolojik mekanizmalardan birisi, antenatal dönemde oluşan inflamasyon ve/veya enfeksiyondur. Bunun histolojik veya klinik olarak en tipik örneği korioamnionittir. Erken postnatal dönemde geçirilen sistemik veya pulmoner enfeksiyonlar da benzer şekilde etki etmektedir. Korioamnionit

varlığında çok sayıda sitokin salınması ile karşı karşıya kalan akciğerlerde; postnatal resüsitasyon, mekanik ventilasyon veya oksijen tedavisinin eklenmesi akciğer zedelenmesi, pulmoner inflamatuvar cevap, anormal yara iyileşmesi, fibrozis ve sonuçta alveolarizasyon ve vasküler gelişimin inhibisyonu ile karakterize BPD tablosunu oluşturmaktadır. Bu süreçte; inflamatuvar hücrelerin kemotaksis ve endotelial adhezyonu, plazma proteinlerinin aktivasyonu ve alveolokapiller membranda geçirgenlik artışı, pro ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengenin bozulması özellikle etkili olmaktadır (2, 197).

Mekanik ventilasyonun başlamasıyla beraber RDS'li bebeklerde normalde birinci saatte izlenen periferik kanda nötrofil sayısının azalması ve bronkoalveoler sıvıda nötrofil ve makrofaj artışının, BPD gelişecek prematüre bebeklerde daha belirgin olduğu ve haftalarca devam ettiği gösterilmiştir. Ağır RDS'si olan ve erken dönemde ölen prematüre bebeklerin postmortem çalışmalarda akciğer dokularında nötrofillerde 10 kat, makrofajlarda 15 kat artış olduğu bildirilmiştir (198).

İnflamatuvar cevabın başlatılmasında nötrofillerin endotelial hücre adhezyon moleküllerine bağlanması anahtar rol oynar. BPD gelişen bebeklerde hava yolu sekresyonlarında ve plazmada adhezyon moleküllerinin arttığı belirlenmiştir. Mekanik ventilasyon ve oksijen tedavisi ile plazma proteinleri aktive olmakta ve koagülasyon, fibrinoliz, kompleman ve kinin-kallikrein sistemleri harekete geçmektedir. Bunların sonucunda alveolokapiller membran etkilenmekte, aktive nötrofiller ve trombositler pulmoner vasküler yatağa geçerek inflamasyonu tetiklemektedir. BPD gelişen yenidoğanların hava yolu sekresyonlarında IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler yüksek oranlarda saptanmıştır (199, 200).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Modeli ve Tedaviler

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (02.03.2017 tarih, Karar No: 2017/02) alınan bu çalışma, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Gebeliği planlanmış wistar albino suşu ratlar, kendiliğinden doğan yavru ratların spontan doğumu takiben randomize olarak 4 gruba ayrıldı.

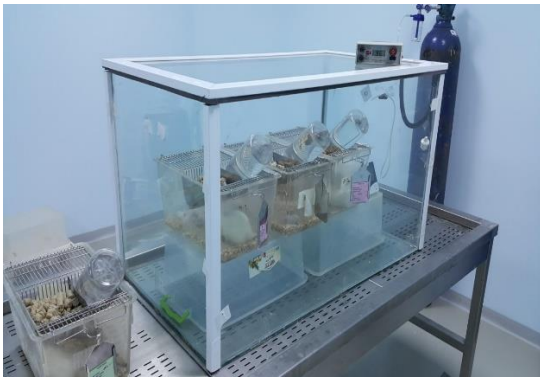
Grup 1: Oda havasında kalan, intraperitoneal salin verilen grup

Grup 2: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, intraperitoneal salin verilen grup

Grup 3: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, intraperitoneal vitamin A verilen grup

Grup 4: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, gastrik lavajla İzotretinoin verilen grup olarak belirlendikten sonra annelerinin yanına verildi.

Postnatal 3. günde başlayıp 13. güne kadar devam eden deneyde Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'teki ratlar, camdan imal edilen kapalı alanlarda hiperoksiye (oksijen konsantrasyonu: 90 ± 2) maruz bırakıldı (Şekil-7).



Şekil 7. Deney düzeneği

Hiperoksik akciğer hasarı modeli için hiperoksinin indüklediği BPD rat modeli kullanıldı. Hiperoksiye maruz bırakmak için 3 mm kalınlığında cam fanus kullanıldı. Oksijen giriş-çıkışı yapıldı. Oksijen konsantrasyonu günde iki defa kontrol edildi. Nem

oranı %60-80 arasında tutuldu ve CO₂ soda-lime ile uzaklaştırıldı. Oda havasında tutulan ratlar ile hiperoksiye maruz bırakılan ratlar deney süresince aynı odada (oda ısısı, 22-25 °C) bulunduruldu. Ratlar 12 saat ışık alarak, 12 saat karanlıkta kalarak, böylece stres faktörü azaltılmış oldu. Tüm rat yavruları anne sütü ile beslenirken, anne ratlar standart rat yemi ile beslendi.

Ratlara postnatal 14. günde intraperitoneal ketamin 100 mg/kg tek doz ile genel anestezi yapılarak dekapitasyonla ötenazi uygulandı. Toraks boşluğu torakotomi ile açılarak sol akciğer lobları biyokimyasal analizler için kuru tüpte -80 °C’de donduruldu. Sağ akciğer lobları histopatolojik-immünohistokimyasal incelemeler için ayrı ayrı kasetlere konarak formaldehit solusyonuna alındı, tüm preparatlar 24 saat içinde formaldehitten alınıp parafine gömüldü.

Sağ akciğer histopatolojik-immünohistokimyasal inceleme ve BPD açısından skora için alındı, sol akciğer ise biyokimyasal parametreleri (IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) değerlendirmek için alındı. Sağ akciğer immünohistokimyasal olarak Düz Kas Aktin (SMA) boyaması ile değerlendirildi.

Ayrıca karaciğer formaldehit solusyonuna alındı, karaciğerin tüm preparatları 24 saat içinde formaldehitten alınıp parafine gömüldü. Karaciğer yağlanması ve hasarı histopatolojik olarak değerlendirildi.

2.2. İlacın Uygulanması

Grup 1: Oda havasında kalan, hergün intraperitoneal olarak insülin enjektörü ile salın verilen grup

Grup 2: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, hergün intraperitoneal olarak insülin enjektörü ile salın verilen grup

Grup 3: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, haftada 3 gün intraperitoneal olarak insülin enjektörü ile Vitamin A 5000 IU/gün verilen grup

Grup 4: Hiperoksiye maruz bırakılmasıyla birlikte, hergün gastrik lavajla soya yağı içine konmuş İzotretinoin 1 mcg/gr verilen grup

2.3. Biyokimyasal Analizler

–40 °C’de dondurulan Akciğer doku örnekleri analiz öncesi 50 mM fosfat tamponunda (pH 7.4, 1/10 g/ml) 4 °C’de homojenize edildi. Homojenatlar, 15.000 rpm 30 dakika santrifüj edildi ve supernatant ayrılarak IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α parametreleri yarışmalı ELİSA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay) metoduyla (Rel assay diagnostic) çalışıldı.



Şekil 8. Histopatolojik ve histokimyasal değerlendirme

Postnatal 14. günde torakotomi ile açılan göğüs boşluğundan girilerek çıkarılan akciğer ve karaciğer dokuları nötral tamponlanmış %10'luk formalin çözeltisinde alınarak patoloji laboratuvarına teslim edildi. 24 saat nötral tamponlanmış %10'luk formalin çözeltisinde fıkse edildi. Tespit sonrası dokular Leica ASP® 300 (Leica microsystems, Germany) otomatik vakumlu doku takip cihazında takip edildikten sonra parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklardan Leica RM® 2135 (Leica microsystems, Germany) marka rotary mikrotom cihazı ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Lamlara alınan bu kesitler normal histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (H&E), fibrozisi değerlendirmek için Masson-Trikrom (MT) boyaları ile boyandı.

Hazırlanan preparatlar Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda Olympus BX53F (Olympus, Tokyo, Japan) ışık mikroskopunda tek bir patolog (Dr. Öğr. Üyesi Remzi ERTEN) tarafından kör bir şekilde histopatolojik olarak değerlendirildi.

1. Akciğerde Histopatolojik Değerlendirme (H&E ile)

Skor 1, Normal histoloji

Skor 2, İnteralveoler septumda hafif-orta derecede lökosit infiltrasyonu

Skor 3, İnteralveoler septumda şiddetli lökosit infiltrasyonu, ödem ve alveolde parsiyel harabiyet

Skor 4, Dokuda total harabiyet

2. Akciğerde Alveol Yüzey Alanının Semikantitatif Ölçümü (H&E ile)

(Akciğerin periferik kısımlarından x40'luk büyütme ile rastgele 10 alanın değerlendirilmesi)

Alveol yüzey alanında azalma derecesine göre,

Skor 0, Azalma yok

Skor 1, Hafif azalma

Skor 2, Orta derecede azalma

Skor 3, Belirgin azalma

3. Akciğerde Fibrozis (Kollajen yoğunluğu) (Masson Trikrom ile)

(x100'luk büyütme alanında 10 alan değerlendirilmesi)

Fibrozis varlığına ve miktarına göre,

Skor 0, Fibrozis yok

Skor 1, Az sayıda alveolde sınırlı, hafif fibrozis

Skor 2, Orta derece fibrozis

Skor 3, Yaygın ve belirgin fibrozis

4. Karaciğerde Yağlanma (H&E ile)

Skor 0, Steatotik hücreler %5'den az

Skor 1, Steatotik hücreler %5-24

Skor 2, Steatotik hücreler %25-49

Skor 3, Steatotik hücreler %50'den fazla

5. Karaciğerde Hidropik Dejenerasyon (H&E ile)

Karaciğerde 10 büyük büyütme alanında hidropik dejenere hücre Sayısı ve ortalaması

6. Karaciğerde Fibrozis (Kollajen Yoğunluğu) (Masson Trikrom ile)

Skor 0, Fibrozis olmayan normal karaciğer

Skor 1, Kalın perivenüler kollajen ve birkaç kollajen septa

Skor 2, İnce septa ile inkomple köprüleşmeler

Skor 3, İnce septa ve yoğun köprüleşmeler

Skor 4, Kalın septa ile portal bölgeleri çaprazlayan komple köprüleşmeler ve nodüler görünüm

7. Karaciğerde Apoptotik Hücre (H&E ile)

Karaciğerde 10 büyük büyütme alanında nekrotik (apoptotik) hücre sayısı ve ortalaması

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Hazırlanan parafin bloklardan immünohistokimyasal boyama için Leica RM® 2135 (Leica microsystems, Germany) marka rotary mikrotom cihazı ile 4 µm kalınlığında polyisinli lamlara kesitler alındı. Primer antikor olarak Smooth Muscle Mouse Monoclonal Antibody (1/250, Cell Marpue, 760_2833 veya CMC28330040, ABD) kullanıldı. Ventana Benchmark XT immünohistokimya otomatik boyama sistemi ve Ventana Ultraview Dab Detection Kit kullanılarak uygun pozitif kontroller eşliğinde boyama yapıldı. Tüm değerlendirmeler Olympus BX53F (Olympus, Tokyo, Japan) marka ışık mikroskopunda yapıldı.

2.4. İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızdaki sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler; Medyan, Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değerler olarak ifade edilmiştir. Sürekli değişkenler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver.23) istatistik paket programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Dokuların Histopatolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi

Tablo 15. Gruplara göre karşılaştırma sonuçları

(BBA: Bir büyük büyütme alanında)

((10) BBA: 10 büyük büyütme alanında)

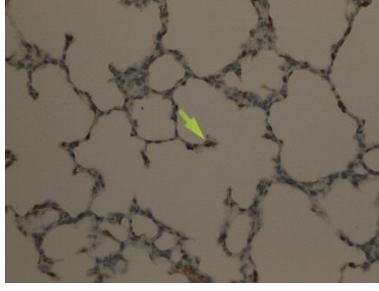
Parametre	Kontrol (n=12) Median+Std.dev.	SF+Hiperoksi (n=12) Median+Std.dev.	Vitamin A+ Hiperoksi (n=12) Median+Std.dev.	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12) Median+Std.dev.
(1) BBA'da Akciğerde SMA ile boyanan hücre sayısı	413,50 ^c ±112,11	985,50 ^a ±159,27	692,50 ^b ±219,79	682,50 ^b ±81,79
(10) BBA'da Karaciğerde Hidropik Dejenere Hücre sayısı	2,50±2,12	3,00±1,56	2,50±3,08	2,00±1,70
(10) BBA'da Karaciğerde Hidropik Dejenere Hücre ortalaması	0,25±0,21	0,30±0,16	0,25±0,31	0,20±0,17

*Kruskal-Wallis Test; a, b, c → Aynı satırda farklı harfleri alan gruplar arası fark istatistik olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

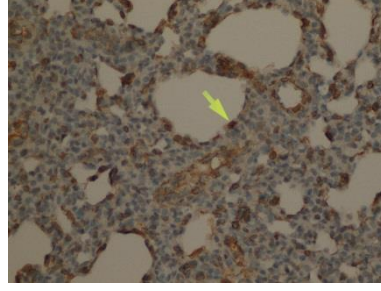
Tablo 15’de görüldüğü üzere, kontrol grubunun diğer gruplardan farkı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur. Benzer şekilde SF+Hiperoksi grubunun da diğer gruplardan farkı anlamlı bulunurken ($p<0.05$), Vitamin A+Hiperoksi ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasındaki fark istatistik olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışma gruplarındaki ratların sağ akciğer dokusunun histopatolojik incelemesinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi:

(1) BBA’da akciğerde SMA ile boyanan hücre sayısı bakımından karşılaştırıldığında Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Fakat İzotretinoin+Hiperoksi grubunda hücre sayısı Vitamin A+Hiperoksi grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi gruplarında SF+Hiperoksi grubuna göre hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmış saptandı ($p<0.01$).

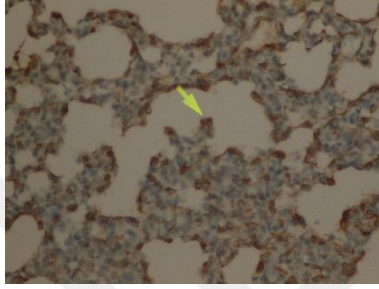


Kontrol

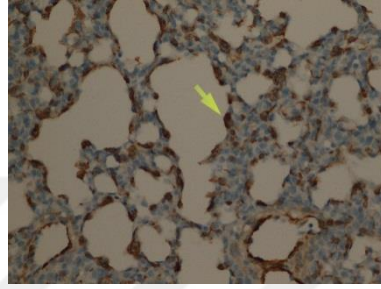


SF+Hiperoksi

AC SMax400 ok: Kahve renkli boyanma boyanan hücrelerden sadece birini gösteriyor.



Vitamin A+Hiperoksi



İzotretinoin+Hiperoksi

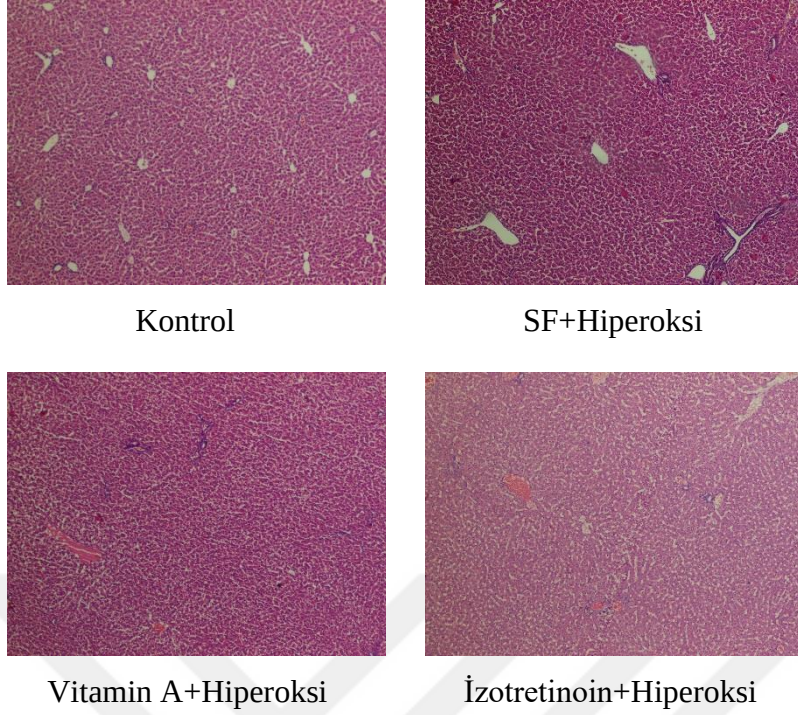
AC SMax400 ok: Kahve renkli boyanma boyanan hücrelerden sadece birini gösteriyor.

Şekil 9. (1) BBA’da Akciğerde SMA ile Boyanan Hücre Sayısı (x400’lük büyütme)

(10) BBA’da karaciğerde hidropik dejenere hücre sayısı bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistik açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

(10) BBA’da karaciğerde hidropik dejenere hücre ortalaması bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

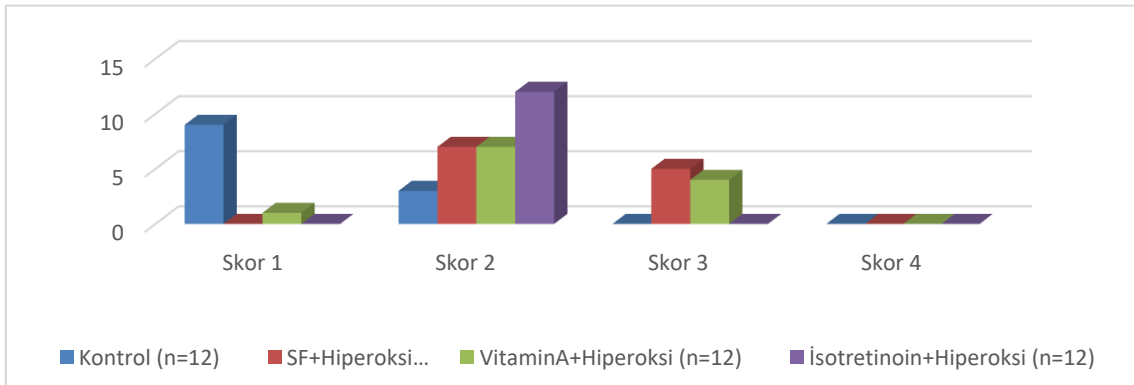
(10) BBA’da Karaciğerde Hidropik Dejenere Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması, Karaciğerde Yağlanma, Karaciğerde Nekrotik (Apoptotik) Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması (HE)



Şekil 10. (10) BBA’da Karaciğerde Hidropik Dejenere Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması, Karaciğerde Yağlanma, Karaciğerde Nekrotik (Apoptotik) Hücre sayısı ve Hücre Ortalaması (HE)

Tablo 16. Akciğerde Histopatolojik Değerlendirme

Parametre	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin+Hiperoksi (n=12)
Skor 1	9	0	1	0
Skor 2	3	7	7	12
Skor 3	0	5	4	0
Skor 4	0	0	0	0

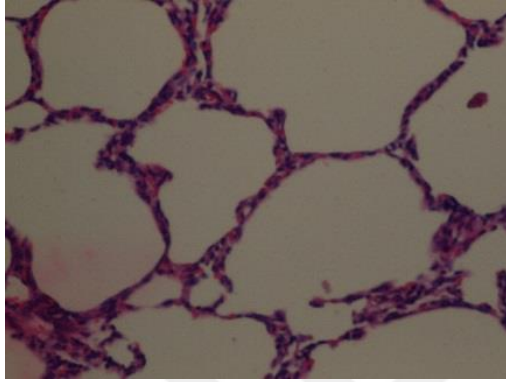


Şekil 11. Akciğerde histopatolojik değerlendirme

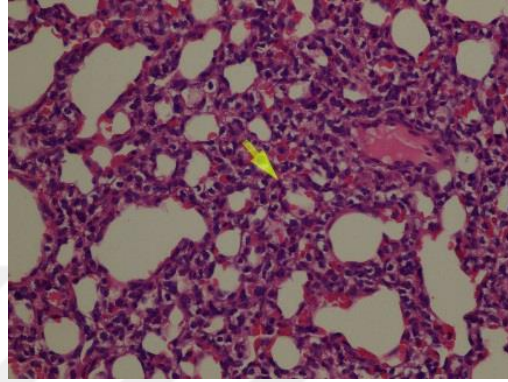
Çalışma gruplarındaki ratların sağ akciğer dokusu histopatolojik değerlendirilmesinde tablo 16’da belirtildiği gibi 4 skora kullanıldı, grupların hiç

birinde skor 4 saptanmadı. Kontrol grubu ile hiperoksi grupları arasında histopatolojik açıdan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık saptandı ($p < 0.01$).

İzotretinoin+Hiperoksi grubunda doku hasarının Vitamin A+Hiperoksi ve SF+Hiperoksi gruplarına göre istatistiksel açıdan anlamlı oranda daha düşük olduğu gözlemlendi ($p < 0.001$).

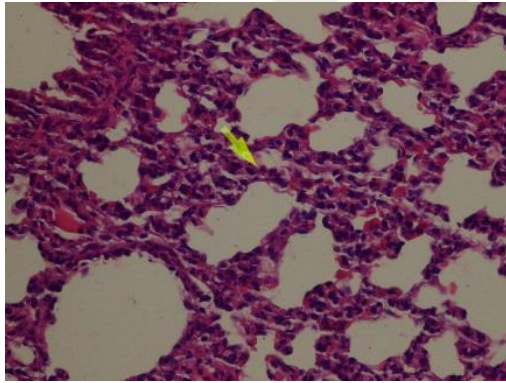


Kontrol



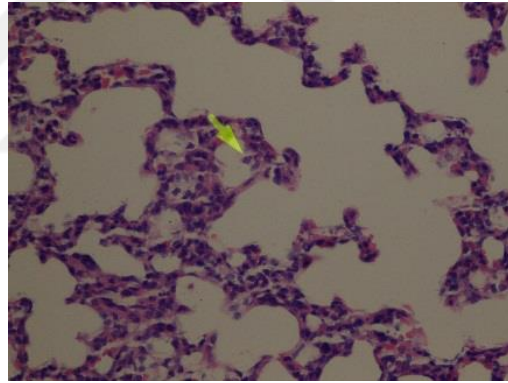
SF+Hiperoksi

AC HE x400 ok: Nötrofil (lökosit)'i gösteriyor



Vitamin A+Hiperoksi

AC HE x400 ok: Nötrofil (lökosit)'i gösteriyor



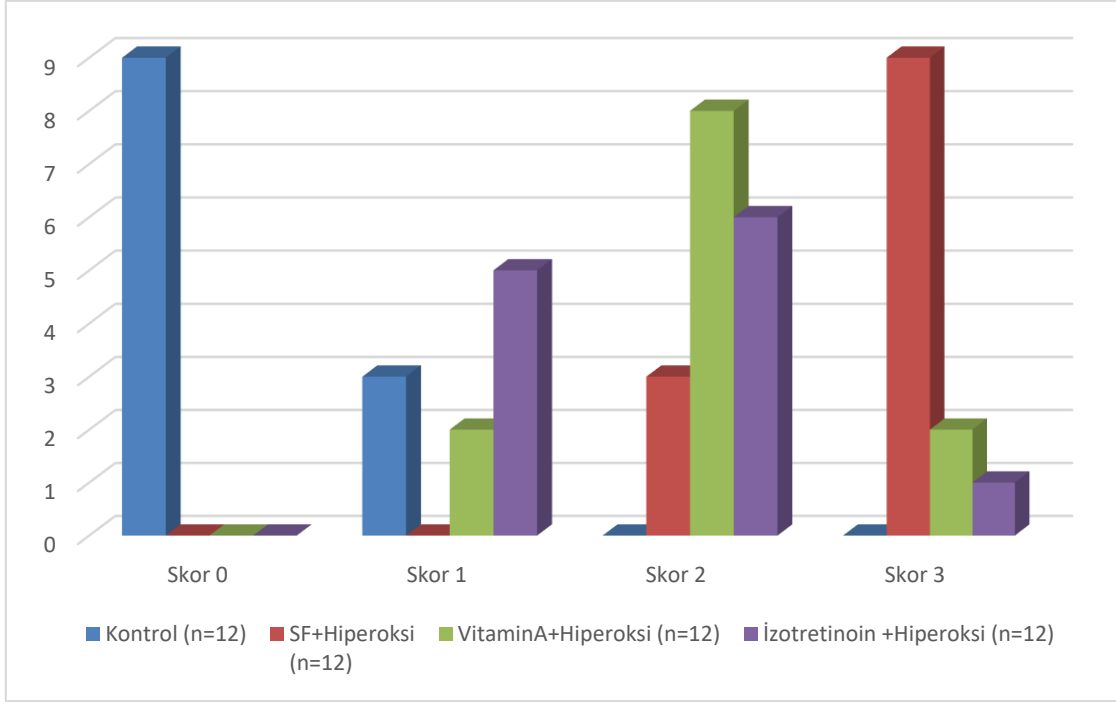
İzotretinoin+Hiperoksi

AC HE x400 ok: Nötrofil (lökosit)'i gösteriyor

Şekil 12. Akciğerde Histopatolojik Değerlendirme (HE)

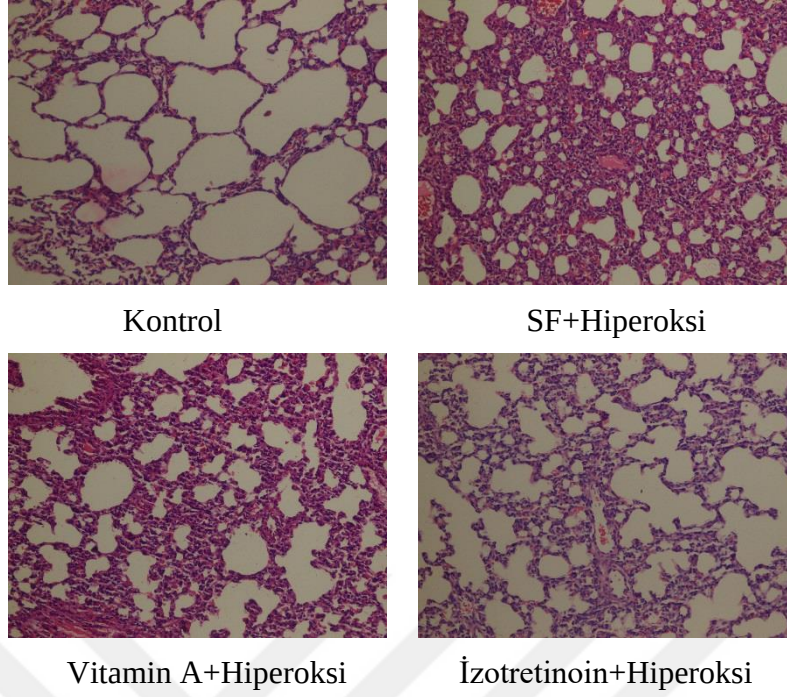
Tablo 17. Akciğerde Alveol Yüzey Alanının Semikantitatif Ölçümü

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	9	0	0	0
Skor 1	3	0	2	5
Skor 2	0	3	8	6
Skor 3	0	9	2	1



Şekil 13. Akciğerde alveol yüzey alanının semikantitatif ölçümü şekillerdeki yazımında

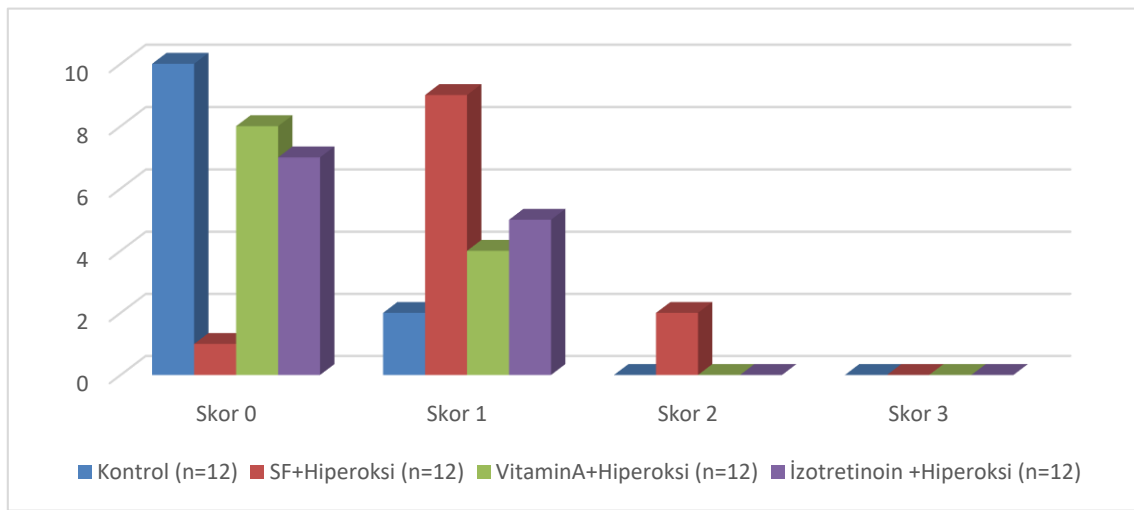
Çalışma gruplarındaki ratların sağ akciğer dokusu histopatolojik değerlendirilmesinde akciğerde alveol yüzey alanının semikantitatif ölçümü tablo 17’de belirtildiği gibi 0-3 arası 4 skorlama kullanıldı. Kontrol grubunda akciğer alveol yüzey alanı açısından diğer gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubunda alveol yüzey alanı belirgin olarak normal saptandı, bunun istatistiksel açıdan anlamlı olduğu gözlemlendi. SF+ Hiperoksi grubunda alveol yüzey alanında diğer gruplara kıyasla daha belirgin azalma saptanmıştır. Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu karşılaştırıldığında, Vitamin A+Hiperoksi grubunda akciğer yüzey alanı İzotretinoin +Hiperoksi grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı oranda azalmış olduğu tespit edildi (tüm değerler için $p < 0,001$).



Şekil 14. Akciğerde Alveol Yüzey Alanının Semikantitatif Ölçümü (HE) (x200'lük büyütme)

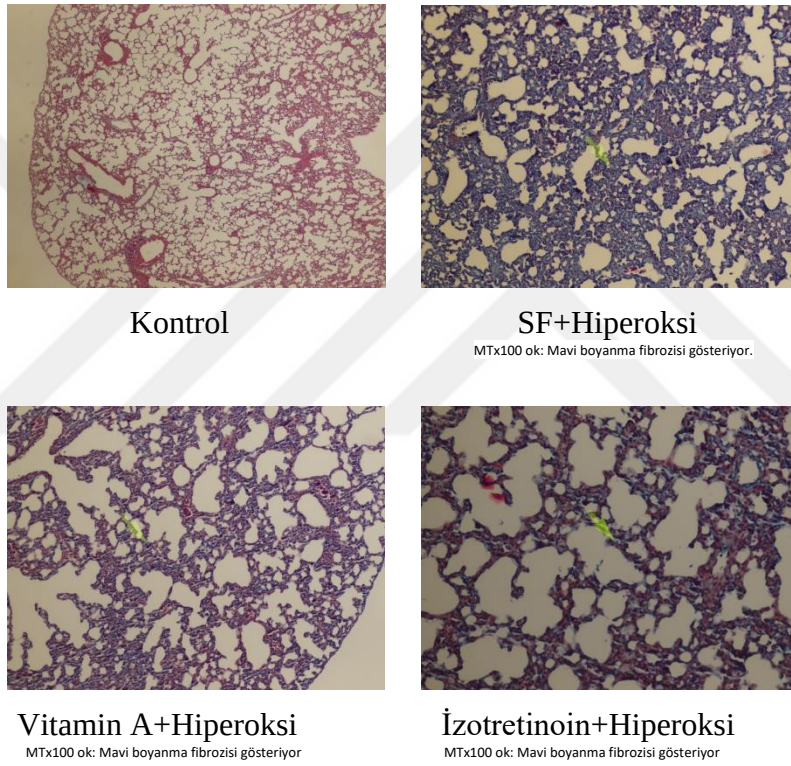
Tablo 18. Akciğerde Fibrozis (MT)

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	10	1	8	7
Skor 1	2	9	4	5
Skor 2	0	2	0	0
Skor 3	0	0	0	0



Şekil 15. Akciğerde fibrozis (MT)

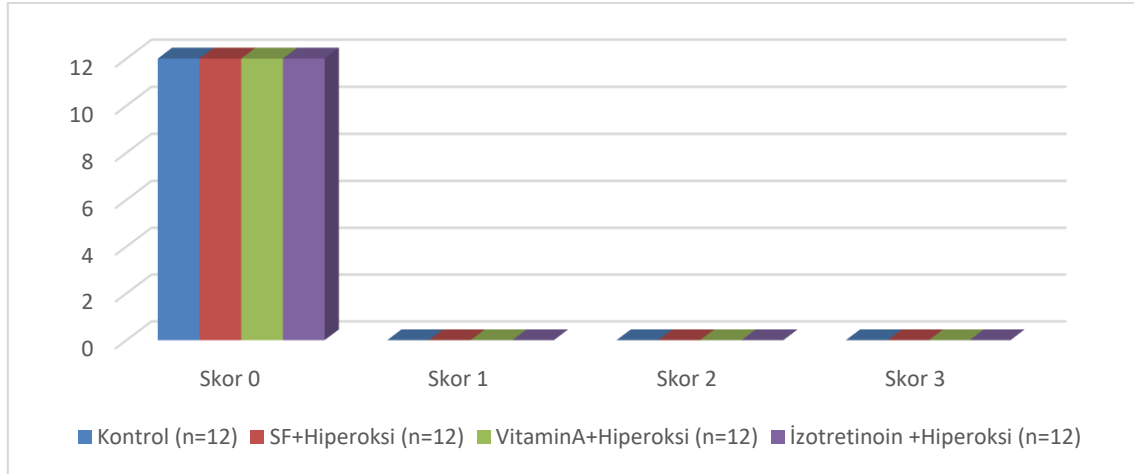
Çalışma gruplarındaki ratların sağ akciğer dokusu histopatolojik değerlendirmesinde akciğer fibrozisi için tablo 18’de belirtildiği gibi 0-3 arası 4 skora kullanıldı. İstatistiksel olarak incelendiğinde, kontrol grubunda akciğer fibrozisi diğer hiperoksi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p<0.05$). SF+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi ve Vitamin A+Hiperoksi grupları arasında akciğer fibrozisi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanırken ($p<0.05$), Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Tüm gruplar içinde en fazla fibrozisin SF+Hiperoksi grubunda olduğu tespit edildi.



Şekil 16. Akciğerde fibrozis (MT)

Tablo 19. Karaciğerde Yağlanma

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	12	12	12	12
Skor 1	0	0	0	0
Skor 2	0	0	0	0
Skor 3	0	0	0	0

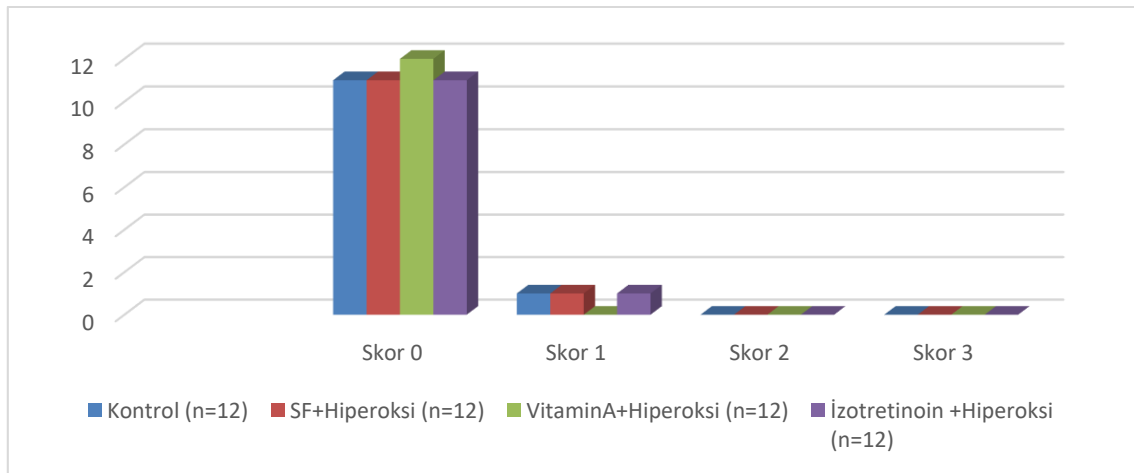


Şekil 17. Karaciğerde yağlanma

Çalışma gruplarındaki ratların karaciğer dokusu histopatolojik değerlendirmesinde karaciğerde yağlanma açısından Tablo 19’da belirtildiği gibi 0-3 arası 4 skora kullanıldı. Histopatolojik değerlendirilmesinde tüm gruplar skor 0 olarak tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (tüm değerler için $p>0.05$).

Tablo 20. (10) BBA ’da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Sayısı

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	11	11	12	11
Skor 1	1	1	0	1
Skor 2	0	0	0	0
Skor 3	0	0	0	0

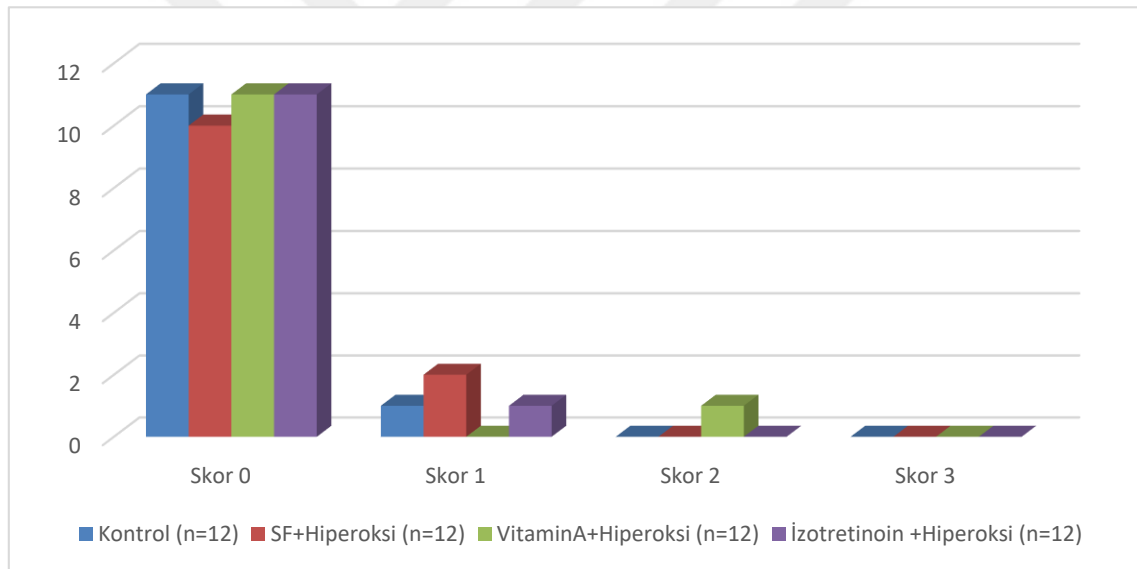


Şekil 18. (10) BBA ’da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Sayısı

Çalışma gruplarındaki ratların karaciğer doku histopatolojik değerlendirmesinde BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre sayısı tablo 20'de belirtildiği gibi 0-3 arası 4 skora kullanıldı. İstatistiksel olarak karaciğerde apopitotik hücre sayısı açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (tüm değerler için $p>0.05$).

Tablo 21. (10) BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre ortalaması

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	11	10	11	11
Skor 1	1	2	0	1
Skor 2	0	0	1	0
Skor 3	0	0	0	0

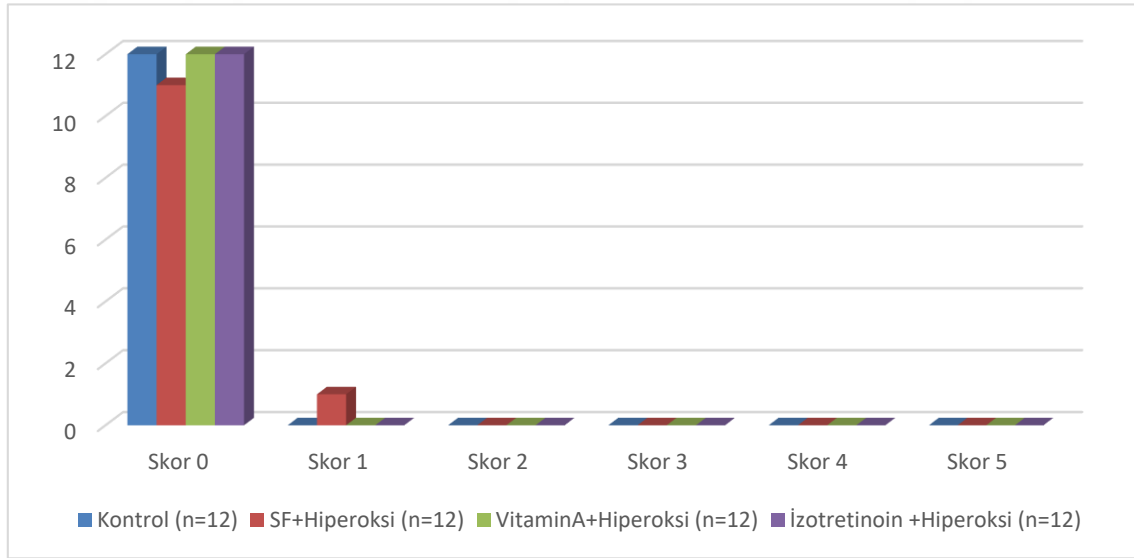


Şekil 19. (10) BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Ortalaması

Çalışma gruplarındaki ratların karaciğer doku histopatolojik değerlendirmesinde BBA'da Karaciğerde Nekrotik (Apopitotik) Hücre Ortalaması tablo 21'de belirtildiği gibi 0-3 arası 4 skora kullanıldı. İstatistiksel olarak karaciğerde apopitotik hücre ortalaması açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (tüm değerler için $p>0.05$).

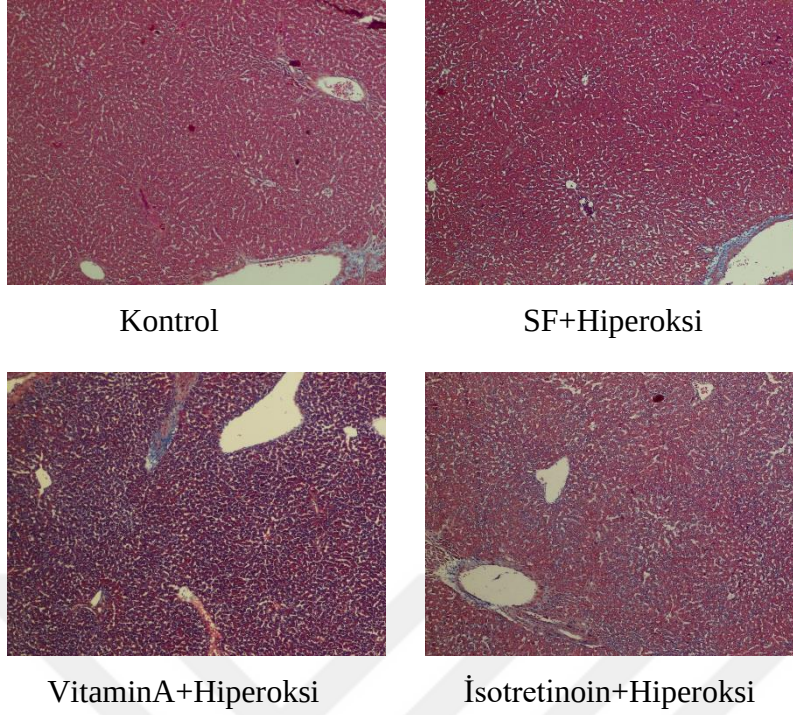
Tablo 22. Karaciğerde Fibrozis (MT)

Skor	Kontrol (n=12)	SF+Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12)
Skor 0	12	11	12	12
Skor 1	0	1	0	0
Skor 2	0	0	0	0
Skor 3	0	0	0	0
Skor 4	0	0	0	0
Skor 5	0	0	0	0



Şekil 20. Karaciğerde Fibrozis (MT)

Çalışma gruplarındaki ratların karaciğer doku histopatolojik değerlendirmesinde karaciğer fibrozisi için tablo 22’de belirtildiği gibi 0-5 arası 6 skora kullanıldı. İstatistiksel olarak karaciğer fibrozisi açısından gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (tüm değerler için $p>0.05$).



Şekil 21. Karaciğerde Fibrozis (MT)

3.2. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Tablo 23. Deney gruplarının sol akciğer dokusu sitokin düzeyleri ve karşılaştırılması

Parametre	Kontrol (n=12) Median+SD	SF+Hiperoksi (n=12) Median+SD	Vitamin A+Hiperoksi (n=12) Median+SD	İzotretinoin +Hiperoksi (n=12) Median+SD
IL-1B	9395,68±1720,47	8873,18±1540,89	9246,16±1732,10	9228,13±1613,87
IL-6	26,14±11,48	35,66±12,56	47,25±26,84	32,67±14,32
IL-8	366,75±169,62	331,378±195,84	290,29±155,84	260,55±137,08
IL-10	476,59±224,85 ^{a,b}	258,625±127,94 ^c	553,45±258,87 ^a	328,94±193,30 ^{b,c}
TNF- α	443,534±93,200	437,721±105,33	452,53±102,98	333,20±122,46

*Kruskal-Wallis Test; a, b,c →: Aynı satırda farklı harfleri alan gruplar arası fark istatistik olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

Sitokin Düzeyleri

Çalışma gruplarındaki ratların sol akciğer dokusu IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α düzeyleri ve karşılaştırılması Tablo 23’de belirtilmiştir.

Her bir parametrenin kontrol, SF+Hiperoksi, Vitamin A+Hiperoksi ve

İzotretinoin+Hiperoksi gruplarının her birinin kendi aralarındaki yapılan karşılaştırmada IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF-Alfa düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (tüm değerler için $p>0.05$), (Tablo 23).

IL-10 düzeyi bakımından gruplar değerlendirildiğinde; Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin +Hiperoksi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken ($p>0.05$), Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin +Hiperoksi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$), (Tablo 23).

Tablo 24. Kilo alımı

Ağırlık Ortalama (gram)	Kontrol (n=12)	SF+ Hiperoksi (n=12)	Vitamin A+ Hiperoksi (n=12)	İzotretinoin+ Hiperoksi (n=12)
Deney öncesi (ortanca), gram (min-max)	8,4 (8,1-9,4)	9 (8,6-9,5)	8,7 (8,2-9,1)	8,6 (8,3-9,4)
Deney sonrası (ortanca), gram (min-max)	25,3 (22,5-30)	17,4 (15,9-19,8)	18,2 (16,8-22)	17,9 (16,2-20,5)

Deney öncesi gruplar arasında ortalama ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Deney sonunda ise hiperoksiye maruz bırakılan ratların ağırlıkları oda havasında tutulanlara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu ($p<0.001$).

4. TARTIŞMA

Yenidoğan yoğun bakım alanındaki tüm gelişmelere rağmen, BPD preterm doğumun en sık görülen uzun dönem komplikasyonlarından biri olmaya devam etmektedir. Riskli yenidoğanların özellikle prematürelerin yaşatılma oranlarının artması BPD sıklığının artmasına yol açmıştır. Neonatolojideki modern ve güncel uygulamaların etkisiyle BPD'nin epidemiyolojisi, ortaya çıkış şekli, kliniği, radyolojik ve patolojik bulguları değişim göstermiş, bu değişim BPD'nin isimlendirme ve tanımlamasına da yansımıştır (1, 3). Eski ve yeni BPD arasındaki farklılıklar, etiyolojik risk etmenleri, izlem ve tedavi protokolleri, koruyucu önlemlerle ilgili klinik ve histopatolojik çalışmalar devam etmektedir (11).

Bu çalışmada, gelişim evresi insanlardaki geç sakküler ve erken alveolar dönem ile uyumlu olan immatür akciğerlere sahip yenidoğan sıçanlarda BPD gelişiminde önemli risk faktörlerinden biri olan hiperoksi ile oluşturulan akciğer hasarının tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan vitamin A ve vitamin A türevi olan İzotretinoin biyokimyasal (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 TNF- α) ve immünohistokimyasal (alveolar alan, fibrozis ve düz kas hiperplazisi) parametreler üzerine olan etkinliği ve bunların olası yan etkileri araştırıldı.

Bronkopulmoner displaziye neden olan pek çok risk faktörü tanımlanmaktadır. Bu risk faktörlerinin bir kısmı önlenabilmektedir. Etyolojide immatürite, barotravma/volütravma, oksidan stres, intrauterin başlangıçlı da olabilen infeksiyon/inflamasyon ve proteolitik zedelenme mekanizmaları ile bazı antenatal faktörler yoğun olarak sorumlu tutulmakta ve araştırmalar bu konular üzerine yoğunlaşmaktadır (61).

Mekanik ventilatör desteği olmayan ve/veya RDS olmayan erken doğmuş bebeklerin bazılarında da BPD'nin görülmesi araştırmaları inflamasyon üzerine yoğunlaştırmıştır. Koriyoamniyonit gibi postnatal dönemde gelişen infeksiyonlar, inflamatuvar sitokin artışına yol açarak BPD oluşumuna katkıda bulunmaktadır. BPD'de proinflamatuvar mekanizmalar lehine inflamasyondaki dengesizliği gösteren kanıtlar artmaktadır. Ortaya çıkan inflamatuvar yanıt; hava yolu ve akciğer dokusunda nötrofil ve makrofaj birikimi, alveolokapiller yapı ile doku bütünlüğünü bozan proinflamatuvar mediatörlerin birikimi ile karakterizedir (199, 201). Ancak BPD'nin

önlenmesinde antiinflamatuvar olarak kullanılan sistemik steroidlerin, (özellikle deksametazon) olumsuz nörogelişimsel sonuçları, alveol yüzey alanını azaltması ve diğer birçok yan etkisi nedeniyle sadece yüksek riskli hasta gruplarında kullanılması önerilmektedir (202). Bunun sonucunda artmış enflemasyonu baskılamak için pek çok deneysel araştırma, bir çok farklı madde kullanılarak devam etmektedir.

Yüksek konsantrasyonda ve uzun süreli oksijen kullanımı ile BPD gelişimi arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. Prematüre bebekler akciğer immatüritesi nedeniyle kaçınılmaz bir sonuç olarak yüksek konsantrasyonda oksijene maruz kalmaktadır. Bu bebeklerin antioksidan sistemlerindeki yetersizlik, yüksek yoğunlukta ve uzun süreli oksijen tedavisi oksidatif stres ile akciğer hasarına neden olmaktadır. Deneysel hayvan çalışmalarından elde edilen bilgiler ışığında; hiperoksi, hipoksi, mekanik ventilasyon ve yetersiz beslenme gibi birçok faktörün etkisiyle, ortak son yol net olarak bilinmese de akciğer septasyonunun azaldığı bilinmektedir (4, 5).

Yüksek oksijen; ROS (Reaktif Oksijen Türleri) veya oksijen radikallerinin üretiminden dolayı toksiktir. Bu bileşikler potansiyel olarak proteinler, lipidler, karbonhidratlar hatta DNA gibi temel hücre bileşenlerinde hasara neden olabilirler. Oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu yoluyla hücre membranlarında hasara neden olarak yenidoğanlarda ve özellikle antioksidan sistemleri yetersiz olan prematürelde Prematüre Retinopatisi (ROP), Nekrotizan Enterokolit (NEK), BPD, İntraventriküler Kanama (IVH), Hipoksik İskemik Ensefalopati (HİE) ve ani bebek ölümü sendromu gibi kısa ve uzun dönemli hastalıkların gelişimine katkıda bulundukları birçok çalışmada gösterilmiştir (203, 1).

Hiperoksik akciğer hasarı mekanizmaları üzerine yapılan araştırmalar sonucunda, tedaviye yön verebilecek geniş bir bilgi birikimi ortaya çıkmıştır. Hiperoksiye yanıt olarak hücre içi ROS'nin arttığı, proteinaz/antiproteinaz dengesinin bozulduğu, enflamasyon ve stres yanıtının ortaya çıktığı, hücre büyüme ve farklılaşma düzeninin bozulduğu görülmüştür (204). Oksijene maruz kalma süresi ve yoğunluğu ile uyumlu olarak akciğer endotel ve epitel hücrelerinde apoptoz ve/veya nekroz gelişmektedir (205). Hiperoksi distal havayollarında dallanmayı baskılayarak, gelişimin duraklamasına neden olmaktadır (206). Hiperoksi maruziyetinin özellikle nötrofillerin aktivasyonuna yol açtığı ve bu yolla endotel ve epitel hücre hasarına neden olduğu

(207), TGF- α ve lökotrien düzeylerini arttırdığı (208), hücre çekirdeğinde enflamasyon, koagülasyon, fibrinoliz ve hücre siklusu genleri üzerinde etkili olduğu (209), endotelin-1 düzeylerini arttırdığı (210) yakın dönemde gösterilmiş mekanizmalar arasında yer almaktadır.

BPD'nin histopatolojik bulguları; basit ve az sayıda alveol, alveol yüzey alanında azalma ile karakterize alveolarizasyonda bozulmadır. Alveoler formasyon, sakküler evreden alveoler evreye geçişin görüldüğü, gebeliğin 32. haftasında başlayan ve geç postnatal dönemde de devam eden bir süreçtir. Sekonder krestler (alveollerin progenitörleri) ve alveol ağzında elastik fibrillerin birikimi nedeniyle elastinin yeni alveol gelişiminde önemli rolü olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle elastik fibrillerin birikiminde oluşabilecek anormalliklerin alveolarizasyonun bozulmasında önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (211). Bruce ve arkadaşlarının çalışmasında (212) hiperoksinin ratlarda elastik fibrillerin uzunluğunda ve yapısında değişime (daha kısa ve kıvrımlı fibriller) neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hiperoksiye maruziyetin uzamasının kollajen yapısında ve birikiminde, elastik fibrillerin birikiminde bozulmaya neden olduğu belirtilmiştir. Bu bozulmanın volütravma ve barotravmanın etkisiyle oluşan serbest oksijen radikallerine ve inflamasyona sekonder geliştiği öne sürülmektedir (211). Bizim çalışmamızda da hiperoksiye maruz kalan ratlarda kontrol grubuna göre akciğer fibrozisi, akciğer alveol yüzey alanı ve SMA skorlarının belirgin bir şekilde akciğer hasarı lehine olması, önceki çalışmaları desteklemektedir.

RA, fetal akciğer büyümesini kontrol eden önemli faktörlerden biridir. Maternal Vitamin A eksikliği fetal pulmoner gelişimi ve dallanmasını bozar. Ratlar Vitamin A'dan fakir beslendiklerinde anormal trakeal morfoloji ortaya çıkmaktadır. Ancak diyetlerine A vitamini yeniden eklenince olay düzelmektedir. RA uygulanan yeni doğan ratlarda alveollerin postnatal büyümesinin etkilendiği ve aynı zamanda amfizematöz akciğer patolojisinde RA ile geri dönüşüm olduğu ispatlanmıştır. RA erken dönemde alveoler hipertrofi yaparak akciğer gelişimine katkı sağlar. Geç dönemde ise büyüme alveoler hiperplazi ile sağlanmaktadır (213, 214, 215).

RA akciğer dokusunun yanı sıra akciğerin bronkopulmoner yapılarının ve trakeanın gelişimine de etki etmektedir. RA tedavisi ile Tip 2 pnömonositlerin hücre kültürlerinde proliferasyon indüklenmektedir. Bu ilgili hücrede oluşan mitojenik bir

cevaptır. RA'in akciğer gelişimindeki rolü sadece antenatal dönemle sınırlı değildir, postnatal dönemde de alveol gelişimine katkı sağladığı bilinmektedir (213, 214, 215).

Retinoidler, retinol ve RA deriveleri içermektedir ve akciğer büyümesi ve homeostazisinde önemli rollere sahip moleküllerdir. Alveoler epitelde RA reseptörlerinin ve RA bağlayıcı proteinlerin varlığı, alveoler epitelyum hücre cevabında RA'nın rolü için destek niteliğindedir. Alveoler epitelyumda Tip 2 hücrelerine ait kök hücrelerinin proliferasyonunda RA'nın etkileri incelenmiştir. RA ile tedavinin Tip 2 hücrelerde hücre sayısında artışla ve doz bağımlı olarak proliferasyona neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca Vitamin A mRNA sentezini artırarak pnömositlerden surfaktan sentezini artırarak akciğer maturasyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (213, 214, 215).

Bizim çalışmamızda, gelişim evresi insanlardaki geç sakküler ve erken alveolar dönem ile uyumlu olan akciğerlere sahip ratlarda BPD gelişiminde önemli risk faktörlerinden biri olan hiperoksinin etkisi incelendi. Akciğer dokusunda Vitamin A ve İzotretinoin tedavilerinin akciğer inflamasyon ve fibrozisi üzerine olan etkilerini immünohistokimyasal ve patolojik olarak incelendi. Akciğer gelişimi ve onarımı, genetik etkiler, hormonal uyarı ve hücreler arasındaki ilişki gibi kontrollü ilişkiler serisini gerektirmektedir. Bu etkileşimler, hücre farklılaşması ve büyümesinde birçok faktörün rol almakta olduğunu göstermektedir (216).

İnfanlarda yapılan bazı klinik çalışmalarda Vitamin A verilmesi ile BPD'nin ciddiyetinde ve görülme sıklığında azalma olduğu gösterilmiştir. İlginç olarak Vitamin A'dan mahrum bırakılan ve trakeobronşial epitelde skuamoz metaplazi olan ve siliyer hücrelerde azalma gözlenen ve neticede ölen deneklerde gözlenen değişiklikler bronkopulmoner displazili çocukların akciğerleri ile benzerlikler göstermektedir. Bu bulgular retinoidlerin postnatal akciğer gelişimi ve akciğer bütünlüğünün tamir sürecinde rol aldığını göstermektedir (217). Bir invivo modelde A vitamininin bronşiollerin epitelyal hücrelerinin indeksinde ve ratların alveol hücrelerinin miktarında artış yapabileceği ispatlanmıştır (218).

A vitamini akciğerin normal gelişimi için gereklidir. RA akciğer dokusunun yanı sıra akciğerin bronkopulmoner yapılarının ve trakeanın gelişimine de etki etmektedir (219). RA tedavisi ile Tip 2 pnömonositlerin hücre kültürlerinde proliferasyon

indüklenebilmektedir. Ayrıca sürfaktan üretimini ve alveolarizasyonu artırır. Hava yollarının duvarında kollajeni artırır. Alveoler epitelyal hücre proliferasyonunda da önemli rol almaktadır. RA akciğer dokusunda mekanik gerginliği artırır ve yeni alveoler dokunun progresif büyümesini indükler. RA selektif olarak endotelyal hücreleri ve kapiller büyümeyi artırır. Bunlara dayanarak eksojen RA verilmesi ile hiperoksiye ile oluşturulan doku hasarının azaltılabileceği vurgulanmaktadır (219).

Yapılan çalışmalarda, RA'in tip 1 kollejenin hem dönüşümünü sağlayarak hem de bu hücrelerin bozulmasını önleyerek total akciğer kollegen oluşumunda rol almakta olduğu belirtilmiştir (220). RA'in akciğer kollegen yapısı üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat akciğerlerin nükleer retinoik asit reseptörleri, transkripsiyona etki eden ve duyarlı öncü genlerin yanındaki spesifik DNA sekanslarına bağlanan nükleer ligandla aktive edilmiş güçlendirici proteinleri içerdiği ifade edilmiştir (221, 222, 223). Retinoik asit reseptörlerine bağlanan retinoik asit ile aktive edilen genlere ilişkin bilgiler sınırlı olsa da, RA'in kolajenaz aktivasyonunda yer alan bir bileşik olan doku inhibitör metalloproteinaz (TIMP) ve kollagenazın dahil olduğu 300'den fazla gen ürününün genetik ekspresyonunu değiştirdiği gösterilmiştir (224, 225, 226).

RA tarafından düzenlenen kolajen yıkımına neden olan enzimlerin ekspresyonundaki değişikliklerin total akciğer kollejenin oluşumunda majör faktör olduğu vurgulanmaktadır. Bu sayede akciğer kollajeni artmakta ve akciğer fonksiyonunda bir miktar fayda sağlamaktadır. Bu durumun da hiperoksiden daha fazla sağ kalıma katkıda bulunduğu düşünülmektedir (227).

Veness-Meehan ve ark. ile Özer ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda, hiperoksi süresince RA tedavisinin akciğer alveolarizasyonu üzerinde olumlu etkisinin olduğuna vurgu yapılmaktadır. Yapılan bir başka çalışmada RA'nın CYP1A enzimini modüle ederek alveolarizasyonda önemli rol aldığı vurgulanmıştır (228, 229, 230).

Bir diğer çalışmada, retinoik asitin hiperoksi sonucu oluşturulmuş akciğerde alveol formasyonunu ve bozulmuş septasyonu önlemediği, fakat hiperoksi ile oluşturulmuş akciğer hasarında faydalı ve akciğer matrixi üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceği vurgulanmıştır (227).

Bizim çalışmamıza benzer yöntemlerle hiperoksik akciğer hasarı modeli

oluşturulmuş diğer hayvan çalışmalarında da bizim çalışmamızdaki sonuçlarla benzer şekilde hiperoksiye maruz bırakılan ratlarda doku harabiyeti ve fibrozis yoğunluğunun artmış olduğu saptanmıştır. Hiperoksiye maruz bırakılan Vitamin A ve İzotretinoin verilen gruplar sadece hiperoksiye maruz bırakılan grub ile karşılaştırıldığında Vitamin A ve İzotretinoin verilen gruplarda doku harabiyetinde belirgin azalma olduğunu saptadık (Bkz. Tablo 16). Ayrıca SF+Hiperoksi grubunda Vitamin A ve İzotretinoin verilen gruplar göre alveol yüzey alanında belirgin azalma olduğunu saptadık (Bkz. Tablo 17). Özellikle İzotretinoin verilen gruptaki olgularda alveoler yüzey alanının diğer hiperoksi gruplarına göre daha iyi olması, gerek literatürü gereksede hipotezimizi destekler nitelikteydi.

BPD tedavi basmaklarında kullanılmakta olan vitamin A'ya göre daha iyi alveolar yüzey alanı saptanmış olması, noninvasif uygulanıyor olması, daha ucuz ve daha kolay ulaşılabilir olmasından dolayı İzotretinoin BPD'de alternatif bir tedavi seçeneği olarak üzerinde durulması gerekmektedir.

Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi verilen gruplarda normal akciğer histopatoloji saptanmasa da Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi alan gruplarda SF+Hiperoksi grubuna göre histopatolojik olarak doku harabiyeti ve fibrozisde anlamlı derecede azalma saptadık. Vitamin A+Hiperoksi verilen ratlar ile İzotretinoin+Hiperoksi verilen ratlar kendi aralarında karşılaştırıldığında doku hasarı ve fibrozisi açısından farklılık saptanmadı. Bu bizim için önemli bir sonuç idi. Çünkü İzotretinoin maliyeti, ulaşılabilirliği (her ülkede bulunuyor olması) ve kullanımı yaygın olan Vitamin A derivativesidir. Tezimizin amaçlarından biri de aslında Vitamin A yerine etkinliği olan tedavi seçeneklerinin irdelenmesidir.

Doku hasarının göstergelerinden biri olan SMA ile boyanan hücre sayısı bakımından gruplar incelendiğinde doku hasarının hiperoksiye maruz bırakılan ratlarda daha fazla olduğu saptandı. Hiperoksiye maruz bırakılan ve Vitamin A veya İzotretinoin verilen ratlarda SMA ile boyanan hücre sayısının sadece hiperoksiye maruz bırakılan ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış olduğunu saptadık. Vitamin A ve İzotretinoin verilen ratlar kendi arasında karşılaştırıldığında fark saptanmadı.

Çalışmamızda kullandığımız Vitamin A ve İzotretinoin karaciğere olası yan etkilerini tespit edebilmek amacıyla eş zamanlı karaciğer histopatolojik

değerlendirmesini yaptık, sonuçlarda herhangi bir hidropik dejenerasyon ve fibrozis saptanmadı.

Fetal akciğer gelişiminde Vitamin A'nın önemi bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada sitoprotektif antioksidan ve antiinflamatuvar yanıt üzerinde doku hasarını azalttığı saptanmıştır. Darlow ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada; Vitamin A'nın eksikliğinin BPD gelişimine, preterm doğumla ilişkili kronik solunum bozukluğuna ve insidansı mekanik ventilatör süresine bağlı olan başarısız alveolarizasyona katkıda bulunduğunu saptamışlardı (231). Vitamin A desteğinin BPD prevalansını azalttığı gösterilmiştir (232). Vitamin A ve RA eksikliğinin hem diyafragma hem de akciğerin gelişmesi ile ilişkili olması, bu molekülleri preterm bebeklerde diyafragma ve solunum bozukluğunun şiddetini azaltmaya yönelik terapötik ve önleyici müdahale için potansiyel seçenekler olarak öne sürülmektedir. Barber ve arkadaşları Vitamin A eksikliğinin; sıçan karaciğerinde GSH / GSSG oranının düşmesine yol açtığını (233), akciğerinde glutatyon-S-transferazın aktivitesi azattığını (234) ve akciğer SOD ve katalaz enzim aktivitesini artırdığını saptamışlardı (235). Haddad ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, insan iskelet kası hücresinde retinoik asidin antioksidatif etkilerine aracılık eden GPX3'ü retinoid yanıtı bir gen olarak tanımlamıştır (236).

James ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada vitamin A'nın akciğer dokusunda birçok büyüme faktörünün (transforming growth faktör, epidermal growth faktör, platelet derived growth faktör) sentezini arttırdığı göstermiştir. Bu büyüme faktörlerinin akciğer alveolarizasyonunda önemli bir etkiye sahip oldukları vurgulanmaktadır (237). Ayrıca Vitamin A elastinin öncüsü ve alveolar septanın gelişimi için önemli bir molekül olan troboelastin sentezini arttırmaktadır. Vitamin A'nın bir diğer önemli etkisi sürfaktan protein B sentezini artırmasıdır (238). Bizim çalışmamızda; Vitamin A ve İzotretinoin verilen gruplarda doku hasarının ve inflamasyonun daha az olmasının sebebi Vitamin A'nın anti-inflamatuvar, antioksidan, sitoprotektif etkilerinin yanında büyüme faktörleri sentezini ve sürfaktan sentezini arttırmasına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

İnflamatuvar cevabın başlatılmasında nötrofillerin endotelial hücre adhezyon moleküllerine bağlanması anahtar olaydır. BPD gelişen bebeklerde hava yolu sekresyonlarında ve plazmada adhezyon moleküllerinin arttığı belirlenmiştir. Mekanik

ventilasyon ve oksijen tedavisi ile plazma proteinleri aktive olmakta ve koagülasyon, fibrinoliz, kompleman ve kinin-kallikrein sistemleri harekete geçmektedir. Bunların sonucunda alveolokapiller membran etkilenmekte, aktive nötrofiller ve trombositler pulmoner vasküler yatağa geçerek inflamasyonu tetiklemektedir. BPD gelişen yenidoğanların hava yolu sekresyonlarında IL-1 β , IL-6 IL-8 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler yüksek oranlarda saptanmıştır. Proinflamatuvar sitokinlerden erken salgılananlardan biride TNF- α dır. TNF- α inflamasyonun başlamasında anahtar rol oynar, aktive olmuş monosit ve makrofajlardan salgılanır, proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6 IL-8) salgılanmasını tetikler (239).

Yapılan tez çalışmasında oda havası ve hiperoksi sonucu akciğer hasarı oluşturulmuş ratlar karşılaştırıldığında IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri hiperoksi grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da daha yüksek olduğu saptanmıştır (239).

Bronkopulmoner displazi etiyopatogenezindeki rolü düşünüldüğünde çalışmamızda da hiperoksinin proinflamatuvar sitokin düzeylerini beklenin aksine artırmadığı görülmüştür. Her bir parametrenin Kontrol, SF+Hiperoksi, Vitamin A+ Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi gruplarının kendi aralarındaki karşılaştırmasında IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF-Alfa düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Bkz. Tablo 23). Hyeon-Soo Lee ve arkadaşları BPD'li infanlarda rekombinant IL-10 verilmesi sonrasında bronkoalvelolar lavaşta IL-6 ve TNF-Alfa gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeyinin azaldığını saptadılar (239). Bizim çalışmamızda da proinflamatuvar sitokin düzeyinin düşük olması antiinflamatuvar esas sitokin olan IL-10 düzeyinin göreceli yüksekliğine bağlanabilir.

Proinflamatuvar sitokinlerden en erken salgılanan ve proinflamasyonda anahtar rol oynayan sitokin TNF- α dır. TNF- α diğer proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasında esas görevli proinflamatuvar sitokindir. Yapılan çalışmalarda TNF- α kromozomunda TNF gen promoter bölgesinde genetik olarak çok sayıda plomorfizm saptanmıştır. Bu polimorfizm tipine göre salgılanmasında değişkenlik gözlemlenmiştir. Hatta bazı TNF- α allelleri ile yapılan çalışmalarda koruyucu olduğu antiinflamatuvar yanıtı tetiklediği izlenmiştir (236). Bizim çalışmamızda proinflamatuvar sitokinlerin artış saptanmamasının sebeblerinden biri TNF- α nın salgılanmasının transkripsiyonel olarak kontrol altında olması nedeniyle inflamasyon tipine bağlı olarak farklı allel

bölgesinde sentezinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler arasındaki dengesizlik kronik akciğer hastalığı gelişimindeki önemli etmenlerden birisidir. Proinflamatuvar sitokin aktivite artışının dengelenmesinde antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10'un önemli görevleri olduğu bilinmektedir (45). IL-10 güçlü antiinflamatuvar bir sitokindir. Etkilerini intrasellüler sinyal molekülü JAK1 ve STAT3 reseptörü ile yapar. Literatürde BPD ve IL-10 düzeyleri ilişkisi konusunda çelişkili veriler bulunmaktadır (240, 241). NIH tarafından 1067 preterm bebek üzerinde yapılan çalışmada BPD'li bebeklerle sağlıklı bebekler karşılaştırıldığında; BPD'li bebeklerde IL-10 düzeyinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (242). Bizim çalışmamızda IL-10 düzeyi bakımından gruplar değerlendirildiğinde; Vitamin A+Hiperoksi ve İzotretinoin+Hiperoksi grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmazken ($p>0.05$), Vitamin A+Hiperoksi grubu ile İzotretinoin+Hiperoksi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,01$) (Tablo 23). Bildiğimiz kadarıyla literatürde Vitamin A tedavisi ile IL-10 arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Bunun yanında akciğer dışında kas dokusu karaciğer ve lokositlerde Vitamin A ve IL-10 arasındaki etkileşimi inceleyen çalışmalar mevcuttur. Petiz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, ratlarda kronik inflamasyona maruz bırakılan kas dokusunda eksojen A vitamini verilmesi HSP70 ekspresyonunun inhibisyonu yaparak IL-10 sentezini arttırdığı saptanmıştır. Buna paralel kas dokusunda dokuda oksidasyon ve fibrozisin azaldığını gözlemlemişler (243). Yine petiz ve arkadaşları Vitamin A takviyesinin ratlarda karaciğer dokusunda oksidatif hasar ve stres parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirildiği bir çalışmada; proinflamatuvar sitokinlerin, interlökin IL-1 β ve TNF- α 'nın ekspresyonu azaldığı, antiinflamatuvar sitokin olan IL-10'un artmış olduğu saptanmıştır (244). Diğer dokularda olduğu gibi akciğer dokusunda Vitamin A'nın reseptör düzeyinde benzer şekilde IL-10 düzeyini artırdığını düşünmekteyiz. Bu da antiinflamatuvar ve antioksidan özelliklerini sağlanmasına katkı oluşturan mekanizmalardan biri olarak ileri sürebilmektedir.

BPD'de inflamasyon ve oksidatif hasarın rolü düşünüldüğünde; sadece proinflamatuvar sitokin ve antiinflamatuvar sitokin arasındaki denge ile etyopatogenezi açıklamak yeterli değildir. Inflamasyon sürecinde bizim değinmediğimiz birçok sitokin, enzim, büyüme faktörleri ve nükleer faktörlerde rol almaktadır. Hatta son çalışmalarda

BPD tanımında hiperoksik alveolar tip 2 pnömositin önemi vurgulanmaktadır. Bu hücre dokudaki oksijen miktarına göre aktive olan, çeşitli inflamatuvar sitokinlerin sentezlenmesinde ve/veya baskılanmasında rol alan etkili hücreler olarak tanımlanmaktadır (245). Vitamin A'nın bu hücrelere nasıl etki ettiğini ortaya koymak için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Deneysel çalışmamızda gerek İzotretinoin gerekse de vitamin A kullanımına bağlı karaciğerde herhangi bir patolojiye rastlamadık. Hiperoksik gruptaki ratların histokimyasal karaciğer bulguları ile oda havasında izlenen kontrol grubu ratların karaciğer bulguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptamadık. Bu veriler RA kullanımının güvenilirliğini destekler nitelikteydi.



5. SONUÇLAR

1. Vitamin A ve İzotretinoin tedavisinin ratlarda gerçekleştirdiğimiz hiperoksik akciğer hasarı modelinde SF+Hiperoksi grubuna göre üstündür
2. İzotretinoin akciğer alveol yüzey alanı gelişimi bakımından vitamin A'ya göre daha üstün olduğu
3. İzotretinoin'in hiperoksik akciğer hasarında alternatif bir tedavi seçeneği olabileceği
4. İzotretinoin'in bir anti-inflamatuvar olan IL-10 düzeyini artırdığı
5. İzotretinoin pro-inflamatuvar olarak bilinen sitokinlerden IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α üzerine etkili olmadığı
6. Vitamin A ve İzotretinoin kullanımı sonrası karaciğer dokularında herhangi bir patolojik bulgu gözlenmediği
7. Bu verilerle İzotretinoin kullanımının güvenli olabileceği vurgulanabilir

KAYNAKLAR

1. Northway WH Jr, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med*. 1967;276(7):357-368.
2. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(7):1723-1729.
3. Northway WH Jr. Bronchopulmonary Dysplasia: Thirty-Three Years Later. *Pediatr Pulmonol* 2001; (Suppl) 25: 235-7.
4. Walsh MC, Szefer S, Davis J, Allen M, Van Marter L, Abman S, et al . Summary proceedings from the bronchopulmonary dysplasia group. *Pediatrics*. 2006; 117:52-56.
5. Fanaroff, AA, Stoll, BJ, Wright, LL, Carlo WA, et al. Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birthweight infants. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 196:147.e1-8.
6. Smith VC, Zupancic JA, McCormick MC, Croen LA, Greene J, Escobar GJ, et al. Trends in severe bronchopulmonary dysplasia rates between 1994 and 2002. *J Pediatr*. 2005; 146:469-473
7. Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003; 8:73-81.
8. Groenman F, Ungre S, Post M. The molecular basis for abnormal human lung development. *Biol Neonate*. 2005; 87:164-177.
9. Coalson JJ. Pathology of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol*. 2006; 30:179-184.
10. Coalson JJ. Pathology of chronic lung disease of early infancy. In: Bland R, Coalson JJ, Eds. *Lung biology in health and disease: chronic lung disease in early infancy*. New York: Marcel Dekker, 2000: 85-124.
11. Thebaud B, Ladha F, Michelakis ED, Sawicka M, Thurston G, Eaton F, et al. Vascular endothelial growth factor gene therapy increases survival, promotes lung angiogenesis, and prevents alveolar damage in hyperoxia-induced lung injury: evidence that angiogenesis participates in alveolarization. *Circulation*. 2005; 112:2477-2486.
12. De Paepe ME, Mao Q, Powell J, Rubin SE, DeKoninck P, Appel N, et al. Growth of pulmonary mikrovaskulature in ventilated preterm infants. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173:204-211.

13. Hislop AA, Haworth SG. Pulmonary vascular damage and development of cor pulmonale following hyaline membrane disease. *Pediatr Pulmonol.* 1990; 9:152-161.
14. Bourbon J, Boucherat O, Chailley-Heu B, Delacourt C. Control mechanism of lung alveolar development and their disorders in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res.* 2005; 57:38R-46R.
15. Stenmark KR, Abman SH. Lung vascular development: implications for the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Annu Rev Physiol.* 2005; 67:623-661.
16. Asikainen TM, Waleh NS, Schneider BK, Clyman RI, White CW. Enhancement of angiogenic effectors through hypoxia-inducible factor in preterm primate lung in vivo. *Am J Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291:L588-L595.
17. Kunig AM, Balasubramaniam V, Markham NE, Morgan D, Montgomery G, Grover TR, et al. Recombinant human VEGF treatment enhances alveolarization after hyperoxic lung injury in neonatal rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2005; 289:L529-L535.
18. Kunig AM, Balasubramaniam V, Markham NE, Seedorf G, Gien J, Abman SH. Recombinant human VEGF treatment transiently increases lung edema but enhances lung structure after neonatal hyperoxia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291:L1068-L1078.
19. Ng YS, Rohan R, Sunday ME, Demello DE, D'Amore PA. Differential expression of VEGF isoforms in mouse during development and in the adult. *Dev Dyn.* 2001; 220:112-121.
20. D'Angio CT, Maniscalco WM. Bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Paediatr Drugs.* 2004; 6(5): 303-330.
21. Bancalari E, Claure N. Definitions and diagnostic criteria for bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol.* 2006; 30:164-170.
22. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary Dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;163:1723–1729.
23. Coalson JJ. Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 2003;8:73-81.
24. Speer CP. Pulmonary inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *J perinatol.* 2006;26:S57-S62.
25. Bhandari A, Bhandari V. Pitfalls, problems, and progress in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatrics.* 2009;123:1562.

26. 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.
27. Arnon S, Grigg J, Silverman M. Pulmonary inflammatory cells in ventilated preterm infants: effect of surfactant treatment. *Arch Dis Child.* 1993;69:44-48.
28. 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.
29. Clement A, Chadelat K, Sardet A, Grimfeld A, Tournier G. Alveolar macrophage status in bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res.* 1988;23:470-473.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. 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.

37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. Speer CP, Groneck P. Oxygen radicals, cytokines, adhesion molecules and lung injury in neonates. *Semin Neonatol*. 1998;3:219-228.
41. 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.
42. 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.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
47. Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1998;179:1940-202.
48. 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.

49. Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E, Claire N, Poole C, SilvaNeto G. Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *J Pediatr*. 1995;126:605-610
50. Gonzales A, Sosenko IRS, Chandar J, Hummler H, Claire 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
51. 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.
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. 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.
58. 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
59. Bancalari E, Claire N, Sosenko I. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. *Seminars in neonatology* 2003;8-63-71

60. Sarıcı SU. Bronkopulmoner Displazi: Tanımı, Patogenezi, Epidemiyolojisi ve Patolojisinde Yeni Görüşler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006; 49: 60-70
61. D'Angio CT, Maniscalco WM. Bronchopulmonary dysplasia in preterm infants: pathophysiology and management strategies. *Paediatr Drugs*. 2004; 6:303-330.
62. Atar MA, Donn SM. Mechanisms of ventilator-induced lung injury in premature infants. *Semin Neonatol*. 2002; 7:353-360.
63. Hernandez LA, Peevy KJ, Moise AA, Parker JC. Chest wall restriction limits high airway pressure-induced lung injury in young rabbits. *J Appl Physiol*. 1989; 66:2364-2368.
64. Carlton, DP, Cummings, JJ, Scheerer, RG, Poulain FR, Bland RD. Lung overexpansion increases pulmonary microvascular protein permeability in young lambs. *J Appl Physiol*. 1990; 69:577-583.
65. Garland JS, Buck RK, Allred EN, Leviton A. Hypocarbica before surfactant therapy appears to increase bronchopulmonary dysplasia risk in infants with respiratory distress syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1995; 149:617-622.
66. Dreyfuss D, Saumon G. Role of tidal volume, FRC, and end-inspiratory volume in the development of pulmonary edema following mechanical ventilation. *Am Rev Respir Dis*. 1993; 148:1194-1203.
67. Goldman SL, Gerhardt T, Sonni R, Feller R, Hehre D, Tapia JL, et al. Early prediction of chronic lung disease by pulmonary function testing. *J Pediatr*. 1983; 102:613-617.
68. 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.
69. Weinberger B, Laskin DL, Heck DE, Laskin JD. Oxygen toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002; 181:60-67.
70. 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.
71. 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.
72. 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.

73. Speer CP. New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate*. 2001;79:205-209.
74. Sweet DG, Halliday HL, Warner JA. Airway remodelling in chronic lung disease of prematurity. *Paediatr Respir Rev*. 2002;3:140-146.
75. Goodman G, Perkin RM, Anas NG. Pulmonary hypertension in infants with bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 1988; 112:67.
76. Yoon BH, Romero R, Jun JK. Amniotic fluid cytokines (interleukin-6, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta and interleukin-8) and the risk for the development bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol*. 1997; 177:825.
77. Hannaford K, Todd DA, Jeffery H. Role of ureaplasma urealyticum in lung disease of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999; 81:F162.
78. Viscardi RM, Hasday JD. Role of Ureaplasma species in neonatal chronic lung disease: epidemiologic and experimental evidence. *Pediatr Res*. 2009; 65:84R.
79. Van Marter LJ, Leviton A, Allred EN, Pagano 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(6):942-9.
80. Gerhardt T, Bancalari E. Lung compliance in newborns with patent ductus arteriosus before and after surgical ligation. *Biol Neonate*. 1980;38(1-2):96-105.
81. Varsila E, Hallman M, Venge P, Andersson S. Closure of patent ductus arteriosus decreases pulmonary myeloperoxidase in premature infants with respiratory distress syndrome. *Biol Neonate*. 1995;67(3):167-71.
82. Mataloun MM, Leone CR, Mascera RS, Dohnnikoff M, Rebello CM. Effect of postnatal malnutrition on hyperoxia-induced newborn lung development. *Braz J Med Biol Res*. 2009; 42(7):606-613.
83. Merrill JD, Ballard RA, Cnaan A, Hibbs AM, Godinez RI, et al. Dysfunction of pulmonary surfactant in chronically ventilated premature infants. *Pediatr Res*. 2004;56(6):918-926.
84. Watterberg KL, Scott SM, Backstrom C, Gifford KL, Cook KL. Links between early adrenal function and respiratory outcome in preterm infants: airway inflammation and patent ductus arteriosus. *Pediatrics*. 2000;105(2):320-324.
85. Pietrzyk JJ, Kwinta P, Wollen EJ, et al. Gene Expression profiling in preterm infants: new aspects of bronchopulmonary dysplasia development. *Plos One*. 2013;8:e78585.
86. Northway WH, Rosan RC, Porter DY. Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline membrane disease, Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med*. 1967;276:357-68.

87. Keller RL, Ballard RA. Bronchopulmonary dysplasia. In: Gleason CA, Devaskar SU, eds. *Avery's Diseases of the Newborn*, 9th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2012;658-671.
88. Vitamin A Supplementation in Extremely Low-Birth-Weight Infants: Subgroup Analysis in Small-for-Gestational-Age Infants Thieme Medical Publishers 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
89. Northway WH Jr. Bronchopulmonary Dysplasia: Thirty-Three Years Later. *Pediatr Pulmonol*. 2001; (Suppl) 25: 235-7
90. Bland RD. Neonatal chronic lung disease in the post-surfactant era. *Biol Neonate* 2005;88:181-191
91. Rossi UG, Owens CM. The radiology of chronic lung disease. *Arch Dis Child*. 2005;90:601-607.
92. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet*. 2006;367:1421-1431.
93. Sarıcı SÜ. Bronchopulmonary dysplasia: new insights about the definition, pathogenesis, epidemiology and pathology. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2006; 49: 60-70.
94. Walsh MC, Szeffler S, Davis J, Allen M, Van Marter L, Abman S, et al. Summary proceedings from the bronchopulmonary dysplasia group. *Pediatrics*. 2006; 117:52-56.
95. Morley CJ, Davis PG, Doyle LW, Brion LP, Hascoet JM, Carlin JB, et al. Nasal CPAP or intubation at birth for very preterm infants *N Engl J Med*. 2008;358:700-8.
96. Watterberg KL, Gerdes JS, Cole CH. Prophylaxis of early adrenal insufficiency to prevent bronchopulmonary dysplasia: a multicenter trial. *Pediatrics*. 2004;114:1649-57.
97. Atıcı A, Özkan H. Yenidoğan Bebeğin Mekanik Ventilasyonu. *Adana Nobel kitapevi* 2011;73-117.
98. Bhandari A, Bhandari V. Bronchopulmonary dysplasia: an update. *Indian J Pediatr*. 2007;74:73-7.
99. Saugstad OD, Aune D. Optimal oxygenation of extremely low birth weight infants: a meta-analysis and systematic review of the oxygen saturation target studies. *Neonatology*. 2014;105:55-63.
100. Nieves FF, Chernick V Bronchopulmonary dysplasia (chronic lung disease of infancy) an update for the pediatrician. *Clin Pediatr*. 2002;41:77-85.

101. Poets CF, Southall DP. Noninvasive monitoring of oxygenation in infants and children: practical considerations and areas of concern. *Pediatrics* 1994;93:737-46.
102. Albertine KH, Jones GP, Starcher BC, Bohnsack JF, Davis PL, Cho SC, et al. Chronic lung injury in preterm lambs. Disordered respiratory tract development. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:945-58.
103. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163:1723-9.
104. Adde FV, Alvarez AE, Barbisan BN, Guimarães BR. Recommendations for long-term home oxygen therapy in children and adolescents. *J Pediatr. (Rio J)* 2013;89:6-17.
105. Dani C, Poggi C. Nutrition and bronchopulmonary dysplasia *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012;3:37-40.
106. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. ESPGHAN Committee on Nutrition. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010;50:85-91.
107. Denne SC. Energy expenditure in infants with pulmonary insufficiency: is there evidence for increased energy needs. *J Nutr*. 2001;131:935-37.
108. Carlo WA, Ambalavanan N. respiratory distress syndrome Infant. Kligman RM, Stanton BF, Schor NF, Geme JWS, Behrman RE Nelson textbook of pediatrics 19th edition Philadelphia Elsevier Saunders 2011; 581-90.
109. Kennedy KA, Stoll BJ, Ehrenkranz RA, Oh W, Wright LL, Stevenson DK, et al. Vitamin A to prevent bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants: has the dose been too low. *Early Hum Dev*. 1997;49:19-31.
110. Wardle SP, Hughes A, Chen S, Shaw NJ. Randomised controlled trial of oral vitamin A supplementation in preterm infants to prevent chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2001;84:9-13.
111. 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 copper-zinc superoxide dismutase. *Pediatrics*. 2003;111:469-76.
112. Schmidt B, Roberts RS, Davis P, Doyle LW, Barrington KJ, Ohlsson A, et al. Caffeine for Apnea of Prematurity Trial Group. *N engl J Med*. 2006;354:2112-21.
113. Cao L, Liu C, Cai B, Jia X, Kang L, Speer CP, et al. Nuclear factor-kappa B expression in alveolar macrophages of mechanically ventilated neonates with respiratory distress syndrome. *Biol Neonate*. 2004;86:116-23.

114. Tin W, Wiswell TE. Adjunctive therapies in chronic lung disease: Examining the evidence. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2008;13:44-52.
115. Shah VS, Ohlsson A, Halliday HL, Dunn M. Early administration of inhaled corticosteroids for preventing chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm neonates. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(5):CD001969.
116. Onland W, Offringa M, van Kaam A. Late (≥ 7 days) inhalation corticosteroids to reduce bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;(4):CD002311.
117. Cole CH, Colton T, Shah B, Abbasi S, MacKinnon BL, Demisse S, et al. Early inhaled glucocorticoid therapy to prevent bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med.* 1999;340:1005-1010.
118. Fok TF, Lam K, Dolovich M, Ng PC, Wong W, Cheung KL, et al. Randomised controlled study of early use of inhaled corticosteroid in preterm infants with respiratory distress syndrome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999;80:203–208.
119. Merz U, Kusenbach G, Hausler M, Peschgens T, Hornchen H. Inhaled budesonide in ventilator-dependent preterm infants: a randomized, double-blind pilot study. *Biol Neonate.* 1999;75:46–53.
120. Denjean A, Paris-Llado J, Zupan V, Debillon T, Kieffer F, Magny JF, et al. Inhaled salbutamol and beclomethasone to prevent broncho-pulmonary dysplasia: a randomized double-blind study. *Eur J Pediatr.* 1998; 157 (11): 926-31.
121. Zimmerman JJ, Gabbert D, Shivpuri C, Kayata S, Miller J, Ciesielski W. Meter-dosed, inhaled beclomethasone initiated at birth to prevent bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Crit Care Med.* 2000;1:140-145.
122. Mosalli R, Alfaleh K. Prophylactic surgical ligation of patent ductus arteriosus for prevention of mortality and morbidity in extremely low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 23;(1):CD006181.
123. 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.* 2011;(10):CD000501.
124. Aksoy M. A vitamini. In: Aksoy M, ed. *Beslenme Biyokimyası*. 2nd ed. Ankara: Hatiboğlu Yayıncılık, 2000:321-42.
125. Akgün S. A Vitamini ve Çocuk Sağlığı. *MN Doktor.* 1995; 3:48-55.
126. Günlemez A, Atasay B, Arsan S. A vitamini ve anne çocuk sağlığı. *Türk Pediatri Arşivi.* 2003;38(2):73-80.
127. Champe PC. Vitamins. In: Harvey LA, editör. *Lippincott's Illustrated Reviews:*

Biochemistry. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1997. 332-335.

128. Olson JA. Vitamin A, retinoids and carotenoids. In: Shills M, Young V, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 7th ed. Philadelphia: Lea & Febiger. 1988. 292-312.
129. Olson JA. Serum levels of vitamin A and carotenoids as reflectors of nutritional status. *J Natl Cancer Inst*. 1984; 73: 1439-1444.
130. Blomhoff R, Holte K, Naess L. Newly administered [³H] retinol is transferred from hepatocytes to stellate cells in liver storage. *Exp. Cell Res*. 1984; 150:186-93.
131. Harrison EH, Hussain MM. Mechanisms involved in the intestinal digestion and absorption of dietary vitamin A. *J Nutr*. 2001; 131: 1405-1408.
132. Sommer A, West KP Jr. *Vitamin A deficiency: health, survival and vision*. New York. Oxford University Press. 1996; 390-395.
133. Smith FR, Goodman DS, Zaklaman MS. Serum vitamin A, retinol-binding protein, and prealbumin concentrations in protein-calorie malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 1973; 26: 973-981.
134. Wang XD, Krinsky NI, Russell RM. Retinoic acid regulates retinol metabolism via feedback inhibition of retinol oxidation and stimulation of retinol esterification in ferret liver. *J Nutr*. 1993; 123: 1277-1285.
135. Gallagher ML. Vitamins. In: Mahan LK, editor. *Krause's Food, Nutrition & Diet therapy*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier; 2004. 75-119.
136. Booth SL, Johns T, Kuhnlein HV. Natural food sources of vitamin A and provitamin A. *UNU Food and Nutrition Bulletin*. 1992;14:6-19.
137. Arroyave G. Serum and liver vitamin A and lipids in children with severe protein malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 1961;9:180-185.
138. Parker RS. Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *The FASEB Journal*. 1996;10:542-551.
139. Mahalanabis D, Simpson TW, Chakraborty ML, Ganguli C, Bhattacharjee AK, Mukherjee KL. Malabsorption of water-miscible vitamin A in children with giardiasis and ascariasis. *Am J Clin Nutr*. 1979;32:313-318.
140. Jayarajan P, Reddy V, Mohanram M. Effect of dietary fat on absorption of β -carotene from green leafy vegetables in children. *Indian J Med Res*. 1980;71:53-56.
141. Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *The FASEB Journal* 1996;10:940-954.

142. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva, World Health Organization, 1996.
143. Sommer A, Davidson FR. Assessment and Control of Vitamin A Deficiency: The Annecy Accords. *J Nutr.* 2002 Sept; 132:2845S-2850S.
144. Sommer A. Vitamin A deficiency and its consequences: a field guide to their detection and control. 3rd edition, WHO, Geneva, 1994.
145. Beaton GH. Effectiveness of vitamin A supplementation in the control of young child morbidity and mortality in developing countries. ACC/SCN State-of-the-art Series, nutrition policy discussion paper no. 13. United Nations Administrative Committee on Coordination, Subcommittee on Nutrition. Geneva, World Health Organization, 1993.
146. Sommer A. Vitamin A, infectious disease, and childhood mortality: a 2 cent Solution? *J Infect Dis.* 1993;167:1003-7.
147. Underwood BA. The role of vitamin A in child growth, development and survival. In: Allen L, King J, Lönnnerdal B, eds. *Nutrient regulation during pregnancy, lactation, and infant growth.* New York, NY, Plenum Press, 1994:195-202.
148. Eskild LW, Hansson V. Vitamin A functions in the reproductive organs. In: Blomhoff R ed., *Vitamin A in health and disease.* New York, Marcel Dekker, 1994:531-559.
149. West KP, Khatry SK, Katz J. Impact of weekly supplementation of women with vitamin A or beta-carotene on fetal, infant and maternal mortality in Nepal. In: Report of the XVIII IVACG Meeting. Sustainable control of vitamin A deficiency. Cairo, Program and Abstracts 1997:28.
150. World Health Organization. Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005. Geneva: WHO, 1996.
151. De Fátima CM, Da Silva DA, Falbo AR. Serum retinol concentrations in hospitalized severe protein-energy malnourished children. *J Trop Pediatr.* 2008; 54: 248-252.
152. Jiang JX, Lin LM, Lian GL. Vitamin A deficiency and child feeding in Beijing and Guizhou, China. *World J Pediatr.* 2008; 4: 20-25.
153. Klemm RD, Labrique AB, Christian P. Newborn vitamin A supplementation reduced infant mortality in rural Bangladesh. *Pediatrics.* 2008; 122: 242-250.
154. Weinman AR, Jorge SM, Martins AR. Assessment of vitamin A nutritional status in newborn preterm infants. *Nutrition.* 2007; 23: 454-460.

155. Aurvåg AK, Henriksen C, Drevon CA. Improved vitamin A supplementation regimen for breastfed very low birth weight infants. *Acta Paediatr.* 2007; 96: 1296-1302.
156. Sachdeva S, Datta U. Vitamin A-first dose supplement coverage evaluation amongst children aged 12–23 months residing in slums of Delhi, India. *Indian J Ophthalmol.* 2009; 57: 299-303.
157. Tandon BN, Ramachandran K, Nath LM. Vitamin A nutritional status of rural community of Khol block in Haryana, North India. A collaborative study. *Am J Clin Nutr.* 1975; 28: 1436-1442.
158. West KP Jr, Mehra S. Vitamin A intake and status in populations facing economic stress. *J Nutr.* 2010; 140: 201-207.
159. Li T, Molteni A, Latkovich P. Vitamin A depletion induced by cigarette smoke is associated with the development of emphysema in rats. *J Nutr.* 2003; 133: 2629-2634.
160. Chávez CJ, Ortega P, Leal J. Vitamin A deficiency and nutritional status in patients with Down's syndrome. *An Pediatr (Barc).* 2010; 72: 185-910.
161. Kosek M, Oberhelman RA. Unraveling the contradictions of vitamin A and infectious diseases in children. *J Infect Dis.* 2007; 196: 965-967.
162. Nojilana B, Norman R, Bradshaw D. Estimating the burden of disease attributable to vitamin A deficiency in South Africa in 2000. *S Afr Med J.* 2007; 97: 748-753.
163. Klemm RD, Labrique AB, Christian P. Newborn vitamin A supplementation reduced infant mortality in rural Bangladesh. *Pediatrics.* 2008; 122: 242-250.
164. Broek N, Dou L, Othman M. Vitamin A supplementation during pregnancy for maternal and newborn outcomes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 11:CD008666.
165. Ross DA. Recommendations for vitamin A supplementation. *J Nutr.* 2002; 132: 2902-2906.
166. Shey WI, Brocklehurst P, Sterne JA. Vitamin A supplementation for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002; 3: CD003648.
167. Kaza AK, Laubach VE, Kern JA, Long SM, Fiser SM, Tepper JA, et al. Epidermal growth factor augments postpneumectomy lung growth. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2000; 5: 916-21.
168. Thebaud B, Tibboel D, Rambaud C, Mercier JC, Bourbon JR, Dinh-Xuan AT, et al. Vitamin A decreases the incidence and severity of nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Am J Physiol.* 1999; 2: 423-9.

169. Keller RL, Ballard RA. Bronchopulmonary dysplasia. In: Gleason CA, Devaskar SU, eds. *Avery's Diseases of the Newborn*, 9th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2012;658-671.
170. Zaenglein AL, Thiboutot DM. Acne vulgaris. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. *Dermatology*. 2nd ed. Spain: Mosby Elsevier. 2008: 495-508.
171. Zaenglein AI, Graber EM, Thiboutot DM, Strauss JS. Acne vulgaris and acneiform eruptions. In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7th ed. New York: McGraw Hill. 2008;690-703.
172. Layton A. The use of isotretinoin in acne. *Dermatoendocrinol*. 2009;3:16
173. Katsambas A, Papakonstantinou A. Acne: Systemic treatment. *Clin Dermatol*. 2004;22:412-8.
174. Sardana K, Sehgal VN. Retinoids: Fascinating up and coming scenario. *J Dermatol*. 2003;30:355-80.
175. Ortonne JP. Oral isotretinoin treatment policy. Do we all agree? *Dermatology*. 1997;195:34-7.
176. Thiboutot DM, Strauss JS. Diseases of sebaceous glands. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. *Fitzpatrick Dermatology in General Medicine*. 6th ed. New York: McGraw Hill. 2003;672-87.
177. Rajpopat S, Moss C, Mellerio J, Vahlquist A, Gånemo A, Hellstrom-Pigg M, et al. Harlequin Ichthyosis A Review of Clinical and Molecular Findings in 45 Cases. *Arch Dermatol*. 2011;147(6):681-686.
178. Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. *Physiol Rev*. 2006; 86: 515-581.
179. Merritt T, Cochrane C, Holcomb K. Elastase and α_1 -proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. *J Clin Invest*. 1983; 72: 656-666.
180. Roitt IM, Delves PJ. *Roitt's Essential Immunology*, 10thEd., London: Blackwell Science, 2001: 226-262.
181. Rosa MS, Pinto AM. Cytokines. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Eds. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*, 4thEd. Missouri: Elsevier Saunders, 2006: 645-744.

182. Feldmann M, Saklatvala J. Proinflammatory cytokines. In: Durum SK, Oppenheim JJ, Feldmann M. Eds. Cytokine reference: a compendium of cytokines and other mediators of host defense. Boston: Academic Press, 2001: 291-306.
183. Luo D, Luo Y, He Y, Zhang H, Zhang R, Li X, et al. Differential functions of tumor necrosis factor receptor 1 and 2 signaling in ischemia mediated arteriogenesis and angiogenesis. *Am J Pathol.* 2006; 169:1886-98.
184. Feldmann M, Saklatvala J. Proinflammatory cytokines. In: Durum SK, Oppenheim JJ, Feldmann M. Eds. Cytokine reference: a compendium of cytokines and other mediators of host defense. Boston: Academic Press, 2001: 291-306.
185. Mosmann T. Cytokines and immune regulation *Clinical Immunology Principles and Practice* Volum 1. Rch RR Flesher TA Schwatz BD Shearer WT Strober W (eds). Mosby Ltd. Missouri, 1996; 217-230.
186. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol.* 2007; 37 Suppl 1: 34-45.
187. Mantovani G, Anker SD, Inui A, Morley JE, Fanelli FR, Scavola D, et al. Cachexia and Wasting: A Modern Approach. Milano: Springer Milan; 2006.
188. Mukado N, Horado A, Matsushimo K. A novel leukocyte chemotactic and activating cytokine, IL8. In *Cytokines: interleukines and their receptors*. Kluwer Academic Publishers, New York, 1995: 261-286.
189. Merritt T. Oxygen exposure in the newborn guinea pig lung lavage cell populations. Chemotactic and elastase response: a possible relationship to neonatal bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res.* 1982; 16: 798-805.
190. Arnon S, Grigg J, Silvermann M. Pulmonary inflammatory cells in ventilated preterm infants: Effect of surfactant treatment. *Arch Dis Child.* 1993; 69: 44-48.
191. Carre PC, Mortenson RL, King TE Jr, Noble PW, Sable CL, Riches DWH. Increased expression of the IL-8 gene in alveolar macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest.* 1991; 88: 1802-1810.
192. Donnely SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A. IL-8 and the development of adult respiratory distress syndrome in high risk groups. *Lancet.* 1993; 341:643-647.
193. Groneck P, Gotze Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high risk preterm neonates. *Pediatrics.* 1994; 93: 712-718.

194. Kotecha S, Chan B, Azam N, Silverman M, Shaw RJ. Increase in interleukin-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage of premature infants with chronic lung disease. *Arch Dis Child* 1995; 72: F90-F96.
195. Galkina E, Ley K. Immune and Inflammatory Mechanisms of Atherosclerosis. *Annu Rev Immunol.* 2009; 27: 165-197.
196. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology*. 6th Ed. Mosby Ltd, UK, 2001.
197. Speer CP. New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate.* 2001;79(3-4):205-209.
198. Ferreira PJ, Bunch TJ, Albertine KH, Carlton DP. Circulating neutrophil concentration and respiratory distress in premature infants. *J Pediatr.* 2000;136(4):466-472.
199. Kallapur SG, Jobe AH. Contribution of inflammation to lung injury and development. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2006;91(2):F132-135.
200. Groneck P, Götze-Speer B, Oppermann M, Eiffert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of bronchopulmonary dysplasia: a sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high-risk preterm neonates. *Pediatrics.* 1994;93(5):712-718.
201. Bose CL, Damman CE, Laughon MM. Bronchopulmonary dysplasia and inflammatory biomarkers in the premature neonate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2008;93(6):F455-461.
202. Laughon MM, Smith PB, Bose C. Prevention of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009;14(6):374-382.
203. Manna SK, Mukhopadhyay A, Aggarwal BB. Resveratrol suppresses TNF-induced activation of nuclear transcription factors NF-kappa B, activator protein-1 and apoptosis: potential role of reactive oxygen intermediates and lipid peroxidation. *J Immunol.* 2000;164(12):6509-6519.
204. Demir K, Kumral A, Duman N, Sarioglu S, Yilmaz O, Yesilirmak DC, et al. Clarithromycin, montelukast, and pentoxifylline combination treatment ameliorates experimental neonatal hyperoxyic lung injury. *J Maternal Fetal Neonatal Med.* 2008;21(6):407-413.
205. Pagano A, Barazzone-Argiroffo C. Alveolar cell death in hyperoxia-induced lung injury. *Ann NY Acad Sci.* 2003; 1010:405-146.
206. Dieperink HI, Blackwell TS, Prince LS. Hyperoxia and apoptosis in developing mouse lung mesenchyme. *Pediatr Res.* 2006; 59:185-109.
207. Sue RD, Belperio JA, Burdick MD, Murray LA, Xue YY, Dy MC, et al. CXCR2 is critical to hyperoxia-induced lung injury. *J Immunol.* 2004; 172:3860-3868.

208. Hosford GE, Koyanagi KS, Leung WI, Olson DM. Hyperoxia increases protein mass of 5-lipoxygenase and its activating protein, flap, and leukotriene b4 output in newborn rat lungs. *Exp Lung Res.* 2002; 28:671-684.
209. Wagenaar GT, ter Horst SA, van Gastelen MA, Leijser LM, Mauad T, van der Velden PA, et al. Gene expression profile and histopathology of experimental bronchopulmonary dysplasia induced by prolonged oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 2004; 36:782-801.
210. Habre W, Petak F, Ruchonnet-Metrailler I, Donati Y, Tolsa JF, Lele E, et al. The role of endothelin-1 in hyperoxia-induced lung injury in mice. *Respir Res.* 2006; 7:45.
211. Mascaretti RS, Mataloun MM, Dolhnikoff M, Rebello CM. Lung morphometry, collagen and elastin content: changes after hyperoxic exposure in preterm rabbits. *Clinics(Sao Paulo).* 2009;64(11):1099-1104.
212. Bruce MC, Schuyler M, Martin RJ, Starcher BC, Tomashefski JF Jr, Wedig KE. Risk factors for degradation of lung elastic fibers in the ventilated neonate. Implications for impaired development in bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146(1):204-212.
213. McGowan SE, Smith J, Holmes AJ, Smith LA, Businga TR, Madsen MT, et al. Vitamin A deficiency promotes bronchial hyperreactivity in rats by altering muscarinic M2 receptor function. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2002;282:1031-1039.
214. Massaro GD, Massaro D. Retinoic acid treatment partially rescues failed septation in rats and mice. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2000; 278: 955-960.
215. Joaquín Timoneda, Lucía Rodríguez-Fernández. Vitamin A Deficiency and the Lung. 24 July 2018.
216. Van Gijn ME, Blankesteyn WM, Smits JF, Hierck B, Gittenberger-de Groot AC. Frizzled 2 is transiently expressed in neural crest containing areas during development of the heart and great arteries in the mouse. *Anat Embryol.* 2001; 3: 185-92.
217. Massaro GD, Massaro D. Postnatal treatment with retinoic acid increases the number of pulmonary alveoli in rats. *Am J Physiol.* 1996; 2: 305-10.
218. Rosenthal FS. Investigation of retinoic acid therapy in experimental emphysema in dogs. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002: 165; 230.
219. Cardoso WV, Williams MC, Mitsialis SA, Joyce-Brady M, Rishi AK, Brody JS. Retinoic acid induces changes in the pattern of airway branching and alters epithelial cell differentiation in the developing lung in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995; 5: 464-76.

220. Bienkowski RS, Cowan MJ, McDonald JA, Crystal RG 1978 Degradation of newly synthesized collagen. *J Biol Chem* 253:4356–4363 2. Laurent GJ 1987 Dynamic state of collagen: pathways of collagen degradation in vivo and their possible role in regulation of collagen mass. *Am J Physiol.* 252:1-9.
221. McMenamy KR, Anderson MJ, Zachman RD. Effect of dexamethasone and oxygen exposure on neonatal rat lung retinoic acid receptor proteins. *Ped Pulmonol.* 1994;18:232-238
222. Haq RU, Pfahl M, Chytil F. Retinoic acid affects the expression of nuclear retinoic acid receptors in tissues of retinol-deficient rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:8272-8276
223. Petkovich M. Regulation of gene expression by vitamin A: the role of nuclear retinoic acid receptors. *Annu Rev Nutr.* 1992;12:443–471
224. Chytil F, Haq RU. Vitamin A mediated gene expression. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 1990;1:61–73
225. Bauer EA, Seltzer JL, Eisen Z. Retinoic acid inhibition of collagenase and gelatinase expression in human skin fibroblast cultures. Evidence for a dual mechanism. *J Invest Dermatol.* 1983;81:162-169
226. Clark SD, Kobayashi DK, Welgus HG. Regulation of the expression of tissue inhibitor of metalloproteinases and collagenase by retinoids and glucocorticoids in human fibroblasts. *J Clin Invest.* 1987;80:1280-1288.
227. Ozer EA, Kumral A, Ozer E, Duman N, Yilmaz O, Ozkal S, et al. Effect of retinoic acid on oxygen-induced lung injury in the newborn rat. *Pediatr Pulmonol.* 2005;39:35- 40.
228. Veness-Meehan KA, Pierce RA, Moats-Staats BM, and Stiles AD. Retinoic acid attenuates O₂-induced inhibition of lung septation. *Am J Physiol.* 2002;283:971-980.
229. Couroucli XI, Liang YW, Jiang W, Barrios R, Moorthy B. Attenuation of oxygen-induced abnormal lung maturation in rats by retinoic acid: possible role of cytochrome P4501A enzymes. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317(3):946-54.
230. Veness-Meehan KA, Bottone FG Jr, Stiles AD. Effects of retinoic acid on airspace development and lung collagen in hyperoxia-exposed newborn rats. *Pediatr Res.* 2000;48(4):434-44.
231. Darlow BA, Graham P J. Vitamin A supplementation to prevent mortality and short- and long-term morbidity in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 10:CD000501. 10.1002/14651858.
232. 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.* 2011 Oct 5; (10):CD000501

233. Barber T, Borrás E, Torres L, García C, Cabezuelo F, Lloret A, et al. Vitamin A deficiency causes oxidative damage to liver mitochondria in rats. *Free Radic Biol Med*. 2000; 1;29(1):1-7
234. Dogra SC, Khanduja KL, Sharma RR. Effect of vitamin A deficiency on the levels of glutathione and glutathione-S-transferase activity in rat lung and liver. *Experientia*. 1982; 15;38(8):903-4.
235. Dogra SC, Khanduja KL, Gupta MP, Sharma RR. Effect of vitamin A deficiency on pulmonary and hepatic protective enzymes in rat. *Acta Vitaminol Enzymol*. 1983;5(1):47-52.
236. Kazzi SN, Kim UO, Quasney MW, Buhimschi I. Polymorphism of tumor necrosis factor-alpha and risk and severity of bronchopulmonary dysplasia among very low birth weight infants. *Pediatrics*. 2004;114(2):e243-8.
237. James ML, Ross AC, Bulger A, Philips JB 3rd, Ambalavanan N. Vitamin A and retinoic acid act synergistically to increase lung retinyl esters during normoxia and reduce hyperoxic lung injury in newborn mice. *Pediatr Res*. 2010;67(6):591-7.
238. Tyson JE, Wright LL, Oh W, Kennedy KA, Mele L, Ehrenkranz RA, et al. Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Tyson JE et al. *N Engl J Med*. 1999; 24;340(25):1962-8.
239. Lee HS, Lee DG. rIL-10 enhances IL-10 signalling proteins in foetal alveolar type II cells exposed to hyperoxia. *J Cell Mol Med*. 2015 Jul;19(7):1538-47.
240. Oei J, Lui K, Wang H, Henry R. Decreased interleukin-10 in tracheal aspirates from preterm infants developing chronic lung disease. *Acta Paediatr*. 2002;91(11):1194-1199.
241. Mc Gowan EC, Kostadinov S, McLean K, Gotsch F, Venturini D, Romero R, et al. Placental IL-10 dysregulation and association with bronchopulmonary dysplasia risk. *Pediatr Res*. 2009;66(4):455-460.
242. Ambalavanan N, Carlo WA, D'Angio CT, McDonald SA, Das A, Schendel D, et al. Cytokines associated with bronchopulmonary dysplasia or death in extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009;123(4):1132-1141.
243. Petiz LL, Girardi CS, Bortolin RC, Kunzler A, Gasparotto J, Rabelo TK, et al. Vitamin A Oral Supplementation Induces Oxidative Stress and Suppresses IL-10 and HSP70 in Skeletal Muscle of Trained Rats. *Nutrients*. 2017;2;9(4). pii: E353.

244. Petiz LL, Kunzler A, Bortolin RC, Gasparotto J, Matté C, Moreira JCF, et al. Role of vitamin A oral supplementation on oxidative stress and inflammatory response in the liver of trained rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017 ;42(11):1192-1200.
245. Lee HS, Kim CK. Interleukin-10 Down-Regulates Cathepsin B Expression in Fetal Rat Alveolar Type II Cells Exposed to Hyperoxia. *Yonsei Med J*. 2013 1;54(2):445-52.

