



T.C.

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSLI ÇOCUKLARDA SERUM
TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN DURUMUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Gülsüm GÜZEL

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Erkan ÇAKIR

İSTANBUL - 2017

TEŐEKKÖR

Asistanlık yaptığım süre boyunca benden yardımlarını ve ilgilerini esirgemeyen, her konuda desteğini hissettiren, meslek sevgisi ve sabrıyla bana örnek olan kliniğimizde çalışan tüm uzman hekimlerimize, tezimin konusunun belirlenmesinde, araştırma aşamasında, yön tayininde ve tamamlanmasında bana değerli zamanını ayıran ve destek olan hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Erkan Çakır'a,

Uzmanlık eğitimim süresince, her konuda bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren, bilgi birikimi ve yardımları ile destek olan Prof. Dr. Akın İşcan'a,

Kliniklerinde rotasyon yaptığım ve eğitime katkısı olan değerli hocalarıma, birlikte çalışmaktan her zaman onur ve mutluluk duyduğum, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, değerli doktor asistan arkadaşlarıma, kliniğimizin çok değerli hemşireleri ve personellerine, bana vakit ayırarak çalışmama katılan ve sabır gösteren bütün hastalarıma, her an yanımda duran tüm asistan arkadaşlarıma,

Maddi ve manevi her türlü desteğini bana hissettiren, her zaman yanımda olan babam; İsmail Güzel'e, annem Havva Güzel'e, abim Hakkı Güzel'e ve sevgili yol arkadaşım Doç.Dr. Sezgin Kiren'e sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Gülsüm Güzel

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ-AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS	4
2.1.1. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS FİZYOLOGİSİ.....	4
2.1.2. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS EPİDEMİYOLOGİSİ	8
2.1.3. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS GELİŞİMİ İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ VE BELİRLEYİCİ ETKENLER	9
2.1.4. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSTA GÖRÜNTÜLEME	10
2.1.5. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSTA SOLUNUM FONKSİYON TESTLERİ	12
2.1.6. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSTA EGZERSİZ TESTLERİ	13
2.1.7. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS TEDAVİ	13
2.1.8. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS PROGNOZ	15
2.2. OKSİDAN VE ANTİOKSİDANLAR	15
2.2.1. TİYOL MOLEKÜLÜ	17
2.2.2. MİYELOPEROKSİDAZ ENZİMİ	18
2.2.3. PON VE ARİLESTERAZ ENZİM AİLESİ	20

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3.1. HASTA VE KONTROL GRUBUNUN SEÇİLMESİ	22
3.2. ÇALIŞMA METODU	23
3.3. İSTATİKSEL İNCELEMELER.....	24
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA.....	36
6. KAYNAKLAR	40



TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Hasta Grubu Genel Özelliklerin Dağılımı	26
Tablo 2.	Hasta Grubu Bulguların Dağılımı	27
Tablo 3.	Hasta Grubu Bulguların Dağılımı	29
Tablo 4.	Değişkenlerin Değerlendirilmesi	31
Tablo 5.	Hasta grubunda sigara durumuna göre değerlendirmeler	33



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Bronşiolitis obliteransta patogenez.....	5
Şekil 2.	KHT veya Akciğer transplantasyonu sonrası BO ve PIBO patogenezi	7
Şekil 3.	Bronşiolitis obliteranlı bir hastada akciğer BT de; mozaik perfüzyon, buzlu cam görünümü, bronşiektazi görünümü	12
Şekil 4.	Redükte tiyol ve okside tiyol şekli.....	17
Şekil 5.	Bakterinin fagolizozomda öldürülmesi için oksijen bağımlı MPO sistemi.....	20
Şekil 6.	Paraoksonun PON tarafından p-nitrofenol ve asetik asite parçalanması.....	23
Şekil 7.	Fenil asetatın ARES tarafından fenol ve asetik asite parçalanması.....	23
Şekil 8.	Gruplara Göre TAS dağılımları	32
Şekil 9.	Gruplara Göre MPO and PON Dağılımı	32
Şekil 10.	Total Anne Sütü Alma Süresi ile ARES Arasındaki İlişkinin Dağılımı.....	35

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- 6MWT** : 6 metre yürüme testi
- ABTS** : 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat)
- ARES** : Arilesteraz
- BAL** : Bronkoalveolar lavaj
- BE** : Bronşektazi
- BO** : Bronşiolitis Obliterans
- BT** : Bilgisayarlı Tomografi
- CPET** : Kardiyo-pulmoner egzersiz testi
- DM** : Diabetes Mellitus
- DM** : Diabetes mellitus
- DTNB** : 2 nitrobenzoik asit
- GVHD** : Graft Versus Host Hastalığı
- HDL** : High density lipoprotein
- HOCl** : Hipoklorik asit
- HRCT** : High Resolution Computerized Tomography
- KF** : Kistik Fibrozis
- KHT** : Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu
- KOAH** : Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
- LDL** : Low Density Lipoprotein
- MPO** : Miyeloperoksidaz
- NO** : Nitrik Oksit
- PHT** : Pulmoner hipertansiyon
- PIBO** : Post-enfeksiyöz BO
- PON** : Paraoksonaz
- ROM** : Reaktif oksijen metabolitleri

ROS : Reactive Oxygen Species
ROS : Reaktif oksijen bileşikleri
RSV : Respiratory Syncytial Virus
SFT : Solunum Fonksiyon Testi
SOA : Serum oksidan aktivite
SOD : Superoksit dismutaz
TAS : Total Antioksidan Durum
TNB : 5-tiyo-2-nitrobenzoit asit
TOS : Total Oksidan Durum
TP : Total peroksid

ÖZET

Giriş

Bronşiyolitis Obliterans (BO), nadir görülen ve çocuklarda genellikle akut alt solunum yolundaki hasarı takiben distal hava yollarının obstrüksiyonu ve yoğun inflamatuvar reaksiyonu ile karakterize ağır bir kronik akciğer hastalığıdır [1-3]. BO; post-enfeksiyöz BO (PIBO), hematopoetik kök hücre transplantasyonu (KHT) sonrası BO ve akciğer transplantasyonu sonrası BO olmak üzere üç kategoriye ayrılır.

Yapılan çalışmalarda PIBO patogeneğinde değişken derecede kronik inflamasyon ve fibrozisin ortak patolojik bulgular olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda son yayınlarda PIBO'lu çocukların Bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde nötrofil sayısının ve interlökin-8 in belirgin arttığı gösterilmiştir [1]. Nötrofil hücresinin sitoplazmasında çeşitli enzimleri içeren granüller bulunur. Bu yapılar, azurofilik ve spesifik granüller olarak sınıflandırılırlar. Azurofilik granüllerde bulunan enzimler, asit hidrolaz, lizozim ve miyeloperoksidaz (MPO) bakteri öldürücü enzimler olarak gruplandırılırlar. Paraoksonaz1 (PON1) ve arilesteraz (ARES) enzimi ise antioksidan olarak görev yapan enzimlerdir.

Birçok oksidan ve antioksidan molekülün serum veya plazma düzeyleri çeşitli analitik yöntemlerle ayrı ayrı ölçülebilir. Bununla birlikte, son yıllarda serum veya plazmadaki oksidanları ve antioksidanları total olarak ölçen daha pratik metodlar geliştirilmiştir. “Total oksidan durum (TOS)” ve “total antioksidan durum (TAS)” olarak ifade edilen bu ölçümler, oksidan ve antioksidanların ayrı ayrı ölçülmesinden daha kolay ve ucuza mal olmaktadır [2, 3].

Tiyol hücrelerde herhangi bir oksidatif stres durumunun oluşumunu önlemede kritik bir role sahip sülfhidril grubunu içeren organik bir bileşiktir. Vücudun defansif protein mekanizmaları arasında yer alan sistein, içerdiği işlevsel tiyol grubu ile oksidatif hasarı önlemede önemli bir rol oynamaktadır [4]

Amaç

BO'lu çocuklarda, enfeksiyonun tetiklediği akciğer hasarı etyolojide gösterilmiş olsa da hastalığa neden olan mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Çalışmamızda oksidatif stres ve antioksidan durumun hastalık etyolojisinde rol alıp almadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çok merkezli ve kesitsel tipteki çalışmamız Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Marmara Üniversitesi ve Kocaeli Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları bölümlerinde teşhis edilen 63 postenfeksiyöz BO' lu çocuğu içermektedir.

PIBO' lu hasta çocukların; doğum tarihi, cinsiyet, tanı yaşı, ağırlık ve uzunluk Z skorları, anne-baba sigara içimi, anne sütü alımı ve tıbbi kayıtlardaki solunum semptomları gibi demografik özellikleri elde etmek için standartlaştırılmış bir veri çıkarım formu kullanıldı. Bütün hastalarda, tam kan sayımı, total eozinofil sayısı, serum total IgE, total protein, transferrin, prealbumin, vitamin D düzeyleri, ter testi, akciğer grafisi, balgamda mikrobiyolojik incelemeler, immunolojik incelemeler ve gerektiği hallerde bronkoskopi, akciğer biyopsisi ve gastroözefageal reflü araştırması da yapıldı.

Kontrol grubuna ise, Bezmialem vakıf üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran yaş ve cinsiyet oranı benzer olacak şekilde malnutrisyonu olmayan, kronik hastalığı olmayan, anemi gibi hastalığı olmayan, immün sistem bozukluğu taşımayan ve immünsüpresyona neden olacak ilaç kullanım öyküsü olmayan yaşları 1 ile 16 yıl arasında değişmekte olan toplam 57 hasta alındı.

Bulgular

Çalışma Eylül 2012-2013 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Marmara Üniversitesi ve Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'nde % 38,3'ü (n=46) kız, % 61,7'si (n=74) erkek toplam 120 olgu ile yapılmıştır. Çalışmaya katılan olguların yaşları 8 ay ile 16 yıl arasında değişmekte olup, ortalama $6,68 \pm 3,87$ yıl olarak saptanmıştır.

Hasta gruptaki olguların TAS ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,005$; $p<0,01$).

Hasta gruptaki olguların TOS ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı değildir. ($p=0,073$; $p>0,05$).

Gruplara göre olguların Tiyol ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hasta gruptaki olguların ARES ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Hasta gruptaki olguların MPO ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Hasta gruptaki olguların PON ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmamızda, postenfeksiyöz BO'lu hastalarda serum PON1 ve ARES enzim değerleri kontrol grubundaki olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Normalde bu enzimin kronik enflamasyonda zararlı oksidanların etkisini ortadan kaldırmak için karaciğer tarafından yüksek oranlarda üretilmesi, kana salınması, doku düzeyinde ya da sistemik olarak etki ederek serbest radikalleri parçalamak için kullanılması gerektiği düşünülebilir.

Yaptığımız bu çalışmada değerlendirilen diğer bir parametre ise vücudun savunma sisteminde önemli rol oynayan MPO enzimidir. Bizim yaptığımız bu çalışmada, PIBO tanısı almış hasta grubunda MPO düzeyi kontrol grubuna göre belirgin derecede düşük bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalarda serum MPO düzeyinin yüksekliğinin enflamasyonun fazla olduğunu ve bu hastalarda enflamasyon derecesinin değerlendirilmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği yönündedir.

Çalışmamızda TOS düzeyleri iki grup arasında farklı bulunmamıştır. Normalde oksidatif stresin yüksek bulunması hastalıkların akut dönemlerinde doku yıkımı etkisi gösterirken, ilerleyen dönemde ise bu düzeylerin antioksidan sistem tarafından normale döndürülmüş olabileceği şeklinde açıklanabilir.

Çalışmamız post enfeksiyöz BO'da oksidatif stres ve antioksidan sistemin durumu ile ilgili literatürdeki ilk çalışma özelliğinde olup daha sonraki çalışmalara ışık tutabilecek özellikte bir çalışmadır.

ABSTRACT

Introduction

Bronchiolitis obliterans (BO) is a rare chronic lung disease characterized by obstruction of the distal airways and an intense inflammatory reaction, usually following acute lower respiratory tract injury in children [1-3]. BO is divided into three categories; Post-infectious BO (PIBO), BO after hematopoietic stem cell transplantation (BMT) and BO after lung transplantation (LT).

In the studies conducted, chronic inflammation and fibrosis were found to be common pathologic findings in variable degrees in the pathogenesis of PIBO. At the same time, recent publications have shown that children with PIPO have a significant increase in neutrophil count and interleukin-8 in bronchoalveolar lavage (BAL) [1]. The cytoplasm of the neutrophil cell contains granules containing various enzymes. These structures are classified as azurophilic and specific granules. The enzymes found in azurophilic granules are grouped into acid hydrolase, lysozyme and myeloperoxidase (MPO) bactericidal enzymes. Paraoxonase 1 (PON1) and arylesterase (ARES) are enzymes that act as antioxidants.

Serum or plasma levels of many oxidant and antioxidant molecules can be measured separately by various analytical methods. However, in recent years more practical methods have been developed that totally measure oxidants and antioxidants in serum or plasma. These measurements, expressed as "Total oxidative state (TOS)" and "Total antioxidant state (TAS)", are easier and cheaper than the measurement of oxidants and antioxidants separately [2, 3].

Thiol is an organic compound containing a sulfhydryl group that plays a critical role in preventing the formation of any oxidative stress state in cells. Cysteine, one of the defensive protein mechanisms of the body, plays an important role in the prevention of oxidative damage by the functional thiol group it contains [4].

Goal

In children with BO, the infection caused by pulmonary damage is shown in the etiology, but the mechanisms causing the disease are not fully explained. In our study, it was

aimed to investigate whether oxidative stress and antioxidant status play a role in disease etiology.

Materials and Methods

This multicenter, cross-sectional study includes 63 post-infectious BO children diagnosed in Bezmialem Foundation University, Marmara University and Kocaeli University Children's Chest Diseases Departments.

Sick children with PIBO; A standardized data extraction form was used to obtain demographic characteristics such as date of birth, sex, age of diagnosis, weight and length Z scores, parental smoking, breast milk intake, and respiratory symptoms in medical records. In all patients, complete blood count, total eosinophil count, serum total IgE, total protein, transferrin, prealbumin, vitamin D levels, sweat test, chest X-ray, microbiological examinations in sputum, immunologic examinations and bronchoscopy, lung biopsy and gastroesophageal reflux done.

For the control group, a total of 57 patients were applied, whose ages 1 to 16 without malnutrition, no chronic disease, no anemia such as anemia, no immunocompromised, and no drug use history to cause immunosuppression, similar to the age and sex ratios enrolled to the Bezmialem Foundation University Child Health and Disease Polyclinic.

Results

The study was carried out in Bezmialem Foundation University, Marmara University and Kocaeli University Hospital between September 2012 and December 2013 with a total of 120 cases in 38.3% (n = 46) girls and 61.7% (n = 74) boys. The ages of the subjects participating in the study ranged from 8 months to 16 years, with an average of 6.68 ± 3.87 years.

The TAS measurement value of the patients in the patient group was found to be statistically significantly higher than those in the control group ($p = 0,005$, $p < 0,01$).

The TOS measurement value of the patients in the patient group was not statistically significant compared to the cases in the control group ($p = 0,073$, $p > 0,05$).

There was no statistically significant difference between the measurements of Thiol according to the groups ($p > 0,05$).

The ARES measurement value of the patients in the patient group was found to be significantly higher than the control group ($p = 0,001$, $p < 0,01$).

The MPO measurement value of the patients in the patient group was statistically significantly lower than the control group ($p = 0,001$, $p < 0,01$).

The PON measurement value of the patients in the patient group was found to be significantly higher than the control group ($p = 0,001$, $p < 0,01$).

Discussion and Conclusion

In our study, serum PON1 and ARES enzyme levels were significantly higher in patients with postinfectious BO than in the control group. Normally, it can be thought that this enzyme should be produced by the liver at high rates to remove the effect of harmful oxidants in chronic inflammation, then to be released into the blood to be used at tissue level or systemically to break free radicals.

Another parameter that we evaluate in this study is the MPO enzyme which plays an important role in the defense system of the body. In our study, we found that the MPO level was significantly lower in the PIBO-diagnosed group of patients than in the control group. Studies in the literature suggest that high levels of serum MPO may be used as a marker of inflammation and in evaluating the degree of inflammation in these patients.

TOS levels in our study were not different between the two groups. Normally, high levels of oxidative stress can be explained as tissue destruction effects during acute periods of disease, while in later stages these levels may be normalized by antioxidant system.

Our study is the first study in the literature regarding the status of oxidative stress and antioxidant system in post infectious BO and is a work that can inspire the future studies.

1. GİRİŞ-AMAÇ

Bronşiyolit Obliterans (BO), nadir görülen ve çocuklarda genellikle akut alt solunum yolundaki hasarı takiben distal hava yollarının obstrüksiyonu ve yoğun inflamatuvar reaksiyonu ile karakterize ağır bir kronik akciğer hastalığıdır [1-3]. Terminal ve respiratuar bronşiyollerin lümeninin inflamatuvar ve fibröz doku ile tamamen veya parsiyel tıkanması ile karakterizedir. Pediatri pratiğinde BO üç ana kategoriye ayrılır: 1) post-infeksiyöz BO (PIBO), 2) hemapoetik kök hücre transplantasyonu (KHT) sonrası BO, 3) akciğer transplantasyonu sonrası BO, PIBO nun prevalansı tam olarak bilinmese de küçük çocuklardaki ağır viral (özellikle adenovirus) alt solunum yolu enfeksiyonunun epidemiyolojisi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Doku metabolizmasının bir sonucu olan serbest radikal oluşumu organ hasarına neden olma potansiyeline sahiptir. Serbest radikallerin zararlı etkileri hücrelerin antioksidan kapasite ve onarım mekanizmaları ile en aza indirgenir. Oksidatif stres, prooksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bir dengesizlik için kullanılan terimdir ve hücresel seviyede geri döndürülemez değişikliklere neden olabilir [5].

Oksidan ve antioksidan sistemlerin dengesindeki bozulmalar enfeksiyon, travma, hava kirliliğine maruz kalma, ilaçlar, kötü beslenme ve ek oksijen tedavisi sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin (ROS) hızlı bir şekilde üretilmesinin bir sonucudur. Serbest radikal yük bronşiyolit, astım, konjenital kalp hastalığı ve hipertansiyon gibi çocukluk çağı hastalıklarının patogenezinde önemli bir faktör olarak bildirilmiştir [5-7]. Büyük bir kısmını enzimlerin(PON, ARES vs) oluşturduğu intraselüler antioksidanlardan farklı olarak, plazma gibi ekstraselüler ortamlarda bulunan başlıca antioksidanlar, ürik asit, proteinler, tiyoller ve vitaminlerdir [8].

Yapılan çalışmalarda PIBO patogenezinde değişken derecede kronik inflamasyon ve fibrozisin ortak patolojik bulgular olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda son yayınlarda PIBO'lu çocukların Bronkoalveolar lavaj (BAL) örneklerinde nötrofil sayısının ve interlökin-8 in belirgin arttığı gösterilmiştir [1]. Artmış nötrofil sayısı, PIBO patogenezinde nötrofillerin efektör hücre olabileceğini düşündürür. Nötrofil hücrenin sitoplazmasında çeşitli enzimleri içeren granüller bulunur. Bu yapılar, azurofilik ve spesifik granüller olarak sınıflandırılırlar. Azurofilik granüllerde bulunan enzimler, asit hidrolaz, lizozim ve miyeloperoksidaz (MPO) bakteri öldürücü enzimler olarak gruplandırılırlar. Spesifik granüllerde ise, lizozimler,

apolaktoferrin, kollajenaz, kobalamin bağlayıcı proteinler, C5a komplemanını yıkan enzimler ve plazminojen aktivatörleri bulunur [9]. Enflamasyon sürecinde nötrofillerin azurofilik granüllerinden salınarak bakteri öldürücü enzim grubunda yer alan MPO enzimi vücudun savunma sistemlerinde ve inflamatuvar doku hasarında kritik roller oynar [10, 11]. Savunma sisteminde yer alan bir dizi enzimatik reaksiyon sonucunda açığa çıkan peroksid ve klorür iyonları, MPO varlığında güçlü bir oksidan ajan olan hipoklorik asite (HOCl) dönüştürülür. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, vitaminlerden ise α -tokoferol (vitamin E) ve askorbik asit (vitamin C) vücudumuzda bulunan doğal antioksidanlardır. Belirli düzeyin üstünde yüksek miktarda oksijen radikalleri havayolu epitelini koruyan antioksidan mekanizmalara galip gelerek hava yolu epiteline zarar verirler.

Paraoksonaz1 (PON1) ve arilesteraz (ARES) enzimi ise antioksidan olarak görev yapan enzimlerdir. PON enzimi, PON1, PON2 ve PON3 diye adlandırılan üç alt gruptan oluşur [12]. PON1, hem PON hem de ARES aktivitesine sahip, kalsiyum bağımlı bir ester hidrolazdır. Başlıca karaciğerde sentezlenip dolaşıma salınan PON1 enziminin primer fizyolojik rolü hala tam olarak bilinmemesine rağmen, son çalışmalarda HDL kolesterol ile ilişkili olduğu ve LDL kolesterolün oksidatif modifikasyonuna karşı koruyucu bir rol oynayarak lipit peroksidasyonunu engellediği, antioksidan ve antiinflamatuvar özellik gösterdiği belirtilir [13, 14]. ARES enzimi ise PON1 ile aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimlerden biridir. PON1'in polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARES enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. ARES enzimi de PON1 ile benzer olarak organofosfatları detoksifiye etme özelliğine sahiptir.

Birçok oksidan ve antioksidan molekülün serum veya plazma düzeyleri çeşitli analitik yöntemlerle ayrı ayrı ölçülebilir. Bununla birlikte, son yıllarda serum veya plazmadaki oksidanları ve antioksidanları total olarak ölçen daha pratik metodlar geliştirilmiştir. “Total oksidan durum (TOS)” ve “total antioksidan durum (TAS)” olarak ifade edilen bu ölçümler, oksidan ve antioksidanların ayrı ayrı ölçülmesinden daha kolay ve ucuza mal olmaktadır [2, 3].

Tiyol hücrelerde herhangi bir oksidatif stres durumunun oluşumunu önlemede kritik bir role sahip sülfhidril grubunu içeren organik bir bileşiktir. Vücudun defansif protein

mekanizmaları arasında yer alan sistein, içerdiği işlevsel tiyol grubu ile oksidatif hasarı önlemede önemli bir rol oynamaktadır [4].

BO'lu çocuklarda, enfeksiyonun tetiklediği akciğer hasarı etyolojide gösterilmiş olsa da hastalığa neden olan mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır. Çalışmamızda oksidatif stres ve antioksidan durumun hastalık etyolojisinde rol alıp almadığının araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS

Bronşiolitis Obliterans (BO) ilk kez 1901'de küçük havayollarının hasarı ile ilişkili kronik inflamatuvar hava yolu obstrüksiyon sendromu olarak bildirilmiştir [15]. BO terminal ve respiratuvar bronşiyollerin lümeninin inflamatuvar ve fibröz doku ile tamamen veya parsiyel tıkanması ile karakterizedir.

Daha önce hastalara sadece akciğer biyopsisi ile tanı konulmaya çalışıldığından ve tanı daha zorken, yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografi (YÇBT)'nin uygulanmaya başlanmasından sonra biyopsi gibi invaziv olmayan bu yöntemle BO'da mozaik paternin saptanmasıyla hastalar daha kolay tanı almaya başlamıştır [16].

2.1.1. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS FİZYOPATOLOJİSİ

BO hava yolu lümeninde tam obliterasyon ve daralmaya yol açan respiratuvar ve terminal bronşiollerdeki fibrozis ve inflamasyon ile karakterize edilir.

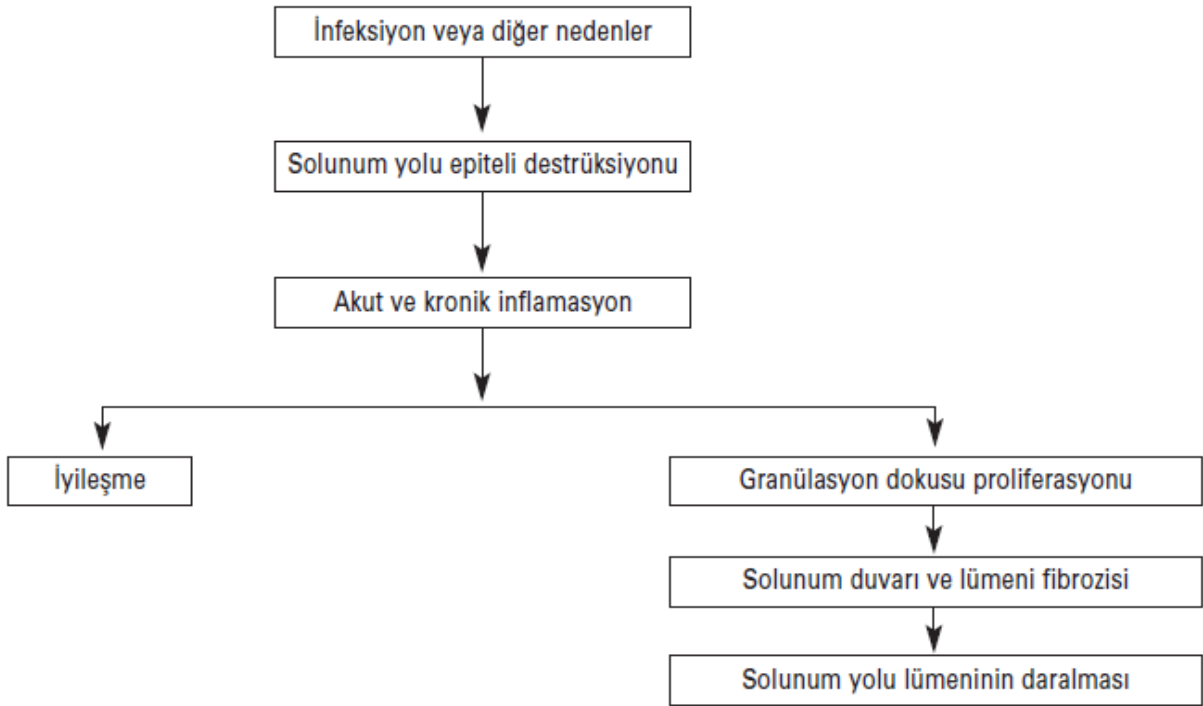
BO'da histopatolojik olarak iki form tanımlanmıştır. Aynı zamanda bu iki form ya da tip bir sürecin devamı niteliğinde de olabilirler. İlki, Proliferatif bronşiolit, intraluminal eksudalar ile karakterize iken, ikincisi konstriktif bronşiolit ise bronşiyollerin lümeninde inflamasyondan fibroze ve en nihayetinde tam bir obliterasyon ile sonuçlanır.

İlk histopatolojik tip, proliferatif bronşiolit, inflamasyon ve granülasyon dokularının küçük hava yollarını tıkanması ile sonuçlanan atelettazi ve alveoler konsolidasyon ile karakterizedir. Bu tip eskiden BO ile birlikteliği olan organize pnömoni olarak adlandırılırken son zamanlarda kriptojenik organize pnömoni olarak adlandırılmaktadır [17].

Transplantasyon (kemik iliği, kalp-akciğer, akciğer), alt solunum yolu enfeksiyonu sonrası (adenovirus, influenza, parainfluenza, respiratuvar sinsityal virüs, kızamık veya mikoplazma pneumonia), kollajen doku hastalıkları (özellikle romatoid artrit ve Sjögren sendromu), toksik gaz inhalasyonu, kronik hipersensitivite pnömonisi, ilaçlar (özellikle penisilamin ve kokain) ve Steven Johnson sendromu sonrası hava yolu epitel hasarının ortak histopatolojik sonucu ikinci tip olan konstriktif bronşiolittir [18]. Çocukluk çağı BO ların %97 sinde altta yatan bu patogenezdır.

BO da solunum yolundaki obstrüksiyon primer olarak bronşiollerde dir. Olay ilerledikçe bronşların fibröz obliterasyonu ve bilateral akciğer dokusunun total olarak etkilenmesi gelişir. Bazı hastalarda fibrovasküler konnektif dokunun büyük kısmı rezorbe olur ve tekrar solunum yolu epitelinin alır. Bazı hastalarda ise akut inflamasyon sonrası solunum yolunda düz kas ile lamina propria arasında kollajen depolanması devam eder [19, 20].

BO iyileşme süreci ile hasar oluşumu arasındaki dengenin bozulması sonucu gelişir (Şekil -1).



Şekil 1. Bronşiolitis obliteransta patogenez

Pediatric pratiğinde BO üç ana kategoriye ayrılır: 1) post-infeksiyöz BO (PIBO), 2) hemapoetik kök hücre transplantasyonu (KHT) sonrası BO, 3) akciğer transplantasyonu sonrası BO.

PIBO (post- infeksiyöz BO)'ya neden olan organizmalar çeşitlilik gösterdiğinden ve özellikle hasar döneminin histolojisinin ve bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısının incelenmesine kadar geçen süreler doğru bir şekilde değerlendirilemediğinden, PIBO patojenezi hakkında sınırlı bilgi vardır [21]. Yapılan çalışmalarda PIBO patogenezinde değişken derecede kronik inflamasyon ve fibrozis ortak patolojik bulgulardır [22].

Postviral BO'lu çocuklarda, akciğerdeki hücrel infiltrasyonda CD8 T lenfositlerin CD4 T lenfositlere göre daha baskın olduğu farkedilmiştir [22].

Koh ve arkadaşları 2000-2001 yıllarındaki salgın sırasında kızamık pnömonisi öyküsü olan BO lu çocukların biyopsi ve BAL örneklerinde CD8 T lenfosit sayılarının arttığını ve CD4/CD8 oranının azaldığını gözlemlemiştir [1].

T lenfositlerin çeşitli inflamatuvar reaksiyonlarda rol aldığı bilinmektedir. Bu iki çalışmada postviral BO gelişiminde CD8 T lenfositlerinin baskın rol oynadığı gösterilmiştir.

Koh ve arkadaşları aynı zamanda PIBO'lu çocukların BAL örneklerinde nötrofil sayısının ve IL-8 in belirgin arttığını göstermişlerdir [1]. Artmış nötrofil sayısı, PIBO patogenezinde nötrofillerin efektör hücre olabileceğini düşündürür.

Akciğer transplantasyonu sonrası BO'lu hastaların BAL örneklerinde nötrofillerin baskın olarak arttığı saptanmış, ilaveten hastalığın evresi ile nötrofillerin artış miktarı arasında korelasyon bulunmuştur [23].

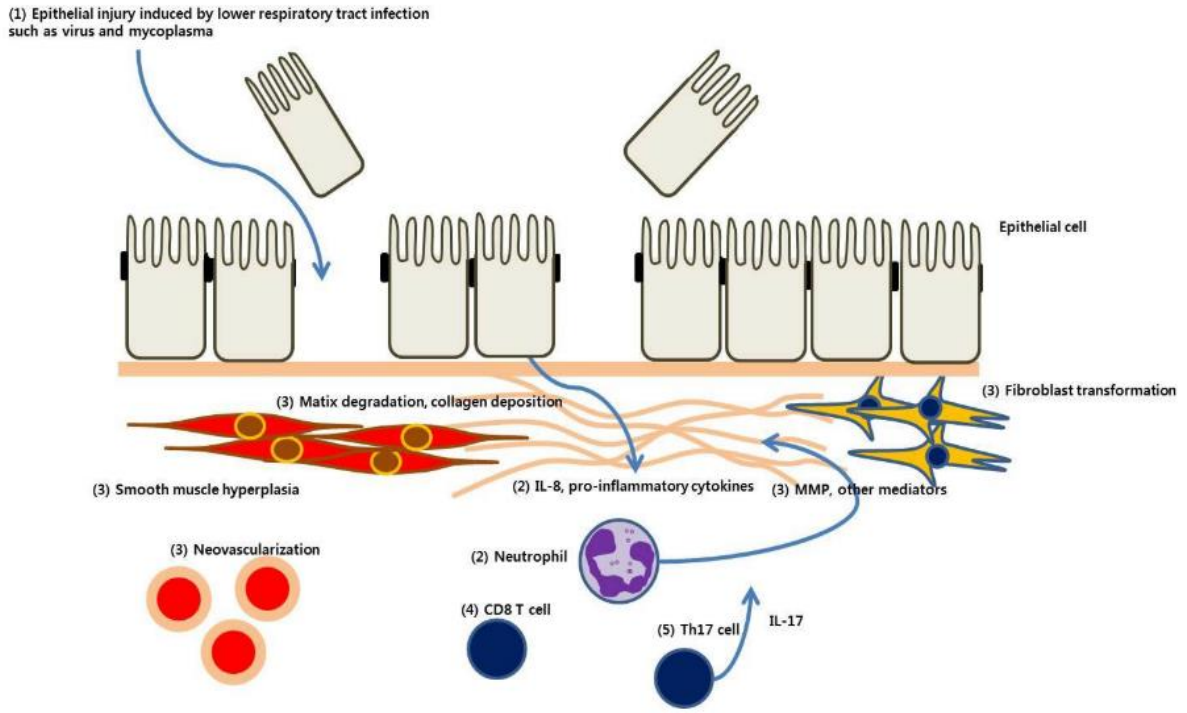
Akciğer transplantasyonu sonrası BO'lu hastaların BAL örneklerinde matriks metalloproteinazlar, reaktif oksijen radikalleri ve defensinlerin araştırıldığı çalışmalarda [24, 25] ve 2013 yılında Kennedy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada [26] nötrofillerin patogeneizde merkezi rol oynadığı gösterilmiştir.

Kennedy ve arkadaşları, transplantasyon sonrası hasarlanan akciğer epitel hücrelerinden salgılanan IL-8 ve diğer proinflamatuvar sitokinlerin, nötrofil ve inflamatuvar hücrelerin toplanmasını sağladığını önermişler. Ayrıca bu nötrofillerin, matriks metalloproteinazlar, defesinler ve reaktif oksijen radikallerini ürettikleri ve bunun sonunda matriks bozulmasına, kollajen depozisyonuna, fibroblast proliferasyonuna ve sonuçta peribronşial fibrozise neden olduklarını öne sürdüler [26].

KHT ve Akciğer transplantasyonu sonrası gelişen BO'nun patogenezinde altta yatan allo reaktivite reaksiyonudur. Bu reaksiyon, akciğer transplantasyonu sonrası alıcıdaki allograft reddi veya kök hücre transplantasyonu sonrası gelişen graft versus host hastalığı (GVHD) ile ilişkilidir.

Ditschkowski ve arkadaşları, 2007'de T hücre tüketiminin, KHT sonrası BO gelişimini engellediğini gösterdiler [27]. Bu bilgi alloreaktivite sürecinde T hücrelerin ana rolde olduğunu gösterdi.

Bu bilginin ardından akciğer transplantasyonu sonrası BO'lu hastalarda doku remodelinginde görevli olan tip V kollajene karşı Th17 hücre aracılı otoimmünite saptandı [28]. Natagiri ve arkadaşları da akciğer transplantasyon sonrası BO'lu hayvan modellerinde IL17 ekspresyonunun arttığını, periferik Treg hücrelerin ise azaldığını gösterdiler [29]. Bu çalışmaların ışığında ise IL17 nin IL8 sekresyonunu indüklediği ve akciğer transplantasyon sonrası BO lu hastaların BAL sıvısındaki nötrofilinin sebebi olarak da Th17 hücreleri gösterilebilir.



Şekil 2. KHT veya Akciğer transplantasyonu sonrası BO ve PIBO patogenezi

1) Epitelyel zarar virus veya mycoplasma gibi mikroorganizmaların neden olduğu alt solunum yolundaki infeksiyonu ile tetiklenir. 2) Epitelyel hücreleri interleukin (IL)8 ve diğer iltihap sonrası aracileri salgılar ve bunlar nötrofilleri ve diğer iltihaplı hücreleri dar havayoluna toplar. 3) Matrix metalloproteinaze, profibrotik sitokinaze ve aracilar bu hücrelerden salinirlar ve bu olay matriks degradasyonu, kollajen toplanmasi, fibroblast toplanmasi ve sonucunda peribronsit fibrosise neden olur. 4) CD8 ve T hücreleri virus infeksiyonundan sonra epitelyel hasarda ve kronik iltihaplanmada baskın rol oynarlar. 5) Th17 hücreleri dokunun yeniden yapılanmasında yer alirlar ve IL-17, IL-8 salinimini tetikler, ki bu havayolu nötrofilleri ile ilgilidir.

2.1.2. BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS EPİDEMİYOLOJİSİ

Literatürde influenza, parainfluenza, kızamık, RSV (Respiratory Syncytial Virus), mikoplazma pnömonisi ve en sık olarak da adenovirus (tip 3,7,21) enfeksiyonu sonrası PIBO bildirilmiştir [30, 31]. PIBO' nun sıklığı tam olarak bilinmese de küçük çocuklardaki ağır viral (özellikle adenovirus) alt solunum yolu enfeksiyonunun epidemiyolojisi ile ilişkilidir.

Şili de yapılan bir çalışmada, 8 yıl boyunca alt solunum yolu enfeksiyonu nedeni ile hastaneye yatırılmış 2 yaşından küçük, dokuz binden fazla çocuğun solunum numuneleri incelenmiş ve çocukların % 3 ünde adenovirüs saptanmıştır. Saptanan virüslerin % 20'si adenovirus ve ağır vakalardaki baskın olan adenovirus tip 7 idi [32]. Şili ve Arjantin de yapılan iki çalışmada 2 yaş altı adenovirus ilişkili alt solunum yolu enfeksiyonu nedeni ile hastaneye yatan çocuklar incelenmiş ve sonucunda %10-15'i ölmüş ve %30-40'ında ise PIBO gelişmiştir [33, 34].

Düşük sosyoekonomik düzey ve viral prevalansın yüksekliği, kötü sağlık önlemleri ve kötü hijyen, evde ya da kapalı alanlarda sigara içimi, aşırı kalabalık ile doğrudan ilişkilidir. Ve bu etkenler adenovirus gibi viral enfeksiyonların bulaşmasını kolaylaştırarak PIBO gelişme riskini artırır [35].

Kök hücre transplantasyonu (KHT) sonrası BO gelişimi transplant vakalarının % 6' sında görülmüştür [36]. Akciğer transplantasyonu sonrasında 5 yıl içinde BO gelişim oranı ise %35 saptanmıştır [37].

PIBO'nun prognozu KHT ve akciğer transplantasyonu sonrası BO dan daha iyi gözükmemektedir. PIBO lu çocuklar, altta yatan etken ve hasarın süresi prognozu etkilemektedir. Ancak tanı anında yapılan retrospektif çalışmalarla etkene ve hasarın süresine ulaşılabilir.

PIBO'nun klinik seyri inceleyen retrospektif ve prospektif çok az çalışma mevcuttur. Bunlardan bir tanesi Hacettepe Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları departmanında E.Yalçın ve arkadaşlarının 1994-2001 yılları arasında 20 adet PIBO'lu çocuk hastayı içeren retrospektif çalışmadır. Çalışmanın sonucunda en sık gözlenen etken adenovirus iken, etken ve hasar süresi ile prognoz arasında ilişki saptanamamıştır [38].

L. Zhang ve arkadaşlarının yaptığı klinik seyri inceleyen 3.5 yıl süresince yapılan prospektif çalışmada ise vakaların % 22.6'sının remisyona girdiği, % 67.7'sinde solunum semptomları ve bulgularının persiste ettiği ve % 9.7'sinin ise öldüğü raporlanmıştır [37]. Kim

ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Kore’de benzer olarak adenovirus ve mikoplazma sonrası BO vakalarının % 25’inde remisyona bildirilmiştir [30]. Bu iki çalışmanın da 3.basamak sağlık kuruluşlarını içermesi nedeni ile hafif PIBO’lu vakaların dahil edilmemiş olabilir. Bu yüzden belirtilen PIBO prognozu daha iyi olabilir.

Buna karşın KHT sonrası BO’lu çocukların prognozu belirgin olarak kötüdür. KHT sonrası BO’lu grupta 5 yıllık sağ kalım % 45-59 iken, BO gelişmeyen grupta % 76-77.5 olarak saptanmıştır [39, 40]. Akciğer transplantasyonu sonrası çocuklarda 5 yıllık sağ kalım % 50 dir. 5 yıl sonrası akciğer transplantasyonlu çocuklarda ölümlerin % 48’nin sebebi BO’dur [41].

2.1.3. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS GELİŞİMİ İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ VE BELİRLEYİCİ ETKENLER

Çocuklarda PIBO için en sık risk faktörü adenovirüsün neden olduğu alt solunum yolu enfeksiyonudur.

Colom ve arkadaşları 2006 yılında 109 PIBO’lu çocuk ve 99 kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada adenovirus enfeksiyonunun, parainfluenza, influenza, RSV gibi diğer viral enfeksiyonlara oranla daha çok PIBO gelişme riski olduğunu saptamışlar. Buna ek olarak, adenovirus nedenli alt solunum yolu enfeksiyonu ve mekanik ventilasyon PIBO gelişimi için iki önemli risk faktörü olarak gösterilmiş [19].

Castro-Rodriguez ve arkadaşları da 2006 yılında adenoviral pnömoni nedeni ile hastanede yatan 45 bebekte 5 yıl boyunca PIBO gelişimi ve risk faktörleri açısından incelemişler. PIBO geliştiren çocuklara uygulanan solunum tedavileri (yoğun bakım başvurusu, mekanik ventilasyon, ek oksijen ihtiyacı, kortikosteroid ve beta-2 agonist kullanımı), geliştirmeyen gruba göre daha fazla saptanmış [22].

Murtagh ve arkadaşları 2009 yılında adenovirus kaynaklı alt solunum yolu enfeksiyonu nedeni ile hastaneye yatırılan 415 çocukta PIBO için risk faktörleri üzerine çalışma yaptı. Hastalığın geliştiği 150 çocukta PIBO için risk faktörü olarak, 30 günden fazla hastanede yatış, hiperkapni ve multifokal pnömoni gösterildi [21].

2.1.4. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS TANISI

PIBO tanısında; spesifik herhangi bir belirti ya da semptom yoktur. İdeal teşhis yöntemi histopatolojik doğrulama, yani biyopsidir. Fakat hastaların klinik olarak instabil olması akciğer biyopsisinin komplikasyonlarını arttırır ve akciğer dokusunda homojen olarak

dağılmaması yeterli örneklemeyi zorlaştırır [42]. Bu nedenle klinik ve görüntüleme kriterleri, etkenin tanımlanması ve diğer kronik akciğer hastalıklarının dışlanması için laboratuvar testleri ile birleştirilir.

PIBO teşhisinde kullanılan kriterler aşağıda belirtilmiştir [43];

1. Daha öncesinde sağlıklı olan çocuklarda; özellikle hayatlarının ilk üç yılında geçirilmiş akut, şiddetli bronşiolit/viral pnömoni öyküsü
2. Akut olay sonrası oluşan, en azından iki haftalık sistemik steroid ve bronkodilatör tedavisine cevap vermeyen, fizik muayenede ve/veya solunum fonksiyon testleri ile tespit edilmiş persistan hava yolu obstrüksiyonu kanıtı
3. Hiperinflasyon, atelektazi, hava yolu duvar kalınlaşması ve bronşiektazi gibi obstrüktif akciğer hastalığı radyografik bulguları
4. Akciğer tomografisinde mozaik patern ve hava tutulumu
5. Tüberküloz, kistik fibrozis, bronkopulmoner displazi, immün yetmezlikler, ağır astım ve alfa-1-antitripsin eksikliği de dahil olmak üzere diğer kronik akciğer hastalıklarının dışlanması

Tablo -1'deki klinik ölçütler uygulanır ve test sonuçları elde edilir ancak nihai teşhise tetikleyici olay bittikten sonra ulaşılabilir. Bu ilk enfeksiyonun kliniği; konakçının immünolojik durumu ve cevabı ile mikroorganizmanın immüno-zorlu özellikleri arasındaki etkileşime bağlıdır. Örnek verecek olur isek, adenovirüs, RSV den farklı olarak virüs hala mevcut iken korunan ve enfeksiyon dönemi boyunca yoğun enflamasyona neden olan yoğun Th1 yanıtı ortaya çıkarmaktadır [44]. Çocuklarda PIBO tanısı koymak için kullanılan klinik prediktif kurallar hakkındaki son zamanlarda yapılan çalışmalarda tipik klinik öykü, adenovirus enfeksiyonu, HRCT de görülen mozaik perfüzyon ve mekanik ventlasyon öyküsünün prediktif değeri yüksek değişkenler olduğu saptanmıştır [45].

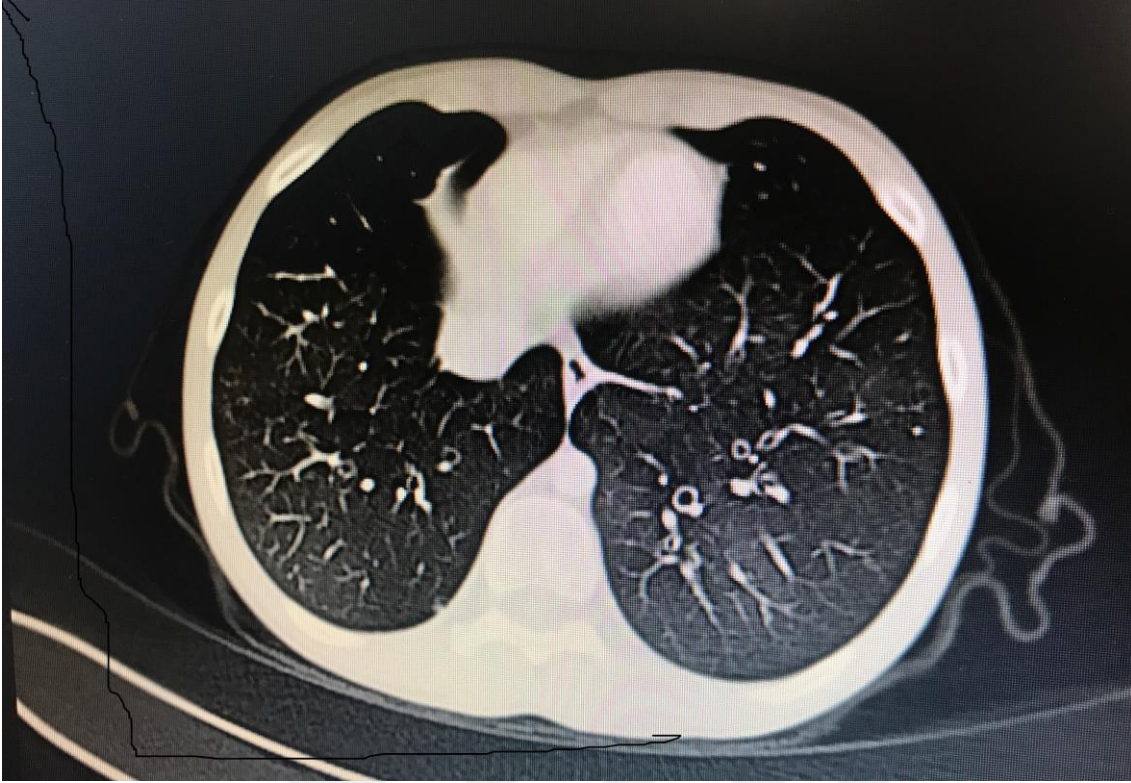
2.1.4. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞOLİTİS OBLİTERANSTA GÖRÜNTÜLEME

Görüntüleme teknikleri ve özellikle de HRCT, PIBO tanısında önemli rol oynamaktadır. PIBO'ya spesifik bir method veya imaj bulunmamaktadır. Bununla birlikte görüntüleme, klinik ve laboratuvar bilgileri ile birlikte değerlendirildiğinde tanıya ulaşmada yardımcı olur ve akciğer tutulumunun derecesini gösterir. En çok kullanılan görüntüleme yöntemleri, akciğer grafisi, V/P sintigrafisi ve HRCT'dir [46].

Akciğer grafisindeki tanı unsurları non-spesifiktir. Başlıca bulgular, peri-bronşial kalınlaşma ve hiperinflasyon iken, ek olarak düşük diyaframlar, akciğerlerin hava kontrastının artması ve lateral grafide, artmış retro-sternal boşluk ile karakterizedir. Akciğer grafisinde saptanabilen diğer bulgular ise atelektazi ve bronşiektazidir [46].

V/P taramalarında eşleşen ventilasyon-perfüzyon defekti, PIBO lezyonlarının segmental, sub-segmental veya lobar dağılımının ayırıcı paternini göstermektedir. H. Yüksel ve arkadaşları, 2009 yılında BO'lu çocuklarda akciğer perfüzyon defektlerinin sayı ve yoğunluğu ile klinik ağırlığın ilişkili olduğunu saptamışlardır [47]. V/P taramaları bulguların doğasını yansıtmazken akciğerde hasarlanan alanların dağılım modelinin daha nesnel değerlendirilmesini sağlar. V/P taramaları, daha fazla hasar gören bronko-pulmoner alanları vurguladığı için akciğer grafisine göre daha doğrudur.

HRCT, PIBO tanısında doğrulama için etkili invaziv olmayan bir testtir. PIBO'da ortaya çıkan hava yolu ve parankimal anormallikleri tespit etmek için HRCT, akciğer grafisi ve V/P taramalarına göre daha duyarlıdır. Öte yandan, HRCT'nin V/P tarama ve akciğer filmi ile karşılaştırıldığında yüksek radyasyon içermesi önemli bir kısıtlamadır. Çocuklarda, HRCT kullanırken çok fazla görüntü kaybı olmaksızın düşük radyasyon protokolleri uygulanmalıdır. HRCT küçük hava yolları anomalilerinin yanı sıra diğer akciğer defektlerini de tanımlama imkanı sağladığı için avantajlıdır. PIBO' nun HRCT üzerindeki en önemli işareti mozaik perfüzyon paternidir. Mozaik perfüzyon modeli, hipoventilasyon olan bölgeden, normal veya hiperventilasyon olan bölgeye doğru oluşan vasküler şant nedeniyle oluşur [48]. Doku hipoksisine sekonder oluşan vazokonstriksiyona bağlı parankimde perfüzyon azalır. HRCT' de hem inspiratuar hem de ekspiratuar fazda alınan görüntüler önemlidir, çünkü, PIBO için karakteristik olan hava tutulumu sadece inspiratuar taramalarda gözden kaçabilir. Ventilasyonun her iki fazında görüntü almak ise radyasyon miktarını iki katına çıkarır.



Şekil 3. Bronşiolitis obliteranslı bir hastada akciğer BT de; mozaik perfüzyon, buzlu cam görünümü, bronşiektazi görünümü

2.1.5. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSTA SOLUNUM FONKSİYON TESTLERİ

Solunum fonksiyon testi (SFT), PIBO'lu çocukların fonksiyonel durumu hakkında önemli ve duyarlı bilgiler verir. Diğer kronik akciğer hastalıklarında da olduğu gibi, SFT, daha iyi teşhis, sınıflandırma ve hastalık takibinde katkıda bulunur [49]. Hastanın kliniği müsaade ettiği müddetçe SFT yılda en az bir kez yapılmalıdır. Karakteristik olarak şiddetli hava yolu tıkanıklığı, azalmış komplians ve bronkodilatatore yanıtı sızlık mevcuttur.

Matiello ve arkadaşları 2010 da yaptıkları çalışmada takipteki 77 PIBO' lu çocuğun akciğer fonksiyonunu incelemişler ve FEV-1, FEV-1/FVC ve özellikle de FEF 25-75 endeksleri prediktif değerlerine göre belirgin azalmış olarak saptamışlardır [50].

Yapılan diğer çalışmalarda ise intratorasik gaz hacmi (ITGV), reziduel volüm (RV) VE rezidüel volüm/ total akciğer kapasitesi oranı (RV/TLC) artmış olarak saptandı. Bu da PIBO' nun obstrüktif bir hastalık olduğunu açıkça göstermektedir [51].

Çoğu araştırmacıya göre PIBO tanısı, klinik öykü ve HRCT bulgularına ek olarak, şiddetli ya da orta obstrüktif bozukluğun kanıtını da içermelidir [52].

Bununla birlikte, spirometri kullanılarak yapılan solunum fonksiyon testleri, küçük çocuklarda uygulanabilir değildir ve çoğu PIBO vakası erken çocukluk döneminde gelişir. Spirometri kullanılarak yapılan çalışmalarda bildirilen verilere göre, PIBO' lu çocuklarda tanısal bir değere sahip olmasa da uzun süreli akciğer kapasitesini değerlendirmede kullanılabilir. Alt solunum yolu enfeksiyonu sonrası BO riski olan bebek ve çocuklarda solunum fonksiyonlarının değerlendirildiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1.6. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANSTA EGZERSİZ TESTLERİ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) ve kistik fibrozis (KF)'a ait çalışmalarda; egzersiz testindeki performansın bu hastalarda genel sağlığın iyi bir yansıması olduğu kadar önemli bir prognostik araç olduğunu da göstermiştir [53].

Matiello ve arkadaşları 2008'de yaptığı çalışmada PIBO'lu çocukların (6 metre yürüme testi) 6MWT ve kardio-pulmoner egzersiz testindeki (CPET) performansını incelemişler ve her iki testte de egzersiz kapasitesinin azaldığı saptanmıştır. CPET kalp-solunum parametrelerini aynı anda daha geniş bir yelpazede sunduğu için, SFT ve 6MWT e göre daha sensitiftir. Öte yandan, 6MWT, fizibilite ve düşük maliyet açısından daha avantajlıdır [53].

2.1.7. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS TEDAVİ

PIBO'nun optimal tedavisi henüz saptanamamış olsa da inflamatuvar bileşen ile savaşmak için kortikosteroidler kullanılmıştır. Küçük hava yollarının obliterasyonunu dikkate alarak inhale steroidlerden ziyade sistemik steroidler kullanılabilir. PIBO'nun nadir bir hastalık olması nedeni ile tedavi odaklı uygun randomize klinik çalışmaların gelişmesini büyük ölçüde engellemiştir. Bu yüzden tedavi kararları ampirik ve geneldir.

Uygulanan ilaç tedavileri aşağıdaki gibidir;

- a) Solunum obstrüksiyonu ile seyreden ataklar sırasında inflamatuvar bileşeni hedef alan inhale kortikosteroidler ve oral kortikosteroidler kullanılmaktadır. Değişik sonuçlar elde edilse de, ciddi ve uzamış obstrüksiyon olan vakalarda hidroksiklorokin ve yüksek doz metilprednizolon pulsları da kullanılmıştır [26].

- b)** Solunum yolu enfeksiyonu sırasında şiddetlenen hırıltının semptomatik tedavisinde inhale antikolinergik ajanlar, kısa ve uzun etkili bronkodilatörler kullanılabilir [34]
- c)** Oral ya da iv antibiotikler sıklıkla karşılaşılan enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Bazı durumlarda profilaktik antibiyotik kullanımı da benimsenmiştir. Antiinflamatuvar ve immunomodulator özellikleri olan azitromisin profilaksi için iyi bir seçenek olabilir [54].
- d)** Hastalığın ilk yıllarında oksijen desteği önemlidir. Sonraki yıllarda klinik iyileşme ve stabilizasyon sağlanan birçok vaka oksijen desteğinden ayrılır. Geceleri oksijen desteğine ihtiyaç konusunda şüpheler olsa da, sadece çok ciddi vakalarda uyku sırasında desatürasyon saptanmıştır [55].

Cerrahi tedavi ise, kronik bronşiektazi ve kronik segmental/lober atelektazilerde konservatif tedaviler ile klinik düzelmeye sağlanamadığında bireysel vaka bazında düşünülebilir.

Gastroözefageal reflü hastalığı (GÖRH) BO'ya sekonder oluşabilir. Saptandığında muhakkak tedavi edilmelidir.

PIBO'da potansiyel enfeksiyöz ajanlara karşı aşılama öncelikli bir ilke olmalıdır. Tüm ulusal aşılama programlarında rutin olmayan pnömokok, influenza ve H1N1 karşı da aşılama dahil edilmelidir.

Oksijen bağımlı olan ve akciğer fonksiyon testleri aşırı derecede bozuk olan ciddi vakalarda akciğer transplantasyonu endikedir.

Nutrisyonel destek bu hastalarda solunum sıkıntısına sekonder gelişimsel ihtiyaçları arttığı için çok önemlidir. Mocalin ve arkadaşları, takip ettikleri hastaların % 20'sinde malnutrisyon saptamışlardır [56]. Bosa ve arkadaşları ise normal büyümüş takipli hastalarının % 33'ünde düşük kas kitlesi olduğu ve bunun solunum kaslarının etkinliğini de etkileyebileceğini göstermiştir [57]. Bu sonuçlar, PIBO yönetiminin bir başka dikkat edilmesi gereken yönü olan rehabilitasyona da dikkat çekmiştir. Diğer kronik akciğer hastalıklarında da olduğu gibi, solunum kaslarının mekaniği için, rehabilitasyon programlarının kullanılması ve aerobik egzersizlerin dahil edilmesi gerekir [58].

2.1.8. POSTENFEKSİYÖZ BRONŞİOLİTİS OBLİTERANS PROGNOZ

Adenovirüs nedenli akut solunum yolu enfeksiyonu esnasında ölüm oranı % 18.7 gibi yüksek bir oranda olsa da PIBO tam olarak geliştiğinde ölüm oranı düşüktür [1-22].

Öte yandan, PIBO'da, hastalığın ilk yıllarındaki sekonder enfeksiyonlar ve obstrüktif alevlenmeler nedeni ile morbidite oranı yüksektir.

Matiello ve arkadaşları 2010 yılındaki çalışmada, PIBO' lu çocuklarda ilk iki yılda en kötü HRCT görüntüsü olan çocukların, 10 yıl sonraki en kötü akciğer fonksiyonlarına sahip olduğunu göstermişlerdir [50]. Bu bilgiye dayanarak; fonksiyonel kapasitesi kötü olan hastalarda, kötü progresyonun nedeni bronşiektazi, lobar atelektazi gibi eşlik eden komplikasyonlar ile açıklanabilir.

Hastalığın prognozunu daha iyi aydınlatmak için; terapötik konuları içeren, yetişkin dönemdeki bakıma geçiş yapan uzun vadeli takipleri de kapsayan çok merkezli daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.2. OKSİDAN VE ANTİOKSİDANLAR

Son yıllarda, birçok hastalığın patogenezinin artmış serbest radikal aktivitesiyle ilişkili olduğu ortaya konmuş ve yaşlanmadan, kanser ve koroner kalp hastalıklarına kadar birçok durumun tedavisi için antioksidanların rolüne dikkat çekilmiştir.

Serbest radikal dış orbitalinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektrona sahip ve kısa ömürlü bir moleküldür. Metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilen reaktif oksijen türleri, organizmada, güçlü radikal reaksiyonları başlatarak biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olurlar [59].

Genelde antioksidanlar, serbest radikallerin (reaktif oksijen ve nitrojen türevlerin) temizlenmesi, oksidatif stresle hasarlanmış dokuların onarılması, diğer antioksidanların onarılması veya yenilenmesi ve metal şelasyonu gibi birçok farklı etki mekanizmalarından bir veya birkaçını göstermektedir. İdeal bir antioksidan bilinen bu etki şekillerinden birçoğunu yerine getirebilme özelliğine sahiptir [60].

Normal koşullarda reaktif oksijen türleri, enzimatik ya da non-enzimatik antioksidatif mekanizmalarla uzaklaştırılmalarına rağmen bazı durumlarda oksidanların düzeylerindeki artışa ve/veya antioksidanların düzeyindeki azalmaya bağlı olarak oksidatif/antioksidatif

denge oksidatif yöne kayar ve birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili olan oksidatif strese yol açar [59].

Nötrofiller ve makrofajlar, akciğer dokusuna sızarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesinde, indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz ekspresyonunu arttırmada ve aynı zamanda süperoksit ($O_2^{\bullet-}$) anyonların üretiminde önemli bir rol oynayabilir [61]. ROS'un aşırı üretilmesi hücre proteinlerinin, lipidlerin, DNA'nın ve karbonhidratların oksidatif hasarına yol açar. Oksidatif stres, hem parenkim hem de hava yolu duvarlarının geri dönülmez hasarına katkıda bulunur, akciğer ve sistemik inflamasyonu başlatan moleküler mekanizmaları aktive eder ve ayrıca ateroskleroza neden olur [62].

Birçok oksidan ve antioksidan molekülün serum veya plazma düzeylerini ölçen çeşitli analitik yöntemler bulunmaktadır [16]. Ancak bu moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi hem zaman alıcı hem de zordur. Ayrıca ekonomik yönden de zorlayıcıdır. Bu nedenle “total antioksidan durum (TAS)” ya da “total oksidan durum (TOS)” ölçümü bir örnekteki oksidan ve antioksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesinden daha pratiktir [2].

Bir örnekteki total antioksidan düzeyi, antioksidan aktivite (TAA) , total antioksidan güç (TAOP), total antioksidan durum veya total antioksidan kapasite (TAC) olarak da ifade edilmektedir.

TAS ölçümü için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde bir radikal oluşturularak bu radikale karşı örneğin antioksidan aktivitesi ölçülür. En yaygın kullanılan kolorimetrik yöntemler, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (ABTS) kullanan yöntemlerdir. Renksiz indirgenmiş ABTS molekülü, mavi-yeşil renkli $ABTS^{\bullet+}$ radikaline okside edilir. Renkli $ABTS^{\bullet+}$ radikali okside olabilecek herhangi bir molekül ile karıştırılırsa yeniden orijinal renksiz ABTS formuna dönüşür, reaksiyona giren madde ise okside olur. Bu özellik ABTS kullanan yöntemlerin temelini oluşturur [63].

Erel ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntemde, indirgenmiş ABTS molekülü herhangi bir peroksidaz ajan kullanılmadan sadece H_2O_2 varlığında ve asidik ortamda okside edilmekte ve böylece daha dayanıklı bir $ABTS^{\bullet+}$ radikali üretilmektedir. Asetat tampon solüsyonundaki konsantrasyon (koyu yeşil) $ABTS^{\bullet+}$ molekülü daha uzun süre dayanıklılığını korumaktadır [64].

TOS için total peroksid (TP) , serum oksidan aktivite (SOA) veya reaktif oksijen metabolitleri (ROM) gibi ifadeler kullanılmaktadır. TOS ölçümü için de çeşitli yöntemler

bulunmaktadır. Erel ve arkadaşları TOS ölçümü için oldukça kolay, dayanıklı, güvenilir ve ekonomik bir yöntem geliştirmişlerdir [3].

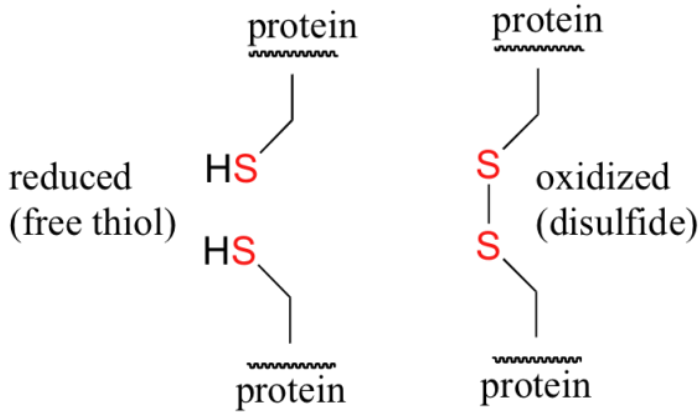
Oksidatif stres indeksi, TOS değerinin TAS değerine oranıdır. TAS'ın birimi $\mu\text{mol Trolox Ekivalent/L}$ 'ye çevrildikten sonra oksidatif stres indeksi hesaplanır [65].

2.2.1. TİYOL MOLEKÜLÜ

Tiyol grupları antioksidan sistemin önemli bir üyesidir ve enzimatik-nonenzimatik mekanizmalarla ROS ve diğer serbest radikalleri yok eder.

Tiyol, hücrelerde herhangi bir oksidatif stres durumunun oluşumunu önlemede kritik bir role sahip sülfhidril grubunu içeren organik bir bileşiktir. Vücudun defansif protein mekanizmaları arasında yer alan sistein, içerdiği işlevsel Tiyol grubu ile oksidatif hasarı önlemede önemli bir rol oynamaktadır. Bu defansif işlevler, genellikle tiyoredoksin ve peroredoksin gibi proteinlerin aktif bölgelerinde yer alan sistein depoları ve düşük moleküler ağırlığa sahip tiyol glutatyon aracılığıyla gerçekleştirilmelerine göre değerlendirilirler.

Tiyol protein aracılığıyla gerçekleşen hücreler arası antioksidan defansif mekanizmalarından başka, hücrenin hücreler arası kısımları ile iletişim halinde olan fakat tiyol protein işlevinde yer almayan hücrenin dış yüzeyinde bulunan tiyollerde mevcuttur [66].



Şekil 4. Redükte tiyol ve okside tiyol şekli

Serum tiyol grupları HOCl'nin primer hedefi olarak bilinmektedir ve plazma antioksidan sistemin en önemli üyeleridir. Serum Tiyol seviyelerindeki azalma, oksidatif strese karşı savunma sırasında tüketilmelerinden kaynaklanabilir. Azalmış Tiyol seviyeleri, plazma antioksidan savunma sisteminin yetersizliğini gösterebileceği gibi, protein oksidasyonunun varlığına da işaret eder [67].

2.2.2. MİYELOPEROKSİDAZ ENZİMİ

Doku zedelenmesi, hangi nedenle olursa olsun, hasara uğrayan dokudan enflamasyon gibi önemli değişmelere yol açan maddelerin serbest kalmasına neden olur. Enflamasyon başladıktan hemen sonra enflamasyon alanı nötrofil ve makrofajlarla istila edilir ve böylece dokuları enfeksiyon ve toksik ajanlardan kurtarmak için temizlik fonksiyonları başlar. Enfeksiyonun ilk birkaç saati içinde savunmanın ilk hattını dokuda hazır bulunan makrofajlar oluştururlar. Bununla beraber sayıları çok fazla değildir. Enflamasyon başladıktan birkaç saat sonra kandaki nötrofiller bazen dört-beş kat olacak şekilde artarak mm³'te 15.000-25.000'e yükselir. Nötrofil enflamasyonla birlikte olsun ya da olmasın vücuttaki herhangi bir doku hasarından meydana gelir. Nötrofil ve makrofajların en önemli fonksiyonu fagositozudur. Nötrofiller olgun hücrelerdir. Bakteri ve virüslere dolaşımında bile hücum ederek tahrip edebilirler. Kemik iliğinden serbest kaldıktan sonraki yaşamları normal olarak dolaşımında 4-8 saat, dokularda ise 4-5 gün kadardır. Ağır enfeksiyonlarda bu toplam yaşam süresi genellikle birkaç saat kadar kısa olur. Çünkü bu koşullarda granüositler hızla enfekte bölgeye geçerler. İstilacı organizmaları sindirirler ve bu işlemler sırasında kendilerini de tahrip ederler [68]

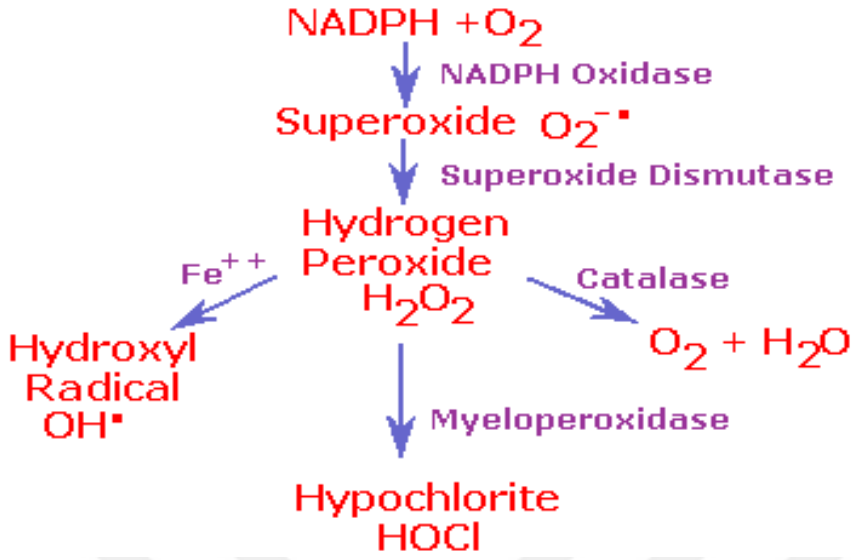
Lökositler vücudun en önemli savunma hücreleridir. Bu hücreler diapedez, kemotaksis ve fagositoz gibi özellikleriyle organlara girebilir ve mikrobik yapıları yok edebilirler. Nötrofillerin mikroorganizmaları fagositozu sırasında açığa çıkan ürünler ve salgılanan enzimler kemotaktik ajanlardır. Bu nedenle, nötrofil ve diğer fagositik hücrelerin göçü hızlanır. Bu olayda, örneğin monosit-makrofajların gelişi ile fagositoz olayları hızlanır, öldürülen mikroorganizma sayısı artar. Bazofiller histamin salgısıyla o bölgenin yeterince oksijenlenmesini ve kanlanmasını sağlar. Eozinofiller harap olan bölgede özellikle, enzimlerin yıkıcı etkisini azaltarak, tamire yardım ederler. Lenfosit ve diğer immün yapıların, mikrobik ajanların yok edilmesinde özel etkinlikleri vardır. Oponinlenmiş bir yapının nötrofiller tarafından tanınması, adhezyonu ve fagositozu, membranlarında bulunan çeşitli reseptörlerle sağlanabilir. Nötrofil membran reseptörleri arasında, IgG1 ve IgG3 gibi antikorlara özgü yapılar, C3b, C5 komplemanları gibi kemotaksi ajanları, lökotrienler gibi polipeptid yapılara özgü reseptör çeşitleri sayılabilir. Bunların dışında β -adrenerjik reseptörler, trombositleri aktive edici yapılar, IL-1, TNF'lere özgü farklı reseptörler bulunur. Reseptörün uyarılması, hücre içinde belirli enzim sistemlerinin aktive olmasını ve hücrel cevabı sağlar.

Nötrofil membranlarında saptanan başlıca enzimler; Na⁺-H⁺ antiport sistemleri (sitoplazma ve fagolizozom ortamında pH düzenler), Na⁺-K⁺ ATPaz (membran

potansiyellerinin korunmasında etkilidir), Ca^{++} - Mg^{++} ATPaz (Ca^{++} 'un hücreden çıkarılmasını sağlar) 'dır. Membranda yer alan Ca^{++} kanalları ise hücreye Ca^{++} girişini sağlayan bölgelerdir. Bu kanalların açılması ile hücreye giren Ca^{++} kontraktil proteinlerin kasılmasını, ekzositoz ve lizozomal enzimlerin salgılanmasını kolaylaştırır. Mikroorganizmaların sindirilmesinde etkili enzimler, sitokromlar gibi oksidan enzimler, peroksidazlar gibi antioksidan enzimler, nötrofillerin hücre membranlarında ve spesifik granül membranlarında yer alırlar.

Nötrofil hücresinin sitoplazmasında çeşitli enzimleri içeren granüller bulunur. Bu yapılar, azurofilik ve spesifik granüller olarak sınıflandırılırlar. Azurofilik granüllerde bulunan enzimler; asit hidrolaz, lizozim, MPO, bakteri öldürücü enzimler olarak gruplandırılırlar. Spesifik granüllerde ise, lizozimler, apolaktoferrin, kollagenaz, kobalamin bağlayıcı proteinler, C5a komplemanını yıkan enzimler ve plazminojen aktivatörleri bulunur [9].

Nötrofil ve monositler bakterilerin öldürülmesi için hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmalar içerirler. Bilindiği gibi bu her iki mekanizma da demire bağımlıdır. Oksijen bağımlı mekanizmalar MPO sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan bir başka sistemi içerirler. Oksijenden bağımsız sistem patojenlerin öldürülmesinde fagolizozomda pH değişikliklerini ve lizozomal enzimleri kullanır. Bütün bu bakterisidal mekanizmaların tamamı göz önüne alındığında en etkili olanı MPO sistemidir. MPO demir içeren bir hem proteini olup, vücudun savunma sistemlerinde ve enflamatuar doku hasarında kritik roller oynar [69, 70]. Fagositoz olduktan sonra, lökosit hücre membranında yerleşmiş olan NADPH oksidaz sistemi çevre dokulardaki moleküler oksijeni süperokside dönüştürür. Süperoksid oluşumuna eşlik eden moleküler oksijenin hızlı tüketimi 'respiratuar patlama' olarak adlandırılır. Daha sonra süperoksid, süperoksid dismutaz (SOD) ile hidrojen perokside dönüştürülür. Fagolizozomda bulunan lizozomal bir enzim olan MPO'nun varlığında peroksid ve klorür iyonları bakteriyi öldüren HOCl'ye dönüştürülür. Fazla peroksid katalaz veya glutatyon peroksidaz ile nötralize edilir. NADPH oksidaz hormonal olarak düzenlenen ve alt birimlerinde sitokrom ile flavin koenzim gruplarını taşıyan bir enzim kompleksidir.



Şekil 5. Bakterinin fagolizozomda öldürülmesi için oksijen bağımlı MPO sistemi

2.2.3. PON VE ARİLESTERAZ ENZİM AİLESİ

1953 yılında ilk defa memeli dokusunda organofosfatları hidrolize edebilen enzim, serumda tanımlanmış ve PON adı verilmiştir. Bu adı alması parationun toksik metaboliti olan paroksonu hidrolize edebilme yeteneğinden dolayıdır[68] .

Bundan kısa bir süre sonra da enzimin ARES aktivitesi tanımlanmıştır. PON'ın endojen substratı hala bilinmemektedir. İnsanda 3 tane PON geni vardır (PON1, PON2, PON3). Bu genlere bağlı üretilen enzimler %65 oranında benzer amino asit dizilimine sahiptirler ve insan 7. kromozomunda kodlanırlar [71].

PON proteinleri dokulardaki ekspresyonlarına ve dağılımlarına göre birbirinden farklılaşmaktadırlar. PON1'e ait m-RNA'nın karaciğerin yanı sıra böbrek, kalp, beyin, ince bağırsak ve akciğer dokularında da bulunduğu gösterilmiş ve PON1'in, bu dokuların hepsinde endotelial tabakada lokalize olduğu, immünohistokimyasal yöntemlerle tayin edilmiştir [72].

Organofosfat bileşiklerinden paratiyonun aktif katabolik metaboliti olan paraokson, enzime adını verdiği gibi, aktivite tayininde de en çok kullanılan substratlardan birisidir. PON1'in hidrolik aktivitesiyle açığa çıkan p-nitrofenol veya fenolün konsantrasyonu üzerinden, PON1 aktivitesi spektrofotometrik olarak tayin edilebilmektedir. PON1 kalsiyum bağımlı glikoprotein yapısında bir esterazdır. PON1 karaciğerde sentezlenmekte ve plazmada HDL üzerinde taşınmaktadır. Antioksidan görev yapmakta ve özellikle LDL'yi oksidasyondan

korumaktadır. PON1'in aynı zamanda trigliserid içeren şilomikron ve VLDL ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir. PON1'in yapısındaki sistein aminoasidine bağlı olarak antioksidan özellik taşıdığı ve LDL'yi oksidasyona karşı korumada önemli rol alır. PON1 özellikle başlıca reaktif oksijen bileşikleri (ROS) ürünü olan hidrojen peroksitin yıkımında adeta bir peroksidaz gibi rol oynayıp oksidatif stresi azaltır [73, 74].

Oksidatif stres altında HDL'de oksidasyona maruz kalmaktadır. HDL lipit peroksitlerin serumdaki en önemli taşıyıcısıdır. HDL yapısındaki kolesterol ester hidroperoksitler, LDL'de bulunanlara oranla daha hızlı ancak daha az reaktif hidroksitlere indirgenmektedir. HDL'nin oksidatif modifikasyonu ters yönde kolesterol taşıma fonksiyonunda bozulmalara yol açar. PON, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır. PON1 aktivitesi yaşa ve cinsiyete bağlı değişim göstermez. Bununla birlikte diyet, sigara, akut faz proteinleri ve gebelik serum PON1 düzeylerini ve aktivitesini etkiler. Diyabetes Mellitus (DM), hiperkolesterolemi ve kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif stresin arttığı durumlarda PON1 aktivitesi düşük bulunmuştur [75, 76]. ARES enzimi ise PON1 ile aynı gen tarafından kodlanan ve aktif merkezleri benzer olan esteraz grubundaki enzimdir. PON1'in polimorfik değişim gösterdiği bilinmesine karşın ARES enzimi genetik polimorfik bir değişim göstermemektedir. ARES enzimi de PON1 gibi organofosfatları, aril ve alkil halojenurleri hidroliz etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. HASTA VE KONTROL GRUBUNUN SEÇİLMESİ

Bu çok merkezli ve kesitsel tipteki çalışmamız Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Marmara Üniversitesi ve Kocaeli Üniversitesi Çocuk Göğüs Hastalıkları bölümlerinde teşhis edilen 63 postenfeksiyöz BO' lu çocuğu içermektedir.

Postenfeksiyöz BO'ın teşhisi için aşağıdaki kriterler kullanılmıştır [77];

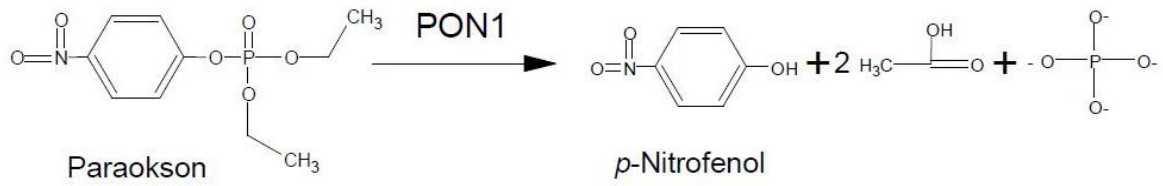
1. Daha öncesinde sağlıklı olan çocukta geçirilmiş akut bronşiolit veya şiddetli pnömoni sonrası
2. Hastaneye yatış gerektiren fizik muayenede saptanan persistan obstruktif hava yolu semptomları
3. Non spesifik tedavi ve antiinflamatuvar tedaviye cevapsızlık
4. Mozaik perfüzyon, vasküler belirginleşme, ekspiryumda hava tutulumu gibi tomografi bulguları
5. Tüberküloz, kistik fibrozis, bronkopulmoner displazi, immun yetmezlikler, ağır astım ve alfa-1-antitripsin eksikliği de dahil olmak üzere diğer kronik akciğer hastalıklarının dışlanması

PIBO' lu hasta çocukların; doğum tarihi, cinsiyet, tanı yaşı, ağırlık ve uzunluk Z skorları, anne-baba sigara içimi, anne sütü alımı ve tıbbi kayıtlardaki solunum semptomları gibi demografik özellikleri elde etmek için standartlaştırılmış bir veri çıkarım formu kullanıldı. Bütün hastalarda, tam kan sayımı, total eozinofil sayısı, serum total IgE, total protein, transferrin, prealbumin, vitamin D düzeyleri, ter testi, akciğer grafisi, balgamda mikrobiyolojik incelemeler, immunolojik incelemeler ve gerektiği hallerde bronkoskopi, akciğer biyopsisi ve gastroözefageal reflü araştırması da yapıldı.

Kontrol grubuna ise, Bezmialem vakıf üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran yaş ve cinsiyet oranı benzer olacak şekilde malnutrisyonu olmayan, kronik hastalığı olmayan, anemi gibi hastalığı olmayan, immün sistem bozukluğu taşımayan ve immünsüpresyona neden olacak ilaç kullanım öyküsü olmayan yaşları 1 ile 16 yıl arasında değişmekte olan toplam 57 hasta alındı.

3.2. ÇALIŞMA METODU

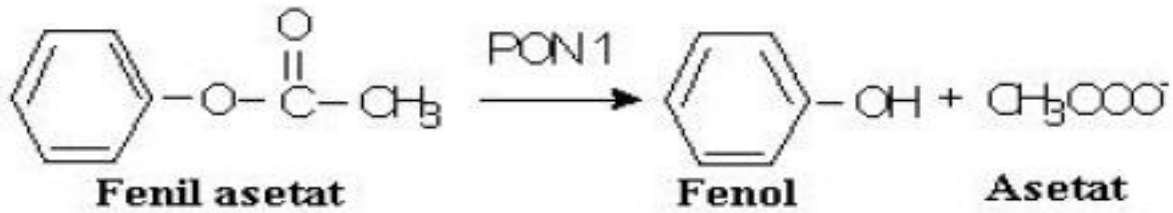
Hastalardan ve kontrol grubundan venöz kanlar ortalama 12 saat açlıktan sonra alındı. Kanlar serumları elde edilmek üzere 3000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar çalışma yapılana kadar -80°C'de saklandı. Örnekler istenilen sayıya ulaştığı zaman oksidatif stres parametrelerinin düzeyleri analiz edildi. TAS, TOS, TİYOL, PON1, ARES ve MPO düzeyleri Abbott Architect C 16000 (JAPONYA) marka otoanalizör kullanılarak fotometrik yöntemle belirlendi. Serumda PON aktivitesinin ölçümünde paraokson substrat olarak kullanıldı.



Şekil 6. Paraoksonun PON tarafından p-nitrofenol ve asetik asite parçalanması

Reaksiyon sonucunda oluşan p-nitrofenol 405 nm de görünür bölgede absorbands verir. Bu ürünün absorpsiyonu ölçülerek enzimin aktivitesi belirlenmiştir.

PON1 enziminin Aril esteraz aktivitesinin ölçümü için fenil asetat substrat olarak kullanılmıştır (Sigma). Deneyin prensibi PON1 enziminin fenil asetatı fenol ve asetik asite parçalamasıyla oluşan fenolün 545 nm de absorbandsının ölçülmesine dayanır [78].



Şekil 7. Fenil asetatın ARES tarafından fenol ve asetik asite parçalanması

MPO aktivitesi, modifiye edilmiş o-dianisidine metoduyla belirlendi [21]. Ölçüm için karışım 0.1 M fosfat tamponu (pH 6.0), 0.01 M hidrojen peroksit, 0.02 M o-dianisidineden oluşmaktaydı. Son olarak örnek serumları karışıma eklendi ve absorbaslardaki değişim 460 nm'de ölçüldü [79].

TAS ölçüm prensibi indirgenmiş ABTS molekülü asit ortamda (asetat tamponu, 30 mmol/L, pH:3.6) H₂O₂ kullanılarak ABTS•+ molekülüne okside edilir. Asetat tampon solüsyonunda, konsantre (koyu yeşil) ABTS•+ molekülü uzun süre dayanıklılığını korur. Yüksek pH'daki daha konsantre bir asetat tampon solüsyonu (asetat tamponu, 0.4 mol/L, pH:5.8) ile dilüe edildiğinde, renk, kendiliğinden yavaşça açılır. Örnekte bulunan antioksidanlar konsantrasyonları ile orantılı olarak renkteki açılmayı hızlandırır. Bu reaksiyon spektrofotometrik olarak izlenebilir ve renkteki açılma örnekteki total antioksidan kapasite ile ters orantılıdır. Reaksiyon hızı, total antioksidan kapasite ölçüm yöntemleri için geleneksel standart olarak kullanılan Trolox ile kalibre edilir. Ölçüm sonuçları mmol Trolox ekivalent/L olarak ifade edilir [64].

TOS ölçüm prensibi; örnekte bulunan oksidantlar, Fe²⁺-o-dianisidine kompleksini Fe³⁺ iyonuna okside eder. Oksidasyon reaksiyonu reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile artırılır. Fe³⁺ iyonu asidik ortamda ksilenol oranj ile renkli bir kompleks yapar. Renk şiddeti, örnekte bulunan oksidant moleküllerin miktarı ile orantılıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülebilir. Ölçüm hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve sonuçlar µmol H₂O₂ ekivalent/L olarak ifade edilir [3].

Tiyol ölçümü, Plazma Tiyol seviyelerinin tayini, Hu ML ve arkadaşlarının geliştirdiği metodla gerçekleştirildi. Metod serbest Tiyol gruplarının 5.5-ditiyo bis (2 nitrobenzoik asit) (DTNB) ile oksitlenmesi sırasında oluşan koyu sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit (TNB)'nin renk şiddetinin 412 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır [80].

3.3. İSTATİKSEL İNCELEMELER

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007&PASS (Power Analysis and Sample Size) 2008 Statistical Software (Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenlerin iki grup karşılaştırmalarında Student t Test, normal dağılım göstermeyen parametrelerin iki grup karşılaştırmalarında ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Test ve farklılığa neden çıkan grubun tespitinde Mann Whitney U Test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Yates Continuity Correction test (Yates düzeltmeli Ki-kare) kullanıldı. Değişkenler arası ilişkilerin

değerlendirilmesinde de Spearman's Korelasyon Analizi kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,01$ ve $p < 0,05$ düzeylerinde değerlendirildi.



4. BULGULAR

Çalışma Eylül 2012-2013 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Marmara Üniversitesi ve Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'nde % 38,3'ü (n=46) kız, % 61,7'si (n=74) erkek toplam 120 olgu ile yapılmıştır. Çalışmaya katılan olguların yaşları 8 ay ile 16 yıl arasında değişmekte olup, ortalama $6,68\pm 3,87$ yıl olarak saptanmıştır.

Tablo 1. Hasta Grubu Genel Özelliklerin Dağılımı

N=63		Min-Mak	Ort±SD
	Yaş (ay)	8– 192	6,09±5,08
	Boy Z Skor	-5,60 – 6,63	-0,79±1,98
	Tartı Z Skor	-12,68 – 4,03	-0,57±2,40
	Sadece Anne Sütü Alma Süresi	0 – 12	4,75±2,74
	Total Anne Sütü Alma Süresi	0 – 36	13,40±9,27
		n	%
Cinsiyet	Kız	21	33,3
	Erkek	42	66,7
Hamilelikte Sigara	İçilmiyor	46	73
	Anne içiyor		

Hasta grupta;

Olguların yaşları 0,67 ile 16 yıl arasında değişmekte olup, ortalama $6,09\pm 5,08$ yıl olarak saptanmıştır.

Olguların boy Z skorları -5,60 ile 6,63 arasında değişmekte olup, ortalama $-0,79\pm 1,98$ olarak saptanmıştır. Olguların kilo Z skorları -12,68 ile 4,03 arasında değişmekte olup, ortalama $-0,57\pm 2,40$ olarak saptanmıştır.

Tablo 2. Hasta Grubu Bulguların Dağılımı

N=63		Min-Max	Ort±SD
Tanı Yaşı (ay)		4 – 146	43,13±34,58
Hastaneye Yatış Sayısı		0 – 40	4,56±6,26
Yoğun Bakıma Yatış		1 – 7	1,72±1,78
Son 1 Yılda AB Kullanımı Gerektiren Atak Sayısı		0 – 20	4,56±4,96
Total IGE (IU/L)		1 – 2712	93,98±349,59
Eozinofil (%)		0 – 18,40	2,41±3,12
Ter Testi (mEq/L)		1 – 55	33,95±11,63
Total protein (gr/dl)		5,80 – 7,90	6,82±0,46
Albümin (gr/dl)		3,80 – 5,10	4,47±0,26
Transferrin (mg/dl)		224 – 414	293,48±39,20
Pre albumin (mg/dl)		0,09 – 0,32	0,18±0,06
Vit D (ng/ml)		4 – 49,80	19,49±9,45
TAS (mikromol Trolox Equiv/L)		0,68 – 1,59	0,99±0,16
TOS (mmol H2O2 Equiv./ L)		4,47 – 51,10	13,13±10,38
PON		5,12 – 328,31	104,79±75,92
Tiyol		0,29 – 1,01	0,46±0,17
MPO		3,02 – 985,69	127,32±204,02
ARES		238,93 – 711,66	517,80±89,85
		n	%
Total protein(gr/dl)	Düşük	1	2,0
Transferrin(mg/dl)	Yüksek	1	2,2
Prealb(mg/dl)	Düşük	28	60,9
	Normal (>25)	16	32,0
Vit D(ng/ml)	Orta Eksiklik (10-25)	24	48,0
	Düşük (<10)	10	20,0

Olguların sadece anne sütü alma süreleri 0 ile 12 ay arasında değişmekte olup, ortalama $4,75\pm 2,74$ ay olarak saptanmıştır. Aynı şekilde olguların total anne sütü alma süreleri 0 ile 36 arasında değişmekte olup, ortalama $13,40\pm 9,27$ ay olarak saptanmıştır.

Olguların %33,3'ü (n=21) kız, %66,7'si (n=42) erkektir.

Çalışmaya katılan olguların %56,5'inin (n=35) hamilelikte anne babasının sigara içmediği gözlenirken, %19,4'ünün (n=12) annesi, %17,7'sinin (n=11) babası ve %6,5'inin (n=4) hem annesi hem babası sigara içtiği gözlenmektedir.

Çalışmaya katılan olguların tanı yaşları 4 ile 146 ay arasında değişmekte olup, ortalama $43,13\pm 34,58$ ay olarak saptanmıştır.

Olguların hastaneye yatış sayıları 0 ile 40 arasında değişmekte olup, ortalama $4,56\pm 6,26$ olarak saptanmıştır.

Olguların %28,6'sının (n=18) yoğun bakıma yattığı gözlenmektedir. Yoğun bakıma yatan olguların yatış sayısı 1 ile 7 arasında değişmekte olup, ortalama $1,72\pm 1,78$ olarak saptanmıştır.

Olguların son 1 yılda AB kullanımını gerektiren atak sayıları 0 ile 20 arasında değişmekte olup, ortalama $4,56\pm 4,96$ olarak saptanmıştır.

Olguların total IGE ölçümleri 1 ile 2712 IU/L arasında değişmekte olup, ortalama $93,98\pm 349,59$ IU/L olarak saptanmıştır. Eozinofil ölçümleri yüzde 0 ile 18,40 arasında değişmekte olup, ortalama $2,41\pm 3,12$ olarak saptanmıştır. Ter testi ölçümleri 1 ile 65 mEq/L arasında değişmekte olup, ortalama $33,95\pm 11,63$ mEq/L olarak saptanmıştır. Tprot ölçümleri 5,80 ile 7,90 arasında değişmekte olup, ortalama $6,82\pm 0,46$ olarak saptanmıştır. Albümin ölçümleri 3,80 ile 5,10 arasında değişmekte olup, ortalama $4,47\pm 0,26$ olarak saptanmıştır. Transferin ölçümleri 224 ile 414 arasında değişmekte olup, ortalama $293,48\pm 39,20$ olarak saptanmıştır. Prealbümin ölçümleri 0,09 ile 0,32 arasında değişmekte olup, ortalama $0,18\pm 0,06$ olarak saptanmıştır. Vit D ölçümleri 4 ile 49,80 arasında değişmekte olup, ortalama $19,49\pm 9,45$ olarak saptanmıştır. TAS ölçümleri 0,68 ile 1,59 arasında değişmekte olup, ortalama $0,99\pm 0,16$ olarak saptanmıştır. TOS ölçümleri 4,47 ile 51,10 arasında değişmekte olup, ortalama $13,13\pm 10,38$ olarak saptanmıştır. PON ölçümleri 5,12 ile 328,31 arasında değişmekte olup, ortalama $104,79\pm 75,92$ olarak saptanmıştır. Tiyol ölçümleri 0,29 ile 1,01 arasında değişmekte olup, ortalama $0,46\pm 0,17$ olarak saptanmıştır. MPO ölçümleri 3,02 ile 985,69 arasında değişmekte olup, ortalama $127,32\pm 204,02$ olarak saptanmıştır. ARES ölçümleri 238,93 ile 711,66 arasında değişmekte olup, ortalama $517,80\pm 89,85$ olarak saptanmıştır.

Tablo 3. Hasta Grubu Bulguların Dağılımı

		n	%
Öksürük	Var	54	85,7
	Yok	9	14,3
Hırıltı	Var	47	74,7
	Yok	16	25,3
Nefes Darlığı	Var	38	60,3
	Yok	25	39,7
Balgam	Var	35	55,6
	Yok	28	44,4
Balgam Rengi	Şeffaf	42	66,7
	Beyaz	9	14,3
	Sarı	6	9,5
	Yeşil	6	9,5
Başlangıç Semptom	Öksürük	33	52,4
	Ateş	2	3,2
	Nefes Darlığı	5	7,9
	Kilo Alamama	1	1,6
	Diğer	19	30,2
*İlk Muayene Bulguları	Sibilan Ronküs/Wheezing	44	59,5
	Krepitan Raller	4	5,4
	Kaba Raller	12	16,2
	Eksp Uzunluğu	7	9,4
	Normal	2	2,7
	Diğer	5	6,8
İlk Asye	Bronkopnömoni	35	55,6
	Abronsiyolit	28	44,4
*Tanı Yöntem	Öykü/Klinik	63	100
	Biyopsi	2	2,7
	BT Bulgu	62	83,8
Tanı Öncesi Asye	Bronkonömoni	19	30,2
	Bronşiyolit	14	22,2
	Bronkopnömoni + Bronşiyolit	30	47,6
Yoğun Bakım Yatış		18	28,6
Gör		15	23,8
PHT		1	1,6
Bronkoskopi (n:30)	Normal	9	14,3
	Artmış Sekresyonlar	8	12,7
	Malazi	2	3,2
	Dış Bası	1	1,6
	Diğer	10	15,9

*Birden fazla cevap verilmiştir.

Çalışmaya katılan olguların % 42,9'unda (n=27) öksürük şiddeti az, % 27'sinde (n=17) orta ve % 15,9'unda (n=10) öksürük şiddeti çok olarak gözlenmektedir.

Olguların %41,3'ünde (n=26) hırıltı şiddeti az, %17,5'inde (n=11) orta ve %15,9'unda (n=10) hırıltı şiddeti çok olarak gözlenmektedir.

Olguların %36,5'inde (n=23) nefes darlığı şiddeti az, %19'unda (n=12) orta ve %4,8'inde (n=3) nefes darlığı şiddeti çok olarak gözlenmektedir.

Olguların %30,2'sinde (n=19) balgam miktarı az, %9,5'inde (n=6) orta ve %15,9'unda (n=10) balgam miktarı çok olarak gözlenmektedir. Olguların %66,7'sinin (n=42) balgam rengi şeffaf, %14,3'ünün (n=9) beyaz, %9,5'inin (n=6) sarı ve %9,5'inin (n=6) yeşil renkte olduğu saptanmıştır.

Olguların %52,4'ünün (n=33) başlangıç sendromu öksürük, %3,2'sinin (n=2) ateş, %4,8'inin (n=3) hırıltılı solunum, %7,9'unun (n=5) nefes darlığı, %1,6'sının (n=1) kilo alamama ve %30,2'sinin (n=19) diğer semptomları olduğu gözlenmektedir.

Olguların %59,5'inin (n=44) ilk muayene bulgusu sibilan ronküs/Wheezing, %5,4'ünün (n=4) kreptan raller, %16,2'sinin (n=12) kaba raller, %9,4'ünün (n=7) eksp uzunluğu, %2,7'sinin (n=2) normal ve %6,8'inin (n=5) diğer bulgular olduğu gözlenmektedir.

Olguların %55,6'sında (n=35) ilk asye pnömoni olarak gözlenirken, %44,4'ünde (n=28) abronşiyolit olarak gözlenmektedir.

Olguların %13,5'inde (n=10) tanı yöntemi öykü/klinik olarak gözlenirken, %2,7'sinde (n=2) biyopsi ve %83,8'inde (n=62) BT bulgusu şeklindedir.

Olguların %30,2'sinin (n=19) tanı öncesi asye sonucu pnömoni, %22,2'sinin (n=14) bronşiyolit ve %47,6'sının (n=30) pnömoni+bronşiyolit şeklindedir.

Olguların %9,5'inde (n=6) kronik hastalık gözlenirken, %23,8'inde (n=15) görmede sorun ve %1,6'sında (n=1) PHT gözlenmektedir.

Olguların %14,3'ünde (n=9) bronkoskopi sonucu normal, %12,7'sinde (n=8) artmış sekresyonlar, %3,2'sinde (n=2) malazi, %1,6'sında (n=1) dış bası ve %15,9'unda (n=10) diğer sonuçlar gözlenmektedir.

Tablo 4. Değişkenlerin Değerlendirilmesi

	GRUP				P
	n	Hasta	n	Kontrol	
Cinsiyet					
Kız; n (%)	21 (33,3)		25 (43,9)		^a 0,319
Erkek; n (%)	42 (66,7)		32 (56,1)		
Yaş (ay) Ort±SD (medyan)	63 73,11±55,39 (61,00)	57 88,00±32,58 (72,00)			^b 0,006**
TAS Ort±SD (medyan)	61 0,99±0,16 (0,98)	48 0,93±0,28 (0,88)			^b 0,005**
TOS Ort±SD (medyan)	60 13,13±10,38 (9,07)	47 11,12±9,73 (7,69)			^b 0,073
Tiol Ort±SD (medyan)	61 0,46±0,17 (0,40)	57 0,55±0,44 (0,42)			^b 0,283
ARES Ort±SD	61 517,80±89,85	57 25,37±10,40			^c 0,001**
MPO Ort±SD (medyan)	61 127,32±204,02 (50,10)	57 312,70±502,39 (148,00)			^b 0,001**
PON Ort±SD (medyan)	61 107,79±75,92 (91,57)	56 58,56±35,95 (54,00)			^b 0,001**

^aYates Continuity Correction Test^bMann-Whitney Test^cStudent-t Test

*p<0,05

**p<0,01

Gruplara göre olguların cinsiyet dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

Hasta gruptaki olguların yaş ortalamaları, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,006; p<0,01).

Hasta gruptaki olguların TAS ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,005; p<0,01).

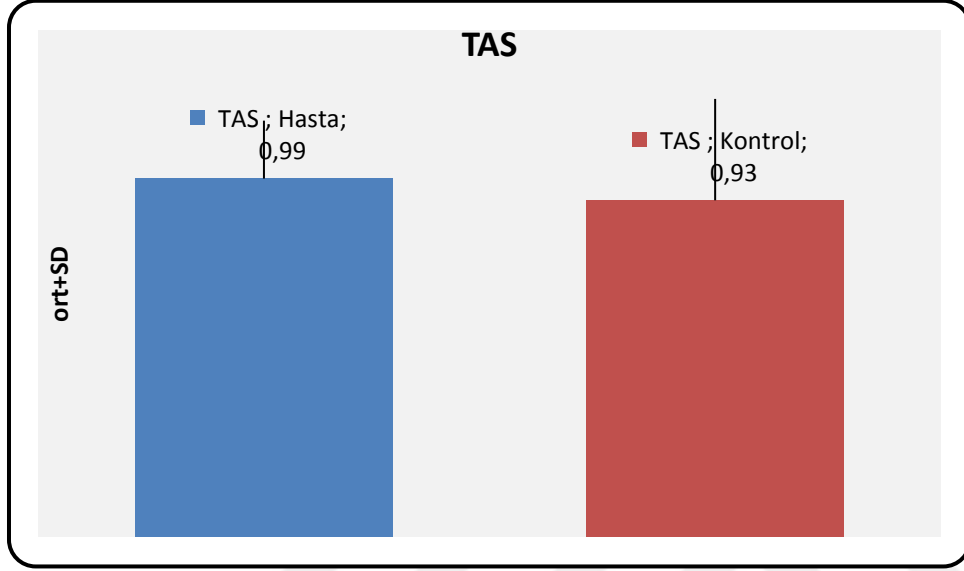
Hasta gruptaki olguların TOS ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı değildir.(p=0,073; p>0,05).

Gruplara göre olguların Tiyol ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).

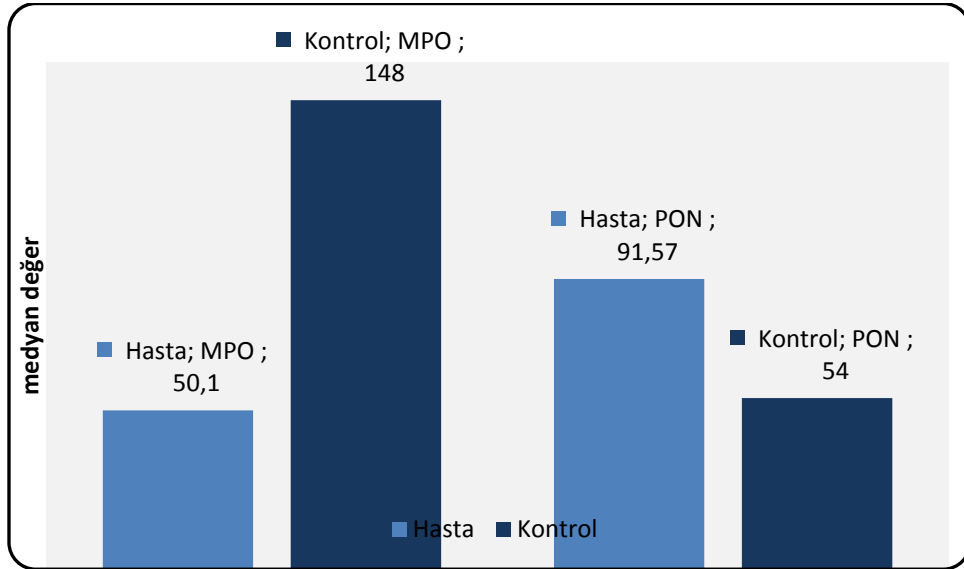
Hasta gruptaki olguların ARES ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (p=0,001; p<0,01).

Hasta gruptaki olguların MPO ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Hasta gruptaki olguların PON ölçüm değeri, kontrol grubundaki olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).



Şekil 8. Gruplara Göre TAS dağılımları



Şekil 9. Gruplara Göre MPO and PON Dağılımı

Tablo 5. Hasta grubunda sigara durumuna göre değerlendirmeler

	ARES		MPO		PON		TAS		TOS		Tiyol	
	Ort±SD (Medyan)		Ort±SD (Medyan)		Ort±SD (Medyan)		Ort±SD (Medyan)		Ort±SD (Medyan)		Ort±SD (Medyan)	
Cinsiyet	Kız (n=20)		134,41±238,09 (33,80)		112,90±83,88 (92,19)		1,03±0,16 (1,04)		12,73±11,22 (8,51)		0,47±0,17 (0,42)	
	Erkek (n=41)		123,86±188,34 (51,39)		100,83±72,49 (91,57)		0,98±0,17 (0,95)		13,33±10,07 (9,26)		0,46±0,17 (0,39)	
	<i>p</i> ^c 0,205		^b 0,645		^b 0,678		^b 0,230		^b 0,456		^b 0,824	
Hamilelikte Sigara İçimi	İçilmiyor (n=34)		127,80±235,11 (29,23)		98,46±72,35 (77,19)		0,99±0,16 (1,01)		12,68±11,30 (8,27)		0,46±0,19 (0,39)	
	Anne İçiyor (n=12)		183,98±207,27 (86,18)		127,97±86,57 (114,04)		0,98±0,12 (0,95)		17,47±10,87 (13,80)		0,52±0,17 (0,52)	
	Baba İçiyor (n=10)		117,40±108,40 (86,89)		114,61±78,92 (128,32)		0,99±0,26 (1,01)		12,88±7,60 (10,78)		0,45±0,09 (0,46)	
	İkisinde içiyor (n=4)		10,80±5,38 (10,06)		80,87±80,04 (41,75)		0,99±0,12 (0,98)		5,75±1,15 (5,83)		0,36±0,02 (0,35)	
	<i>p</i> ^d 0,495		^d 0,019*		^d 0,580		^d 0,978		^d 0,011*		^d 0,161	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Yaş (ay)	0,007	0,955	-0,272	0,034*	0,067	0,607	0,293	0,022*	-0,337	0,008**	-0,307	0,016*
Tartı Z Skor	-0,042	0,748	-0,024	0,852	-0,196	0,130	-0,095	0,465	0,084	0,522	0,017	0,897
Boy Z Skor	-0,135	0,300	-0,073	0,574	-0,179	0,168	0,131	0,315	-0,038	0,773	-0,003	0,982
Son 1 Yıldaki Atak Sayısı	0,175	0,177	0,256	0,046*	0,109	0,404	-0,041	0,755	0,362	0,004**	0,251	0,051
Sadece Anne Sütü Alma Süresi	-0,316	0,017*	0,076	0,572	-0,101	0,453	-0,185	0,169	0,113	0,406	0,088	0,514
Total Anne Sütü Alma Süresi	-0,303	0,022*	0,018	0,893	-0,117	0,387	-0,089	0,508	0,035	0,798	0,029	0,829
^b Mann Whitney U Test	^c Student-t Test		^d Kruskal Wallis		<i>r</i> =Spearman Korelasyon Katsayısı				[*] <i>p</i> <0,05		^{**} <i>p</i> <0,01	

Olguların ARES, MPO, PON, TAS, TOS ve Tiyol ölçümleri, cinsiyete göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Olguların ARES, PON, TAS ve Tiyol ölçümleri, hamilelikte sigara içen ebeveynlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Hamilelikte sigara annesi ve babası sigara içen çocukların MPO ölçüm değeri, hamilelikte sigara içilmeyen, sadece annesi içen ve sadece babası içen çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,013$; $p=0,011$; $p=0,011$; $p<0,05$).

Hamilelikte sigara annesi ve babası sigara içen çocukların TOS ölçüm değeri, hamilelikte sigara içilmeyen, sadece annesi içen ve sadece babası içen çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,021$; $p=0,004$; $p=0,048$; $p<0,05$). Hamilelikte ebeveynleri sigara içmeyen çocukların TOS ölçüm değeri, hamilelikte sadece annesi sigara içen çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,025$; $p<0,05$).

Olguların ARES ölçüm değerleri ile yaş, tartı Z skoru, boy Z skoru ve son 1 yıldaki atak sayısı ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); olguların ARES ölçümü ile sadece anne sütü alma süresi arasında negatif yönlü (anne sütü alma süresi arttıkça ARES değeri azalan) %31,6 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,316$; $p=0,017$; $p<0,05$). Aynı şekilde olguların ARES ölçümleri ile total anne sütü alma süresi arasında da negatif yönlü (total anne sütü alma süresi arttıkça ARES değeri azalan) %30,3 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,303$; $p=0,022$; $p<0,05$).

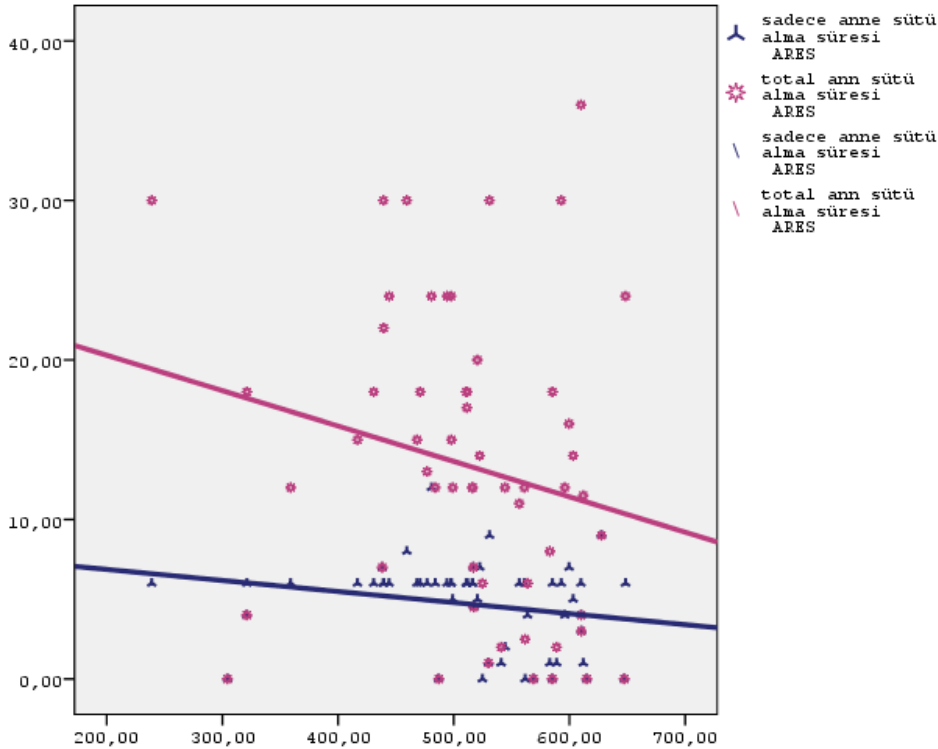
Olguların MPO ölçüm değerleri ile tartı Z skoru, boy Z skoru, sadece anne sütü alma süresi ve total anne sütü alma süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); olguların MPO ölçüm değerleri ile yaşları arasında negatif yönlü (yaş arttıkça MPO değeri azalan) %27,2 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,272$; $p=0,034$; $p<0,05$). Aynı şekilde olguların MPO ölçüm değerleri ile son 1 yıldaki atak sayıları arasında pozitif yönlü (atak sayısı arttıkça MPO değeri artan) %25,6 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=0,256$; $p=0,046$; $p<0,05$).

Olguların PON ölçüm değerleri ile yaş, tartı Z skoru, boy Z skoru, son 1 yıldaki atak sayısı, sadece anne sütü alma süresi ve total anne sütü alma süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Olguların TAS ölçüm değerleri ile tartı Z skoru, boy Z skoru, son 1 yıldaki atak sayısı, sadece anne sütü alma süresi ve total anne sütü alma süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); olguların TAS ölçüm değerleri ile yaş arasında pozitif yönlü (yaş arttıkça TAS değeri artan) %29,3 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=0,293$; $p=0,022$; $p<0,05$).

Olguların TOS ölçüm değerleri ile tartı Z skoru, boy Z skoru, sadece anne sütü alma süresi ve total anne sütü alma süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); olguların TOS ölçüm değerleri ile yaşları arasında negatif yönlü (yaş arttıkça TOS değeri azalan) %33,7 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,337$; $p=0,008$; $p<0,01$). Aynı şekilde olguların TOS ölçüm değerleri ile son 1 yıldaki atak sayıları arasında pozitif yönlü (atak sayısı arttıkça TOS değeri artan) %36,2 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=0,362$; $p=0,004$; $p<0,01$).

Olguların Thoil ölçüm değerleri ile tartı Z skoru, boy Z skoru, son 1 yıldaki atak sayısı, sadece anne sütü alma süresi ve total anne sütü alma süresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmazken ($p>0,05$); olguların Thoil ölçüm değerleri ile yaş arasında negatif yönlü (yaş arttıkça Thoil değeri azalan) %30,7 düzeyindeki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($r=-0,307$; $p=0,016$; $p<0,05$).



Şekil 10. Total Anne Sütü Alma Süresi ile ARES Arasındaki İlişkinin Dağılımı

5. TARTIŞMA

Akciğer dokuları ve özellikle hava yolu epiteli, ortam havasındaki oksidanlar ile doğrudan temas halindedir ve akciğer ve hava yollarında hasar ve iltihaplanmaya neden olabilecek reaktif oksijen türlerinin (ROS) etkisine duyarlıdır [81, 82]. Öte yandan, normal akciğerler ROS' un etkisini önlemek veya telafi etmek için etkili antioksidan mekanizmalara sahiptir [83].

Akciğerdeki oksidan/antioksidan dengesini kontrol eden mekanizmaların karmaşıklığı tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan çalışmalarda; akciğer ve hava yolundaki oksidatif stresin, oksidanların üretimi ve antioksidanların işlevsel durumu arasındaki dengesizlik sonucu oluştuğunu ve bu antioksidan mekanizmanın genetik olarak modüle edildiğini göstermiştir.

PIBO'lu hastalar genellikle kalıcı ve sıklıkla küçük hava yolu tıkanıklığı, alt solunum yolu inflamasyonu ve akciğer fonksiyonlarında belirgin azalmayla belirlenir. Bu enflamasyon sürecinde nötrofillerdeki granüllerden çeşitli enzimler ve sitokinler ortama salınır. MPO bu enzimlerden biridir. MPO, fagosite edilmiş bakterinin öldürülmesinde etkili olan NADPH bağımlı 'oksidatif burst' sisteminde kritik rol oynar [70]. Bu sistemde bir dizi enzimatik reaksiyon sonucu açığa çıkan reaktif oksijen radikalleri metabolik, yapısal ve fonksiyonel hasara neden olurlar. Belirli bir düzeye kadar olan oksidan molekül artışı vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilir. Tiyol molekülü, PON1 ve ARES enzimi, antioksidan olarak görev yaparlar. TAS, total antioksidan mekanizmasının bir göstergesi iken, TOS ise bir örnekte bulunan tüm oksidanların total miktarını gösteren bir parametredir. Literatürde çeşitli hastalık gruplarında, serum ve BAL sıvısında TAS, TOS, Tiyol, MPO, PON1 ve ARES düzeyleri ile ilgili yapılan çalışmalar bulunmaktadır.

Bu çalışmada, postenfeksiyöz BO' lu hasta grubunda TAS, TOS, Tiyol, PON1, MPO ve ARES serum düzeylerini kontrol grubuyla karşılaştırıldı. Çalışma grubunda; TAS, ARES, PON1 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Tiyol ve TOS düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. MPO düzeyi ise kontrol grubuna kıyasla düşük olarak saptandı.

PON1 enzimiyle ilgili literatürde yapılan çalışmalar daha çok LDL fosfolipidlerinin oksidasyonunu engelleme özelliği üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalarda PON1 enziminin

ateroskleroza karşı koruyucu rolü olduğu kanısına varılmıştır. Serum PON1 seviyesinin koroner arter hastalık (KAH) gelişme riski yüksek olan hastalarda, sağlıklı kişilere göre düşük bulunması bu görüşü desteklemiştir. Mackness ve arkadaşlarının çalışmasında, serum PON1 enziminin ateroskleroz sürecinin başlangıç evresinde LDL fosfolipidlerini oksidasyona karşı korumada önemli olduğu gösterilmiştir [84]. Literatürde, pediatrik popülasyonda PON1 enzim düzeyinin respiratuar hastalıklarla ilişkisini ortaya koyan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Daha önce bizim kliniğimizde çocuk yaşta hasta grubuyla yapılan bir çalışmada, pulmoner tüberkülozlu hastaların serum PON1 enzim düzeyleri kontrol grubuna kıyasla düşük saptanmıştır. Bu hasta grubunda düşük PON1 düzeyinin yüksek oksidatif stresin down regülasyonu sonucu ortaya çıkabileceği sonucuna varılmıştır. Aynı çalışmada TAS ve TOS düzeyleri de değerlendirilmiş ve TOS düzeyi kontrol grubuna göre yüksek ve TAS düzeyinin ise düşük olduğu saptanmış. Yüksek oksidatif stresin bir göstergesi olarak değerlendirilmiş [85]. Aynı şekilde kliniğimizde astımlı hasta grubunda serum TAS, TOS ve PON1 düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırılmış. TAS ve TOS değerleri kontrol grubuna göre yüksek, PON1 değeri ise düşük saptanmış [86]. Rumora ve ekibinin, KOAH tanısı almış olgularla yapmış olduğu bir çalışmada Tiyol, PON1 ve ARES düzeylerinde anlamlı düşüklük saptanmış olup, bir önceki çalışmada olduğu gibi bu düşüklük yüksek oksidatif stresin down regülasyonu sonucunda ortaya çıktığı kanısına varılmıştır [87]. KOAH ve astımlı hasta grubunda Acay ve ekibi tarafından yapılan çalışmada, PON1 ve ARES serum enzim düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla belirgin düşüklük saptanmıştır [88]. Golmonesh ve ekibinin yaptığı bir çalışmada ise astım, KOAH ve BE tanısı almış yetişkin hasta gruplarını, hastalık derecelerine göre, hafif, orta ve ağır olarak sınıflandırmış ve bu hastaların serum ve balgam sıvısında bakılan PON1 ve ARES enzim düzeyleri ile hastalığın ağırlık derecesi arasında olası bir ilişki araştırılmıştır. Hastalığın ağırlık derecesi arttıkça bahsi geçen enzimlerde istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalma kaydedilmiştir [89].

Sigara kullanımı ile PON1 aktivitesi arasındaki ilişkiyi araştıran pek çok çalışma, sigaranın PON1 aktivitesini azalttığını ve serum düzeyini düşürdüğünü göstermiştir [90-92]. Bizim kliniğimizde pasif sigara maruziyeti olan çocuk-adelosan ile kontrol grubu (pasif sigara maruziyeti olmayan) arasında yapılan çalışmada, TOS düzeyi kontrol grubuna göre düşük, PON1 düzeyi kontrol grubuna göre düşük, TAS düzeyinde ise bir değişiklik saptanmamıştır [92].

Bu çalışmamızda, postenfeksiyöz BO'lu hastalarda serum PON1 ve ARES enzim değerleri kontrol grubundaki olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Normalde bu

enzimin kronik enflamasyonda zararlı oksidanların etkisini ortadan kaldırmak için karaciğer tarafından yüksek oranlarda üretilmesi, kana salınması, doku düzeyinde ya da sistemik olarak etki ederek serbest radikalleri parçalamak için kullanılması gerektiği düşünülebilir. Bu enzimlerin kan düzeylerinin normal hastalara göre PIBO tanısı almış hasta gruplarında belirgin derecede yüksek olması PIBO'da sürekli devam eden bir enflamasyona sekonder bu enzimlerin yapımının artması ile açıklanabilir. Bu enzimlerin yüksek oranda üretilip kana salındığı halde antioksidan mekanizmadaki bozukluk durumlarında da yeterince kullanılmadığı ve kanda yüksek seviyelere ulaştıkları da diğer bir patolojik mekanizma olarak düşünülebilir. Konu ile ilgili çalışmamız ilk çalışma niteliğini taşıdığından, daha geniş kapsamlı, ayrıca hastalığın evresine göre ve hem serum hem doku örneklerinden çalışılarak yapılacak daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada değerlendirilen diğer bir parametre ise vücudun savunma sisteminde önemli rol oynayan MPO enzimidir. Literatürde yapılan çalışmalarda MPO'nun genetik eksikliğinde tekrarlayan enfeksiyonlar görülür ve bu kişilerde nötrofillerin zayıf bakterisit kabiliyetleri olduğu görülmüştür. Bu kişilerde uzamış havayolu reaktivitesi tespit edilmiş, bu nedenle MPO hidrojen peroksit-CI sisteminin bu havayolu hiperaktivitesinin sonlandırılmasında rolü olduğu düşünülmektedir. MPO inflamatuvar cevapta down regülasyonu sağlamaktadır. Literatürde MPO enzim eksikliği tanısı konan vakalarda yapılan çalışmalar mevcuttur. Total ve subtotal MPO enzim eksikliği saptanan hasta grubuyla yapılan bir çalışmada kardiyovasküler hasarın ve ciddi enfeksiyonların MPO enzim düzeyi düşük grupta daha yüksek olduğu gösterilmiştir [93]. Japonya'da deney hayvanlarında yapılan bir in vivo çalışmada, genetik olarak MPO enzim aktivitesi azaltılmıştır. Bu deney hayvanlarında intratrakeal *Candida albicans* enfeksiyonunu takiben pnömoni ve ölüme duyarlılığın arttığı gösterilmiştir [94]. İdiyopatik pulmoner fibrozis, pnömoni, BE gibi tanılarla takip edilen yetişkin grupta yapılan bir çalışmada ise BE tanısı almış hastalarda BAL sıvısında MPO düzeyi anlamlı yüksek bulunmuştur. BAL sıvısında *Pseudomonas* üremesi saptanan BE'li hasta grubunda nötrofil sayıları diğer gruba oranla yüksek saptanmıştır. Kronik *pseudomonas* enfeksiyonunun BE'li hastalarda ciddi nötrofil toksisitesine neden olacağı ve akciğer harabiyetinden sorumlu tutulabileceğinden bahsedilmiştir [95]. Louis ve ekibi balgamda nötrofilinin ve yüksek MPO düzeyinin daha çok ağır astım hasta grubunun özelliği olduğunu göstermişlerdir [96]. Alp ve arkadaşlarının astımlı çocuklarda yaptığı bir çalışmada, stabil ve atak dönemlerinde serum MPO düzeyi kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuş olup serum MPO düzeyinin astımda hava yolu enflamasyonunun önemli bir belirteci olarak

kullanılabileceği kanısına varılmıştır [97]. Riise ve arkadaşları, akciğer transplantasyonu sonrası BO'lu hastalarda, kontrol grubuna göre BAL sıvısında nötrofilden salınan oksidan enzim olarak artmış ve ayrıca askorbik asit, urat, indirgenmiş glutatyon gibi solunum yolu antioksidanlarının ise azalmış olduğunu saptamışlar. Bu sonucu akciğer transplantasyonu sonrası BO hastalarında oksidatif stresin arttığı şeklinde yorumlamışlardır [98].

Bizim yaptığımız bu çalışmada, PIBO tanısı almış hasta grubunda MPO düzeyi kontrol grubuna göre belirgin derecede düşük bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalarda serum MPO düzeyinin yüksekliğinin enflamasyonun fazla olduğunu ve bu hastalarda enflamasyon derecesinin değerlendirilmesinde bir belirteç olarak kullanılabileceği yönündedir. Hastalıkların oluşumuna bakıldığında ise MPO enzim düzeyinin düşüklüğü nötrofillerin iyi yıkılamadığına ve bundan dolayı kronik enfeksiyonun devam ettiğine ve böylece PIBO gelişimine neden olabileceği düşünülebilir. Konu ile ilgili daha geniş kapsamlı karşılaştırmalı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamızda TOS düzeyleri iki grup arasında farklı bulunmamıştır. Normalde oksidatif stresin yüksek bulunması hastalıkların akut dönemlerinde doku yıkımı etkisi gösterirken, ilerleyen dönemde ise bu düzeylerin antioksidan sistem tarafından normale döndürülmüş olabileceği şeklinde açıklanabilir. Ayrıca oksidatif stres faktörlerinin yüksekliği serum yerine doku düzeyinde de farklılık gösterebilir. Tüm bunlar birleştirildiğinde BO da hastalığın akut ve kronik evrelerinde ayrı ayrı, ayrıca hem doku (BAL_ balgam örnekleri gibi) hem de serum örneklerinin karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Çalışmamız post enfeksiyöz BO'da oksidatif stres ve antioksidan sistemin durumu ile ilgili literatürdeki ilk çalışma özelliğinde olup daha sonraki çalışmalara ışık tutabilecek özellikte bir çalışmadır.

Çalışmamızın eksiklikleri; birincisi çalışma retrospektif yapıldığından serum örneklerinin alındığı esnada hastaların bir kısmı hastalığın akut dönemindeyken bir kısmı ise kronik dönemde olabilmiştir. Bu yüzden sonuçlar değişkenlik göstermiş olabilir. İdeali hastalığın teşhis anında, akut dönem geçtikten sonra tekrarlanarak birbirleri ile kıyaslanması uygun olabilir. İkincisi hastaların almakta oldukları tedaviler çalışmamızda belirtilmemiştir. Tedavilere göre karşılaştırılmalı alt analizler tekrar yapılmalıdır. Üçüncüsü ise çalışmamız hastalığın etkilediği balgam, BAL gibi akciğer doku örneklerinde değil serum düzeyinde yapılmıştır. Akciğer örnekleri ve serumun karşılaştırılması ile yeni yorumlar yapılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Koh, Y.Y., et al., *Bronchoalveolar cellularity and interleukin-8 levels in measles bronchiolitis obliterans*. CHEST Journal, 2007. **131**(5): p. 1454-1460.
2. Ghiselli, A., et al., *Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data*. Free Radical Biology and Medicine, 2000. **29**(11): p. 1106-1114.
3. Erel, O., *A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status*. Clinical biochemistry, 2005. **38**(12): p. 1103-1111.
4. Chianeh, Y.R. and K. Prabhu, *Protein Thiols as an Indication of Oxidative Stress*. Archives Medical Review Journal, 2014. **23**(3): p. 443-456.
5. Sharda, B., *Free radicals: emerging challenge in environmental health research in childhood and neonatal disorders*. International journal of environmental research and public health, 2006. **3**(3): p. 286-291.
6. Dundaroz, R., et al., *Oxidative and antioxidative status of children with acute bronchiolitis*. Jornal de Pediatria (Versão em Português), 2013. **89**(4): p. 407-411.
7. Yildiz, A., et al., *Paraoxonase and arylesterase activities in untreated dipper and non-dipper hypertensive patients*. Clinical biochemistry, 2008. **41**(10): p. 779-784.
8. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *The antioxidants of human extracellular fluids*. Archives of biochemistry and biophysics, 1990. **280**(1): p. 1-8.
9. Terzioğlu M, Y.G., Oruç T. , *Fizyoloji Ders Kitabı 2. Baskı*. . 1993, İstanbul: İÜ. Basımevi ve Film Merkezi.
10. Koller, D.Y., *Sampling methods. Urine/blood analysis*. . Am J Respir Crit Care Med 2000. **162**: p. 31-33.
11. Kröncke KD, F.K., Kolb-Bachofen V, *Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection-how, why, when, and where?* . Nitric Oxide 1997(1): p. 107-20.

12. Draganov, D.I., et al., *Human paraoxonases (PON1, PON2, and PON3) are lactonases with overlapping and distinct substrate specificities*. Journal of Lipid Research, 2005. **46**(6): p. 1239-1247.
13. Costa, L.G., et al., *Modulation of paraoxonase (PON1) activity*. Biochemical pharmacology, 2005. **69**(4): p. 541-550.
14. Baum, L., et al., *Paraoxonase 1 gene Q192R polymorphism affects stroke and myocardial infarction risk*. Clinical biochemistry, 2006. **39**(3): p. 191-195.
15. Colom, A.J. and A.M. Teper, *Bronquiolitis obliterante posinfecciosa*. Archivos argentinos de pediatría, 2009. **107**(2): p. 160-167.
16. Sa Lobo, A.L., et al., *Pos-infectious bronchiolitis obliterans in children*. Revista Portuguesa de Pneumologia (English Edition), 2007. **13**(4): p. 495-509.
17. Myers, J.L. and T.V. Colby, *Pathologic manifestations of bronchiolitis, constrictive bronchiolitis, cryptogenic organizing pneumonia, and diffuse panbronchiolitis*. Clinics in chest medicine, 1993. **14**(4): p. 611-622.
18. Smith, K. and L. Fan, *Insights into post-infectious bronchiolitis obliterans in children*. 2006, BMJ Publishing Group Ltd and British Thoracic Society.
19. Nicod, L.P., *Mechanisms of airway obliteration after lung transplantation*. Proceedings of the American Thoracic Society, 2006. **3**(5): p. 444-449.
20. Kurland, G. and P. Michelson, *Bronchiolitis obliterans in children*. Pediatr Pulmonol, 2005. **39**(3): p. 193-208.
21. Yu, J., *Postinfectious bronchiolitis obliterans in children: lessons from bronchiolitis obliterans after lung transplantation and hematopoietic stem cell transplantation*. Korean J Pediatr, 2015. **58**(12): p. 459-65.
22. Mauad, T. and M. Dolhnikoff, *Histology of childhood bronchiolitis obliterans*. Pediatric pulmonology, 2002. **33**(6): p. 466-474.
23. Devouassoux, G., et al., *Alveolar neutrophilia is a predictor for the bronchiolitis obliterans syndrome, and increases with degree of severity*. Transplant immunology, 2002. **10**(4): p. 303-310.

24. Nelsestuen, G.L., et al., *Proteomic identification of human neutrophil alpha-defensins in chronic lung allograft rejection*. *Proteomics*, 2005. **5**(6): p. 1705-1713.
25. Hübner, R., et al., *Matrix metalloproteinase-9 in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation*. *European Respiratory Journal*, 2005. **25**(3): p. 494-501.
26. Kennedy, V.E., J.L. Todd, and S.M. Palmer, *Bronchoalveolar lavage as a tool to predict, diagnose and understand bronchiolitis obliterans syndrome*. *American Journal of Transplantation*, 2013. **13**(3): p. 552-561.
27. Ditschkowski, M., et al., *T-cell depletion prevents from bronchiolitis obliterans and bronchiolitis obliterans with organizing pneumonia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with related donors*. *Haematologica*, 2007. **92**(4): p. 558-61.
28. Burlingham, W.J., et al., *IL-17-dependent cellular immunity to collagen type V predisposes to obliterative bronchiolitis in human lung transplants*. *The Journal of clinical investigation*, 2007. **117**(11): p. 3498-3506.
29. Nakagiri, T., et al., *Local IL-17 production and a decrease in peripheral blood regulatory T cells in an animal model of bronchiolitis obliterans*. *Transplantation*, 2010. **89**(11): p. 1312-1319.
30. Kim, C.K., et al., *Bronchiolitis obliterans in the 1990s in Korea and the United States*. *CHEST Journal*, 2001. **120**(4): p. 1101-1106.
31. Colom, A.J., et al., *Risk factors for the development of bronchiolitis obliterans in children with bronchiolitis*. *Thorax*, 2006. **61**(6): p. 503-506.
32. Kajon, A.E., et al., *Genome type analysis of Chilean adenovirus strains isolated in a children's hospital between 1988 and 1990*. *Journal of medical virology*, 1994. **42**(1): p. 16-21.
33. Murtagh, P., et al., *Lower respiratory infections by adenovirus in children. Clinical features and risk factors for bronchiolitis obliterans and mortality*. *Pediatric pulmonology*, 2009. **44**(5): p. 450-456.

34. Castro-Rodriguez, J.A., et al., *Adenovirus pneumonia in infants and factors for developing bronchiolitis obliterans: A 5-year follow-up*. *Pediatric pulmonology*, 2006. **41**(10): p. 947-953.
35. Fischer, G.B., A. Teper, and A.J. Colom, *Acute viral bronchiolitis and its sequelae in developing countries*. *Paediatric respiratory reviews*, 2002. **3**(4): p. 298-302.
36. Au, B.K., M.A. Au, and J.W. Chien, *Bronchiolitis obliterans syndrome epidemiology after allogeneic hematopoietic cell transplantation*. *Biology of blood and marrow transplantation*, 2011. **17**(7): p. 1072-1078.
37. Zhang, L., et al., *Clinical course of postinfectious bronchiolitis obliterans*. *Pediatric pulmonology*, 2000. **29**(5): p. 341-350.
38. Yalçın, E., et al., *Postinfectious bronchiolitis obliterans in children: clinical and radiological profile and prognostic factors*. *Respiration*, 2003. **70**(4): p. 371-375.
39. Ditschkowski, M., et al., *Bronchiolitis obliterans after allogeneic hematopoietic SCT: further insight—new perspectives?* *Bone marrow transplantation*, 2013. **48**(9): p. 1224-1229.
40. Nakaseko, C., et al., *Incidence, risk factors and outcomes of bronchiolitis obliterans after allogeneic stem cell transplantation*. *International journal of hematology*, 2011. **93**(3): p. 375.
41. Dipchand, A.I., et al., *The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: seventeenth official pediatric heart transplantation report--2014; focus theme: retransplantation*. *The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation*, 2014. **33**(10): p. 985.
42. Chan, P., R. Muridan, and J. Debruyne, *Bronchiolitis obliterans in children: clinical profile and diagnosis*. *Respirology*, 2000. **5**(4): p. 369-375.
43. Fischer, G.B., et al., *Post infectious bronchiolitis obliterans in children*. *Paediatr Respir Rev*, 2010. **11**(4): p. 233-9.

44. Díaz, P.V., et al., *Differential effects of respiratory syncytial virus and adenovirus on mononuclear cell cytokine responses*. American journal of respiratory and critical care medicine, 1999. **160**(4): p. 1157-1164.
45. Colom, A.J. and A.M. Teper, *Clinical prediction rule to diagnose post-infectious bronchiolitis obliterans in children*. Pediatric pulmonology, 2009. **44**(11): p. 1065-1069.
46. Chang, A.B., J.P. Masel, and B. Masters, *Post-infectious bronchiolitis obliterans: clinical, radiological and pulmonary function sequelae*. Pediatric radiology, 1998. **28**(1): p. 23-29.
47. Yüksel, H., et al., *Clinical significance of lung perfusion defects in children with post-infectious bronchiolitis obliterans*. Tuberk Toraks, 2009. **57**(4): p. 376-382.
48. Brody, A.S., *Computed tomography of pediatric small airways disease*, in *CT of the Airways*. 2008, Springer. p. 381-404.
49. Cotes, J.E., D.J. Chinn, and M.R. Miller, *Lung function: physiology, measurement and application in medicine*. 2009: John Wiley & Sons.
50. Mattiello, R., et al., *Pulmonary function in children and adolescents with postinfectious bronchiolitis obliterans*. Jornal Brasileiro De Pneumologia, 2010. **36**(4): p. 453-459.
51. Cazzato, S., et al., *Airway inflammation and lung function decline in childhood post-infectious bronchiolitis obliterans*. Pediatric pulmonology, 2008. **43**(4): p. 381-390.
52. Santos, R.V.d., N.A. Rosário, and C.A. Ried, *Post-infectious bronchiolitis obliterans: Clinical aspects and complementary testing of 48 children*. Jornal Brasileiro de Pneumologia, 2004. **30**(1): p. 20-25.
53. Palange, P., et al., *Recommendations on the use of exercise testing in clinical practice*. European Respiratory Journal, 2007. **29**(1): p. 185-209.
54. Chiu, C.Y., et al., *Bronchiolitis obliterans in children: Clinical presentation, therapy and long-term follow-up*. Journal of paediatrics and child health, 2008. **44**(3): p. 129-133.

55. VEGA-BRICEÑO, L.E. and D. ZENTENO, *Clinical guide for diagnosis and care of children and adolescents with post-infectious bronchiolitis obliterans*, 2009. *Revista chilena de enfermedades respiratorias*, 2009. **25**(3): p. 141-163.
56. Mocelin, H., et al., *Long-term clinical and functional assessment of children with post-infectious bronchiolitis obliterans*. *Rev Chil Pediatr*, 2004. **75**: p. 12-7.
57. Bosa, V.L., et al., *Assessment of nutritional status in children and adolescents with post-infectious bronchiolitis obliterans*. *Jornal de pediatria*, 2008. **84**(4): p. 323-330.
58. Spencer, L., J. Alison, and Z. McKeough, *Maintaining benefits following pulmonary rehabilitation: a randomised controlled trial*. *European Respiratory Journal*, 2010. **35**(3): p. 571-577.
59. Halliwell, B., *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease*. *The American journal of medicine*, 1991. **91**(3): p. S14-S22.
60. Packer, L., E.H. Witt, and H.J. Tritschler, *Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant*. *Free Radical Biology and Medicine*, 1995. **19**(2): p. 227-250.
61. MacNee, W., *Oxidative stress and chronic obstructive pulmonary disease*. *European Respiratory monograph*, 2006. **38**: p. 100.
62. von Haehling, S. and S.D. Anker, *Cachexia as a major underestimated and unmet medical need: facts and numbers*. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 2010. **1**(1): p. 1-5.
63. Re, R., et al., *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. *Free radical biology and medicine*, 1999. **26**(9): p. 1231-1237.
64. Erel, O., *A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation*. *Clinical biochemistry*, 2004. **37**(4): p. 277-285.
65. Kosecik, M., et al., *Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking*. *International journal of cardiology*, 2005. **100**(1): p. 61-64.

66. Chianeh, Y.R. and K. Prabhu, *Oksidatif Stresin Bir Göstergesi Olarak Protein Thioller*. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 2014. **23**(3).
67. Hu, M.-L., et al., *Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma*. Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 1993. **121**(2): p. 257-262.
68. Ganong, W.F., *Circulating body fluids in Rewiev of Medical Physiology (19th ed)*. 1999, Appleton and Lange, Simon and Schuster Comp: Connecticut. p. 493-508.
69. Koller, D.Y., *Sampling methods: urine/blood analysis*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2000. **162**(supplement_1): p. S31-S33.
70. Kröncke, K.-D., K. Fehsel, and V. Kolb-Bachofen, *Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection—how, why, when, and where?* Nitric oxide, 1997. **1**(2): p. 107-120.
71. Arnold, R.S., et al., *Hydrogen peroxide mediates the cell growth and transformation caused by the mitogenic oxidase Nox1*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001. **98**(10): p. 5550-5555.
72. Lacinski, M., et al., *OF THE PARAOXONASE-1 (PON1) PROTEIN IN HUMANS*. Cellular and molecular biology, 2004. **50**(8): p. 885-893.
73. Devarajan, A., et al., *Paraoxonase 2 deficiency alters mitochondrial function and exacerbates the development of atherosclerosis*. Antioxidants & redox signaling, 2011. **14**(3): p. 341-351.
74. Zhang, C., et al., *Studies on protective effects of human paraoxonases 1 and 3 on atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice*. Gene therapy, 2010. **17**(5): p. 626-633.
75. Ayub, A., et al., *Serum paraoxonase after myocardial infarction*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 1999. **19**(2): p. 330-335.
76. Mackness, M.I., et al., *Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus*. Atherosclerosis, 1991. **86**(2-3): p. 193-199.

77. Champs, N.d.S., et al., *Post-infectious bronchiolitis obliterans in children*. *Jornal de pediatria*, 2011. **87**(3): p. 187-198.
78. Eckerson, H.W., C.M. Wyte, and B. La Du, *The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism*. *American journal of human genetics*, 1983. **35**(6): p. 1126.
79. *Worthing Enzyme Manual* 1972, New Jersey, USA
Worthington Biochemical Corporation Freehold.
80. Eckerson, H.W., et al., *The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts*. *American journal of human genetics*, 1983. **35**(2): p. 214.
81. Ciencewicki, J., S. Trivedi, and S.R. Kleeberger, *Oxidants and the pathogenesis of lung diseases*. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2008. **122**(3): p. 456-468.
82. MacNee, W., *Oxidative stress and lung inflammation in airways disease*. *European journal of pharmacology*, 2001. **429**(1): p. 195-207.
83. El-Chemaly, S., et al., *Hydrogen peroxide–scavenging properties of normal human airway secretions*. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2003. **167**(3): p. 425-430.
84. Mackness, M.I., S. Arrol, and P.N. Durrington, *Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein*. *FEBS letters*, 1991. **286**(1-2): p. 152-154.
85. Torun, E., et al., *Serum paraoxonase I activity and oxidative stress in pediatric patients with pulmonary tuberculosis*. *Medical Principles and Practice*, 2014. **23**(5): p. 426-431.
86. Emin, O., A. Hasan, and D. Rusen, *Plasma paraoxonase, oxidative status level, and their relationship with asthma control test in children with asthma*. *Allergologia et immunopathologia*, 2015. **43**(4): p. 346-352.

87. Rumora, L., et al., *Paraoxonase 1 activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease*. COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, 2014. **11**(5): p. 539-545.
88. Acay, A., et al., *Evaluation of serum paraoxonase and arylesterase activities in subjects with asthma and chronic obstructive lung disease*. Clin Lab, 2013. **59**(11-12): p. 1331-7.
89. Golmanesh, L., et al., *Assessing the relationship of paraoxonase-1 Q192R polymorphisms and the severity of lung disease in SM-exposed patients*. Immunopharmacology and immunotoxicology, 2013. **35**(3): p. 419-425.
90. Haj, M.D., et al. *Paraoxonase 1 (PON1) activity and lipid parameters in Tunisian smokers*. in *Annales de biologie clinique*. 2009.
91. Sentí, M., et al., *Interrelationship of smoking, paraoxonase activity, and leisure time physical activity: a population-based study*. European journal of internal medicine, 2003. **14**(3): p. 178-184.
92. James, R.W., I. Leviev, and A. Righetti, *Smoking is associated with reduced serum paraoxonase activity and concentration in patients with coronary artery disease*. Circulation, 2000. **101**(19): p. 2252-2257.
93. Kutter, D., et al., *Consequences of total and subtotal myeloperoxidase deficiency: risk or benefit?* Acta haematologica, 2000. **104**(1): p. 10-15.
94. Homme, M., et al., *Myeloperoxidase deficiency in mice exacerbates lung inflammation induced by nonviable Candida albicans*. Inflammation Research, 2013. **62**(11): p. 981-990.
95. Schaaf, B., et al., *Neutrophil inflammation and activation in bronchiectasis: comparison with pneumonia and idiopathic pulmonary fibrosis*. Respiration, 2000. **67**(1): p. 52-59.
96. Louis, R., et al., *The relationship between airways inflammation and asthma severity*. American journal of respiratory and critical care medicine, 2000. **161**(1): p. 9-16.

97. Alp, A.T., et al., *Astımlı çocuklarda serum miyeloperoksidaz düzeyleri*. İZMİR ÜNİVERSİTESİ TIP DERGİSİ, 2013(1): p. 1-7.
98. Riise, G.C., et al., *Bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients is associated with increased neutrophil activity and decreased antioxidant status in the lung*. European Respiratory Journal, 1998. **12**(1): p. 82-88.

