

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SOLUNUM CİHAZINA BAĞLI
PNÖMONİLİ HASTALARDA SOLUK HAVASINDAKİ
NİTRİK OKSİT VE HİDROJEN PEROKSİTİN
TANISAL DEĞERLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Amine AKTAR
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ünsal ÖZGEN**

MALATYA – 2006

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**SOLUNUM CİHAZINA BAĞLI
PNÖMONİLİ HASTALARDA SOLUK HAVASINDAKİ
NİTRİK OKSİT VE HİDROJEN PEROKSİTİN
TANISAL DEĞERLERİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Amine AKTAR
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Ünsal ÖZGEN**

Bu tez İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2005-12 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Serbest Oksijen Radikalleri.....	3
2.1.1.Tanım	
2.1.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları	
2.1.2.1. Serbest Radikal Üretimine Katkıda Bulunan İç Kaynaklar	
2.1.2.1.1. Mitokondriyal elektron taşıma (MET) zinciri tepkimeleri	
2.1.2.1.2. Oksijenaz enzimlerinin tepkimeleri	
2.1.2.1.3. Hücre İçi Bakteri İmhası Esnasında Gelişen Oksijen Tepkimesi	
2.1.2.2. Serbest Radikal Oluşturan Dış Nedenler	
2.1.2.2.1. Radyasyon	
2.1.2.2.2. Ksenobiyotikler	
2.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları	
2.1.3.1 Membran Lipidleri Üzerine Etkileri	
2.1.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri	
2.1.3.3. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri	

- 2.1.3.4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri
- 2.1.4. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları
 - 2.1.4.1. Enzimatik Yapıda Olanlar
 - 2.1.4.1.1. Sitokrom Oksidaz
 - 2.1.4.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)
 - 2.1.4.1.3. Katalaz
 - 2.1.4.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)
 - 2.1.4.1.5. Glutasyon Transferaz
 - 2.1.4.2. Enzimatik Yapıda Olmayanlar
 - 2.1.4.2.1. Askorbik Asit (C vitamini)
 - 2.1.4.2.2. Glutasyon
 - 2.1.4.2.3. E vitamini
 - 2.1.4.2.4. Melatonin
 - 2.1.4.3. Diğer Antioksidanlar
- 2.1.5. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)
- 2.1.6. Nitrik Oksit (NO)
 - 2.1.6.1. Nitrik Oksit Yapısı ve Kimyasal Özellikleri
 - 2.1.6.2. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması
 - 2.1.6.3. Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri
 - 2.1.6.3.1. Yapısal NOS (cNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit
 - 2.1.6.3.1.1. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit

2.1.6.3.1.2. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit	
2.1.6.3.2.Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)	
2.2. Akciğer Hastalıklarında Soluk Havaındaki Enflamasyon Göstergeleri.....	16
2.2.1. Bronşektazi	
2.2.2. Kistik Fibrozis	
2.2.3. Bronkopulmoner Displazi (BPD)	
2.2.4. Astım	
2.2.5. Pnömoni	
2.2.6. Adult/Akut Solunum Yetersizliği Sendromu (ARDS)	
2.2.7. Solunum Cihazı İlişkili Pnömoni	
2.3. Solunum Sisteminde Nitrik Oksit	
2.4. Nitrik Oksitin Klinik Önemi	
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	44
7. ÖZET.....	45
8. SUMMARY.....	47
9. KAYNAKLAR.....	49

TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Tablo 1: Reaktif oksijen ve azot metabolitleri.....	4
Tablo 2: Antioksidanlar.....	9
Şekil 1: H ₂ O ₂ oluşum mekanizması.....	10
Şekil 2: NO oluşum mekanizması.....	11
Tablo 3: Nitrik oksitin başlıca fonksiyonları.....	13
Tablo-4: Nitrik oksit sentazın zellikleri.....	15
Tablo-5: NOS'ların hücresel dağılımları.....	15
Tablo-6: ARDS tanı ltleri.....	21
Şekil-3:Hastane kökenli pnömoninin gelişim mekanizması.....	23
Tablo-7: Soluk havasında nitrik oksiti etkileyen faktörler.....	26
Tablo-8: Klinik pulmoner enfeksiyon puanlamasının hesaplanması.....	28
Şekil-4: Soluk hava yoğunlaştırıcısının Şematik görüntüsü.....	29
Tablo-9:Hidrojen peroksit analizi.....	31
Şekil-5: Hasta grubun cinsiyet yüzdesi.....	33
Şekil-6: Kontrol grubu cinsiyet yüzdesi.....	33
Tablo-10: Pnömoni grubu verileri.....	34
Tablo-11: Kontrol grubu verileri.....	35
Tablo-12:Kontrol ve pnömoni grubunun fizik muayene ve laboratuvar bulguları.....	36
Şekil-7:Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün CRP değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Şekil-8:Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün NO değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Şekil-9: Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün H ₂ O ₂ değerlerinin karşılaştırılması.....	38
Tablo-13: Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün enflamatuvar parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	39
Tablo-14: Pnömonili hastaların 0 ve 3. gün enflamatuvar parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması.....	39

KISALTMALAR DİZİNİ

ALI	Akut akciğer hasarı
ARDS	Akut respiratuvar distres sendromu
BH4	Tetra hidrobiopterin
BIPAP	Bilevel Positive Airway Pressure
BPD	Bronkopulmoner displazi
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktörü
eNOS	endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HNE	Hidroksinonenal
İNANC	İnhibitör nonadrenerjik nonkolinerjik
iNOS	Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
MET	Mitokondriyal elektron taşıma
MDA	Malondialdehit
NANC	Adrenerjik kolinerjik olmayan sinir hücreleri

NaOH	Sodyumhidroksit
nNOS	nöronal Nitrik Oksit Sentaz
NO	Nitrik oksit
NO ₂	Nitrit
NO ₃	Nitrat
PDA	Patent duktus arteriyosus
PUFA	Çoklu doymamış yağ asidi
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
SIMV	Synchronised İntermittent Mandatory Ventilation
SIPPV	Synchronised İntermittent Positive Pressure Ventilation
SOR	Serbest oksijen radikalleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TXA ₂	Tromboksan A ₂
VIP	Ventilatör ilintili pnömoni
ZnSO ₄	Çinkosülfat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest oksijen radikalleri (SOR) ve nitrik oksit (NO) diğer organlar da olduğu gibi akciğer hastalıklarının gelişim mekanizmasında önemli rol oynar. Bununla birlikte bu belirteçlerin kandaki tespiti çok güvenilir değildir. Bu nedenle enflamasyonu olan hastalarda, iltihabi tepkime derecesini izlemek amacıyla soluk havasının yoğunlaştırılarak ‘breath condensation’ incelenmesi yoluna gidilmiştir. Bu yöntem, akciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında, hastalığın ciddiyeti veya şiddeti ve tedaviye cevabının değerlendirilmesinde kolay uygulanabilirliği nedeniyle tercih edilmektedir (1, 2). Metabolitlerin soluk havasında belirlenmesi ile, akciğer hastalığının fizyopatolojisinin anlaşılması ve tanıda fayda sağlayacağı umulmaktadır (3).

Akciğer hastalıklarında artan akciğer stresi ile reaktif oksijen radikallerinin ve nitrik oksitin artımı pek çok çalışmada gösterilmiştir (3-5) . Bu zamana kadar özellikle astım (6, 7), kistik fibrozis (5-7), kronik obliteratif bronşitli (6, 8, 9) ayaktan takip edilen hastalarda soluk hava yoğunlaştırıcıya doğrudan solutularak örnekler toplanmak suretiyle pek çok çalışma yapılmıştır. Henüz rutine girmemiş olsa da hastaların rutin takibinde, NO (3-6, 8, 10), hidrojen peroksit (1-4, 6) gibi parametrelerin takipte kullanımı gündemdedir.

Solunum cihazına bağlı hastalarda soluk havasında yoğunlaştırma yönteminin kullanılabilirliği gösterilmiş olmakla birlikte (1, 2) klinik ve fizyopatolojik amaçlı yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bugüne kadar mekanik solunum ihtiyacı gösteren çocuk hastalarda soluk hava yoğunlaştırıcı ile enflamatuvar araçların ölçümüne dair çalışmalar çok azdır.

Bu çalışmada rneklemeı kolay ve hastaya herhangi bir risk taşımayan soluk havası yoğunlaştırma yöntemiyle enflamatuvar parametreleri ölçmeyi amaçladık. Bu suretle solunum cihazına bağlı hastalarda soluk havasında; NO ve hidrojen peroksitein özellikle solunum cihazı ilintili pnömoninin erken tanısında kullanılabilirliğini göstermeyi amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Serbest Oksijen Radikalleri

2.1.1.Tanım

Canlı organizmaları oluşturan moleküllerin ve besin kaynağı olan maddelerin yapısındaki ana element oksijendir. Her canlının yapısındaki, her 100 atomdan 25'i oksijen atomudur (11).

Oksijen, aerop canlıların mitokondriyal elektron taşıma zincirinde son elektron alıcısı olarak çalıştığı için hayati öneme sahiptir. Bu işlemi yaparken oksijen, metabolik aktivitesi sırasında ileri derecede reaktif olan serbest oksijen radikallerinin (SOR) oluşmasına neden olur (12). Serbest oksijen radikalleri, son yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Son derece kararsız yapıda olan serbest radikallerin yarılanma süreleri çok kısadır. Reaktif olduklarından dolayı çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırarak onlardan elektron almaya çalışırlar (13, 14).

Vücutta belli oranda üretilen serbest oksijen radikalleri, fizyolojik şartlarda çeşitli yollarla temizlenerek metabolizma kontrol altında tutulmaktadır. Ancak radikal üretiminde artma olduğu zaman veya radikallerin ortadan kaldırılmalarında bir sorun olduğu zaman radikallerin toksik etkileri ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller tüm organ ve dokuları ilgilendiren patolojilerde rol almaktadır.

Bunlar;

- 1) İltihap (11),
- 2) Kanser gelişimi (12),
- 3) İskemi ve reperfüzyon hasarı (15),
- 4) Yaşlanma (12,16),
- 5) Ateroskleroz (12),
- 6) Diyabet (11,12),
- 7) İlaç ve yabancı bileşiklerin neden olduğu toksisite (16).

Tablo-1:Reaktif oksijen ve azot metabolitleri

	Oksijen metabolitleri	Azot Metabolitleri
Radikaller	Süperoksit radikali (O_2^-) Hidroksil radikali (OH^-) Peroksil radikali (LOO^\cdot) Hidroperoksil radikali ($H O_2^-$)	Nitrik oksit (NO) Nitrojen dioksit (NO_2)
Radikal	Ozon (O_3)	Nitröz asit (HNO_2)
Olmayanlar	Singlet oksijen ($^1\Delta gO_2$) Hidrojen peroksit (H_2O_2) Hipokloröz asit (HOCl)	Nitrozil katyon (NO^+) Nitrozil anyon (NO^-) Peroksinitrit ($ONOO^-$)

2.1.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Kaynakları

Serbest oksijen radikalleri, normal biyolojik süreçte sırasında üretilebileceği gibi, iyonizan radyasyon, ilaç metabolizması, mikroorganizmalara karşı savunma, organizmaya yabancı bazı maddelerin metabolize edilmesi durumlarında oluşabilir. Serbest radikaller iç ve dış kaynaklı olmak üzere ikiye ayrılır.

2.1.2.1. Serbest Radikal Üretimine Katkıda Bulunan İç Kaynaklar

2.1.2.1.1. Mitokondriyal elektron taşıma (MET) zinciri tepkimeleri

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri; ağırlıklı olarak mitokondri iç zarında gerçekleşir. Bu zarın yapısında, oksijenli indirgenme yapabilen bir seri elektron taşıyıcı solunum zinciri molekülü bulunmaktadır. Bir zincir üzerinde bulunan taşıyıcılar önce elektron alarak indirgenir, sonra da bu elektronları yanındaki moleküle vererek tekrar oksitlenir ve en sonunda elektronlar moleküler oksijene aktarılarak H₂O'ya indirgenir. Bu elektron taşınması sırasında serbest radikal yapısında ara ürünler meydana gelir. İskemi, kanama, travma, zehirlenmeler, radyasyon ve alerjik durumlarda elektron taşınması etkilenir ve serbest radikallerin düzeyi artar (17).

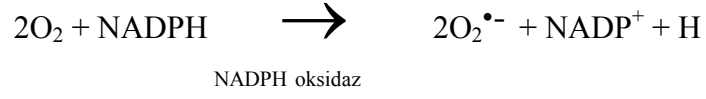
2.1.2.1.2. Oksijenaz enzimlerinin tepkimeleri

Oksijenazlar, sadece hücreye enerji temin eden tepkimelerde yer almayıp birçok değişik alt ürünün sentez ve yıkımından da sorumludur. Bu sistemler aynı zamanda hidrojen peroksit kaynakları olarak değerlendirilirler.

2.1.2.1.3. Hücre İçi Bakteri İmhası Esnasında Gelişen Oksijen Tepkimesi

Serbest oksijen radikallerinin biyolojik kaynakları olarak bilinen fagositik lökositler, uyarıldıktan sonra lizozom içi bileşiklerini dışarıya vermeye başlarlar ve etkin oksijen içerikli ürünleri oluştururlar. Aynı zamanda mitokondri dışında, oksijen tüketiminde bir patlama olur. Fagosite edilen bakteri, patlama ürünlerinin etkisiyle öldürülür. Bu ürünler; süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleridir.

Solunum patlamasından sorumlu enzim NADPH oksidazdır. Uygun bir uyarı ile fagosit uyarıldıktan sonra, NADPH oksidaz aktifleşir ve indirgenmiş piridin nükleotidlerinden iki elektron alınarak iki molekül oksijene transfer edilir ve böylece iki molekül süperoksit oluşur (18).



Üretilen süperoksitin çoğu fagositler tarafından bir bakteri öldürücü ajan olan hidrojen peroksit'e dönüştürülür. Hidrojen peroksit, tespit edilen ilk bakteri öldürücü oksitlenme ürünüdür (12).

2.1.2.2. Serbest Radikal Oluşturan Dış Nedenler

2.1.2.2.1. Radyasyon

Doğrudan hidroksil radikali meydana getirebilen radyasyonun, hücrede en fazla etkilediği bölge hücrenin DNA'sıdır. Hidroksil radikali, DNA ile hızlı bir şekilde reaksiyona girer ve mutasyonlara yol açar (12, 16).

2.1.2.2.2. Ksenobiyotikler

Fagositlerin solunum patlaması sırasında ksenobiyotiklerin metabolizmaları aktive edilebilir. Bu sırada pek çok lizozom ve peroksizom kaynaklı enzim salınarak bol miktarda serbest oksijen radikali oluşur.

2.1.3. Serbest Oksijen Radikallerinin Etki Mekanizmaları

2.1.3.1 Membran Lipidleri Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin lipidler üzerindeki en önemli etkileri lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu, kuvvetli yükseltgeyici bir radikalın etkisiyle başlayan ve zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA), yıkımına yol açan bir kimyasal olaydır. Başlama, ilerleme ve sonlanma evreleri vardır (19). Oluşan ürünler protein ve DNA'da kalıcı değişiklikler yapar (20, 21).

Yağ asitlerinin peroksidasyonu hücre zarını ciddi şekilde hasarlandırır. Zar akışkanlığı, geçirgenliği, hareket yeteneği, transmembran iyonik gradiyenti bozulur ve bu membran hasarı geri dönüşümsüzdür (22).

2.1.3.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinler içerdikleri amino asitlere göre serbest oksijen radikallerine karşı değişik etkilene derecesi gösterirler. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girme eğilimi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerinden kolaylıkla etkilenirler (23). Bu etkileşim sonucunda, proteinler üç boyutlu yapılarını kaybederek normal işlevlerini görmeyebilirler.

2.1.3.3. Nükleik asitler ve DNA üzerine etkileri

İyonize edici radyasyona maruz kalınmasıyla oluşan serbest oksijen radikalleri, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon meydana getirirler. Hidroksil radikali, deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girerek; tek ve çift zincir kırılmalarına, baz dizilim değişikliklerine ve baz eksilmelerine sebep olabilir. Bu olayların sonucunda, mutasyon, habis hastalık gelişimi ve hücre ölümü oluşabilir (24).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, hücre zarından kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir. Bu yüzden DNA, serbest oksijen radikallerinin kolay zarar verdiği önemli bir hedeftir (25).

2.1.3.4. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Monosakkaritlerin oksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzozaldehytler meydana gelir. Bunlar sigara içimi ve diyabetin neden olduğu patolojik durumlarda önemli rol oynarlar (26).

2.1.4. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

Reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta birçok savunma sistemi gelişmiştir. Bunlara antioksidan savunma sistemleri denir. İlk saptandıklarında lipid peroksidasyonunu engelleyen moleküler olarak tanımlanmışlardır. Bugün ise antioksidanların sadece lipit değil; proteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar üzerinden de etkidikleri ortaya konmuştur (27, 28).

2.1.4.1. Enzimatik Yapıda Olanlar

2.1.4.1.1. Sitokrom Oksidaz

Elektron taşıma zincirinde son basamakta yer alır. Süperoksit radikalının suya dönüşümünü sağlar.



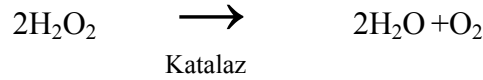
2.1.4.1.2. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi fazladır.



2.1.4.1.3. Katalaz

Hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler.



2.1.4.1.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Hidrojen peroksit ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini sağlar.

2.1.4.1.5 Glutatyon Transferaz

Yabancı maddelerin yok edilmesinde önemli rolleri olan GSH-transferazlar çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin glutatyonla konjugasyonunu katalizler.

2.1.4.2. Enzimatik Yapıda Olmayanlar

2.1.4.2.1. Askorbik Asit (C vitamini)

Organizma için önemi, indirgeyici gücünün yüksek olmasından kaynaklanır. Bu nedenle hidroksilasyon reaksiyonlarında rol alır. Aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali ve tekli oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Bunun dışında lipit peroksidasyonunu başlatıcı

radikalleri temizleyerek membranları hasarlara karşı korur. E vitamini ile birlikte LDL oksidasyonuna karşı korur.

2.1.4.2.2. Glutasyon

Glutamat, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptiddir. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH transferaz enzimlerinin oluşumunu sağlar.

2.1.4.2.3. E vitamini

Çok güçlü bir antioksidan olarak, membran yapısındaki doymamış yağ asitlerini serbest radikallerden korur.

2.1.4.2.4. Melatonin

En zararlı radikallerden hidroksil radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Yaşlanmayla birlikte melatonin üretimi azalır.

2.1.4.3. Diğer Antioksidanlar

Bu moleküller arasında; bakır iyonlarını bağlayarak lipit peroksidasyonunu engelleyen albümin, süperoksit ve hidroksil radikallerini toplayan bilirubin ve ürik asit, sistein, histidin gibi amino asitler ile safra asitleri gibi bileşikler yer alır.

Ayrıca çeşitli egzojen moleküller; lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, steroid yapıda olmayan anti enflamatuvarlar, demir tutucular, besinlere eklenen koruyucular antioksidan etki gösterirler (29-31).

Tablo-2: Antioksidanlar (23, 32).

Enzim Olanlar	Enzim Olmayanlar	
Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutasyon peroksidaz, Glutasyon –S-transferaz, Hidroperoksidaz	Lipit fazda olanlar	Alfa tokoferol, beta karoten
	Sıvı fazda olanlar	Askorbik asit, Seruloplazmin, Melatonin, Ürat, Sistein, Albümin, Transferrin, Laktoferrin, Myoglobin, Hemoglobin, Ferritin, Metiyonin, Bilirubin, Glutasyon

2.1.5. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperokside bir elektron katılmasıyla peroksit (O₂⁻²) oluşur. Peroksit, molekülü ise çevreden iki proton alarak hidrojen peroksiti oluşturur.



Şekil-1: H₂O₂ Oluşum Mekanizması

Hidrojen peroksit, ortaklanmamış elektrona sahip olmadığından dolayı, serbest radikal tanımlamasına uymaz, ancak reaktif oksijen türleri (ROT) sınıfına dahildir. Bu sınıfa, serbest oksijen radikalleri girdiği gibi oksijen radikali üretiminde görev alan ve radikal yapıda olmayan oksijen türevleri de girebilmektedir.

Hidrojen peroksit, mast hücrelerinde prostaglandin G₂ üretimini, alveoler makrofajlarda reaktif oksijen radikallerini ve kuvvetli bir damar büzücü olan TXA₂ üretimini artırır (33). Hem sağlıklı hem de hasta insanların soluk havasında artmış hidrojen peroksite rastlanabilir.

Sağlıklı kişilerin yaş, cinsiyet, akciğer fonksiyonları arasında hidrojen peroksit seviyelerinin bir farklılık ortaya koyamadığı fakat klinik ciddiyetine göre hidrojen peroksit seviyesinin farklılık gösterdiği ortaya konmuştur. Ayrıca steroid tedavisi ile bu oranlarda azalma kaydedilmiştir. Aynı şekilde sigara içen kişilerin de alt hava yollarına artan nötrofil ve diğer inflamatuvar hücrelerin akımı nedeni ile yine bunların soluk havalarda hidrojen peroksitin arttığı görülmüştür (34,35).

Hidrojen peroksit, özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. İnsan göz lensinde, soluk havasında, bakterilerde, fagositik hücrelerde, spermatozoada, peroksizomlarda, mitokondride, mikrozom ve kloroplastlarda H₂O₂ saptanmıştır (11,16). Hidrojen peroksit, yüksüz olduğundan dolayı membranları difüzyonla kolayca geçebilir. Bu nedenle, membranlarla korunan bölgelere rahatlıkla geçebilir ve potansiyel bir radikal

oluşturucu olarak hasarlanma yapabilir. Geçiş metal iyonlarının varlığında bu metalleri oksitleyerek oldukça reaktif ve hasarlandırıcı bir serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini oluşturabilir (16).

Yapılan bir çalışmada; KOAH'lı hastaların akciğerlerindeki oksidatif stresin düzeyini belirleyebilmek için klinik olarak iyilik KOAH'lı, alevlenme dönemindeki KOAH'lı hastalar ve kontrol gruplarının soluk havasındaki H₂O₂ ölçülmüş; H₂O₂ düzeyleri ile hastalığın şiddeti ve radyolojik bulgular ile paralellik gösterilmiştir (36).

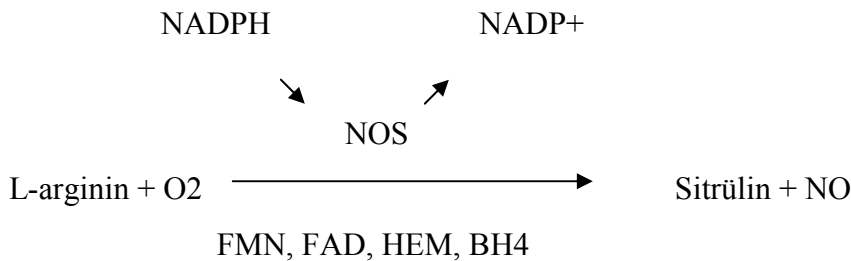
2.1.6. Nitrik Oksit (NO)

1987 yılında Ignarro (37) ve Palmer (38) ayrı ayrı yaptıkları çalışmalarda endotel kaynaklı gevşetici faktörü (EDRF) damar endotelinden izole ederek, o güne kadar, egzoz gazında ve sigara dumanında bulunduğu ve hava kirliliğinin bir unsuru olduğu bilinen EDRF'nin nitrik oksit (NO) olduğunu ortaya koymuşlardır.

Nitrik oksit, neredeyse bütün organ sistemlerinde mevcuttur ve soluk havasında 5-10 ppb milyarda bir birim oranında saptanır. Akciğer fizyolojisinde ve patolojisinde ana rol oynamaktadır.

2.1.6.1. Nitrik Oksit Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

Nitrik oksit (Nitrojen monoksit, NO) son derece toksik, renksiz, ve yarı ömrü oldukça kısa bir gazdır (yaklaşık 5 sn) (39). Lipofilik özellikte ve oksijensiz ortamda oldukça duranıdır ve suda erir (39). Nitrik oksit bilinen en düşük molekül ağırlıklı, biyoaktif insan hücresinden salınan bir üründür (40). Nitrik oksit, L-Arginin'den nitrik oksit sentaz ile oluşur. Nitrik oksit oluştururken moleküler oksijen ve dört tane kofaktöre ihtiyaç gösterir. Bunlar HEM, FAD, FMN ve BH₄ (tetra hidrobiyopterin)'dir (şekil -2), (40-42).



Şekil-2: NO Oluşum Mekanizması

Düşük konsantrasyondaki nitrik oksit, okjiene göre hemoglobine çok yüksek bir affiniteyle bağlanmak ister. Hemoglobin oksit formunda ise, NO'i, önce NO₂'e (nitrit) ardından NO₃'a (nitrat) oksitler ve kendisi methemoglobine dönüşür. Böylelikle oksihemoglobin, NO için oksidan aynı zamanda etkilerini engelleyen bir inhibitördür (40).

2.1.6.2. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması

Nitrik oksitin üzerinde yük taşımaması ve çiftlenmemiş elektron bulundurması, hücreden hücreye hiçbir engelle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda nitrik oksit taşıdığı çiftlenmemiş elektron ile bir radikal özelliği taşır. Diğer radikaller her konsantrasyonda hücreler için zararlı iken nitrik oksit düşük konsantrasyonlarda önemli fizyolojik görevler yapar. Bu nedenle nitrik oksit bu özellikleri nedeniyle fizyolojik haberci molekülü özelliği kazanır (40,43).

Hücreler arası iletimi sağlayan moleküller bu etkilerini daha çok plazma membranındaki özgül proteinlere bağlanıp, hücre içi cAMP miktarını artırarak gerçekleştirirler. Buna karşın NO, üretildiği hücreden dışarı çıkarak doğrudan hedef hücre içine girer, hedef molekülüne bağlanır, doğrudan ya da enzim aktivitesini değiştirerek amaçlanan etkiyi oluşturur.

Makrofajlardaki NO, tümör hücresi ve mikroorganizmalardaki Fe-S taşıyan enzimleri nitrolayarak antimikrobiyal ve antitümoral sitotoksik etki gösterir. Aynı mekanizmayla mitokondriyal elektron taşıma sistemi enzimlerinin aktivitesini azaltır. Yine NO, tümör hücresindeki DNA sentezini engeller. NO ferritin ile reaksiyona girerek serbest demir salınımına yol açabilir ve serbest demir lipid peroksidasyonunu başlatabilir (39, 44-47).

Nitrik oksitin en önemli hedef molekülleri; demir, kükürt ve oksijen türevi yapılardır (39). Nitrik oksitin bir diğer hedef molekülü proteinlerin sülfidril (-S-H) gruplarıdır.

Tablo-3: Nitrik oksitin başlıca fonksiyonları

- Damar endotelinde vasküler tonusun sağlanıp sürdürülmesi ve buna bağlı olarak kan akımı ve basıncın düzenlenmesi
- Endotel ve trombositlerde trombosit agregasyonu ve adhezyonunun inhibisyonu
- Düz kas hücrelerinin proliferasyonunun modülasyonu
- Merkezi sinir sisteminde bellek, sinirsel aktivitenin, kan akımının ve ağrı duyusunun düzenlenmesi
- Periferik sinir sisteminde nonadrenerjik/nonkolinerjik diye bilinen sinirlerle nörojenik vazodilatasyon
- Gastrointestinal, solunum ve genitoüriner sistem fonksiyonlarının düzenlenmesi

Nitrik oksit sentezlenmesini sağlayan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi, iki ana formda incelenmektedir. Üretilen nitrik oksit fonksiyonu bu enzim türleri ile de ilişkilidir.

2.1.6.3. Nitrik Oksit Sentaz İzoenzimleri

2.1.6.3.1.Yapısal NOS (cNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit

Bu izoenzim aktive olabilmek için ikincil haberci olarak kalsiyuma (Ca^{++}) bağımlıdır. İnsan vücudunda başlıca; damar endotel hücreleri, ürogenital sistem dokuları, merkezi ve periferik sinir sistemi nöronları, adrenal korteks ve medulla hücreleri, trombositler ve barsak intertisiyumunda bulunmaktadır (39, 41, 48).

Hücre içi kalsiyumu artıran bir olay sonucunda kalsiyum kalmoduline bağlanarak kompleks oluşur. (Ca^{++} /kalmodulin) Bu kompleks sayesinde cNOS aktifleşerek NO oluşur. Kalsiyum girişini artıran uyarı kesildiğinde ise enzim aktivitesi ortadan kalkarak NO sentezi durur. cNOS, kalsiyum düzeyi yükselinceye kadar pasif durumda kalır.

Yapısal NOS (cNOS); nöronal (nNOS) ve endotelyal (eNOS) olmak üzere, buldukları yere göre isimlendirilen iki farklı formda bulunmaktadır (39, 40).

2.1.6.3.1.1. Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit

Temel olarak sinir sisteminde bulunmakla beraber başka dokularda da tespit edilmiştir. Merkezi sinir sisteminde; aracı ve iletici olarak görev yapar. NO sinir kavşağının yeniden şekillenmesinde de rol oynar. Koku alma, ağrıyı algılama, görme ve hafıza oluşması işlevlerinde rol alırlar (49, 50).

Periferik sinir sisteminde; adrenerjik ve kolinerjik salınımı olmayan sinir uçlarında nörotransmitter olarak rol oynar. Solunum fonksiyonlarında, ereksiyonda, sindirim sisteminde, mesane sfinkter işlevinde tümünün kan basıncı ve akış hızının düzenlenmesinde rol oynar (51, 52).

2.1.6.3.1.2. Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS) Kaynaklı Nitrik Oksit

Düz kasların gevşemesini sağlayarak; kan basıncını, kan akış hızını ve dolayısıyla kalp kasılmasını düzenler. Trombositlerin adezyon ve agregasyonlarını inhibe eder. Endotel hücresi ve vasküler düz kas hücresinde antiproliferatif etkisi vardır (39, 53, 54).

2.1.6.3.2. Uyarılabilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS)

Bu izoenzim biyolojik sınırlar içinde kalsiyuma bağlı değildir. Bunun nedeni kalmoduline çok sıkı bağlanmış olmasıdır. iNOS, başta makrofajlar olmak üzere parçalı lökositler, hepatositler, damar düz kası, damar endoteli ve kondrositler tarafından üretilir. Etki süresi yapısal formdaki aksine saatlerce sürer (41, 48).

Uyarılabilir nitrik oksit sentaz; bakteri, mantar, virüs, tümör hücreleri ve tek hücreli canlılar üzerinde öldürücü ya da tespit edici etki gösterir. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda da (transplantın reddi, artrit, multipl skleroz gibi) rol oynadığı bildirilmiştir (41). Uyarılabilir NOS, hücre içinde genel yapıda mevcut değildir. Ancak bakteriyel ürünler ve sitokinler ile teması takiben, birçok doku ve hücrede üretimi uyarılır ve böylece miktarı artar (39, 48).

Tablo-4: Nitrik oksit sentazın özellikleri

	Endotelial NOS (eNOS) (TipIII NOS, NOS-3)	Nöronal NOS (nNOS) (TipI NOS, NOS-1)	Uyarılabilir NOS (iNOS) (TipII NOS, NOS-2)
Esas düzenlenme yolu	Ca ⁺² /kalmodulin	Ca ⁺² /kalmodulin	Gen ekspresyonu
Sübselüler yerleşim	Membran >> sitozol	Sitozol	Sitozol>>membran
NO üretimi	Düşük	Düşük	Yüksek
Fonksiyon	Hücrelerarası haberleşme	Hücrelerarası haberleşme	Sitotoksik,sitostatik, sitoprotektif

Tablo-5: NOS'ların hücresele dağılımları

c.NOS	i.NOS
Endotel hücresi	Makrofaj, hepatosit
Santral nöron	Kupffer hücresi
NANC nöron*	Vasküler düz kas hücresi
Nötrofil	Fibroblast, mezenkimal hücre
Mast hücresi	Astrosit, kondrosit
Trombosit	Enflamatuvar nötrofil
Astrosit	Karsinoma hücresi
B hücresi	Sinovyosit
Adrenal korteks ve medulla hücresi	

*adrenerjik kolinerjik olmayan sinir hücreleri

2.1.7. C-Reaktif Protein (CRP)

C-reaktif protein, bir akut faz proteindir. Antikor olmayan bu beta globulin, normalde insan serumunda çok küçük değerlerde bulunur. İltihabi hadiseleri takiben serumdaki seviyeleri yükselmeye başlar. CRP; enfeksiyon hastalıklarında romatizmal hastalıklarda ve malignitelerde yükselir. İnsan serumunda CRP düzeyi CRP'ye karşı tavşan antikorları ile oluşturulan reaksiyonun ölçülmesiyle belirlenir. Pnömonili hastalar üzerinde yapılmış bir çalışmada; inflamasyonun kuvvetli bir göstergesi olan CRP düzeyinin pnömoninin şiddeti ile ilişkili olduğu ve yüksek düzeyleri diğer faktörlerle birlikte değerlendirildiğinde hastaneye yatış kararını vermede yararlı olabileceği düşünülmüştür (55).

2.2. Akciğer Hastalıklarında Soluk Havasındaki Enflamasyon Göstergeleri

Akciğer hastalıklarında reaktif oksijen radikallerinin artımı ve artan akciğer stresi ile ilgili veriler bulunmaktadır. Pratikte inflamasyonun takibi zordur. Daha önce yapılan çalışmalarda fiberoptik bronşiyal biyopsi ile enflamasyon gösterilmiş, ancak invazif bir yöntem olması ve ciddi hastalıklarda uygulanmasının sakıncalı olması nedeniyle pek tercih edilmemiştir. Bu nedenle enflamasyonu olan hastalarda, enflamasyonun derecesini izlemek amacıyla soluk havasının yoğunlaştırılarak incelenmesine gidilmiştir. Bu yöntem noninvazif olması, pulmoner hastalıklar arasında ayırıcı tanı, hastalığın şiddeti veya ciddiyeti ve tedaviye cevabını değerlendirmede kullanılmaktadır (56).

2.2.1. Bronşektazi

Bronşektazi; hava yolu çapı ayırımı gözetmeksizin tüm bronş ağacını tutabilen, bronş duvarlarının elastik ve müköler parçalarının harabiyetine neden olduğu bronşların anormal ve geri dönüşümsüz dilatasyonu ile karakterize bir akciğer hastalığıdır. Fiziopatolojisinde değişik nedenler ileri sürülmesine karşın, mukosilyer aktivitenin bozulması ve bronşiyal obstrüksiyon başlıca neden olarak görülmektedir. Ancak yapılan araştırmalarda vakaların %50'sinde neden bulunamamaktadır (57, 58).

Bronşektazilerde en sık sol akciğer tutulmaktadır (%55-80). Bu durum sol ana bronşun sağa göre daha dar ve daha uzun olması peribronşiyal alanın aortik ark ve lenf bezleri tarafından basıya uğratılmasından kaynaklanmaktadır (58).

Lokelize bronşektazi genellikle çocukluk pnömonisinin bir sonucudur ve hemen her zaman aynı anatomik bölgede sık pulmoner enfeksiyonlarla karakterize selim bir gidişi vardır. Diffüz bronşektazi ise sıklıkla immün yetmezliklerle ilişkili, iki taraflıdır ve solunum yetmezliğinden ölüme yol açabilir (57, 58).

Enfeksiyon, hastalığın en önemli komponentini oluşturur. Enfeksiyonlar bu hastalığın patogeneğinde önemli bir role sahip oldukları gibi, en önemli akut atak sebebidir. Bronşektazi etyolojisinde yaklaşık %30 oranında enfeksiyöz sebepler sorumludur. Çocukluk çağı enfeksiyonlarının özellikle kızamık ve boğmacanın bronşektazi gelişimine yol açtığı düşünülür. Ayrıca *adenovirüs*, *influenza*, *herpes simpleks virüs*, *S.aureus*, *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* da bronşektazi gelişimine yol açabilir.

Bronşektazi hastalarında potansiyel patojen mikroorganizmalarla bronşial kolonizasyon %25-64 oranında görülür. Kolonizasyon genellikle *H.influenzae* ve *pseudomonas* türleri ile olur. Kolonizasyon gelişimi morbiditeyi artıran bir faktördür. Akut enfeksiyon dönemlerinde ise *S.pneumoniae* ve *H.influenzae* en sık saptanan etkenlerdir (59).

Öksürük ve balgam çıkarma en sık görülen semptomlardır. Enfeksiyon dönemlerinde ateş, balgam miktarında artma, balgamın iltihaplı sarı-yeşil görünüm kazanması, kötü kokulu soluk ve kan tükürme gibi belirtiler ortaya çıkar. Önlem alınmadığı taktirde sürekli tekrarlayan enfeksiyonlar akciğerlerdeki harabiyeti artırarak hastalığın ilerlemesine neden olabilir. Yaygın hastalığı olanlarda nefes darlığı, siyanoz, kilo kaybı, böbrek fonksiyonlarında bozulma ve anemi görülebilir.

Bronşektazik hastalarda hava yolu inflamasyonu önemlidir. İnflamasyon göstergeleri ile ilgili bronşektazik hastalarda çalışmalar mevcuttur (60, 61). Yine bu hastalarda soluk havası alınarak enflamasyon belirteçleri çalışılmıştır. Yapılan bir çalışmada H₂O₂ ölçülerek bu hastaların soluk havasındaki H₂O₂ seviyeleri ile hastalığın şiddeti arasında korelasyon saptanmış böylelikle hava yolu inflamasyonunun ve oksidatif stresin gösterilmesi konusunda H₂O₂'in önemi vurgulanmıştır (61).

2.2.2. Kistik Fibrozis

Kistik fibrozis, yaklaşık 1/25 taşıyıcı ve 1/2000-3500 canlı doğum sıklığı ile, beyaz ırkta otozomal resesif geçiş gösteren en yaygın ölümcül hastalıktır. Tüm sistemlerdeki egzokrin bezleri etkiler.

Temel bozukluk ter, tükürük, trakeobronşiyal ağaç, kalın barsak ve pankreas egzokrin bezlerinden anormal sekresyonların oluşumudur (62). Kistik fibrozis gen (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-CFTR-Gene) lokusunun 7 numaralı kromozom üzerinde bulunduğu bilinmektedir. Spesifik yöntemler ile antenatal tanı yöntemi geliştirilmiştir (62, 63). En erken pulmoner değişiklikler küçük hava yollarının tıkanmasıdır. Bronşiyal bezlerin büyümesini izleyerek mukoz tıkaçlar oluşur. İnflamasyon süreci, kronik bronşit, bronşektazi ve peribronşiyal inflamasyonla sonuçlanır (62, 64). Önde gelen klinik belirtiler, kronik obstrüktif akciğer hastalığına ve pankreas yetersizliğine ait bulgulardır. Tekrarlayan pulmoner infeksiyonlar ölümün en sık sebebidir. Enfeksiyon yaşamın 6. haftası gibi erken dönemde başlayabilir veya klinik tanısı akciğer hasarı oluşuncaya kadar gecikebilir (65).

Kistik fibrozisli hastalar üzerinde yapılmış bir çalışmada; 21 kistik fibrozisli ve 12 sağlıklı hastadan çalışma grubu oluşturularak soluk havasında NO ve nitrit seviyeleri ölçülmüş, çalışma sonuçlarına bakıldığında, kontrol grubuna göre kistik fibrozisli hastaların nitrit seviyesi önemli derecede yüksek bulunmuştur. Ancak soluk havasında NO seviyesi, açısından hasta grupları arasında fark bulunamamıştır. Sonuç olarak; kistik fibrozisli hastalarda soluk havasında nitrit ölçümünün NO'ya göre hava yolu enflamasyonunu göstermede daha güvenilir bir marker olabileceği sonucuna varılmıştır (66).Yapılan diğer bir çalışmada antibiyotik tedavisi alan kistik fibrozisli hastaların H₂O₂ ve NO seviyeleri ölçülmüş; hastaların NO seviyelerinde değişiklik olmazken, H₂O₂ seviyelerinde değişiklik olduğu böylelikle antibiyotik tedavisi alan kistik fibrozisli hastalarda inflamasyonun izleminde H₂O₂'in daha anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (67).

2.2.3. Bronkopulmoner Displazi (BPD)

İlk kez 1967 yılında, uzun süreli oksijen ve ventilatör tedavisi uygulanan prematürelde klinik, radyolojik ve patolojik akciğer değişiklikleri olarak tanımlanmıştır (68, 69).

Bugün akciğerlerde görülen bu değişiklikler kronik akciğer hastalığı olarak adlandırılmaktadır. Bronkopulmoner displazi nedenlerinin tam olarak bilinmemesine rağmen yüksek konsantrasyondaki oksijenle karşılaşma ve bronkopulmoner displazi gelişim riski arasındaki klinik birliktelik çok fazladır (68, 70).

Enflamatuvar mediatörlerin aktivasyonu insanda ve hayvanlarda akut akciğer zedelenmesine ve akciğer dokusunun anormal tamirine yol açmaktadır. Son zamanlarda BPD'nin hafif şekillerinde esas rolü enflamasyonun oynadığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (71). Ayrıca barotravma, enfeksiyonlar, immatürite, PDA gibi nedenler de BPD gelişiminde rol oynarlar. Bronkopulmoner displazili hastalarda soluk havasında NO çalışması literatürde mevcuttur (72).

2.2.4. Astım

Küçük çaplı hava yollarının çeşitli uyarılara karşı geçici ve aşırı daralma şeklinde yanıt verdiği kronik, tekrarlayıcı, inflamatuvar ve tıkayıcı bir akciğer hastalığıdır. Temel patoloji; kronik enflamasyon ve trakeobronşiyal ağacın uyarılara karşı aşırı cevap vermesidir. Viral enfeksiyonlar, stres, soğuk, egzersiz, ilaçlar ile alevlenmeler gösterir (73).

Bronşiyal astma fizyopatogenezinde; solunum yolu düz kas spazmı, hava yolunda ödem, mukus hipersekresyonu, havayolunda epitel bütünlüğünün bozulması, mast hücre aktivasyonu rol almaktadır. Çocuklarda görülme oranı %5-15 arasında değişmektedir (74).

Astımlı çocukların soluk havasından enflamasyon belirteçleri çalışılmış ve özellikle H₂O₂'nin stabil astımlarda hava yolu enflamasyonunu göstermede anlamlı olduğu sonucuna varılmıştır (75).

2.2.5. Pnömoni

Pnömoni enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan ajanlar tarafından oluşturulan akciğer dokusunun inflamasyonudur. Çocukluk çağı pnömonilerinin en sık görülen nedenleri bakteriyel ve viral ajanlardır. Pnömoniye neden olan solunum virüslerinden sıklıkla görülenler *respiratuar sinsisyal virüs*, *parainfluenza tip 3*, *adenovirüs* ve *influenza A ve B*'dir. Tüm yaş gruplarında bakteriyel pnömonilerden sorumlu olan en sık etken *S.pneumonia*'dir. *H.influenzae*, *grup A streptokoklar (GAS)*, *grup B streptokoklar* ve *S.aureus*dur. *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* büyük çocuklarda pnömoniye sıklıkla neden olan etkenlerdir (76-78).

Pnömoni, özellikle 5 yaş altı çocuklarda önemli bir ölüm nedenidir. Alt solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatırılan çocukların %29-38'ini pnömoni grubu oluşturmaktadır (79,80).

Viral pnömoniler, kış aylarında daha sık görülür, öncesinde nezle, hafif derecede ateş ve hafif öksürük vardır, daha sonra semptomlar giderek artar. Fizik muayenede; hışıltı, ronkuslar, çekilme, apne ve raller de saptanabilir. Çocuğun kliniği iyi olabileceği gibi ağır pnömonili hastalar siyanoz, letarji, dehidratasyon ve ağır solunum güçlüğü içinde olabilirler.

Bakteriyel pnömonilerde büyük çocuklarda ani başlayan yüksek ateş, titreme, göğüs ağrısı başlıca belirtilerdir. Fizik muayenede raller, ronküsler, solunum seslerinde azalma görülür. Küçük çocuklarda yüksek ateş, solunum sayısında artma, kusma, ishal, genel durum bozukluğu görülür. Akciğer grafisinde yama tarzında veya bilateral tutulum, plevral sıvı birikimi, lobar tutulum görülebilir (81, 82).

Kanda lökosit sayısının yüksekliği, eritrosit sedimentasyon hızı ve C-reaktif protein (CRP) düzeylerinde artış bakteriyel pnömoni tanısını destekler (83).

Çocuklarda görülen bakteriyel pnömonilerde tedavi çocuğun yaşı, klinik tablosu, hastalığın gidişi, altta yatan hastalık olup olmaması, akciğer grafisi bulguları ve laboratuvar bulguları göz önüne alınarak düzenlenir.

Öykü, fizik muayene, radyolojik bulgular ve laboratuvar sonuçları birbiriyle uyumlu değilse ve tedaviye yanıt yoksa veya hastalık yineliyorsa, tüberküloz, kistik fibroz, yabancı cisim aspirasyonu, bağışıklık yetmezliği gibi diğer durumlar araştırılmalıdır.

Pnömonili hastalarda bu serbest radikallerin artımı ile ilgili çalışmalar literatürde mevcuttur (84-86).

2.2.6. Adult/Akut Solunum Yetersizliği Sendromu (ARDS)

İlk olarak 1967 yılında; Ashbaugh erişkin/akut solunum yetersizliği sendromunu (ARDS) infant hyalin membran hastalığına benzeyen pulmoner infiltrasyonların zemininde gelişen ağır bir solunum yetersizliği olarak tanımlamıştır. Bundan sonraki dönemlerde adult RDS olarak anılırken 1987'den sonra akut RDS tanımının daha doğru olacağı belirtilmiştir (87). Erişkin/akut solunum yetersizliği sendromu, alveol epitel ve epitel engellerinde zedelenme, akut enflamasyon ve proteinden zengin pulmoner ödemin neden olduğu akut solunum yetmezliğidir (88).

Patogenezinde; akciğerlerde artmış abartılı enflamatuvar yanıt olduğu belirtilmektedir. ARDS, pnömoni, aspirasyon, inhalasyon, emboli, sepsis, yaygın damar içi pıhtılaşma gibi etkenlerin akciğerde enflamatuvar yanıtı başlatması ile oluşmaktadır.

Bu klinik durumlarda akciğerlere nötrofillerin artmış göçü ve enflamatuvar mediyatörlerin aktivasyonu oluşur. ARDS'de bu enflamatuvar süreç yaygın alveol zedelenmesine neden olur. İnterstisiyel ve alveoler alanda protein ve enflamatuvar hücrelerden zengin hemorajik ödem ve hyalin membran gözlenir. Alveoler tip II hücrelerin zedelenmesi ve kaybı sürfaktanın azalmasına yol açar. Fibroblastlar alveoler ve interstisiyel alanda birikir. Alveol içi ve interstisiyel alanda fibrozis gözlenir (89).

Erişkin/akut solunum yetersizliği sendromunda orta derecede pulmoner arteriyel hipertansiyon gelişir. Bakteriyel endotoksinin, siklooksijenaz-2 (COX-2) ve nitrik oksit sentaz ekspresyonlarını pulmoner damarlarda artırarak NO artışına yol açtığı, endotelin-1, tromboksan B2 ve mikrotromboembolizmin de pulmoner hipertansiyona katkıda bulunduğu sanılmaktadır (89).

Erişkin/akut solunum yetersizliği sendromu, tanısının konulmasında klinik değerlendirmenin çok geniş bir spektruma yönelik olacağı gerçeği akut akciğer hasarı (AAH) tanımlamasını ortaya çıkarmıştır. Akut akciğer yetersizliği patolojilerinde de ARDS kullanımının daha doğru olacağı fikri benimsenmiş olup bu tanımlama günümüz klinik anlayışına yerleşmiştir. Tüm ARDS hastalarında akut akciğer hasarı varken, akut akciğer hasarı olan hastaların tümünde ARDS yoktur (90).

Tablo-6: ARDS tanı ölçütleri (89).

Başlangıç Şekli	Akut başlangıçlı ve inatçı seyirli
Oksijenizasyon	AAH'de $PaO_2/FiO_2 \leq 300$ ARDS'de $PaO_2/FiO_2 \leq 200$
Dışlama ölçütleri	PAOP ≥ 18 mmHg Sol atriyal hipertansiyon klinik bulguları
Radyolojik bulgular	Pulmoner ödemle uyumlu iki taraflı opasiteler

2.2.7. Solunum Cihazı İlintili Pnömoni

Solunum cihazına bağlı hastalarda; solunum cihazına bağlandıktan 48 saat ve sonrasında gelişen pnömoniye ventilatör ilintili pnömoni (VIP) denir (91). Görülme sıklığı; hastanın birincil hastalığına, yoğun bakım koşullarına, solunum cihazının destek süresi ile ilişkilidir.

Solunum cihazının destek süresi uzadıkça solunum cihazı ilintili pnömoni riski artmaktadır. Chastre ve arkadaşlarının (92), yaptığı bir çalışmada VIP insidansı, %8-28 arasında tespit edilmiştir. Solunum cihazına bağlı hastalarda ilk günlerde pnömoni riski daha fazladır. Solunum cihazına bağlı ilk 5 günde her gün için risk %5, 5-10 günlük solunum cihazı destek süresi için risk her gün için %2 ve 10 günden sonraki her gün için risk %1'dir (93, 94).

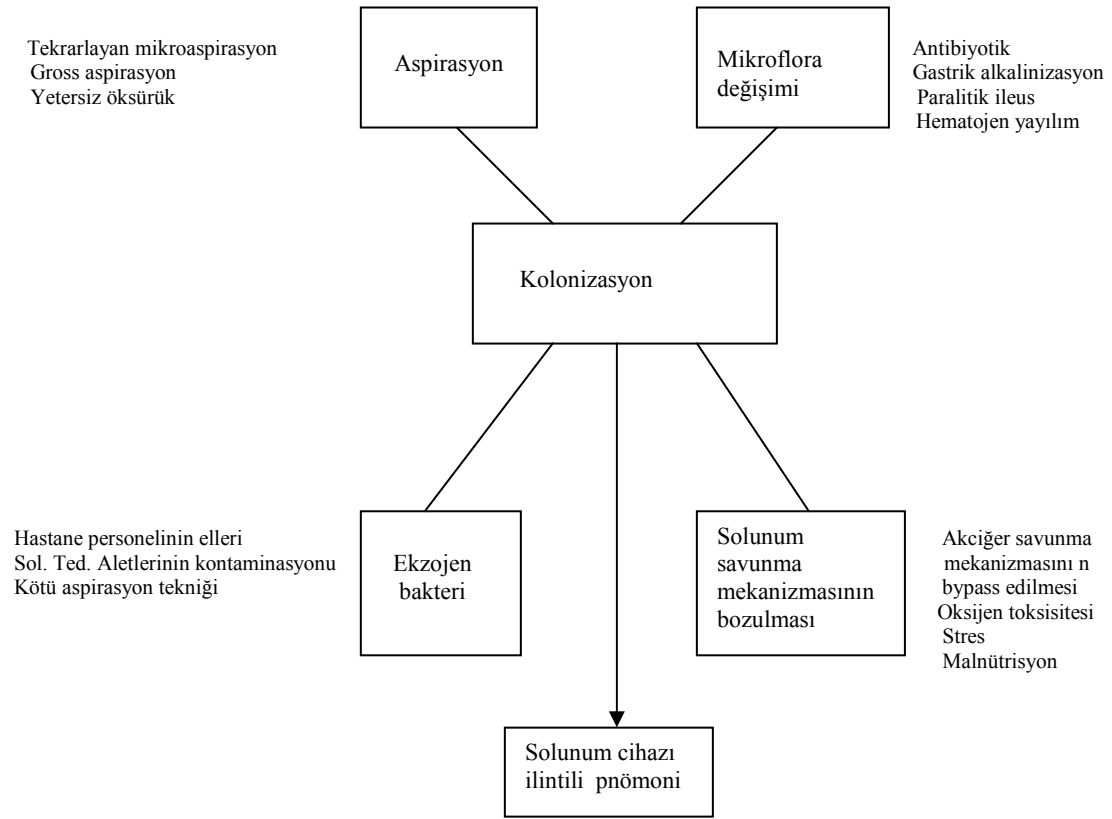
Hastane kökenli pnömoni; erken (hastaneye yatıştan sonraki ilk dört gün) ve geç (hastaneye yatıştan 5.gün ve sonrası) başlangıçlı olmak üzere ikiye ayrılır (95, 96). Erken başlangıçlı pnömonide en sık etkenler; *H.influenza*, *S. pneumonia*, *S.aureus*dur. Geç başlangıçlı olan da ise; *pseudomonas*, *klebsiella*, *gram negatif enterik basiller* ve *metisiline dirençli S.aureus* önde gelen etkenlerdir (96, 97).

Emad ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (98), 22 aylık dönemde yoğun bakımlarda yatan 3171 hastanın 880'inde (%27,8), mekanik ventilasyon ihtiyacı gelişmiştir. VIP 132 hastada (%15) tespit edilmiştir.301 hasta mekanik ventilasyona bağlı iken kaybedilmiştir (%34,2). Mekanik ventilasyona bağlı pnömoni gelişen hastaların mortalite oranı diğer hastane enfeksiyonlarına bağlı gelişen mortaliteden daha yüksek bulunmuştur.

Solunum cihazına bağlı, akciğer patolojisi olmayan hastalarda; akciğer grafisinde yeni infiltrasyon gelişmesi, ateşin ortaya çıkması / düşen ateşin yeniden çıkması, fizik muayenede rallerin işitilmesi, solunum destek ihtiyacında artış olması hastanın VIP açısından değerlendirilmesini gerektirir. Pnömoni nedeniyle mekanik ventilasyon uygulananlarda, VIP'ı tespit etmek zor olabilir. Bu hastalarda, solunum destek gereksiniminde hastalığın doğal seyriyle uyumlu olmayan artış, düşen ateşin yeniden çıkması, hastanın kötüleşmesi, sekresyonlarda değişim uyarıcı olmalıdır (99-102).

Mikroorganizmalar alt solunum yollarına çeşitli yollarla gelmektedir. Bunlar; üst solunum yolları ve gastrointestinal sistem sıvılarının aspirasyonu, ventilatör devresinden bulaşım ve hematogen yol ile olur. Solunum cihazı ilintili pnömonide temel bulaşma yolu, hasta bakımı veren kişilerin devreleri, aspirasyon sondaları, nemlendiriciler bulaşma neden olmaktadır. Bu hastalarda; öksürük refleksinin olmaması, devamlı aynı pozisyonda yatma, sedatif ve kas gevşeticilerin kullanılması nedeniyle solunum yollarında sekresyon artışı meydana gelir.

Ayrıca yüksek konsantrasyonda oksijen solutulması mukosilyer aktiviteyi bozarak akciğer savunma mekanizmasını bozmaktadır. Kronik akciğer hastalığı olup ventilatör destek tedavisi alan hastalarda daha önceden mevcut kolonizasyon nedeniyle VIP sıklığı artar. Yoğun bakım ünitelerinde proton pompa inhibitörlerinin kullanılması mide pH'sını yükselterek bakteri kolonizasyonuna neden olarak VIP riskini artıran bir diğer nedendir. Yapılan araştırmalarda çok sayıda damar yolu olan hastalarda bakteriyemi riskinde artış saptanmıştır. Yine nazogastrik yolla beslenen hastalarda VIP insidansı yüksek saptanmıştır (95, 101-104).



Şekil-3: Hastane kökenli pnömoninin gelişim mekanizması (102).

Solunum cihazı ilintili pnömoni etkenleri, hastanın yattığı yoğun bakım ünitesine göre değişiklik gösterir. Başlangıç antibiyotik tedavisi o yoğun bakımda en sık görülen nazokomiyal etkenlere yönelik olmalıdır.

En sık görülen mikroorganizmalar; gram negatif basillerdir. *P. auroginosa*, *E.coli*, *S.aureus* en sık saptananan etkenlerdir. Karaböcüoğlu ve arkadaşlarının (105), yaptığı bir çalışmada; İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan 480 hastanın 97'si mekanik ventilasyon ihtiyacı göstermiştir. Bunların 60 tanesi geriye dönük bir çalışmaya alınarak hastane enfeksiyonunun neden ve sıklığı belirlenmeye çalışılmış; hastane enfeksiyonu oranı %45, bunun %66,7'lik kısmı ile VIP en büyük kısmını oluşturmuştur. Yapılan çalışmada *Pseudomonas auroginosa* en çok görülen mikroorganizma olarak gösterilmiştir.

Tanısal imkanların artmasına rağmen VIP'in gelişmesinin engellenmesine rağmen halen, hastane kaynaklı mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir (105).

2.3. Solunum Sisteminde Nitrik Oksit

Nitrik oksit, metabolitlerinin solunum havasında (sağlıklı bireylerde 5-10 ppb) bronkoskopik yıkama ve uyarılmış balgam örneklerinde saptanması, NO'nun hava yollarından sentezlendiğini gösteren bulgulardır (106, 107). Nitrik oksidin akciğerdeki hücresel kaynakları, epitel hücreleri, pulmoner arter ve venlerin endotel hücreleri, inhibitör nonadrenerjik sinirler, düz kas hücreleri, mast hücresi, mezotel hücreleri, nötrofil, makrofaj ve lenfositlerdir. Üç NOS izoformu da akciğerde mevcuttur (108). Nöronal nitrik oksit sentaz, inhibitör noradrenerjik nonkolinerjik (iNANC) nöronlardan salgınır, eNOS ise endotel hücrelerinde yer alır. iNOS normal hava yolu epitelinde yer alır ve sitokinler, endotoksin ve reaktif oksijen radikalleri tarafından indüklenir (109, 110). Soluk havasından atılan nitrik oksidin potansiyel kaynakları, pulmoner dolaşım, alt ve üst hava yolları ve paranasal sinüslerdir. Özellikle üst solunum yollarında ve paranasal sinüslerde yüksek konsantrasyonlarda NO sentezlenmektedir. Nitrik oksidin yüksek oranda yayılabilme kapasitesi, hemoglobine bağlanabilme kapasitesinin oksijene göre 3000 kat daha fazla olması ve akciğerdeki zengin damar yapısı, pulmoner dolaşımı NO için biyolojik bir atık deposu haline getirmektedir. Soluk havasından atılan NO'de pulmoner dolaşımın rolü bulunmamaktadır.

2.4. Nitrik Oksitin Klinik Önemi

2.4.1. Ateroskleroz

Nitrik oksit, vasküler tonusun düzenlenmesinin yanı sıra, trombosit agregasyonuna, damar duvarına trombosit ve lökosit adezyonuna engel olur. Bunun yanında düz kas proliferasyonunu inhibe ettiği, lipid peroksidasyonunu engellediği bilinmektedir. Böylelikle antitrombosit, antiproliferatif ve vazodilatatör etkileriyle damar homeostazında önemli rol oynar (111).

2.4.2. Reperfüzyon Hasarı

Beyindeki iskemi reperfüzyon sürecinde; NO vazodilatasyon sağlayarak, trombosit ve nötrofil adezyonunu ve agregasyonunu önleyerek kan akımını ve doku perfüzyonunu arttırdığı ve iskemik hasarı azalttığını bu nedenle de koruyucu olduğunu bildiren çalışmalar vardır. Aşırı NO üretimi, nörotoksisite oluşturabilir (111).

2.4.3. Nörolojik Hastalıklar

Nitrik oksit; nörodejeneratif hastalıklar ve nörotoksisite de rol oynar. AIDS demansında, multipl sklerozda, bakteriyel menenjitte, migrende, alzheimer ve huntington hastalığında rol aldığı bildirilmiştir (112, 113).

2.4.4. Damarlar Üzerine etkileri

Nitrik oksit, oldukça güçlü bir damar genişleticidir. Nitrik oksidin damar düz kaslarda gevşemeye yol açan etkileri açıkça gösterilmiştir (38, 110, 114).

Sepsiste olduğu gibi, aşırı NO varlığı sistemik hipotansiyona neden olabilirken tersi durumda NO sentezi azaldığında pulmoner hipertansiyon saptanmaktadır. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda soluk havasından elde edilen NO (eNO) oranları anlamlı derecede düşüktür (110,115).

2.4.5. Hava yolu üzerine etkileri

Nitrik oksit, bronkodilatör etkiye de sahiptir. Bu etkisini, doğrudan bronş düz kas hücresi içindeki cGMP oranını artırarak yapar. Bir başka yol ise iNANC nöronların nörotransmitteri gibi davranır (110).

2.4.6. Sepsis ve Akut Enflamasyon

Sepsiste gözlenen en önemli bulgular, sistemik vazodilatasyon, ateş ve immün sistem aktivasyonudur. Sepsis sürecinde ilgili hücrelerin birçoğundan, iNOS salınımı olur ve böylelikle NO büyük miktarlara ulaşır. Sepsis sırasında NO, perfüzyonun düzenlenmesinden toksisiteye kadar değişen farklı etkiler oluşturabilmektedir (116).

2.4.7. Enflamasyon Üzerindeki Etkileri

Nitrik oksit, enflamatuvar başlatıcı ve önleyici etkileriyle akut ve kronik inflamasyonda önemli bir role sahiptir. Nitrik oksit, doğrudan ya da peroksinitrit oluşumu yoluyla oksidan etki gösterir. Bu oksidan özelliği nedeniyle bakterisid ve tümör hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterir ve savunma sistemine yardımcı olur (117, 118). Ancak aynı özellikler astımda görülen enflamasyonun da bir nedeni olabilmektedir (119, 120). Nitrik oksidin birçok zararlı etkisi süperoksit anyonu ile reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitrite bağlı olarak ortaya çıkar. Enflamatuvar süreçte NO ve süperoksit radikallerinin oluşumu epitel hasarına, araçların salınımına ve hava yolu duyarlılığının artmasına neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda eNO artışının hava yolu enflamasyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. İnflamatuvar sitokinler, hava yolu epitelinde eNOS sentezini başlatmaktadır. Kortikosteroid ve lökotrien antagonistleri gibi antiinflamatuvar ilaçların uygulanması eNO seviyelerini azaltmaktadır (118-120). Buna karşın viral üst solunum yolu enfeksiyonu ve bronş provokasyon testleri sonucunda artmaktadır (110, 121). Artan NO aynı zamanda vazodilatör özellikleri nedeniyle bronşiyal dolaşımdaki kan akışını artırarak hava yolu ödemeine neden olur. Astımdaki aşırı NO artışı ayrıca ventilasyon perfüzyon uyumsuzluğuna da neden olabilmektedir.

Tablo-7: Soluk havasında nitrik oksiti etkileyen faktörler (56).

	ARTIRAN ETMENLER	AZALTAN ETMENLER
Uygulanan işlemle ilgili faktörler	-Düşük soluk hızı, -Nefes tutulması, -NO modulatörleri, -Normal bireylerde L-arginin yenilmesi - ozon ve klorid dioksit	-Yüksek soluk hızı, -İnhale edilen NO inhibitörleri, -Solunan veya yenen steroidler. - L-NMMA ve L-NAME
Hasta ile ilgili faktörler	-Adet, Bedensel faaliyetler, -Nefes tutma, Astım, -Alerjenle uyarılma, -Üst ve alt hava yolu enfeksiyonu, -Bronşiektazi, -Hepatopulmoner sendromlu sirozlu hastalar -Balgam indüksiyonu, -Tekrarlanan spirometrik ölçümler	-Adet, sigara, -Alkol alımı, -Pulmoner hipertansiyonlu sistemik skleroz, -Kistik fibrozis

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ocak 2005- Aralık 2005 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk ve Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde solunum cihazına bağı hastalarda yapıldı. Hasta grubu olarak yoğun bakım ünitelerinde yatan, yaşları 1 gün ile 10 yıl arasında değışen; 19'u erkek, 8'i kız toplam 27 olgu alındı. Kontrol grubu olarak, enfeksiyonu olmayan yaşları 1 gün ile 10 yıl arasında değışen, 8 erkek, 2 kız olmak üzere toplam 10 olgu değılendirildi. Hastaların ve kontrol grubunun ailelerinden izin alındı.

Pnömoni grubunda; pnömoninin tespit edildiğı gün, kontrol grubunda ise; solunum cihazına bağılanıldığı gün, 0. gün olarak kabul edildi. Hastaların 0. ve 3. günlerinde örnekler alındı. Çalışmaya alınan hastalardan soluk hava yoğunlaştırıcısı ile soluk havasının yoğunlaştırılması ile alınan örnekten nitrik oksit, hidrojen peroksit ayrıca serumda CRP çalışıldı.

Bu çalışmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nin 2004/71 numaralı etik kurulu onayı alınmıştır.

Tablo-8: Klinik pulmoner enfeksiyon puanlamasının hesaplanması

VÜCUT ISISI (DERECE): 36,5 -38,4°C = 0 puan 38,5 -38,9°C = 1 puan 36,4°C ≤ veya 39°C ≥ = 2 puan
BEYAZ KÜRE SAYISI: 4bin-11bin = 0 puan 4bin < veya 11bin > =1 puan 4bin < veya 11bin > ve bant oluşumu (çomak) = 2 puan
TRAKEAL SEKRESYON: Trakeal sekresyon yok = 0 puan Pürülan olmayan trakeal sekresyon = 1 puan Pürülan olan trakeal sekresyon =2 puan
OKSİJENİZASYON: PaO₂/FiO₂ değeri: 240' dan büyük / ARDS veya 18 mmHg ve akut iki taraflı infiltrasyon= 0 puan 240 veya ARDS yoksa = 2 puan
AKCİĞER GRAFİSİ: İnfiltrasyon yok =0 puan Yaygın veya yamalı infiltrasyon = 1 puan Lokalize infiltrasyon = 2 puan
PULMONER İNFİLTRATIN SEYRİ: Radyolojik kötüleşme yok = 0 puan Radyolojik kötüleşme var = 2 puan
TRAKEAL ASPİRATIN KÜLTÜRÜ: Önemsenecek miktarda bakteri üremesi = 0 puan Orta veya yüksek oranda patojen bakteri belirlenmesi = 1 puan Gram yaymada aynı organizma görülmesi=2 puan

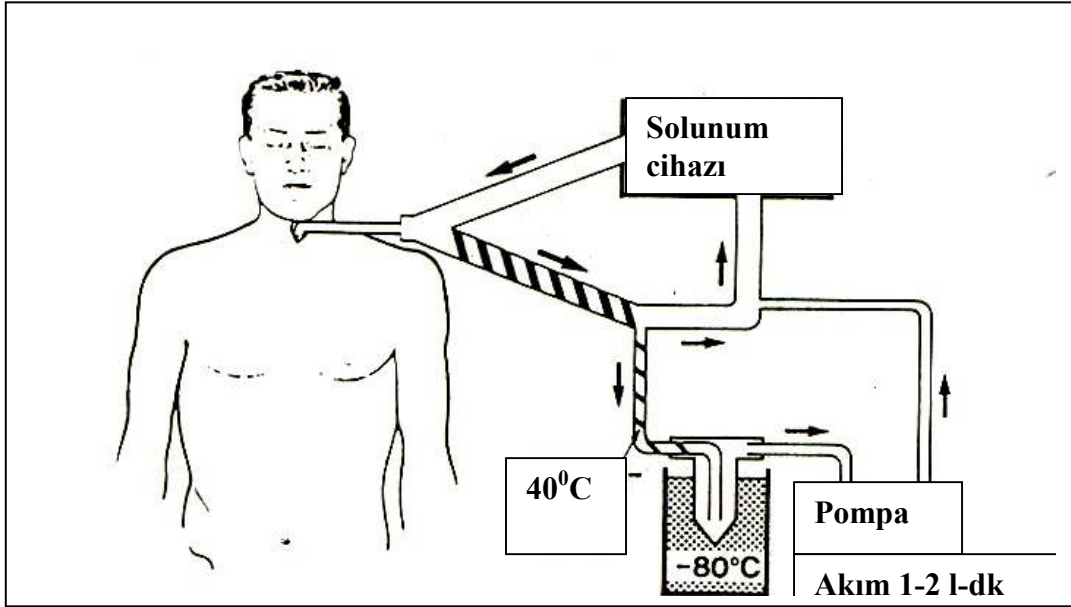
Klinik pulmoner enfeksiyon puanlaması, pnömoni tanısının konulmasında kullanıldı. Bu puanlamaya özellikle ventilasyona bağlı hastalarda gelişen pnömoninin atlanmaması amacı ile gidilmiş ve bu yolla ayrıca antibiotik kullanımının yerinde ve etkin olacağı belirtilmiştir (122). Amerikan Göğüs Cemiyeti'nin yayınladığı VIP raporuna göre, VIP için tanı ölçütleri;

- 1-Ateş
- 2-Akciğer filminde infiltrasyon
- 3-Kanda parçalı hücre sayısında artış
- 4-Trakeal sekresyonda iltihabi karakter

Hastalarımız pnömoni tanısı alırken yukarıdaki ölçütler kullanıldı (123). Klinik pulmoner enfeksiyon puanlaması ise bu hastalar için yol gösterici yöntem olarak kullanıldı.

3.1.Soluk Hava Yoğunlaştırıcısı

Soluk hava yoğunlaştırıcısı, polivinil klorid yapısındaki iç içe geçmiş soğuk tüp düzeneğinden oluşmuştur. Solunum cihazına bağlı hastalar, soluk hava yoğunlaştırıcısına bağlanmadan önce hayati işlevleri gözden geçirildi. Hastalar, solunum cihazında nemlendirici ile 37°C'de akciğerlerin nemlendirilmesinden ve yoğunlaştırıcının soğuması için açıldıktan 30 dakikalık bir süreden sonra soluk hava yoğunlaştırıcısına bağlandı. Hastanın soluk havasının geçtiği hortum bu sisteme ve bu sistemden çıkan bir hortum da, solunum cihazının soluk havası çıkış kısmına bağlandı. Yaklaşık 30 dakikalık süreç içerisinde soluk havası yoğunlaştırıldı. Yoğunlaştırıcı bağlı iken hasta hayati işlevlerin bozulmaması için; nabız, SPO₂, tansiyon ve kan gazı ile takibe alındı. Bu süreçte aspirasyon gibi işlemler yapılmadı. Soluk havasının alınması sırasında hastaya herhangi bir gaz geçişi olmadığından enfeksiyon riski de olmadı.



Şekil-4: Soluk hava yoğunlaştırıcısının şematik görüntüsü

3.2. Örneklerin Alınması

Soluk hava yoğunlaştırıcısı bağlandıktan sonra 30 dakikalık süreç içinde alınan 2-4 ml'lik soluk hava konsantresi örnekleri silikonize ependorf tüplere konularak yaklaşık -80°C 'de saklandı.

Tüm kimyasal malzemeler analitik saflıktaydı. Kimyasal malzemeler; Sigma Aldrich firmasından (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany) temin edildi.

3.3. Nitrik Oksit Analizi

Solunum havası nitrik oksit düzeyleri, enzimatik Greiss yöntemiyle total nitrit olarak ölçülmüştür. Total nitrit ölçümü elde edilen soluk havası örnekleri, ZnSO_4 ve NaOH ile deproteinize edildi. Deproteinize edilmiş kısımdan 100 μl alınarak, içerisinde 0.32 mol/L potasyum fosfat tamponundan (pH'sı 7.5 olan) 100 μl , nitrat redüktazdan (10U/ml, Sigma) 25 μl , koenzim olarak NADPH (50 $\mu\text{mol/L}$) ve FAD (5 $\mu\text{mol/L}$) ile bunlara ilaveten 525 μl distile su bulunan toplam 750 μl sıvı içerisine ilave edildi ve 2 saat süreyle inkübasyona tabii tutuldu.

Nitratin, nitrat redüktaz tarafından nitrite indirgenmesinden sonra, bu indirgenmiş numunelerden ve Greiss reaktifinden (distile su içerisinde çözülmüş % 0.1'lik α -naftilamin ve %5'lik fosforik asit içerisinde çözülmüş %1'lik p-aminobenzen sülfamidden 1:1 oranında alınarak hazırlanmıştır) eşit hacimler alınarak karıştırıldı.

Örnekler 15 dakika daha inkübasyona bırakıldıktan sonra bir spektrofotometre ile (Ultraspec Plus pharmacia LKB Biochrom, Cambridge UK) 548 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. 0 ile 100 $\mu\text{mol/L}$ 'lik bir aralıkta nitrit standartları hazırlanarak absorbans değerleri ölçüldü ve bir standart grafiği hazırlandı.

Örneklerin absorbans değerleri, bu standart grafikten yararlanılarak $\mu\text{mol/L}$ nitrite çevrildi. Bu yöntem 0.25 ile 100 $\mu\text{mol/L}$ arasında lineerite göstermiştir. Numuneler iki defa çalışıldı ve ortalaması alındı. Yöntemin gün içi ve günler arası değişim katsayısı (CV) sırasıyla, $<4\%$ ve $<7\%$ olarak bulunmuştur (121).

3.4. Hidrojen Peroksit Analizi :

Numunelerin hidrojen peroksit miktarları Loukides ve arkadaşlarının (61) tarif ettiği metoda göre yapıldı.

Önce 10 numune için assay çözeltisi hazırlandı. Bunun için 3 ml 3',3,5,5'-tetrametil benzidin çözeltisi alındı ve üzerine 300 μL horseradish peroksidaz çözeltisi ilave edilerek karıştırıldı.

Tablo-9: Hidrojen peroksit analizi

Çözelti	Standart (numune) tüpü	Kör tüpü
Assay reaktifi	250 (500) µL	250 (500) µL
Standart çözeltiler	250 (500) µL	-----
Distile su	-----	250 (500) µL
18 N sülfürik asit	25 (40) µL	25 (40) µL

Tüp içerikleri bir pipetle karıştırılıp reaksiyon durduruldu. Standartların absorbans değerleri, 450 nm'de kör numunesi ile sıfır absorbansa ayarlanmış spektrofotometrede ölçüldü. Elde edilen değerler lineer bir grafik kağıdında absorbans/konsantrasyon eğrisine dönüştürüldü.

(Bu metod, minimum 0.1 µM hidrojen peroksiti ölçebilmektedir.)

İstatiksel Değerlendirme:

İstatiksel değerlendirmeler Windows uyumlu SPSS version 10.0 paket programı ile yapıldı. Sonuçlar, ortalama ± standart hata olarak verildi. Gruplardaki değişkenlerin normal dağılım göstermediği 'Kolmogorov-Smirnov Testi' ile saptandı ($p < 0,05$). Hasta grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, hasta grubunun zaman içindeki değişimi Wilcoxon testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

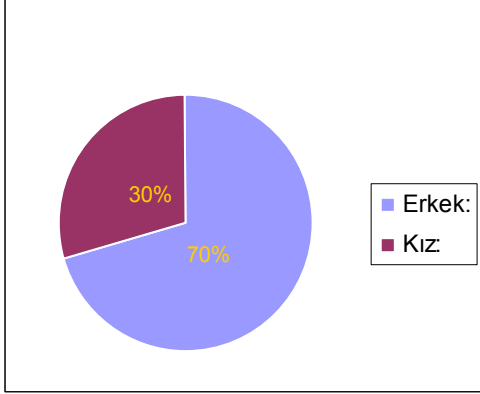
4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 1 gün-10 yaş arası toplam 37 çocuk hastanın 10'u kız (%27), 27'si erkekti (%73). Hasta grubunun %70'ini erkek, %30'unu kız hastalar oluşturdu (şekil-5). Kontrol grubunun ise %80'i erkek, %20'i kız hastaydı (şekil-6).

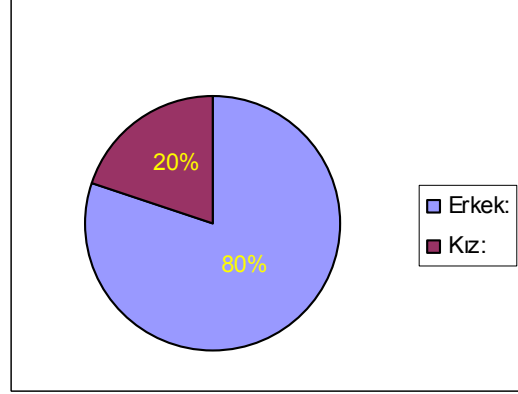
Hasta gruptaki çocukların ortalama yaşları $13,7 \pm 5,1$ ay, kontrol grubunun ise $17,8 \pm 4,2$ ay olarak saptandı. Hasta grubunun %44'ünü, kontrol grubunun %60'nı yenidoğan (0-28 gün) hastalar oluşturdu. Kontrol grubu ile hasta grubu arasında yaş açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Hastaların tamamı solunum cihazına bağlı ve bilinci kapalıydı. Solunum cihazında bulunan hastaların 6'sı (%16,2) BIPAP (Bilevel Positive Airway Pressure), 4'ü (%10,8) SIPPV (Synchronised İntermittent Positive Pressure Ventilation) ve 27 tanesi (%72,9) SIMV (Synchronised İntermittent Mandatory Ventilation) modundaydı.

Pnömonili hastaların incelenmesinde; %66,6'sında (18 hasta) erken başlangıçlı pnömoni, %33,3 'ünde (9 hasta) geç başlangıçlı pnömoni tespit edildi. Erken başlangıçlı pnömonili hastaların 1'inde, geç başlangıçlı pnömonili hastaların 6'ında etken saptandı. En çok üreyen mikroorganizmaların *pseudomonas*, *kandida* ve *stafilokoklar* olduğu gözlemlendi. Erken başlangıçlı pnömonili yenidoğan hastada *stafilokok* üredi. Geç başlangıçlı pnömonide en çok üreyen mikroorganizmanın *pseudomonas* olduğu saptandı (%57). *Pseudomonas* özellikle uzun süreli solunum cihazı desteği gören nöroloji hastalarında tespit edildi. *Kandida* yine uzun süreli solunum cihazına bağlı nörolojik problemi olan hastada ve konjenital kalp hastalığı olan bir hastada saptandı (%28).



Şekil-5: Hasta grubun cinsiyet yüzdesi



Şekil -6: Kontrol grubu cinsiyet yüzdesi

Nazogastrik beslenme, her iki grupta da en fazla tercih edilen beslenme şeklini oluşturdu. Kontrol grubunda nazogastrik beslenme oranı %60 iken, pnömoni grubunda bu oran %52 olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubunun aldığı protein miktarları arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Hastane enfeksiyonu saptanan hastaların %83'nün, nazogastrik ile beslendiği belirlendi (tablo-10).

Tablo-10: Pnömoni grubu verileri

No	Yaş	Cinsiyet	Beslenme şekli	Aldığı protein (gr/kg)	Klinik pulmoner enfeksiyon puanlaması	CRP (mg/dl)	NO (µmol/L)	H ₂ O ₂ (µmol/L)
1	1gün	E	-	-	3	3	51,2	0,3
2	9ay	E	NG	1	6	14	160	1,4
3	3yaş	K	NG	2	4	51	84,8	0,2
4*	10 yaş	E	NG	2	3	41	12,8	0,6
5	1gün	K	-	-	4	3	57,6	0,5
6	4gün	E	NG	1	3	21	50,4	1,05
7	4gün	K	NG	1	5	3	77,6	1,5
8	2 ay	E	TPN	1	3	34	54,4	0,3
9	1ay	E	NG	2	4	3	56,8	1,3
10*	1 ay	E	TPN	2	2	3	49,6	0,5
11	10gün	E	TPN	1	5	3	68	1,1
12*	3 yaş	E	NG	2	5	58	148	0
13	1ay	E	NG	2	6	34	187,2	0
14*	1 ay	E	NG	2	4	5	92	0
15	7 gün	K	TPN	1	2	3	20	0
16*	2 gün	E	-	-	3	3	52	0,75
17	3ay	K	TPN	1	4	3	146,4	1,25
18	3gün	E	-	-	6	8,5	91,2	0,6
19	2 gün	E	-	-	3	3	84,8	3,15
20	4 yaş	E	NG	1	4	3	135,2	0,35
21	2 gün	E	-	-	5	3	16,8	0,1
22	1gün	E	-	-	4	3	92	0,45
23	2 gün	E	-	-	3	10	40,8	0,45
24	2 yaş	K	NG	2	4	60	20,1	-
25*	2 yaş	K	NG	3	6	168	11,3	-
26	5 yaş	E	NG	1	3	42	10,9	-
27*	2 ay	K	NG	2	3	16	8,8	-

*Kan veya trakeal aspirat kültürde üreme

Tablo-11: Kontrol grubu verileri

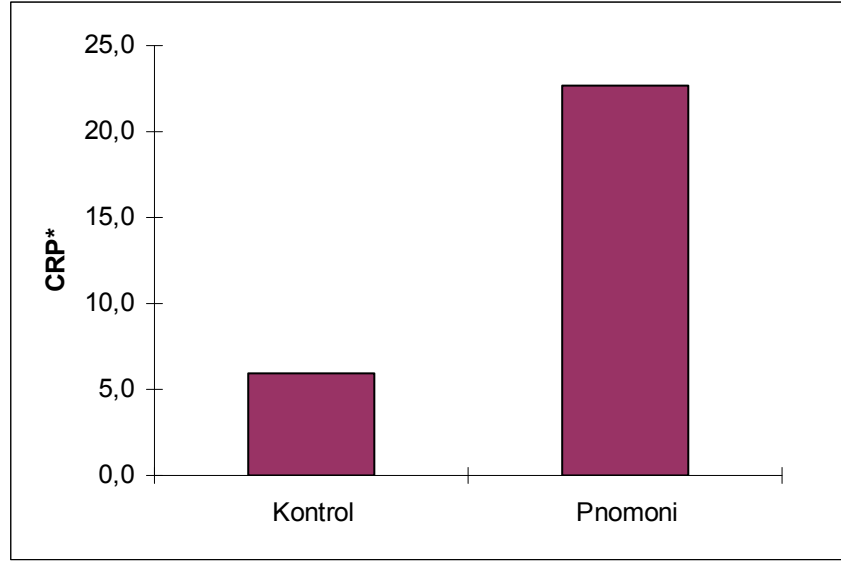
No	Yaş	Cinsiyet	Beslenme şekli	Aldığı protein (gr/kg)	Klinik pulmoner enfeksiyon puanlaması	CRP (mg/dl)	NO (µmol/L)	H ₂ O ₂ (µmol/L)
1	1 gün	E	-	-	1	3	4,8	1,15
2	1 gün	E	-	-	1	3	0,8	0,2
3	3 gün	E	NG	0,5	1	8	34,4	0,6
4	10 yaş	E	NG	2	1	20	15,2	0,0
5	4 yaş	E	NG	2	1	3	3,2	0,6
6	1 ay	E	TPN	2	1	3	32,8	1,65
7	3 ay	K	NG	1	1	3	24,8	0,0
8	10 gün	K	TPN	2	1	3	41,6	0,4
9	4 gün	E	NG	1	1	3	26,4	0,1
10	3 gün	E	NG	0,5	1	3	9,6	1,2

Kontrol grubundaki hastaların 4'ünü (%40) hipoksik iskemik ensefalopati, 2'si (%20) konjenital kalp hastalığı, 2'si (%20) intrakraniyal kanama, 1'i (%10) subakut sklerozan panensefalit, 1'i (%10) epilepsi tanılarını almıştı. Hastaların 2'sinde CRP (+)'liği görüldü. Ancak klinik pulmoner enfeksiyon puanlaması ile 1 puan alan hastalar kontrol grubu olarak kabul edildi.

Tablo-12: Kontrol ve pnömoni grubunun fizik muayene ve laboratuvar bulguları

Bulgu	Kontrol		Pnömoni	
	Sayı (n)	%	Sayı (n)	%
Ateş (°C)				
36,5-38,4	10	100	19	70,4
38,5-38,9	-	-	4	14,8
>=39 ve 36,4<	-	-	4	14,8
Trakeal sekresyon				
Sekresyon yok	6	60	-	-
İltihabi olmayan sekresyon	4	40	14	51,8
İltihabi sekresyon	-	-	13	48,2
Kanda beyaz küre sayısı ((bin/ mm³))				
4-11	3	30	9	33,4
<4-11>	7	70	18	66,6

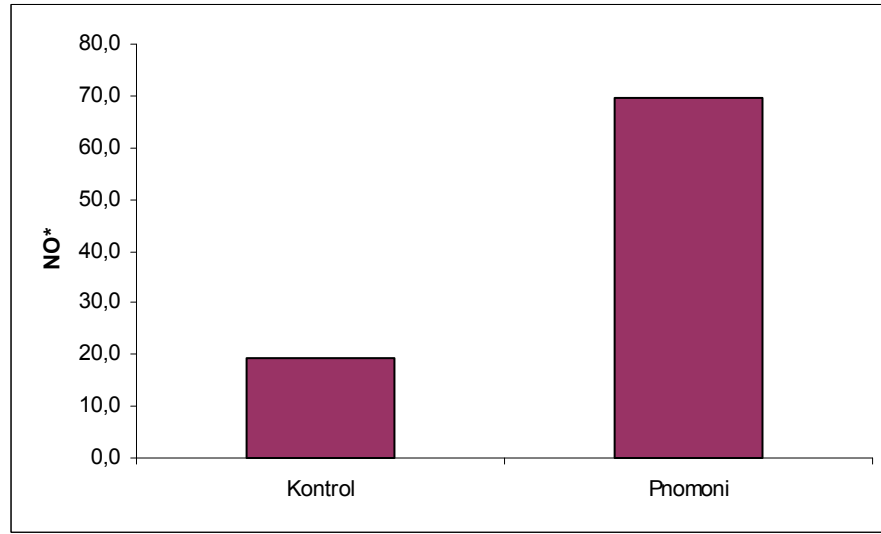
Pnömoni grubunun % 70.4'ünde, kontrol grubunun ise %100'ünde vücut ısısı 36,5-38,4°C olarak ölçüldü. 40°C ölçülen en yüksek vücut ısısı oldu ve 1 hastada ölçüldü (Tablo-12). Pnömonili hastalarda, solunum yollarında sekresyon saptandı. Pürülan sekresyon oranı ise; %48,2 olarak değerlendirildi (Tablo-12). Solunum yollarında sekresyon artışı tüm bulgulardan önce saptanan semptom olarak gözlemlendi.



*mg/dl

Şekil-7: Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün CRP değerlerinin karşılaştırılması

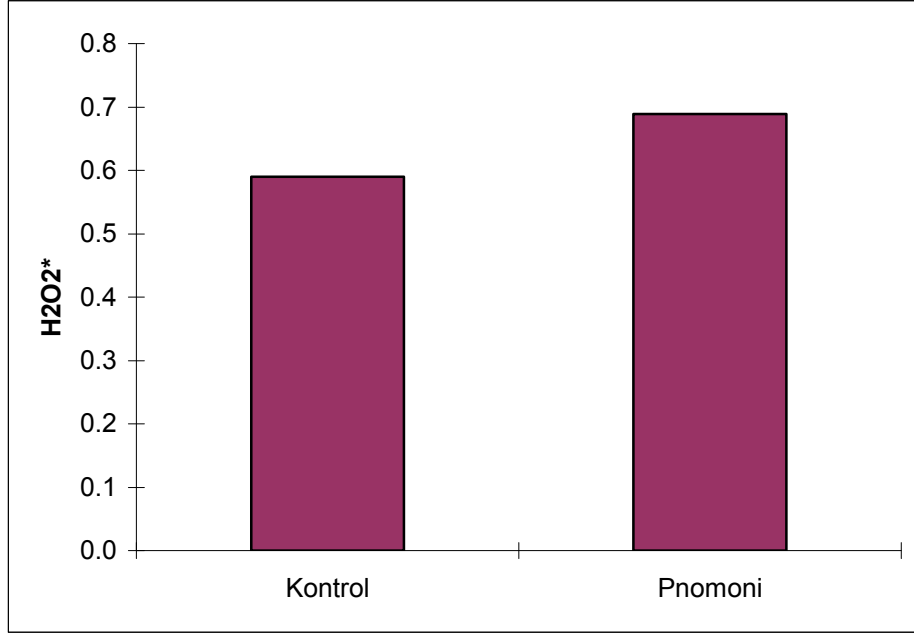
Pnömonili grup ile kontrol grubunun 0. gündeki istatistiksel analizinde; serum CRP değerleri arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,021$) (şekil-7).



* $\mu\text{mol/L}$

Şekil-8:Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün NO değerlerinin karşılaştırılması

Pnömonili grup ile kontrol grubunun 0. gündeki istatistiksel analizinde; soluk havası NO değerleri arasında anlamlı fark saptandı ($p<0,0001$) (şekil-8).



* µmol/L

Şekil-9: Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün H₂O₂ değerlerinin karşılaştırılması

Pnömonili grup ile kontrol grubunun 0. gündeki istatistiksel analizinde; soluk havası H₂O₂ analizinde anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (şekil-9).

Pnömonili hastaların 0. gün soluk havası H₂O₂ değerleriyle, 0. gün serum beyaz küre sayıları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$).

Pnömoni ve kontrol grubu arasında 0. gün NO analizinde; NO pnömoni grubunda kontrol grubuna göre ($69,7 \pm 9,6'$ karşılık $19,4 \pm 4,6$), istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p<0,0001$) (Tablo-13). Pnömonili hastaların 0. ve 3. gün NO ölçümlerinin kıyaslamasında ($69,7 \pm 9,6'$ a karşılık $29,5 \pm 4,7$) günler içerisinde NO değerinde düşme olması, istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi ($p<0,05$) (Tablo-14).

Pnömoni ve kontrol grubu kıyaslamasında; H₂O₂ değeri açısından 0. günde ($0,7 \pm 0,13'$ a karşılık $0,6 \pm 0,18$) hastalar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo-13). Pnömonili hastaların 0.ve 3. gün H₂O₂ karşılaştırmalarında ($0,7 \pm 0,13'$ a karşılık $0,2 \pm 0,06$) günler içerisinde H₂O₂ değerinde düşme olması, istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo-14).

Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gündeki CRP karşılaştırmalarında; pnömoni grubunda kontrol grubuna göre ($22,6 \pm 6,66$ 'a karşılık $5,9 \pm 1,77$) CRP değerinin yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,021$) (Tablo-13). Pnömonili hastaların 0. ve 3. gün CRP değerleri ($22,6 \pm 6,66$ 'a karşılık $24,5 \pm 7,86$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo-14).

Tablo-13: Pnömoni ve kontrol grubunun 0. gün enflamatuvar parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması

	NO ($\mu\text{mol/L}$) x \pm S.H.	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol/L}$) x \pm S.H.	CRP (mg/dl) x \pm S.H.
Kontrol	19,4 \pm 4,6	0,6 \pm 0,18	5,9 \pm 1,77
Pnömoni	69,7 \pm 9,6	0,7 \pm 0,13	22,6 \pm 6,66
P	0,0001	0,677	0,021

Tablo-14: Pnömonili hastaların 0 ve 3. gün enflamatuvar parametrelerinin istatistiksel karşılaştırılması

Pnömoni	NO ($\mu\text{mol/L}$) x \pm S.H.	H ₂ O ₂ ($\mu\text{mol/L}$) x \pm S.H.	CRP (mg/dl) x \pm S.H.
0. Gün	69,7 \pm 9,6	0,7 \pm 0,13	22,6 \pm 6,66
3. Gün	29,5 \pm 4,7	0,2 \pm 0,06	24,5 \pm 7,86
P	<0,05	<0,05	>0,05

X: Aritmetik ortalama

S. H.: Standart hata

5. TARTIŞMA

Reaktif oksijen radikalleri, çoğu hastalıkların primer sebebi olmasalar da patogeneplerinde rol oynayabilir ve doku hasarını artırabilirler. Oksidan molekül artışı vücutta bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerine çıkar veya antioksidanlar yetersiz olursa, yani denge bozulursa sözkonusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimlerini bozarak zararlı etkilere yol açar.

Akciğer inflamasyonu olan hastalarda, soluk havasında hava yoğunlaştırıcısı ile enflamasyon derecesi ölçülmesi günümüzde artık sıklıkla kullanılan bir yöntem olarak görülmektedir (1, 2). Soluk hava yoğunlaştırıcısı; hem erişkinlerde hem de çocuklarda birçok pulmoner hastalıkta (astım, kistik fibrozis, interstisyel akciğer hastalığı, kronik obstrüktif akciğer hastalığı) kullanılmaktadır. Bu yöntemle, hidrojen peroksit, izoprostan, prostoglandinler, lökotrienler gibi birçok belirteç saptanabilmektedir. Nitrik oksit bunlar içinde en çok çalışılan parametredir (124). Soluk havasında serbest radikal çalışması bugüne kadar özellikle erişkin hastalar üzerinde çalışılmıştır. Çocuk hastalarla ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Çocuklar üzerinde şimdiye kadar kadar özellikle astımlı hastalar ile ilgili çalışmalar mevcuttur (125).

Serbest oksijen radikalleri, akciğer hastalıklarının gelişim mekanizmasında önemli rol oynar. Bu belirteçlerin kandaki tespiti çok güvenilir değildir. Şu ana kadar yapılan bazı çalışmalarda plazma nitrat /nitrit toplamı alınarak NO hakkında fikir edinilmeye çalışılmıştır. Plazma nitrit ve nitrat endojen nitrik oksitin metabolizmasının son ürünleridir. Biban ve arkadaşlarının (126), 133 yenidoğanda yaptığı bir çalışmada soluk havasında NO ölçümü ve plazma nitrit/nitrat ölçülerek karşılaştırılma yapılmış ve soluk havasındaki NO seviyesinin plazma nitrit/nitrat değeri ile korelasyon göstermediği, böylelikle de plazma nitrat/nitrit seviyesinin soluk havasındaki NO'ı temsil edemeyeceği sonucuna varılmıştır. Solunum cihazındaki hastalarda serbest radikal çalışması literatürde az sayıda bulunmaktadır. Bunlardan Adrie ve arkadaşlarının (127), yoğun bakım ünitesinde erişkin hastalarda yaptığı bir çalışmada; 49 entübe hastanın soluk havasında NO, nazal NO ve plazma nitrat konsantrasyonları ölçülmüş, pnömonisi olan 21 hastanın (%43), pnömonili olmayan gruba göre soluk havası NO ve nazal NO seviyeleri yüksek bulunurken, plazma nitrat seviyeleri arasında bir fark saptanmamıştır.

Yaptığımız çalışmada; solunum cihazına bağlı pnömoni tanısı almış çocuk hastalarda soluk havasındaki 0. gün NO değerleri, kontrol grubundan daha yüksek bulundu ($p < 0,0001$). Bu veriye dayanılarak, NO'in pnömoninin erken tanısında oldukça güvenilir bir belirteç olduğu şeklinde yorumlandı. Pnömonili hastaların soluk havasındaki NO değerinin 0. günde en yüksek düzeyde olup, 3. günde azalma göstermesi, başlanan antibiyotik tedavisine bağlı olarak akciğerdeki enflamasyonun baskılanması sonucu olduğu düşünüldü. Yapılan çalışmaların tümünde enflamasyon durumunda, NO artmış olarak gösterilememiştir. Linnane ve arkadaşları (128), kistik fibrozisli hastalarda yaptığı bir çalışmada; kontrol grubunun soluk havası NO seviyeleri, hem stabil kistik fibrozisli hem de alevlenme dönemindeki kistik fibrozisli hastalara göre yüksek bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda tek başına soluk havası NO seviyesi bakmanın kistik fibrozisli hasta gruplarında enflamasyonun varlık ve değerlendirilmesinin yapılamayacağı şeklinde olmuştur. Bu çalışmada NO'in artmamasının olası bir nedeni, hava yolu lümeninin NO difüzyonunu engelleyecek düzeyde tıkanması olabileceği sonucuna varılmıştır.

Hidrojen peroksit oksidatif stres belirteci olması nedeniyle pek çok pulmoner hastalıkta (ARDS, KOAH, bronşektazi, sigara içimi) ekspirasyon havasında bulunabilir (61, 129). Astımlı çocuk hastalar üzerinde yapılmış bir H_2O_2 çalışmasında; astımlı hastaların klinik korelasyonu ile hidrojen peroksit seviyeleri arasında bir paralellik saptanmasına rağmen, solunum fonksiyon testleri ile bir ilişki bulunamamıştır (125).

Bizim çalışmamızda, pnömoni ve kontrol grubunun soluk havası H_2O_2 0. gün düzeylerinin istatistiksel analizi anlamlı bulunmazken ($p>0,05$), pnömonili hastaların 0.gün H_2O_2 değerleri, 3. gün değerlerinden yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu sonuçlar H_2O_2 'in pnömoninin erken tanısında yeterince değerli bir belirteç olmadığını düşündürdü. Pnömonili hastaların 0. gün soluk havası H_2O_2 değerleriyle, 0. gün serum beyaz küre sayıları arasında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmadı ($p>0,05$). H_2O_2 ile lökosit sayısı arasındaki bu durum; soluk havasından elde edilen artan/azalan H_2O_2 seviyesinin kandaki beyaz küre sayısından değil, akciğerde var olan enflamasyon süreciyle yakın ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Erişkin hastalar üzerinde yapılmış bir çalışmada; solunum cihazına bağlı ARDS'li 36, kontrol grubu olarak da akciğer dışı nedenle solunum cihazına bağlı 10 hasta alınarak günlük hidrojen peroksit değerleri çalışılarak karşılaştırılmış; kontrol grubunda hidrojen peroksit değerlerinin $200 \mu\text{mol/l}$ üzerine çıkmadığı ancak, ARDS'li grupta hidrojen peroksit seviyelerinin kontrol grubuna göre 5 kat daha fazla artış olduğu saptanmıştır. Bu hastaların, soluk havalarında hidrojen peroksit belirlenirken, bu oksijen radikallerinin seviyelerinin artımı ile akciğer infiltratif patolojilerin etyolojisi ve prognozuna bakılmaksızın ilişkili bulunmuştur. Ancak; akciğerlerin zedelenme ya da infiltratif zedelenme derecesi ile hidrojen peroksit seviyesinin korelasyonu ile klinik düzeyi belirleme bu molekülün stabil reaktif olmaması ve sağlam dokulara difüzyon nedeni ile tam olmadığı sonucuna varılmıştır (130).

Literatürde solunum cihazına bağlı çocuk hastalar üzerinde yapılmış bir çalışmada; yenidoğan hastalar alınarak, soluk havasında H_2O_2 ölçülmüş, bu metodla noninvazif ve hastanın rutin tedavisini etkilemeden etkin şekilde analizin yeterli madde ile yapılabileceği ortaya konmuştur (1).

Çalışmamız 0. günde; pnömoni grubunda kontrol grubuna göre CRP değerlerinin yüksek olmasını ($p=0,021$), pnömoninin erken tanısında CRP'nin kullanılabilceğini gösterdi.

Sonuç olarak; pnömonili hastalarda soluk havasındaki NO ölçümü ve serum CRP' nin soluk havasındaki H₂O₂'e göre daha anlamlı olduğu görüldü. Ayrıca pnömonili hastalarda 0. günde soluk havası NO ile serum CRP ölçümleri arasında istatistiksel bir farkın olmaması, pnömonili hastalarda soluk havası NO ölçümünün, serum CRP'ye bir üstünlüğünün olmadığını düşündürdü. Ancak CRP'nin akciğer enfeksiyonlarına özgül olmaması ve vücudun herhangi bir bölgesindeki enfeksiyon varlığında da artış göstermesi nedeniyle pnömonide NO'ye göre daha az özgül olması doğaldır. Bu nedenle pnömonide NO ve CRP erken dönemde artış gösterse bile NO'in özgüllüğü daha yüksek, CRP'nin ise yapılması daha kolaydır.

Bu çalışma ile, solunum cihazına bağlı çocuk hastalarda soluk havası yoğunlaştırma yöntemiyle, soluk havasında NO ölçümünün pnömoninin erken tanısında kullanılabileceği düşünüldü. Ancak ayrıca bir donanım gerektirmeyen ve daha kolay ölçülebilen serum CRP'nin de aynı amaçla kullanılabileceği sonucuna varıldı.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Solunum cihazına bağlı pnömonili grupta, kontrol grubuna göre 0. gün NO değerleri, anlamlı derecede yüksek bulundu.
2. Solunum cihazına bağlı pnömonili hastaların 0. gün CRP değerleri, kontrol grubundan yüksek saptandı.
3. Pnömonili ve kontrol grubunun 0. gün H₂O₂ değerleri arasında, anlamlı bir fark bulunamadı.
4. Pnömoninin erken teğhisinde, nitrik oksitin CRP'ye bir üstünlüğü olmadığı görüldü.
5. Soluk havasından elde edilen hidrojen peroksit seviyeleri, kandaki beyaz küre sayısı ile ilişkili bulunmadı.
6. Pnömoninin erken tanısında daha az özgül olmasına rağmen CRP'de pratik bir test olarak düşünülebilir.
7. Nitrik oksit, özellikle solunum cihazı ilintili pnömoninin erken tanısında daha özgül olabilir.

7. ÖZET

SOLUNUM CİHAZINA BAĞLI PNÖMONİLİ HASTALARDA SOLUK HAVASINDAKİ NİTRİK OKSİT VE HİDROJEN PEROKSİTİN TANISAL DEĞERLERİ

Amaç: Akciğer hastalıklarının izleminde serbest radikaller özellikle de NO artan bir öneme sahiptir. Son zamanlarda soluk hava yoğunlaştırma yöntemi ile bu parametrelerin ölçümü oldukça kolaylaşmıştır. Çalışmada örnekleme kolay ve hastaya herhangi bir risk taşımayan soluk yoğunlaştırma yöntemiyle, ölçülecek olan enflamatuvar parametrelerin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem:Yapılan çalışmada; solunum cihazına bağlı 27 pnömonili ve 10 kontrol olmak üzere toplam 37 hastanın soluk hava yoğunlaştırıcısı ile soluk havası alınarak nitrik oksit ve hidrojen peroksit çalışıldı. Hastalara pnömoni tanısı Amerikan Göğüs Cemiyeti'nin verilerine göre konuldu. Klinik pulmoner enfeksiyon skorlaması da tanıda yardımcı olarak kullanıldı. Hastaların 0. ve 3. günlerinde soluk havasında NO, H₂O₂ ve serumda CRP çalışıldı.

Bulgular: Pnömonili grupta 0. gün serum CRP ve soluk havası NO değerleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunurken, H₂O₂ değerleri arasında fark bulunmadı.

Sonuç:Çalışmamızda, nitrik oksitin enflamasyonu göstermede oldukça anlamlı olduğu, özellikle solunum cihazı ilintili pnömoni gelişiminde erken tanıda değerli olabileceği ancak, serum CRP ölçümünün de aynı amaçla kullanılabilceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Nitrik oksit, CRP, H₂O₂, solunum cihazı, pnömoni, soluk havası

8. SUMMARY

DIAGNOSTIC VALUE OF THE NITRIC OXIDE AND HYDROGEN PEROXIDE IN THE BREATHS OF THE PNEUMONIC PATIENTS DEPENDED ON MECHANIC VENTILATOR

Aim: The measurement of free radicals, especially NO, have an increasing importance in the assessment of lung diseases. Lately, measurement of these parameters turned out to be easier with the help of EBC method. In this study, we aimed to evaluate the inflammatory parameters measured by EBC which provides an easy and safe method.

Materials and Methods: In this study; NO and H₂O₂ levels were determined with the help of EBC in the exhaled breaths of a total of 37 subjects depended on mechanic ventilator, 27 patients with pneumonia and 10 controls. The patients were diagnosed as pneumonia according to the criteria of ATS and clinical pulmonary infection scores were also used for the diagnosis. Nitric oxide and H₂O₂ levels in the exhaled breaths and serum CRP of subjects were measured at the beginning and on the 3rd days of respiratory support.

Result: Nitric oxide levels in exhaled breath and serum CRP levels of subjects with pneumonia were significantly higher than those of control group at the beginning, while there was no difference between the H₂O₂ values.

Conclusion: Our study revealed that the NO is significant in demonstrating the inflammation, especially valuable in early diagnosis of mechanic ventilator associated pneumonia, but serum CRP measurement can be used for the same purpose as well.

Key words: Nitric oxide, CRP, H₂O₂, pneumonia, exhaled breath, mechanic ventilator.

9. KAYNAKLAR

1. **Cheah F.C., Darlow B.A., Winterbourn C.C.** Problems associated with collecting breath condensate for the measurement of exhaled hydrogen peroxide from neonates on respiratory support. *Biol Neonate*. 2003;84(4):338-41.
2. **Kietzman D., Kahl R., Müller M., Burchardi H., Kettler D.** Hydrogen peroxide in breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS. *Intensive Care Med.*(1993) 19:78-81
3. **Kharitonov SA, Barnes PJ.** Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Biomarkers*. 2002 Jan-Feb;7(1):1-32.
4. **Paredi P, Kharitonov SA, Barnes PJ.** Analysis of expired air for oxidation products. *Am J*
5. **Balint B, Kharitonov SA, Hanazawa T, Donnelly LE, Shah PL, Hodson ME, Barnes PJ.** Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate in cystic fibrosis. *Eur Respir J*. 2001 Jun;17(6):1201-7.
6. **Kharitonov S, Alving K,** Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. The European Respiratory Society Task Force. : *Eur Respir J*. 1997 Jul;10(7):1683-93.
7. **Carpagnano G.E., Barnes P.J., Francis J., Wilson N., Bush A., Kharitonov S.A.** Breath Condensate pH in Children With Cystic Fibrosis and Asthma *CHEST* 2004; 125:2005-2010
8. **Corradi M, Montuschi P, Donnelly LE, Pesci A, Kharitonov SA, Barnes PJ.** Increased nitrosothiols in exhaled breath condensate in inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Mar;163(4):854-8 *Am J Respir Crit Care Med*. 2002 Jun 15;165(12):1670-1; author reply 1671.

9. **Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, Psathakis K, Panagou P, Loukides S.** pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 May 15;165(10):1364-70. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 May 15;165(10):1349-50. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003 Mar 1;167(5):800; author reply 800-1.
10. **van der Vliet A, Eiserich JP, Shigenaga MK, Cross CE.** Reactive nitrogen species and tyrosine nitration in the respiratory tract: epiphenomena or a pathobiologic mechanism of disease? *Am J Respir Crit Care Med.* 1999 Jul;160(1):1-9.
11. **Tanırđan G, Koldaş m, Uras F.:** Serbest radikaller: An introduction to free radical biochemistry. *Haseki Tıp Bülteni* Aralık 1994; 32(4):304-308)
12. **Kenneth BB and Bruce NA.:** The free radical theory of aging matures. *Physiol Reviews*1998;78(2):547-81)
13. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free radicals in biology and medicine, Oxford;ClarendonPres1989.
14. **Grisham M.B.** Reactive metabolites of oxygen and nitrogen in biology and medicine,Austin;R.G.Landesco, 1992)
15. **Gustaaf A, Dekker P, Herman P and Van G.:** Endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Perinat Med* 1996;24:99-117)
16. **Elstner EF.** Oxygen radicals:Biochemical basis for their efficiency. *Klin Wochenschr* 1991;69:949-56)
17. **Sies H.:** Role of reactive oxygen species in biological processes.*Klin Wochenschr*1991;69:965-68.
18. **Kim YH, Koh Jy.**The role of NADPH oxidase and neuronal nitric oxide synthase in zinc-induced poly (ADP-ribose) polymerase activation and cell death in cortical culture. *Exp Neurol* 177(2):407-418,2002).
19. **Green P, Glozman S, Weiner L, Yavin E.** Enhanced free radical scavenging and decreased lipid peroxidation in the rat fetal brain after treatment with ethyl decosahexanoate. *Biochim Biophys Acta* 29;1532(3):203-212,2001.
20. **Halliwell B, Chirico S:** Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 (Suppl): 715 S-7725 S, 1993)
21. **Slater TF, Cheeseman KHH, Davies MJ, Proudfoot K, Xin W:** Free radicals mechanisms in relation to tissue injury. *Proc. Nutr. Soc.* 46:1-12, 1987.
22. **Southorn PA, Powis G.:**Free radicals in medicine, involvement in human disease. *Mayo Clin Proc* 1988;63:390-408)
23. **Akkuş İ.** Serbest oksijen radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimosza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya, 1995,1-20.

24. **Moraes E, Keyse S, Tyrell R.:**Mutagenesis by hydrogen peroxide treatment of mammalian cells: A molecular analysis. *Carcinogenesis* 1990;11:283-93.
25. **Robinson MJ, Osheroff N.** Stabilisation of the topoisomerase II-DNA cleavable complex by antineoplastic drugs: Inhibition of enzymemediated DNA relegation by 4'(9' acridinylamino) methanesulfone-m-anisidide. *Biochemistry* 29:2511-2515,1990.
26. **Coles B, Rhodas K.:** Smoking nitric oxide and free radicals. *British J of Surgery*1994;81:1693-1700
27. **Gutteridge JMC, Halliwell B.** Antioxidants in nutrition health and disease, Oxford; Oxford University Pres 1994.
28. **Yu BP.** Cellular defences against damage from reactive oxygen species, *Physiol. Rev.* 74:139-162, 1994.
29. **Stocker R, Frei B.** Endogenous antioxidant defences in human blood plasma, Sies H (ed): *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants*, London, Academic Press, 1991, s:213-243.
30. **Halliwell B.** Oxidative stress, nutrition and health:experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans, *Free Rad. Res.* 25:57-74, 1996
31. **Andersson C-M, Hallberg A, Högberg T.** Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug Res.* 28:65-180, 1996.
32. **Halliwell B.** Reactive oxygen species in living systems:source, biochemistry, and role in human. *Am J Med* 1991;91:314-22
33. **Culpitt SV, Russell REK.** The measurement of hydrogen peroxide in airways disease. *Eur Respir Rev* 1999;9:68,246-8.
34. **Jöbsis, Q., Raatgeep, H.C., Schellekens,S.L., Hop, W. C.J.,Hermans, P.W.M.,and de Jongste, J.C.** Hydrogen peroxide in exhaled air of healthy children:reference values.*Eur Respir J* 12, 483-485.1998.
35. **Antczak A, Nowak D, Bialasiewicz P, Kasielski M.** Hydrogen peroxide in expired air condensate correlates positively with early steps of peripheral neutrophil activation in asthmatic patients. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz.)* 1999;47:119-126
36. **P.N. Richard Dekhuijzen, Katja K. H.Aben, Ingrid Dekker, Leon P.H. j. Aarts, Pascal L. M. L. Wielders , Cees L. A. Van Herwaarden, and Aalt Bast.** Increased Exhalation of Hydrogen Peroxide in Patients with Stable and Unstable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:813-16.

37. **Ignarro JJ, Byrns RE, Wood KS.** Biochemical and pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radicals in vasodilatation. In: Vanhoutte PM ed. Vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium. New York: Raven press 1988:427-436
38. **Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S.** Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-26.
39. **Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA.** Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Reviews* 1991 ; 43 (29): 109-37
40. **Lancaster J.** Nitric oxide, principles and actions. Copyright by Academic Press. Inc. 1996. California/USA
41. **Marletta MA.** Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993, 268: 1231-5)
42. **Stefanovic-Racic, M., Stadler, J., Evans, C. H.** Nitric Oxide and Arthritis. Basic Science Symposium on Nitric Oxide at the 56th annual meeting of the American College of Rheumatology, Atlanta, 1992.
43. **Lowenstein CJ, Dinerman JL, Synder SH.** Nitric oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-37.
44. **McCall T, Vallance P.** Nitric oxide takes centre-stage with newly defined roles. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:1-6.
45. **Marlette MA.** Mammalian synthesis of nitrite, nitrate, nitric oxide and N-Nitrosating agents. *Chem Res Toxicol* 1987:249-57.
46. **Croen KD.** Evidence for an antiviral effect of nitric oxide. *J Clin Invest* 1993;91:2446-52
47. **Kwon NS, Stuehr DS, Nathan CF.** Inhibition of tumor cells ribonucleotide by NO and effect of DNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;179:442-8
48. **Knowles RG, Moncada S.** Nitric oxide synthase in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-58
49. **Garthwaite J., Boulton CL.** Nitric oxide signaling in the central nervous systems. *Ann Rev Physiol* 1995,57:683-706.
50. **Synder SH.** Nitric oxide and neurons. *Curr Opin Neurobiol* 1992;2:323-8
51. **Boeck S, Pelekmans PA, Bulth H.** Evidence for nitric oxide as a mediator of non-adrenergic non-cholinergic relaxation induced by ATP and GABA in the canine gut. *Br J Pharmacol* 1992;102:434-6
52. **Bachmann S, Mundel P.** Nitric oxide in the kidney. Synthesis, localisation and function. *Am J Kidn Dis* 1994 ;24(1):112-29

53. **Calver A, Colier J, Moncada S.** Effect of local intra arterial N-monomethyl-L-arginine in patients with hypertension. *J Hypertension* 1992;10:1025-31
54. **Muruganandam A, Mutus B.** Isolation of nitric oxide inhibits platelet adhesion to vascular endothelium *Lancet* 1988;11:1057-58
55. **Bircan A, Kaya Ö, Gökırmak M, Öztürk Ö, Şahin Ü, Akkaya A.** Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2006; 54(1): 22-29.
56. **Sergei A. Kharitonov and Peter J. Barnes.** Exhaled Markers of Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* Vol 163. pp 1693-1722, 2001
57. **Keleş M, Tezel Ç, Ürek Ş, Kıral H, Koşar A, Temürtürkan K ve ark.** Çocukluk çağı bronşektazilerinde cerrahi tedavi. *Heybeliada Tıp Bülteni* 2001;7:30-3.
58. **Ashour M, Al-Kattan KM, Jain SK, Al Majed S, Al Kassimi F.** Surgery for unilateral bronchiectasis: results and prognostic factors. *Tuber Lung Dis* 1996; 77:168-72
59. **Türkiye Klinikleri J Int Med Sci** 2005, 1(46):68-70
60. **Tsang KW, Leung R, Fung PC, Chan SL, Tipoe GL, Ooi GC, Lam WK.** Exhaled and sputum nitric oxide in bronchiectasis: correlation with clinicalChest. 2002 Jan;121(1):88-94. parameters.
61. **Loukides S, Horvath I, Wodehouse T, Cole PJ, Barnes PJ.** Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Sep; 158(3):991-4
62. **Fraser RG, Peter Pare JA, Pare PD, Fraser RS, Genereux GP. İn: Bralow L.** Diseases of the airways. *Diagnosis of Diseases of the Chest.* 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1990:1208-1219.
63. **Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri 2.** İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1990; 867-71.
64. **Colten RH. Cystic Fibrosis. İn: Braunwald E, İsselbacher KJ, Petersdorf RG, et al, ed.** Harrison's Principles of Internal Medicine 2. Hamburg: McGraw-Hill Book Company. 1987; 1085-87.
65. **Dodge JA.** Why screen for cystic fibrosis? A clinician's view. *Acta Paediatr Suppl.* 1999; 88:28-32.
66. **Ho LP, Innes JA, Greening AP.** Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax.* 1998; Aug; 53(8):680-4
67. **Jobsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, Kroesbergen A, Hop WC, de Jongste JC.** Hydrogen peroxide and nitric oxide in exhaled air of children with cystic fibrosis during antibiotic treatment. *Eur Respir J.* 2000 Jul; 16(1):95-100.

68. **Hansen T, Corbet A.** Chronic lung disease. In: Taesch HW, Ballard RA (eds). Avery's Diseases of the Newborn (7th ed). Philadelphia: WB Saunders. 1998 : 634-644.
69. **Nievas FF, Chernick V.** Bronchopulmonary dysplasia (chronic lung disease of infancy). Clin Pediatr 2002;41:77-85.
70. **Jobe A. H, Bancalari E.** Bronchopulmonary dysplasia. Am j Respir Crit Care Med 2001;163:1723-1729.
71. **Groneck P, Speer CP.** İnflamatory mediators and bronchopulmonary dssplasia. Arch Dis Child 1995;73:F1-F3.
72. **Baraldi E, Bonetto G, Zacchello F, Filippone M.** Low exhaled nitric oxide in school-age children with bronchopulmonary dysplasia and airflow limitation. Am J Respir Crit Care Med. 2005 Jan 1;171(1):68-72. Epub 2004 Oct 11
73. **Avital A, Uwyed K, Berkman N, Godfrey S, Bar-Yishay E, Springer C.** Exhalednitricoxideandasthmainyoungchildren. Pediatr Pulmonol. 2001 Oct;32(4):308-13.
74. **Türktaş H.** Astma. 1. Baskı. Ankara, 1998;1-12
75. **Jobsis Q, Raatgeep HC, Hermans PW, de Jongste JC.** Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children. Eur Respir J. 1997 Mar;10(3):519-21.
76. **Juven T, Mertsola J, Waris M, et al.** Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. Pediatr Infect Dis J 2000; 19: 293-8.
77. **Coote N, Kenzie M.** Diagnosis and investigation of bacterial pneumonias. Pediatr Respir Rev 2000;1: 8-14.
78. **Russell M.** Bacterial pneumonias: management and complications. Pediatr Respir Rev 2000; 1: 14-20
79. **Henrickson KJ.** Viral pneumonia in children. Sem Pediatr Infect Dis J 1998; 9: 217-33.
80. **Toraks Derneği Çocukluk Çağında Toplum Kökenli Pnömoni Tanı ve Tedavi Rehberi** Ağustos 2002, Cilt 3, Sayı 0, Sayfa(lar) 017-027
81. **Klein JO.** Bacterial pneumonias. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. Textbook of Pediatrics Infectious Diseases, 4 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. 1998: 273-84
82. **Adler-Shohet F, Lieberman JM.** Bacterial pneumonia in children. Sem Pediatr Infect Dis 1998; 9: 191-98.
83. **Nohynek H, Valkeila E, Leinonen M, et al.** ESR, white cell count and serum C-reactive protein in assessing etiologic diagnosis of acute lower respiratory infections in children. Pediatr Infect Dis J 1995; 14: 484-90.

84. **Romero P, Rodriguez B, Martinez S, Canizares R, Sepulveda D, Manresa F.** Analysis of Oxidative Stress in Exhaled Breath Condensate From Patients With Severe Pulmonary Infections. *ARCHIVOS DE BRONCONEUMOLOGIA* 2006 Mar;42(3):113-119.
85. **Corradi M, Pesci A, Casana R, Alinovi R, Goldoni M, Vettori MV, Cuomo A.** Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. *ELSEVIER* 2003 Feb;8(1):26-30.
86. **Kirschvink N, Marlin D, Delvaux F, Leemans J, Clercx C, Sparkes A, Gustin P.** Collection of exhaled breath condensate and analysis of hydrogen peroxide as a potential marker of lower airway inflammation in cats. *Vet J.* 2005 May;169(3):385-96.
87. **Ashbaugh BD, Bigelow db, Petty TL, Levine BE.** Acute Respiratory Distress in adults. *Lancet* 1987;11: 319-323.
88. **Redding GJ.** ARDS in pediatric patient. In: Chemick V, Boat TF, Kendig EL. *Disorders of the Respiratory Tract in Children.* Philadelphia: WB Saunders,1998: 641-653
89. **Bellington GJ.** The pulmonary physician in critical care 6: The pathogenesis of ALI/ARDS. *Thorax* 2002;57:540-546.
90. **American Thoracic Society.** Acute lung injury. Round table conference. *Am J Crit Care Med* 1998;158:675-679.
91. **Vincent JL.** Prevention of nosocomial pneumonia. *Thorax* 1999;54:544-9
92. **Jean Chastre and Jean-Yves Fagon** Ventilator-associated Pneumonia *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, Volume 165, Number 7, April 2002, 867-903
93. **Cook DJ, Walter SD, Cook RJ, Griffith LE, Guyatt GH, Lease D, et al.** Incidence of and risk factors for ventilator-associated pneumonia in critically ill patients. *Ann Intern Med* 1998;129(6):433-440.
94. **Marin H, Kollef MD.** What is ventilator-associated pneumonia and why is it important?. *Respiratory Care.* June 2005 vol 50 no 6
95. **Ibrahim EH, Tracy L, Hill C.** The occurrence of ventilatory-associated pneumonia in a community hospital. *Chest* 2001;120:555-61
96. **Chalfine A, Timsit JF, Acar J.** Antibiotic resistance in nosocomial pulmonary pathogens. *Semin Respir Crit Care Med* 2000;21:45-51
97. **Lynch JP.** Hospital-acquired pneumonia. Risk factors, microbiology, and treatment. *Chest* 2001;119:(S) 373-84
98. **Emad H. Ibrahim, MD; Linda Tracy, MRT; Cherie Hill, BS; Victoria J. Fraser, MD and Marin H. Kollef, MD, FCCP** The Occurrence of Ventilator-Associated Pneumonia in a Community Hospital *Chest.* 2001;120:555-561

99. **Pingleton SK, Fagon JY, Leeper KV.** Patient selection for clinical investigation of ventilator-associated pneumonia. Criteria for evaluating diagnostic techniques. *Chest* 1992;102:553S-6S.
100. **Kollef MH.** Ventilator-associated pneumonia: a multivariate analysis. *JAMA* 1993;270:1965-70.
101. **Skippen P, Cox P, Langley JM, Matlow A, Barker G, Ford-jones EL.** Nosocomial infections in the PICU: Epidemiology and control. In Fuhrman BP, Zimmerman JJ eds. *Pediatric Critical Care 1st ed.* St Louis , Mosby Year Book, 1992,965-88.
102. **E.Demir, N.Kuyucu, E.İnce, A.Kara, N.Kiper** Çocukluk çağında hastane kökenli pnömoni tanı ve tedavi rehberi. *Toraks Dergisi*, ağustos 2002.
103. **Tullu MS, Deshmukh CT, Bajeva SM.** Bacterial nosocomial pneumonia in pediatric intensive care unit. *Postgrad Med* 2000;46:18-22.
104. **Garber SB, Siegel JD. Nosocomial infections. In: Levin DL, Morriss PC eds.** *Essentials of Pediatric Intensive Care*, 2nd ed, New York, Churchill Livingstone, 1997,391-406.
105. **Citak A, Karabocuoglu M, Uysel R, Ugur-Baysal S, Uzel N.** Bacterial nosocomial infections in mechanically ventilated children. *Turk J Pediatr.* 2000 Jan-Mar;42(1):39-42.
106. **Jang AS, Choi IS, Lee S, et al.** Nitric oxide metabolites in induced sputum; a marker of airway inflammation in asthmatic subjects. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1136-1142.
107. **Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S.** The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol.* 1987;92:639-46.
108. **Dweik R.** The promise and reality of nitric oxide in the diagnosis and treatment of lung disease. *Clev Clin J Med.* 2001;68:486-493.
109. **Barnes PJ. Nitric Oxide. In: Barnes PJ, Rodger IW, Thomson NC, editors.** *Asthma: Basic Mechanisms and Clinical Management.* Third edition. London: Academic Press, 1998;369-88.
110. **M.Özkan, İ.Yüksekol.** Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks dergisi* nisan 2003 4:1 088-094
111. **Freeman BA, White CR, Gutierrez H, Paler-Martinez A, Tarpey MM, Rubbo H:** Oxygen radical-nitric oxide reactions in vascular diseases. *Advances in Pharmacology*, 34:45-69.1995.

112. **Dawson VL, Dawson TM:** Physiological and toxicological actions of nitric oxide in the central nervous system. *Advances in Pharmacology*. 34. 323-342,1995.
113. **Taşkıran D, Sözmen EY, Yetimalar Y, Tanyalçın T, Kutay FZ:** Value of nitrite and nitrate levels in cerebrospinal fluid of patients with alzheimer's disease. *Turkish J Med Sci.* 25: 223-224, 1995
114. **Pepke-Zaba J, Higenbottam TW, Dinh-Xuan AT, Stone D, Wallwork J.** Inhaled nitric oxide as a cause of selective pulmonary vasodilatation in pulmonary hypertension. *Lancet* 1991;338:1173-4.
115. **Ozkan M, Laskowski D, Dweik RA, Erzurum SC.** High levels of nitric oxide in individuals with pulmonary hypertension receiving epoprostenol therapy. *Lung* 2002;179;233-43.
116. **Wong JM, Billiar TR:** Regulation and function of inducible nitric oxide synthase during sepsis and acute inflammation. *Advances in Pharmacology*, 34: 155-170.1995
117. **Nathan C.** Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB* 1992;6:3051-64.
118. **Ozkan M, Dweik R.** Nitric Oxide and Airway Reactivity. *Clin Pulm Med* 2001;8:199-206.
119. **Barnes PJ.** Nitric Oxide and Airway Disease. *Ann Med* 1995;27:389-93.
120. **Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ.** Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343:133-35.
121. **Khatri SB, Ozkan M, McCarthy K, Laskowski D, Hammel J, Dweik RA, Erzurum SC.** Alterations in Exhaled Gas Profile during Allergen-induced Asthmatic Response. *Am J Respir Crit Care Med* 2001. 164:1844-8.
122. **Hubmayr RD, Burchardi H, Elliot M, Fessler H, Georgopoulos D, Jubran A, Limper A, Pesenti A, Rubenfeld G, Stewart T, Villar J;** Statement of the 4th International Consensus Conference in Critical Care on ICU-Acquired Pneumonia--Chicago, Illinois, May 2002. *Intensive Care Med.* 2002 Nov;28(11):1521-36
123. **Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia.**This official statement of the American Thoracic Society and the Infectious Diseases Society of America was approved by the ATS Board Directors.December 2004 and the IDSA Guideline Committee October 2004
124. **Antczak A, Gorski P.** Markers of pulmonary diseases in exhaled breath condensate.*Int J Occup Med Environ Health.*2002;15(4):317-23

125. marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *AM Rev Respir Dis.* 1993 Oct;148(4Pt 1):955-60
126. **P. Biban, T. Zangardi, E. Baraldi, N. Dussini, L. Chiandetti, F. Zachello.** Mixed exhaled nitric oxide and plasma nitrites and nitrates in newborns infants. *Life Sciences* 68 (2001) 2789-2797
127. **C. Adrie, M. Monchi, A. Tuan Dinh-Xuan, J. Dall'ava-Santucci, J.F. Dhainaut and M.R. Pinsky.** Exhaled and Nasal Nitric Oxide as a Marker of Pneumonia in Ventilated Patients *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, Volume 163, Number 5, April 2001, 1143-1149
128. **Seamuse J. Linnane, Vera M. Keatings, Christine M. Costello, John B. Moynihan, Clare M. O'connor, Muiris X. Fitzgerald, and Paul McLoughlin.** Total Sputum Nitrate plus Nitrite Is Raised during Acute Pulmonary Infection In Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit. Med* Vol 158 pp. 207-212, 1998.
129. **Dekhuijzen PNR, Aben KKH, Dekker I, et al.** Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:813-6.
130. **Kietzman D., Kahl R., Müller M., Burchardi H., Kettler D.** Hydrogen peroxide in breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS. *Intensive Care Med.* (1993) 19:78-81

