



T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

AKUT BRONŞİOLİT OLAN HASTALARDA IL-8 -251A/T VE 781C/T
POLİMORFİZMLERİNİN
ANALİZİ

Hazırlayan
Çisem Nildem DOĞAN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

AKUT BRONŞİOLİT OLAN HASTALARDA IL-8 -251A/T VE 781C/T
POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 11/05/2017

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Akın YILMAZ

Üye : Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Akın TEKCAN

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 20/04/2017 tarih ve 10/02 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ Mühür

İmza

T.C.
GAZIOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(11.05.2017)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Çisem Nildem DOĞAN

İmzası

ÖNSÖZ

Yüksek lisans yaptığım dönem içerisinde hem yüksek lisans eğitimim, hem de tez sürecimde sabır ve anlayışla beni destekleyen, Anabilim Dalı Başkanımız ve tez danışmanım **Sayın Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ'** e,

Bu dönem içerisinde, bilgilerinden yararlandığım değerli hocalarım **Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'**na, **Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ'a**, ve **Yrd. Doç. Dr. Serbüent YİĞİT'e**,

Tezimin deney ve yazım aşamasında bana sabır ile yardım eden ve sürekli desteklerini hissettiğim güler yüzlü ve hoş sohbet Anabilim Dalı Asistanlarımız **Arş. Gör. Nihan BOZKURT**, **Arş. Gör. Saime SEZER** ve **Arş. Gör. Emel ENSARİ'** ye,

Aynı dönem ders almasak da laboratuvarı birlikte paylaştığım, tezimde bilgilerinden yararlandığım ve komik anılar biriktirdiğim sevgili arkadaşlarım **Sümeyya Deniz ÇELİK**, **Gül DURSUN**, **Kübra ŞAHİN** ve sonradan aramıza katılan ama yardımını eksik tutmayan **Sadegül TUNCER'e**,

Son olarak da hayatımda her anımda bana destek veren, karşılıksız sevgiyi bana öğreten ve en önemlisi nazımı çeken çekirdek **Aileme**,

Teşekkürlerimi sunarım...

Çisem Nildem DOĞAN

ÖZET

AKUT BRONŞİOLİT OLAN HASTALARDA IL-8 -251A/T VE 781C/T POLİMORFİZMLERİNİN ANALİZİ

Akut bronşiolit viral solunum yolu enfeksiyonu olup özellikle kışın yaygın olarak görülen ve nefes darlığı ile ara sıra ölümcül solunum yetmezliğine neden olan bir hastalıktır. Bu hastalık genel olarak 2 yaş altı çocuklarda görülür ancak kalp rahatsızlığı, kistik fibroz, bronkopulmoner displazi olan bebeklerde hastalığa yakalanma riski daha fazladır. %70'i solunum sinsityal virüsü (RSV) nedeni ile olmaktadır. Mevcut çalışmalarda bronşiolit olan bebeklerin bronkoalveolar lavaj sıvısında dominant hücre olarak nötrofiller görülmüştür. En çok nötrofil kemoatraktanı İnterlökin-8 (IL-8) bulunmuştur ve RSV ile enfekte olan epitel hücrelerinin aşırı düzeyde IL-8 salgıladığı görülmüş hatta plazma ve burun salgılarında yüksek düzeyde IL-8 tespit edilmiştir. Bu çalışmada IL-8 -251 A/T ve 781 C/T gen polimorfizmlerinin akut bronşiolit ile ilişkisi araştırılmıştır.

Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği (RFLP) ile 104 akut bronşiolit hastası ile 104 sağlıklı bebeklerde IL-8 gen polimorfizmlerinin sıklığı belirlenmiştir.

Veri sonuçları istatistiksel olarak incelenmesinden sonra IL-8 -251A/T ve 781C/T polimorfizmi ile akut bronşiolit arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0.8315$ ve $p=0.5723$).

Anahtar Kelimeler: Akut Bronşiolit, IL-8 geni, Nötrofil, Polimorfizm.

ABSTRACT

ANALYSIS OF IL-8 -251A/T AND 781C/T POLYMORPHISMS IN ACUTE BRONCHIOLITIS PATIENTS

Acute bronchiolitis is a viral respiratory tract infection which is common in winter and causes occasional fatal respiratory insufficiency with breathlessness. This disease generally seen in children under 2 years old but infants which have heart disease cystic fibrosis, bronchopulmonary dysplasia, are more susceptible to this disease. 70% of the cases are caused by respiratory syncytial virus (RSV). Neutrophils were found dominant cells in bronchoalveolar lavage fluid in infants that had bronchiolitis. Interleukin-8 (IL-8) was seen as the most neutrophil chemoattractant and RSV infected epithelial cells secreted excessive levels of IL-8, even IL-8 were detected in plasma and nasal secretions of bronchiolitis children. In this study, relationship among IL-8 -251A/T and 781 C/T gene polymorphisms and acute bronchiolitis were investigated.

The frequency of IL-8 gene polymorphisms in 104 acute bronchiolitis patients and 104 healthy infants was determined by Restriction fragment length polymorphism (RFLP).

After statistical evaluation of the data results, we have not found an association between IL-8 -251A/T , 781 C/T polymorphism with acute bronchiolitis ($p=0.8315$ and $p=0.5723$).

Key Words : Acute Bronchiolitis, IL-8 gene, Neutrophil, Polymorphism,

İÇİNDEKİLER

ETİK SÖZLEŞME.....	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. AKUT BRONŞİOLİT	2
2.1.1. Bronşiolitin Tanımı	2
2.1.2. Epidemiyoloji	2
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.3.1 Risk faktörleri	6
2.1.4. Patofizyoloji	6
2.1.4.1. Genetik Faktörler	8
2.1.5. Prognoz.....	11
2.1.6. Tanı.....	12
2.1.7. Tedavi	14
2.2. KEMOKİN	16
2.3. INTERLÖKİN-8 GENİ.....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI.....	23
3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR.....	24
3.2.1 Aletler ve Cihazlar.....	24
3.3. ÇÖZELTİLER.....	25
3.4. DNA İZOLASYONU	26

3.5. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU.....	27
3.6. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZİ: 31	
3.7. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ	32
3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.2. DNA 'NIN KALİTATİF TAYİNİ.....	34
4.3. PZR ANALİZLERİ.....	35
4.4. RFLP ANALİZİ.....	37
4.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI.....	39
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	40
KAYNAKLAR	46

TABLolar LİSTESİ

Tablo2.1 Akut bronşiyolit nedeniyle hastaneye çocuklarda genetik bağlantı çalışmaları (Kimman ve ark., 2006).....	9
Tablo 3.1. Hasta ve kontrol grubuna dahil edilme kriterleri.....	24
Tablo 3.2. Primerler	28
Tablo3.3. PZR kullanılan bileşenler ve miktarları.....	30
Tablo 3.4. PZR programı	30
Tablo 3.5. Restriksiyon Enzimleri ve Özellikleri	31
Tablo 3.6. -251 A>T ve 781 C>T kesimi için kullanılan malzemeler ve miktarları	32
Tablo 4.1. Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Kişilerin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı	34
Tablo 4.2. IL-8 (-251>T ve 781 C>T) polimorfizminin istatistiksel analizi	39

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Diyapedez	18
Şekil 2.2. IL-8 (CXCL8) geninin lokalizasyonu. (www.genecards.org).....	19
Şekil 2.3. IL-8 geninin yapısı.	19
Şekil 2.4. Nötrofil üzerindeki kemokin reseptörleri (Barnes 2002)	20
Şekil 2.5. Toll benzeri reseptör (TLR, toll like receptor) sinyal yolağı	21
Şekil 3.1. IL-8 geninde (a) -251 A>T (b) +781C>T göstermektedir. (a) ve (b)'de primerlerin bağlandıkları bölge siyah kare içerisine alınmıştır. Kırmızı kalın harfli "R" SNP'nin bulunduğu yeri göstermektedir.	29
Şekil 4.1. Genomik DNA'nın agaroz jel görüntüsü	34
Şekil 4.2. (a) -251 A>T polimorfizmi için elde edilen 542bç'lik PZR ürünü jel görüntüsü. (b) 781C>T polimorfizmi için elde edilen 203bç'lik PZR ürünü jel görüntüsü. (M: Marker, 50 bp DNA ladder).....	36
Şekil 4.3. IL-8 geninin -251A>T polimorfizminin PZR ürünü MfeI enzimi ile kesilmesi sonucunda 542bç ve 449bç'lik kesim ürünleri %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri. AA: homozigot, AT:heterozigot, TT: homozigot. (M: Marker, 50 bp DNA ladder)	38
Şeki 4.4. IL-8 geninin 781C>T polimorfizminin PZR ürünü EcoRI enzimi ile kesilmesi sonucunda 203bç ve 185bç'lik kesim ürünleri %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri. TT: homozigot, TC:heterozigot, CC: homozigot.(M: Marker, 50 bp DNA ladder)	38

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

°C: Santigrat Derece

AP-1: Aktive edici protein 1

bç, bp: baz çifti

CCL5: Kemokin (C-C motif) ligand 5

CRP: C-reaktif Protein

CD4⁺: Başkalaşım kümesi 4 pozitif (cluster of differentiation 4)

CXCL10: C-X-C motif chemokine 10

cDNA: Komplementer DNA

DNA: Deoksiribonükleik Asit

dk: dakika

dsRNA: Çift iplikçikli RNA

dNTP: Nükleotit Trifosfat

EDTA: Etilendiamin Tetra Asetik Asit

EV71: Enterovirus 71

GPCR: G Protein Kenetli Reseptör

gr: gram

HBoV: Human Bocavirus

HCl: Hidroklorik Asit

HFMS: El, ayak, ağız hastalığı

hMPV: Human Metapneumovirus

IgE: İmmünoglobulin E

IL-1 α : Interlökin 1 alfa

IL-1 β : Interlökin 1 beta

IL-4: İnterlökin-4

IL-4 reseptör: İnterlökin-4 Reseptör

IL-5: İnterlökin-5

IL-6: interlökin-6

IL-8, CXCL8: İnterlökin-8

IL8RA, CXCR1: İnterlökin-8 Reseptör Alfa

IL8RB, CXCR2: İnterlökin-8 Reseptör Beta

IL-10: İnterlökin-10

IL-18: İnterlökin-18

IFN- β : İnterferon beta

IFN γ : İnterferon gamma

IRF:İnterferon Düzenleyici Faktör

kDa: Kilodalton

KKH: Konjenital Kalp Hastalıkları

l: litre

MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1

MgCl₂: Magnezyum Klorür

MIP-1- α /CCL3: macrophage inflammatory protein 1-alpha/Chemokine (C-C motif) ligand 3

MyD88:Myeloid differentiation primary response gene 88

NaOH: Sodyum Hidroksit

NF-IL6: Nuklear Faktor İnterlökin-6

NF-κB: Nuklear Factor Kappa B

μl: Mikrolitre

ml: Mililitre

MSK1/2: Mitogen- and Stress-Activated Protein Kinase-1/2

PIV3: Parainfluenza 3

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RANTES/CCL5: Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted/Chemokine (C-C motif) ligand 5

RCT: Randomize Kontrollü Çalışma

RFLP: Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluğu Çeşitliliği (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RNA: Ribo Nükleik asit

rpm: Dakikadaki Devir Sayısı

RSV: Respiratuar Sinsiyal Virüs

siRNA: küçük interferans RNA

sn: saniye

SNP: Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single-nucleotide polymorphism)

SPD: Sürfaktan Protein D

ssRNA: Tek iplikçikli RNA

TBE: Tris, Borik Asit, EDTA

Th2: Type 2 helper T cells

TLR3: Toll Benzeri Reseptör 3 (Toll Like Receptor 3)

TLR4: Toll Benzeri Reseptör 4 (Toll Like Receptor 4)

TNF- α : Tümör nekrozu faktör alfa

TRIF: TIR ilişkili yapı iskeleti proteinlerinden olan IFN- β

U: Ünite

UV: Ultraviyole

V: Volt



1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut bronşiolit kış aylarında sık rastlanan ve nefes darlığına, solunum yetmezliğine neden olan bir viral solunum yolu enfeksiyonudur. Bir alt solunum yolu enfeksiyonu olan akut bronşiolit hastalığı genelde 2 yaş altı bebeklerde görülmektedir (Black 2003). Ülkemizde bu hastalığa Aralık-Ocak ayları arasında sık rastlanmasına rağmen Kasım-Nisan aylarında da görülmektedir (Hatipoğlu ve ark., 2009). Prematüre doğan, ailesi kalabalık, sosyal statüsü düşük aileye sahip, kalp rahatsızlığı, kistik fibroz, bronkopulmoner displazi olan bebeklerde bu hastalığa yakalanma oranları oldukça yüksektir (Figueras-Aloy ve ark., 2004). Hastalığa neden olan en büyük etken solunum yolu virüsleridir. En sık karşılaşılan respiratuar sinsisyal virüs (RSV) olmakla beraber; rinovirüs, influenza, human metapneumovirüs (hMPV), parainfluenza 3 (PIV 3), coronavirüs ve bocavirüs de diğer etmenler arasındadır. Sancaklı ve ark. (2012) ülkemizde en sık rastlanan virüsleri sırasıyla rinovirüs, RSV A-B ve hMPV (%26.4, %10.3, %6.9) olarak belirtmiştir. Topçuoğlu ve ark. (2009)'nın yaptıkları çalışmada hMPV oranını %59.7 olduğu görülmüştür.

Mevcut çalışmalara bakıldığında RSV hastası olan bebeklerin bronkoalveoler lavaj sıvısında nötrofillerin baskın hücre tipi olduğu gözlemlenmiştir (Everard ve ark., 1994). En çok bilinen kemoatraktan İnterlökin-8 (IL-8) olarak bulunmuş ve RSV ile enfekte olmuş hava yolu epitel hücrelerinin yüksek oranda IL-8 ve diğer proinflamatuvar sitokinleri salgıladığı deneysel olarak keşfedilmiştir (Fiedler ve ark., 1996). Öte yandan klinik çalışmalarda bronşiolit olan bebeklerin nasal salgılarında ve plasmalarında yüksek oranda IL-8 tespit edilmiştir (Biswas ve ark., 1995; Abu-Harb ve ark., 1999) . Bu gözlemler sonucunda, RSV bronşiolit patogenezinde IL-8'in rolü olup olmadığı akıllarda soru işareti oluşturmuştur. Bu soruyu çözümlen bir yolu RSV enfeksiyonu ile oluşan klinik sonuçların IL-8 üretiminde veya fonksiyonun ayarlanmasında genetik faktörlerin olup olmadığına bakmaktır.

Çalışmamızdaki amaç; akut bronşiolit ile IL-8 geni 781C/T ve promotor bölgesinde bulunan -251A/Tpolimorfizmleri arasında ilişkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.AKUT BRONŞİOLİT

2.1.1. Bronşiolitin Tanımı

Akut bronşiolit, bronşiolerin iltihaplanmasıyla ortaya çıkan bir hastalık olup akciğerlere hava geçişini azaltmaktadır. Genelde iki yaş altı çocuklarda görülür ve özellikle üçve altı aylık bebeklerde sıkça rastlanmaktadır. Öksürüğe ve nefes darlığına yol açarak bebeğin beslenmesinde zorluğa neden olmaktadır. Bronşiolitte hırıltılı solunum “wheezing” hastalığın en önemli tanı belirleyicilerindedir. Hastalığa genelde solunum sinsityal virüsü (RSV) (olguların %70’inde) neden olmakta ve yakalanma daha çok kış aylarında görülmektedir (Zhang ve ark., 2013).

2.1.2. Epidemiyoloji

Amerika Birleşik Devletlerinde, solunum yolu enfeksiyonu 12 aydan küçük çocukların %25’inde ve 1-2 yaş aralığındaki çocukların %13’ünde görülmektedir. Bu %25’lik kesimin yarısında hırıltılı solunum gözlenmektedir (Henderson ve ark., 1979).

İki RSV sezonu içerisinde çocukların yaklaşık olarak %100’ü RSV enfeksiyonu ile karşı karşıya gelmektedir ve %1’i bu sebepten dolayı hastaneye yatmaktadır (Henderson ve ark., 1979). Gebelikte 40 haftayı doldurmuş bebeklerin %80’i hastanelik olmakta ve hastaneye yatan bebeklerin %50’si 1-3 aylık olmaktadır. Hastaneye yatan bebeklerin %5’den azı 30 günlüktür. Bunun nedeni plasentadan geçen antikörlerin koruyucu etkisinden dolayı yaşamın ilk 4-6 haftasında bebeğin ciddi enfeksiyon kapmasını engellemesidir(Glezen ve ark, 1981).

RSV enfeksiyonu ile oluşan solunum yolu enfeksiyonları mevsimseldir. Başlangıç, zirve, süreç ve şiddeti ülkeden ülkeye ve yıldan yıla değişmektedir. Gerçek pik bölgeden bölgeye değişmesine rağmen ılıman iklimlerde RSV aktivitesi kış aylarında pik yapmaktadır (Ducoffre ve ark., 2001). Diğer yandan tropikal iklimlerde RSV yağmurlu sezonlarda ve sıcak aylarda pik yapmaktadır. Kuzey yarımkürede RSV salgını genelde aralık ve mart aylarında, bunun tersine güney yarımkürede kış salgınları Mayıs ve Eylül ayları arasında ortaya çıkmaktadır. (Cherian ve ark., 1990).

Enfeksiyon nazofaringeal veya oküler mukoza zarından direkt temas ile bulaşmaktadır.

Uluslararası istatistiklere göre bronşiolit, dünya çapında solunum hastalığının önemli bir nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü bültenine göre tahmini olarak yılda 150 milyon yeni vakadan 11-20 milyonu (%7-13) hastaneye yatmak için yeterli şiddettedir. Dünya genelinde bütün vakaların %95'i gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (Rudan, 2004).

Gelişmiş ülkelerde bronşiolit sıklığı Birleşik Devletler ile benzer görülmektedir. Gelişmemiş ülkelerde epidemiyolojik veriler eksiktir. Az gelişmiş ülkelerde alt solunum yolu enfeksiyonuna neden olan baskın virüs RSV olduğu epidemiyolojik datalarda görülmekte olup, yatan hastaların %65'i bu virüs dolayısıyla hastaneye yatmaktadır (Weber, 1998). Gelişmekte olan ülkelerde RSV'ye bağlı ölümler hakkındaki bilgilere az rastlanmaktadır. Hastalık ve ölüm oranı az gelişmiş ülkelerde kötü beslenmeye ve tıbbi bakım kaynaklarının yetersiz olmasına bağlı olarak yüksek olabilmektedir (Koehoorn ve ark., 2008).

Bronşiolit hastalığı herhangi bir yaşta çıkabilir olmasına rağmen klinik tablolar bronşiolitin sadece bebek ve küçük çocuklarda daha sık olduğunu göstermektedir. Bronşiolit vakalarının yaklaşık olarak %75'i 1 yaş altı çocuklarda ve %95'i 2 yaş altı çocuklarda olduğu tespit edilmiştir. Yaş, enfeksiyonun şiddetinde önemli bir faktördür. Hasta ne kadar genç olursa enfeksiyon daha şiddetli olma eğilimindedir. 6 aylıktan küçük olan bebekler daha şiddetli etkilenmektedir. Bunun nedeni hava yollarının dar olması ve salgılarının yeteri kadar temizlememesi ile açıklanabilir (DeNicola ve ark., 2016).

Anne karnındayken annenin sigara dumanına maruz kalması ya da annenin sigara içmesi; uterusu bulunan bebeğin hava yolu gelişimini bozabilmekte ya da akciğer dokusunun elastikiyet özelliğini kaybetmesine neden olmaktadır. Doğum sonrası dönemde ailede sigara içenlere bağlı olarak bebeğin pasif içici olması RSV bronşiolit şiddetini arttırmaktadır (DeNicola ve ark., 2016).

Bağışıklığın düşük olmasından dolayı RSV bronşiolit genç çocuklarda önemli bir hastalık olmasına rağmen, duyarlı yetişkinler asemptomatik yada hafif semptomatik

ve taşıyıcı olabilmektedir. Kemik iliği ve organ nakli olan yaşça büyük çocuklarda ve yetişkinlerde bronşiolit hastalığına yakalanabilme ihtimali yüksektir (Terrosi ve ark., 2009).

Erkeklerde görülme sıklığı kızlardan 1,25 kat daha fazladır. Bu farkın nedeni tam olarak bilinmemektedir (Weber ve ark., 1998; Iwane ve ark., 2004). Ölüm erkeklerde 1,5 kat daha fazladır (Mage ve ark., 2004)

İrk ve sosyoekonomik statü akut bronşiolit hastalarını olumsuz etkileyebilmektedir. Nedeninin ne olduğu bilinmemesine rağmen beyaz ırkta siyah ırka göre hastalık daha şiddetli yaşanmaktadır. Düşük sosyoekonomik statü hastaneye yatış olasılığını arttırmaktadır (Bradley ve ark.,2005). Anne sütü ile iyi beslenemeyen bebeklerin yeterli antikör alamamaları hastalığın oluşmasına neden olan etkenlerden biridir (Libster ve ark., 2009). Evde yaşayan kişinin çok olması virüsün yayılmasını arttırmaktadır (Payne 1993)

2.1.3. Etiyoloji

RSV, metapnömovirüs (hMPV), parainfluenza virüs, influenza virüs, Human Bocavirus (HBoV) ya da adenovirüs gibi virüsler bronşiolite neden olan viral patojenlerdir. Burun salgıları, havadaki damlacıklar ve formitler ile direkt temas halinde insandan insana bu virüsler yayılmaktadır. Bronşiolit rahatsızlığıyla hastaneye yatan 2 yaş altı çocukların %75'inden RSV ajanı izole edilmiştir. RSV, *Pneumovirüs* cinsinden olup *paramiksovirüs* ailesine ait negatif anlamlı ve tek sarmallı bir RNA virüsüdür (DeNicola ve ark., 2016).

RSV tüm vakaların %20-40'ına neden olmakta ve vakaların %44'ü 2 yaş altını kapsamaktadır. RSV, A ve B olmak üzere iki antijenik alt gruba ayrılır ve bunlar G proteininin yapısındaki değişiklik ile tanımlanır. A olan alt tür ağır enfeksiyona neden olmaktadır (Fodha ve ark., 2007) . Semptomlar ortaya çıktıktan sonra burun salgılarında viral dökülme 6-21 gün sürer. Kuluçka süresi 2-5 gündür (Hall ve ark., 1976).

Bronşiolit vakalarının %10-30'una parainfluenza virüsleri neden olmaktadır (Counihan ve ark., 2001). Bu virüsün neden olduğu bronşiolit hastalığı yılın erken

aylarında başlar ve her yıl meydana gelme eğilimindedir. Bronşiolit vakalarının %5-10'unda adenovirüs bulunmaktadır. Vakaların %10-20'sinde influenza virüsü, %5-15'inde *Mycoplasma pneumoniae* görülmektedir (DeNicola ve ark., 2016).

İleriye dönük çok merkezli bir çalışmada, acil serviste bulunan bronşiolit hastalarının viral etiyolojisi 277 örnekte test edilmiş ve aşağıdaki virüsler elde edilmiştir (Mansbach ve ark., 2008);

- RSV %64
- Metapnömovirüs (hMPV) %9-30
- Rhinovirus %16
- Influenza A virüs %6

Paramiksovirüs olan hMPV ilk olarak Hollanda'da 2001 yılında tespit edilmiş (van den Hoogen ve ark., 2001) ve bronşiolit için yüksek derecede bulaşıcı ajan olarak gösterilmiştir (Caracciolo ve ark., 2008). Serolojik çalışmalar sonucunda 5 yaşına kadar olan Hollandalı çocukların seropozitif olduğu görülmüş ve bu virüsün en az 50 yıldır yaygın olduğu belirtilmiştir (van den Hoogen ve ark., 2004).

Williams ve ark. (2004)'nın yaptıkları çalışmada hMPV virüsüne yakalanmış kişilerin ortalama yaşı 11,6 ay olarak bulunmuştur. Bu virüsün neden olduğu bronşiolit hastalığı en sık Aralık ve Nisan aylarında görülmekte ve hastaların %2'si hastaneye yatmaktadır. Hastaların %59'u ile bu virüs ilişkilidir.

hMPV bronşiolit, sezonunun sonlarında görülmekte, yüksek ateş oluşturmakta, oldukça genç yaştaki çocukları etkilemekte ve daha fazla hırıltılı solunum yapmaktadır (Garcia-Garcia ve ark., 2007). Diğer çalışmalarda hMPV ve RSV kombinasyonu sonucunda bronşiolitin daha ağır geçirildiği ve 10 kat daha fazla çocuğun yoğun bakım ünitesine giriş yaptığı görülmüştür (McNamara ve ark., 2007).

Human Bocavirus (HBoV) 2005 yılında keşfedilmiş olup, hem üst solunum hemde alt solunum yolu enfeksiyonuna neden olmaktadır. Arnold ve ark. (2006) 20 aydan uzun bir sürede yaptıkları çalışmada San Diego Çocuk Hastanesi'nde bulunan 1474 hastadan alınan nasal salgı örneklerinin %5,6'sı HboV pozitif çıkmıştır.

2.1.3.1 Risk faktörleri

Bronşiolite neden olan risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır (Glezen ve ark., 1981; Carroll ve ark., 2007; Duppenhaler ve ark., 2004);

- Düşük doğum ağırlığı, özellikle prematüre doğan bebekler
- Gebelik yaşı küçük olan bireyler (hastane araştırmalarından ve RSV enfeksiyonu nedeniyle hastaneye yatan bebeklerden bağımsız olarak)
- Düşük sosyoekonomik durum
- Kalabalık yaşam koşulları, bakım ya da her ikisi
- Ailede sigara içen bireyin olması
- Kronik akciğer hastalığı, özellikle bronkopulmoner displazi
- Ağır konjenital veya sonradan kazanılan nörolojik hastalık
- Pulmoner hipertansiyonu ile birlikte konjenital kalp hastalığı (KKH) olan bebeklerde. Ancak KKH olan İsviçreli çocuklarda artış riski görülmemiştir
- Konjenital veya edinsel bağışıklık yetersizliği hastalıkları
- 3 aydan küçük olan bebekler
- Havayolu anomalileri

Epidemiyolojik değişkenler açısından anlamlı bir farklılık bulunmamasına rağmen, pozitif C-Reaktif Protein (CRP) sonuçları olan (>0,8 mg/dL) ve akciğer röntgeninde pulmoner konsolidasyon görülen bebekler arasında hastalığın daha yaygın olduğu görülmüştür (Papoff ve ark., 2011).

2.1.4. Patofizyoloji

Mevcut araştırmalarda, akut bronşioliti olan bebeklerin bronkoalveolar lavaj sıvısında nötrofillerin dominant hücre tipi olduğu gözlemlenmiştir. Oksidanlar ve proteolitik enzimler de dahil çok sayıda iltihaplanma ürününü nötrofiller oluşturmaktadır ve akut ile kronik akciğer hastalığının ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Nötrofillerin solunum yolu enfeksiyonlarında, konakçının savunmasında ve solunum yolu semptomlarında rolü olduğuna dair artan kanıtlar bulunmaktadır (Donnelly ve ark., 1992).

Rinovirüs ile enfekte olmuş ve hastalık semptomları görülen yetişkin bireylerde; enfekte olmuş bölgeye doğru nötrofil akımı görülmüştür (Turner 1990). Enfekte olmuş hücrelerin kompleman aktivasyonunu uyarabildiği ve enfeksiyonla bebeklerin nazal salgılarında bağışıklık komplekslerinin bulunduğu bilinmektedir (Edwards ve ark., 1986).

Bir in vitro çalışmada RSV virüsünün insan eozinofillerini aktive edebileceği belirtilmiş ve diğer bir çalışmada da bronşiolit olan bebeklerin nazofaringeal sekresyonlarında yüksek oranda eozinofile rastlandığı bildirilmiştir (Garofalo 1992). Öte yandan bu oran üst solunum yolu semptomları olan bebeklerde daha az görülmüştür. Sangsupawanich ve Anuntaseree'nın (2017) yaptıkları çalışmada kanda bulunan eozinofillerin varlığı ile tekrarlayan hırıltılı ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Akciğer patolojisine büyük katkıda bulunan sitotoksik T hücrelerinin akut bronşiolitteki olası rolüne büyük ilgi duyulmaktadır. Virüsle ciddi, uzun süreli enfeksiyon eğilimi olan bebeklerde, sitotoksik T hücrelerinin RSV iyileşmesinde katkısı olduğu bilinmektedir (Milner ve ark., 1985).

RSV bronşiolit hastalığından sonra oluşan hırıltılı (wheezing) solunumun devam etmesi IgE düzeyi ile alakalı olduğu düşünülmektedir. Hırıltılı solunum olan bebeklerde IgE %45 oranında saptanmış ve hırıltılı solunum olmayanlarda hiç rastlanmamıştır (La Via ve ark., 1992; Renzi ve ark., 1997). Bu solunumun nedeninin Th2 yanıtı ile ilişkili olduğu bir araştırmada gösterilmiştir. İnsan ve farelerde RSV tutunma proteini olan glikoprotein G'yi tanıyan hücreler Th2 CD4⁺ hücreleridir. Bu hücreler IL-4, IL-5 ve IL-10 çok üretirken Interferon γ üretimi azdır (Renzi ve ark., 1997). Sitokin ve kemokinler ile ilişkili ümmün cevap bronşiolitin ciddiyetinde rol oynayabilmektedir. Enfekte olan bebeklerin hava yollarında IL-8, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 saptanmıştır (<http://www.uptodate.com>).

2.1.4.1. Genetik Faktörler

Konak genetik faktörleri bulaşıcı hastalıkların sonucunda ve seyrinde önemli bir role sahiptir. Genetik belirleyicilerinin araştırılması, hastalığın şiddetini göstermenin ötesinde aynı zamanda da mikrobun patogenizi hakkında ve hatta terapötik müdahale için potansiyel hedefleri tespit edebilmede rehber görevi üstlenebilmektedir (Sorensen ve ark., 1988). RSV konak genetik çalışmaları, diğer iyi çalışılmış bulaşıcı hastalıklara göre daha komplekstir. Yaşa bağlı bağışıklık-gelişimsel genetik karmaşıklığı içerdiği için bugüne kadar açıklanamamıştır. Thomsen ve ark.(2008) yaptıkları son çalışmada tek yumurta ikizlerinin çift yumurta ikizlerine kıyasla RSV enfeksiyonuna uyumunun yüksek oranda olduğunu görmüşlerdir.

İnsanda, genetik bağlantı çalışmaları ile RSV enfeksiyonuna duyarlılık incelenmiştir ve IL-4 ve IL-4 reseptörü polimorfizmlerinin RSV hastalık şiddeti ile alakalı olduğu görülmüştür (Puthothu ve ark., 2006). Öte yandan diğer immün süreçlerde yer alan genlerin RSV enfeksiyonu şiddetinin belirlenmesinde de etkili oldukları öne sürülmüştür. Örneğin doğuştan gelen bağışıklıkta yer alan Toll benzeri reseptör 4 (TLR4), edinilmiş bağışıklığın düzenlenmesinde yer alan IL10, kemotakside yer alan IL-8 ve havayolu mukozal yanıtta yer alan surfaktan protein D (SPD) polimorfizmlerinin hastalıkla alakalı olduğu görülmüştür (Tal ve ark., 2004; Hoebee ve ark., 2004). Literatürde 13 genin RSV enfeksiyonuna duyarlı olup olmadıkları araştırılmış bunlardan 9 tanesi en az bir çalışmada anlamlı bulunmuştur (Kimman ve ark., 2006) (Tablo2.1).

Tablo2.1 Akut bronşiyolit nedeniyle hastaneye çocuklarda genetik bağlantı çalışmaları (Kimman ve ark., 2006).

Gen	Gen varyantları	Yaklaşım	Örnek Sayısı	Çalışmanın sonucu
IL-4Rα	I50V Q551R	TDT Vaka-Kontrol	207 aile 148 Alman çocuk 447 Alman kontrol	I50V vakalarda anlamlı sonuç yok; Q551R vakalarda anlamlı sonuç yok, Ancak 551R allelinde hastaneye yatan>6 aylık vakalarda anlamlı artış görülmüştür (OR:1.7)
IL-5	T-746C	Vaka-Kontrol	105 Koreli çocuk 315 Koreli kontrol	Anlamlı sonuç yok
IL-9	A-345G	TDT Vaka-Kontrol	207 aile 1148 Alman çocuk 447 Alman çocuk	Anlamlı sonuç yok
IL-10	C-592A	TDT Vaka-Kontrol	207 aile 148 Alman çocuk 447 Alman çocuk	Vakalarda homozigot artışı var; C allelinde hastaneye yatan>6 aylık vakalarda anlamlı artış görülmüştür
IL-10	8SNP	Vaka-Kontrol	RSV nedeni ile hastaneye yatan 580 İngiliz ve 580 kontrol	Hastaneye yatanlarda anlamlı ilişki yok; IL-10, -1117G ve -3585A olanlarda mekanik ventilasyon gerektiği görülmüş
IL-3	A-1512C, C-1112T, G2044A	Vaka -Kontrol	105 Koreli çocuk 315 Koreli kontrol	Anlamlı sonuç yok
IL-13	C-1112T R130Q	TDT Vaka-Kontrol	188 çocuk, onların ailesi ve 447 Alman çocuk	İlişki yok
IL-13	C-1112T, R130Q	Vaka- Kontrol	131 çocuk ve 270 kontrol	-1112T alleli vakalarda sık görülmüş; R130Q: anlamsız
TNF-α	G-308A	TDT Vaka-Kontrol	207 aile 148 Alman çocuk 447 alman kontrol	Anlamsız
TLR4	D299G, T399I	Vaka-Kontrol	RSV nedeni ile yatan 99 Yahudi çocuk; 82 kontrol çocuk ve 90 yetişkin kontrol	299G ve 399I alleli, vakalarda anlamlı artış görülmüş

CD14	C-159T	Vaka-Kontrol	RSV nedeni ile yatan 99 Yahudi çocuk; 82 kontrol çocuk ve 90 yetişkin kontrol	Anlamsız
CCR5	-2733 -2554 -2559 -1835 Δ32	TDT Vaka-Kontrol	580 İngiliz aile ve 580 kontrol	-2459G ve -2554T alleli vakalarda anlamlı artış vardır (OR:1.2)
CX3CR1	T280M	Vaka-Kontrol	82 Yunan çocuk ve 126 yetişkin kontrol	280 M/M ve M/T alleli vakalarda anlamlı artış vardır.
SP-D	M11T, A160T, S270T	Vaka-Kontrol	84 Finlandiyalı çocuk ve 93 Finlandiyalı kontrol	11M alleli vakalarda artış göstermiş. (OR:1.6). M11T heterozigotu vakalarda kontrollere oranla daha azdır
SP-D	M11T, A160T	TDT Vaka-Kontrol	188 çocuk, onların ebeveynleri ve 447 Alman kontrol	Anlamsız
IL-8	T-251A	TDT	117 İngiliz aile, 77 İngiliz aile	A alleli vakalarda daha fazladır
IL-8	Haplotip: -251A/781T	TDT	184 İngiliz ailesi	-251A/781T vakalarda daha fazla
IL-8	T-251A, C781T	Vaka-Kontrol	131 çocuk ve 270 kontrol	Anlamsız
IL-8	T-251A, C781T	TDT Vaka-Kontrol	188 çocuk, onların ebeveynleri ve 447 Alman kontrol	Anlamsız
IL-4	T-1098G, T-589C, C-144T, T-33C, G8375A, A8412C	Vaka-Kontrol	105 Koreli çocuk, 315 Koreli kontrol	Haplotip -1098T/-589T/-33T/8375G/8412A vakalarda anlamlı artış (OR: 1.6)
IL-4	C-590T	TDT Vaka-Kontrol	207 aile 148 Alman çocuk 447 Alman kontrol	-590T alleli vakalarda anlamlı artış göstermiş (OR:1.4)
IL-4	C-590T	Vaka-Kontrol	131 çocuk 270 kontrol	Anlamsız

2.1.5. Prognoz

Akut solunum yolu enfeksiyonu hala 5 yaşından küçük çocukların ölümüne neden olmaktadır. 2000 yılında, akut solunum yolu enfeksiyonu, dünya çapında tahminen 1,9 milyon ölümden sorumlu bulunduğu bilinmekte ve bu ölümlerin%70'i Afrika ve Güneydoğu Asya'da meydana gelmektedir.

Bronşiyolit bulaşıcı, kendini sınırlayan bir hastalıktır. Destekleyici tedavi, oksijenlenme, hidrasyon ve ateş kontrolü ile tedavi gidişatı belirlenmektedir. Erken tanı ve tedavi bu hastalıkta çok önemlidir. Bronşiolite sahip çoğu çocuk, hastalık şiddeti ne olursa olsun, sekel bırakmadan iyileşmektedir. Hastalığın seyri genellikle 7-10 gündür, ancak ağır hastalarda birkaç hafta daha sürebilir. Çoğu çalışma sonucunda IgE düzeyinin akut hastalığın şiddetini gösterdiği öne sürülmüştür. İyileşen bazı bebeklerde tekrarlayan hırıltılı solunumun arttığı görülmektedir (Welliver ve ark., 1981).

ABD'de yapılan çalışmada vakaların %2'si hastaneye yatma gereksinimi duymaktadır (çoğunlukla 6 aylıktan küçük bebekler). Bu da bütün hastaneye yatan bebeklerin %17'sini göstermektedir. Yıllık RSV bronşiolitten yatan hastalar yaklaşık olarak 50000-80000'dir. Akut solunum yolu enfeksiyonunun popülasyona bağlı çalışmasında hastaneye yatan kişilerin%20'sinde, acile servise gelenlerin %18'inde, ve klinik ziyarete gelenlerin %15'inde RSV'ye rastlanmıştır (Hall ve ark., 2009).

Genel olarak bronşiolit nedeni ile hastaneye yatan çocukların ölüm oranı %0,2 ile %7 arasındadır. Yüzdeler dilimin bu kadar geniş olması farklı topluluklar, farklı risk faktörleri ve farklı zamanlarda yoğun bakım ünitesine yatma olarak neden gösterilebilir. 2 yaşından küçük olan çocuklarda morbidite ve mortalite sık görülmektedir. 6 aydan kısa sürede doğan prematüre bebekler, akciğer yada kalp rahatsızlığı olan çocuklar hastalığa yakalanmada büyük risk taşımaktadır (Holman ve ark., 2003).

Pediyatrik yoğun bakım ünitesinde bulunan pulmoner hipertansiyon ile konjenital kalp hastalığı olup olmadığına bakmaksızın komorbiditesi olmayan RSV bronşiolitli olan çocuklarda ölüm oranı %2-3 olarak gösterilmiştir (Wang ve ark., 1995). 1999-2007 yılları arasında İngiltere'de yapılan kohort çalışmasında özellikle kalp anomalisi olan ve buna benzer hastalığa sahip çocuklarda RSV bronşiolit nedeni ile ölme oranı %1.7 olarak tespit edilmiştir (Thorburn ve ark., 2009).

Önemli morbidite alışılmadık olmasına rağmen birçok küçük çaplı çalışmalarda RSV bronşiolit nedeni ile gelen çocuklarda reaktif havayolu hastalığı ve akciğer fonksiyonlarında daha fazla anormallikler bulunması RSV şikayeti ile hiç hastaneye başvurmayan bebeklere oranla daha fazla olduğu görülmüştür (Goetghebuer ve ark., 2004; Stein ve ark., 1999). Bu anormallikler 5 yıl kadar sürebilmekte ve sonunda normale dönmektedir (Krilov ve ark., 1997).

Bronşiolit astım için risk faktörüymüş gibi görülmesine rağmen bu çocuğun ileriki dönemlerde astım hastası olabileceği anlamını taşımamaktadır.

Birden fazla çalışma RSV enfeksiyonuna yakalanan çocukların, 8 haftadan küçük ateşli bebekler de dahil, ciddi bakteriyel enfeksiyonlarına yada ikincil bakteriyel süperenfeksiyonuna yakalanma riski kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir (örneğin %0'a %2,7 bakteremi , %2'ye %14 idrar yolu enfeksiyonu) (Kuppermann ve ark., 1997). Eşzamanlı bakteriyel enfeksiyonların riski düşüktür (Levine ve ark. 2004).

2.1.6. Tanı

Bronşiolitin tanısı klinik sunum, hasta yaşı, mevsimsel oluşumu ve fizik muayeneye dayanmaktadır. Bunlar aşağıda sıralanmıştır:

- Takipne
- Taşikardi
- Ateş (38 - 39°C)
- Retraksiyonlar
- İnce raller (%47), yaygın, ince hışıltı
- Hipoksi
- Orta kulak iltihabı

Laboratuvar testler: Klinik sunum, hastanın yaşı, mevsimsel olay ve fizik muayene sonuçları bronşiolit tanısı için tutarlı olduktan sonra birkaç laboratuvar çalışmaları yapılmasına ihtiyaç duyulur (Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis, 2006). Tanı testleri, tartışmalı olup diğer tanıları dışlamak için (örneğin bakteriyel pnömoni, sepsis, ve konjestif kalp yetmezliği) yada viral etiyojolojiyi

belirlemek ve hastaneye başvuran hastaların enfeksiyonunu belirlemek için kullanılmaktadır.

Bronşiolit olan hastaların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan testler şunlardır:

- RSV için nazofarenks salgısından hızlı viral antijen testi
- Arter kan gazı analizi
- Diferansiyel ile beyaz kan hücresi sayımı
- C-reaktif protein seviyesi
- Pulse oksimetre
- Kan kültürleri: eğer ateşi $>38.5^{\circ}\text{C}$ ise
- İdrar analizi, özgül ağırlığı ve kültür
- Beyin omurilik sıvısı analizi ve kültür
- Serum biyokimyası

Aritmiler veya kardiyomegali gösteren çocuklarda elektrokardiyografi ve ekokardiyografi istenmelidir.

Akciğer grafikleri her zaman gerekli değildir (Wegner ve ark., 2004). Hasta olan çocukta klinik kötüleşme ve yüksek risk (altta yatan kalp rahatsızlığı yada akciğer hastalığı olanlar) taşıyorsa bunlardan akciğer grafileri istenir. Bu görüntüleme yöntemi beklenmedik konjenital anomalilerin yada diğer durumların dışında aynı zamanda alternatif tanılarda pozitif kanıt vermek için (lober pnömoni, konjestif kalp yetmezliği, ya da yabancı cisim aspirasyonu) çok yararlıdır (Counihan ve ark., 2001; Bada ve ark., 2007).

Nadir durumlarda (şiddetli immün yetmezliği, olası yabancı cisim aspirasyonu öyküsü) bronkoskopi bronkoalveoler lavaj yada terapötik yabancı cisim çıkarılması tanısında kullanılabilir.

2.1.7. Tedavi

Bronkodilatör: Astım hırıltılı solunum olan bronşiolite benzerliğinden dolayı astımda kullanılan bronkilatörler bronşiolit hastası olan çocuklarda da kullanılmaktadır. Bunların rutin kullanımı tartışmalıdır. Etkisi dikkatli bir şekilde gözlenirken bronşiolit olan hastalara bronkodilatör verilerek kısa süreli deneme yapılabilir. Hastada klinik iyileşme görülürse ilaç vermeye devam edilmelidir (Wright ve ark. 2008).

- **Albuterol:** RCT çalışmalarında albuterolün akut bronşiolit tedavisinde etkisi değerlendirilmiş ve sonuçlar tutarsız çıkmıştır. Hırıltılı solunumu olan 0-24 aylık bebeklerde yapılan çift-kör ve plasebo kontrol çalışmada albuterol alan hastaların hırıltılı solunumda, oksijenlenme skorunda belirli bir düzelme görülmüştür ancak kalp atış hızında ve solunum hızında belirgin bir değişiklik görülmemiştir (Schweich ve ark., 1992). Bu çalışmada hastaların zaman içerisinde takip edilmemeleri ve belirtilerin iyileşmediği yada yatış süresinin etkilenmediği eleştirilmektedir. Sonuç olarak diğer birçok çalışmada tam tersi sonuçlar elde edilmiş albuterolün bronşiolit hastalarında kalıcı bir iyileşmeye neden olmadığı görülmüştür (Dobson ve ark., 1998). Özet olarak albuterolün hastaneye yatış süresini etkilemediği yada hastalığın şiddetini azaltmadığı görülmüş bundan dolayı rutin bakım için tavsiye edilmemiştir.
- **Rasemik epinefrin:** Albuterolde olduğu gibi nebulize rasemik epinefrin kullanılması tartışmalıdır.

Birçok araştırmada nebulize epinefrin ile albuterol karşılaştırılmıştır. Menon ve ark. (1995) yaptıkları çalışmada epinefrin alan hastaların %33'ünün albuterol alan hastaların %81'inin hastaneye yatmaya gereksinimi duyduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda nebulize epinefrinin albuterolden daha etkili ve hastaneye yatışta azalma olduğu görülmüştür. Hartling ve ark. (2003) yaptıkları meta analiz çalışmasında da aynı sonuç ortaya çıkmıştır.

Albuterolün yada epinefrinin rutin kullanımı hakkında destekleyici kanıt olmamasına rağmen bronkilatörün seçili hastalarda kullanılması makuldür.

Antikolinergik Ajanlar: İpratropiyum bromür gibi antikolinergik ajanlar bronşiolit tedavisinde etkili olduğu görülmemiştir. Küçük çaplı iyileşmeler görülmektedir ancak klinik seyir tutarlı değildir (Schuh et al 2002).

Kortikosteroidler: Teorik olarak, kortikosteroidler viral enfeksiyonlara karşı alt solunum yolları enflamatuvar yanıtı azaltılmasında faydalı olduğu bilinmektedir ve bu nedenle yaygın olarak hekim tarafından reçete edilmişlerdir. Ancak gerçekte birçok çalışmada ve meta analizde akut yada uzun süreli virüse bağlı hışıltılı solunum klinik sonuçlarında kortikosteroidlerin başarısız olduğu görülmüştür (Wright ve ark. 2008)

Ribavirin : Ribavirin Paramyxovirusün seçkin üyelerine karşı aktif olan pürin analogudur. Ribavirin tedavisinin yapılan çoğu çalışmada etkisiz olduğu kanıtlanmıştır (Everard ve ark., 2001).

1990'lı yılların başında ribavirin kullanılması desteklenmiş ancak günümüzde sıklıkla kullanılmaması gerektiği düşünülmektedir (Bronchiolitis 2006).

Antibiyotikler: Bronşiolit olan bebeklerde antibiyotik tedavisi uygulanması nadir değildir. Antibakteriyel ilaç tedavisi, bakteriyel enfeksiyon ile beraber görülen bronşioliterde kullanılabilir. 1966 yılında yapılan çift kör RCT'de antibiyotik bronşiolit tedavisinde bir yararı olmadığı görülmüştür (Field et al 1966). Friss ve ark (1984) yaptıkları bir çalışmada 1 aylık ile 6 yaş arasındaki 136 çocukta antibiyotik alan ile almayan arasında pulmoner kompleksinin, ateş nüksünün, akut hastalığının seyrinde bir farklılık görülmemiştir.

Sonuç olarak antibiyotik bakteriyel enfeksiyon olduğu belirli olan bronşiolit hastalarında kullanılmalıdır.

Surfactant: Alveol ve bronşiyollerde yüzey gerilimini azaltma rolünün ötesinde, alveolar ve küçük hava yolu açıklığını genişleten surfactantın protein bileşenleri (A ve D) viral ve bakteriyel yüzey işaretleyicilerine bağlanarak fagositler tarafından alımı için onları opsonize eder (Ventre ve ark., 2006) . Akut bronşiolit olan hastalarda surfactant protein üretimi düşmekte hasta iyileştiğinde de bu değer normal seviyeye gelmektedir (Dargaville ve ark., 1996). Surfactantın iyileştirici özelliğinin var olup olmadığı henüz

kesin değildir (Ventra ve ark., 2006). Ancak akut bronşiolit gibi ciddi solunum yetmezliğinde eksojen surfactant tedavisi uygulanmaktadır.

Helioks: Helioks helyum ile oksijenin 70:30 yada 80:20 oranında karışımından meydana gelmektedir. Helioks helyum karışımı azot-oksijen karışımından daha çok laminar akışı ve daralmış solunum yollarında daha az türbülans yapmaktadır. Bu da alt solunum yollarında rahatsızlığı olan hastaların ventilasyonunu iyileştirmektedir. Helioks birçok araştırmacı tarafından bronşiolit olan hastalarda tedavi olarak kullanılmasına rağmen bu çalışmalar oldukça küçüktür. Bazı yazarlar klinik skorlarda az iyileşme ve takipnede azalma görmüşlerdir (Cambonie ve ark., 2006) .

Helioks alan hastalar ile standart azot-oksijen alanlar arasındaki pozitif ventilasyonu değerlendirmiş ve farkın olmadığı görülmüştür (Liet ve ark., 2005). Helioks tedavisi gören entübe çocuklar değerlendirildiğinde Gross ve ark (2000) ventilasyonda ve oksijenasyonda herhangi bir değişiklik bulamamıştır.

Sonuç olarak rutin kullanımda tavsiye edilmeden önce büyük çaplı randomize kontrollü çalışması olması gerekmektedir.

Oksijen tedavisi: oksijen saturasyonu %92'nin altına düştüğünde bu tedavi uygulanmaktadır (Okutan ve Çelik, 2005)

2.2.KEMOKİN

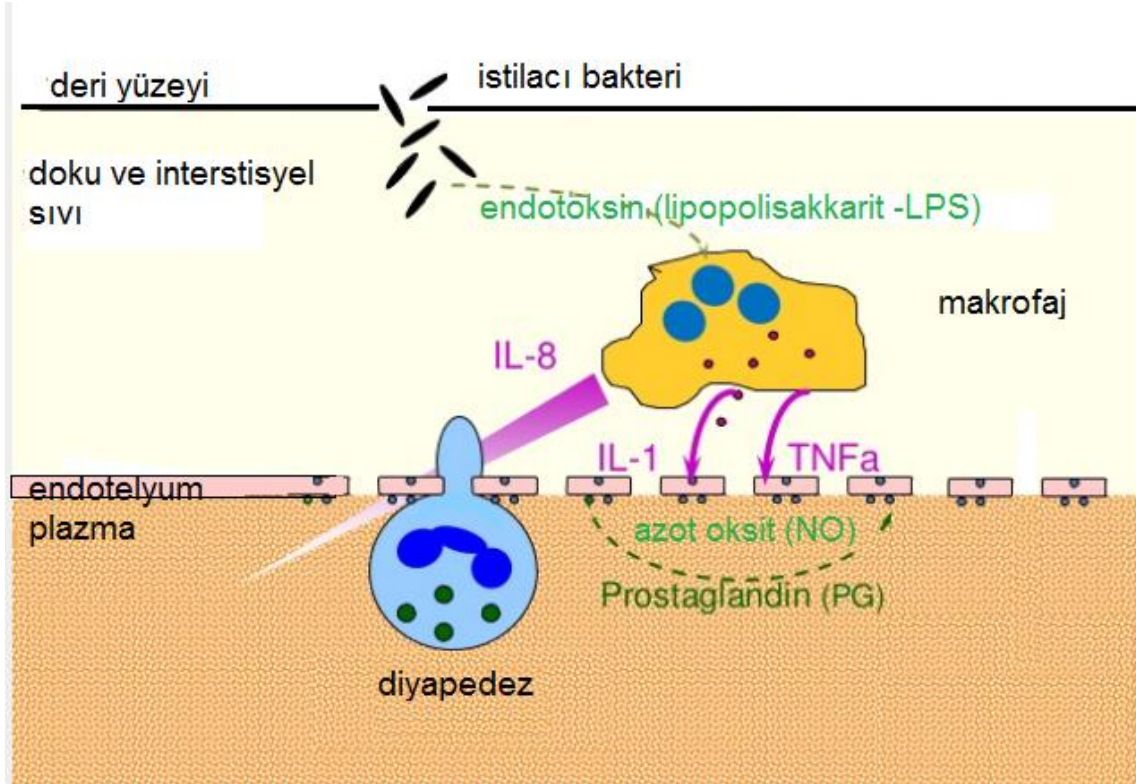
Kemokinler, G protein kenetli reseptör (GPCR) etkileşimi yoluyla lökositlerin çeşitli tiplerinin hücresel trafiğini yönetmede görevli homolog 8-10 kDa'luk heparin bağlayıcı proteinlerdir. Genelde nötrofiller, monositler, lenfositler ve eozinofiller üzerine etki etmekte ayrıca konak hücre savunma mekanizmasında rol oynamaktadırlar. Birçok çalışmaya konu olan kemokinler gelişmede, homeostasisde ve bağışıklık sisteminde rolü olduğu görülmüştür (Zlotnik ve Yoshie, 2000). Kemokinler bağışıklık sisteminde bulunan hücreler dışında birçok hücre tipine de etki etmektedir. Endotel hücreleri ve merkezi sinir sisteminde bulunan çeşitli hücrelerde bulunan kemokinler ya anjiyojenik yada anjiyostatik etkiye yol açmaktadır (Ma ve ark.,1998).

Kemokinler, N-terminal ucunda bulunan iki sistein amino asitinin düzenlenmesi temel alarak dört ana alt gruba ayrılmıştır. Bunlar CXC (α -chemokines) , CC (β -

chemokine), CX3C (d-chemokines) ve XColarak bilinir (Mackay 2001). Nötrofiller üzerine etki eden CXC kemokinleri 4q12-13 kromozom bandı üzerinde kümelenmiştir. Diğer yandan genel olarak monositlere etki eden CC kemokinleri 17q11.2 kromozomun bandında kümelenmiştir. Ancak yakın zamanda keşfedilmiş CC ve CXC kemokinleri, genel olarak lenfositlere etki etmektedir, majör kümeden uzakta kromozomun herhangi bir yerinde bulunabilmektedir. CX3C hem bir kemoatraktan hem de bir adezyon molekülü olarak görev yapmaktadır. Diğer yandan XC kemokinleri dalak, timus, bağırsak ve periferik kan lökositlerinde ve akciğer, prostat bezi ve yumurtalıkta bazı kemotaktik faktörlerini indüklemektedir (Zlotnik ve Yoshie 2000).

RSV enfeksiyonu ile uyarılmış hücrelerde IL-8 transkripsiyonunun arttığı görülmüştür. Hull ve ark. (2000)'nin yaptıkları polimorfizm çalışmalarında, IL-8 düzeyi ile bronşiolit şiddetinin ilişkili olduğunu kanıtlamışlardır. IL-8, nötrofilin kan dolaşımından ayrılıp periferik dokuya geçişini sağlamaktadır (Çağlar ve Kansu 2004).

Nötrofillerin kan dolaşımından iltihaplı dokuya geçişi diyapedez olarak bilinmektedir. Makrofaj gibi fagositler, yabancı patojene bağlanarak proinflamatuvar sitokinler ve diğer sitokinlerin üretimine başlatmaktadır. Makrofaj, proinflamator sitokin olan ve kan damarı içerisinde bulunan endotel hücrelerini aktive etmekte görevli TNF- α 'yı üretmektedir. Endotel hücrelerinde L-selektin reseptörü ile immünoglobülin süperaillesinden gelen reseptörler bulunmaktadır. Doku makrofajı TNF- α salınımını yanı sıra aynı zamanda IL-8 (CXCL8) kemokini salınımını da yapmaktadır. Nötrofil, selektin süperaillesine ve IL-8'e bağlanarak kan damarlarında hareket etmekte ve en son olarak dokuya geçmektedir (Hasudungan A. 2016) (Şekil 2.2).

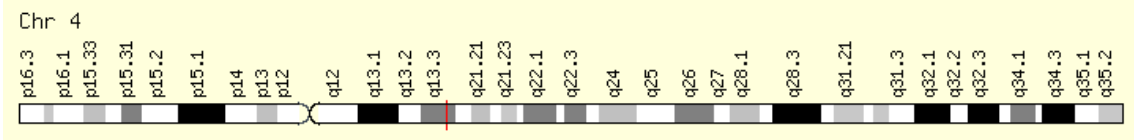


Şekil 2.1. Diyapedez

<http://www.slideshare.net/kjanuszewicz6/sirs-and-mods-d3-to-use>

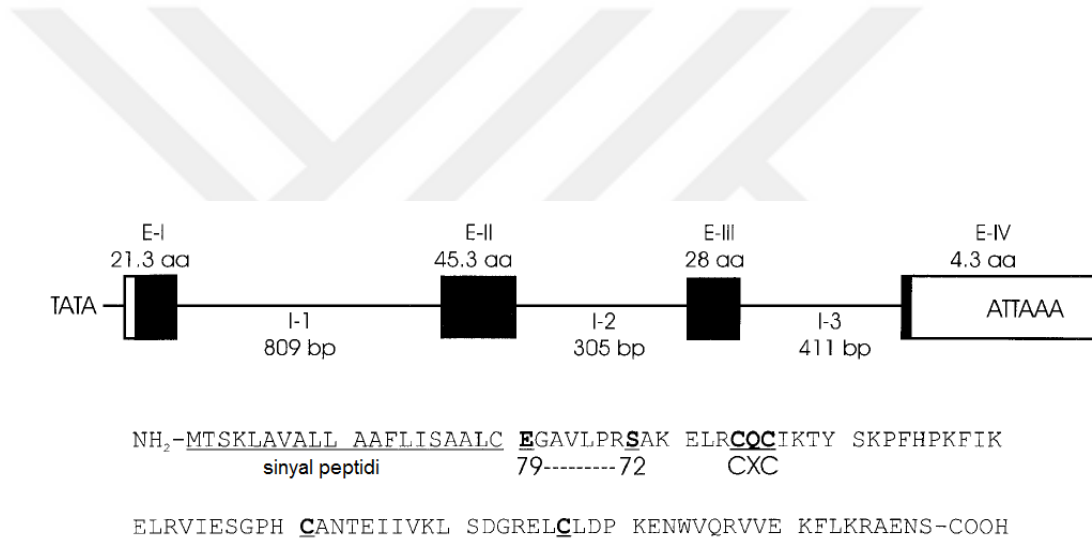
2.3. INTERLÖKİN-8 GENİ

Keşfedildiği yıldan bu yana IL-8'in yapısı, görevi ve proinflamatuvar kemokin düzenlenmesi hakkında çok fazla bilgi edinilmiştir. Nötrofiller kemoatraktantı olan IL-8 ilk 1987 yılında aktive olmuş monositlerin süpernatantlarında tanımlanmıştır (Yoshimura ve ark., 1987; Larsen ve ark., 1989). Ardından IL-8'in cDNA'sı klonlanmış ve sekanslanmıştır (Matsushima ve ark., 1988). Daha sonraki yılda ise IL-8'in tam boy genomik klonu izole edilmiş bu sayede dizilemede olanak tanınmış ve hatta promotor bölgesi karakterizasyonuna izin verilmiştir (Mukaida ve ark., 1989). IL-8 insan kromozomunun 4q13-q21 bölgesi üzerinde bulunmaktadır (Şekil 2.2).Dört ekson üç intron tarafından ayrılmıştır. IL-8 Chemokine Nomenclature Subcommittee of the International Union of Immunological Societies tarafından CXCL8 (C-X-C Motif Chemokine Ligand 8) olarak yeniden adlandırılmıştır (Bacon ve ark., 2002).



Şekil 2.2. IL-8 (CXCL8) geninin lokalizasyonu. (www.genecards.org)

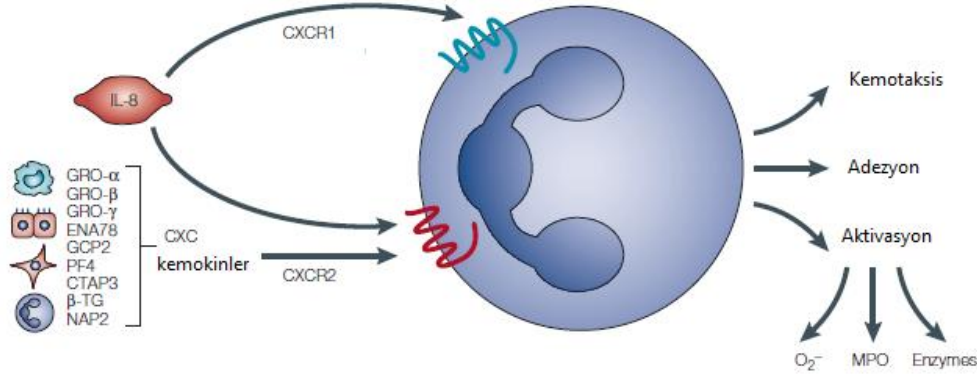
IL-8 promotorü tek transkripsiyon başlama bölgesi ile üst kısımda TATA kutusu bulunmaktadır ve 3' ucunda poliadenilasyon sinyali yer almaktadır. IL-8 transkripsiyonu sonunda 1,8kilobazlık bir mRNA oluşmaktadır. Bu mRNA translasyonu sonucunda 99 amino asitlik bir öncü protein elde edilmektedir. Daha sonra bu öncü proteinden 20 amino asit ayrılarak 79 amino asitlik aktif bir protein açığa çıkmaktadır (Roebuck ve ark., 1999).



Şekil 2.3. IL-8 geninin yapısı.

Şekil 2.3.'de 4 ekzon (dikdörtgenler olarak gösterilmiş) ve 3 intron (farklı uzunlukta gösterilmiş) bulunmaktadır. Kodlanan alanlar siyah içi dolu kareler olarak gösterilmiştir. Her ekzon tarafından kolanan amino asitlerin sayısı dikdörtgen üzerlerine yazılmıştır. IL-8 geninin 5' ucunda TATA kutusu ve 3' ucunda poliadenilasyon sinyali bulunmaktadır. IL-8 proteinin amino asit dizisi gen altında gösterilmiştir. Korunmuş dört sistein rezidüsünün, CXC dizisi, ve 20 amino asitlik sinyal peptidinin altı çizili olarak gösterilmiştir (Roebuck ve ark., 1999).

IL-8 nötrofillerde düşük afiniteli IL-8 reseptör alfa (IL8RA, CXCR1) ve yüksek afiniteli beta (IL8RB, CXCR2)'ya bağlanmaktadır (Holmes ve ark., 1991). IL-8, G protein kenetli reseptör olan hem düşük afiniteli CXCR1 resöprüne bağlanarak nötrofilleri aktivasyonuna aracılık eder hem de yüksek afiniteli CXCR2 reseptörüne bağlanarak kemotaksise aracılık eder (Barnes 2002) (Şekil 2.4.).



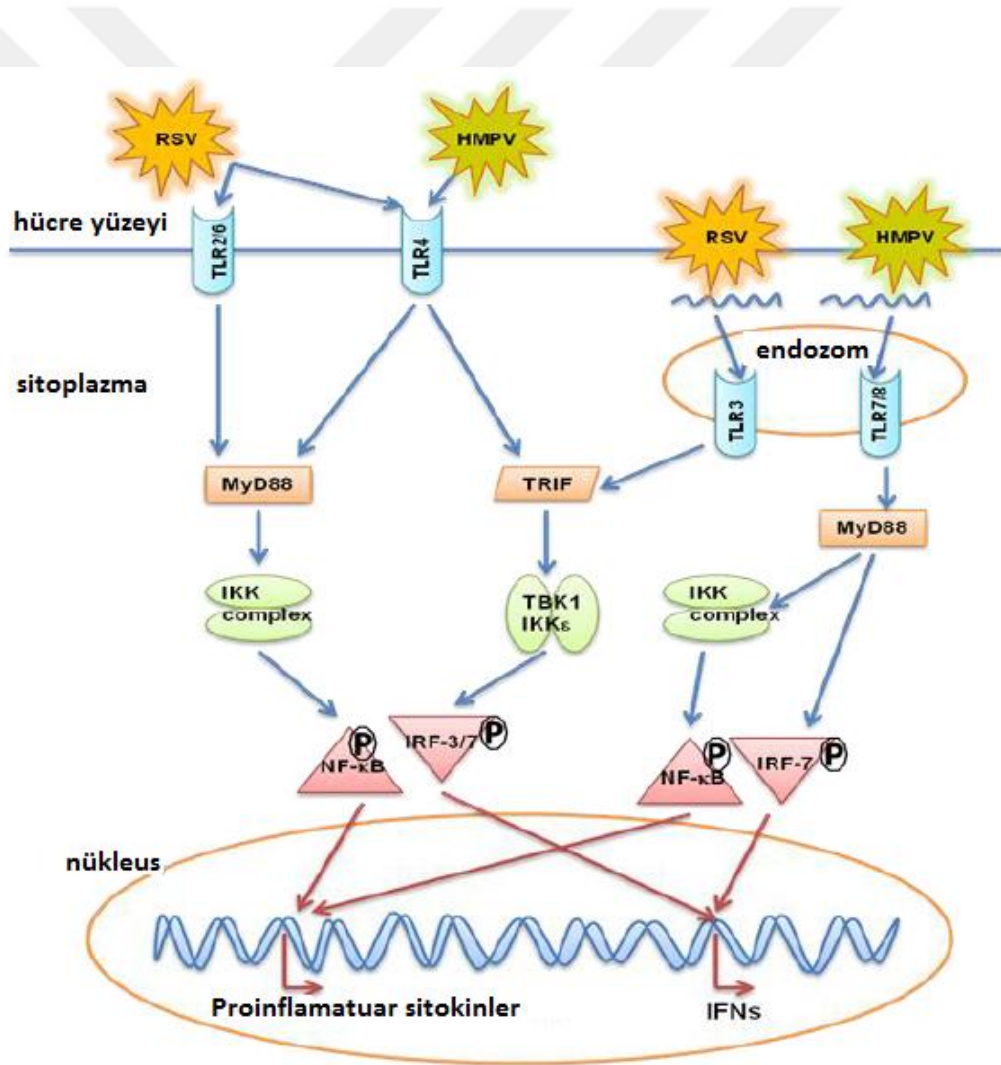
Şekil2.4. Nötrofil üzerindeki kemokin reseptörleri (Barnes 2002)

IL-8, sitokinler de dahil çok sayıda proinflamatuvar uyarıcıya, reaktif oksidanlara ve virüslere karşı yanıt olarak çeşitli hücreler tarafından salınmaktadır. IL-8'in en güçlü aktivatörleri proinflamatuvar sitokinler olan tümör nekroz faktör- α (TNF- α , Tumor necrosis factor alpha), İnterlökin-1 α/β , İnterlökin-16, bakteriyel hücre duvarı bileşenleri ve RSVenfeksiyonu olarak bilinmektedir (Brasier ve ark., 1998). Buna karşın reaktif oksijen ara ürünü H_2O_2 gibi diğer mediyatörler IL-8'i orta düzeyde indüklerler (Lakshminarayanan ve ark. 1997). Viral enfeksiyon sırasında ve bakteri istilasında IL-8 kuvvetli bir şekilde uyarılmaktadır (Yang ve ark., 1997).

Toll benzeri reseptör (TLR, toll like receptor) sinyal yolağı RSV ve hMPV kaynaklı gen ekspresyonunda yer almaktadır. TLR 3, 4, 7, 8 ve 9ların daha yaygın viral enfeksiyonlarının doğal yanıt ile alakalı olduğu görülmüştür. İki ana TLR sinyal yolağı belirlenmiştir. Bunlardan biri Myeloid differentiation primary response gene 88 (MyD88) bağımlı sinyal yolağı transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'yi aktive etmektedir, diğeri TIR ilişkili yapı iskeleti proteinlerinden olan IFN- β (TRIF) bağımlı/MyD88 bağımsız sinyalyolağı olup NF- κ B aktivasyonundan sonra İnterferon Düzenleyici Faktör(IRF) proteinini aktive olmasını sağlamaktadır. MyD88-bağımlı yolak NF- κ B'ye

bağlı proenflamatuvar genlerini (TNF- α , IL-1 β , IL-6),öte yandan MyD88 bağımsız yolak iseIRF'ye bağımlı genlerini (IFN- β , RANTES) indüklemektedir. Bütün TLR'ler (TLR3 hariç) MyD88 bağımlı yollağı aktive etmektedir. Bir dizi TLR (TLR2-4 ve TLR 7/8 dahil), RSV ve hMPV enfeksiyonu ile ilişkilidir. Sitokinlerin, kemokinlerin ve IFN'lerin indüklenmesi antiviral bir durum oluşturmakta ve bağışıklık tepkisini modüle etmektedir (Kolli ve ark., 2013).

Viral proteinlerin hücre yüzeyine (TLR2/6 ve 4) yada viral RNAların hücre içi bölmelerine (TLR3ve 7/8) bağlanması NF- κ B aktivasyonuna ve IRF-bağımlı gen ifadesine neden olmaktadır (Şekil 2.5) (Kolli ve ark., 2013).



Şekil 2.5.Toll benzeri reseptör (TLR, toll like receptor) sinyal yolağı

(Kolli ve ark., 2013).

TLR3, RSV ile hMPV gibi ssRNA virüslerinin ara ürünlerini ve çift iplikli RNA (dsRNA)'yı tanımaktadır (Matsumoto ve ark., 2003). TLR3 fibroblastlarda hücre yüzeyinde ifade edilirken dentritik hücreler, makrofajlar ve akciğer epitel hücreleri gibi bazı hücre tiplerinde hücre içerisinde ifade edilmektedir. TLR-3'de RSV indükleyici sinyal üretimini ilk keşfeden Rudd ve ark. (2005) olmuştur. Ekspresyon çalışmaları TLR-3'ün RSV ile indüklenmesi sonucunda IL-8 ve RANTES sekresyonunda bir artış göstermiştir. Öte yandan siRNA ile uyarılan TLR3'ün, IP-10/CXCL10 ve CCL5'in sentezini azalttığı görülmüştür (Rudd ve ark., 2005). Boa ve ark (2007)'nin yaptıkları çalışmada hMPV'nin NF- κ B familyasına ait p50 ve p65'i ve aynı zamanda IRF-1,-3,-7'yi indüklediğini tespit etmişlerdir. hMPV enfeksiyonuna uğrayan A549 hücreleri bu proteinlerin nükleer translokasyonunu başlatmış ve IL-8 ile RANTES gen promotor bölgesine bağlanmasını arttırmış olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan, RSV'nin A549 hücrelerinde IRF-1 sentezini indüklediğini, nükleer translokasyon ve IL-8 promotorunun yeni tanımlanmış response elementine bağlandığı Boa ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada gösterilmiştir.

Genelde IL-8 -251A/T ve 781C/T gen polimorfizmi ile kanser, otoimmün ve viral hastalıklar aralarındaki ilişki incelenmiştir. Transkripsiyonu regule etmesinden dolayı en çok promotor bölgesinde bulunan IL-251A/T polimorfizmi incelenmiştir.

IL-8'in angiogenesis, adezyon, istila (invazyon) ve metastazda hayati bir rol oynadığı bilinmektedir (Shimizu ve ark.,2008; Xue ve ark., 2012). Şimdiye kadar farklı popülasyonlarda yapılan birçok moleküler epidemiyolojik çalışmalarda IL-8 -251A/T polimorfizmi ile kanser olma riskinin alakalı olduğu ifşa edilmiştir. Örneğin Lui ve ark. (2012) oral kanser ile IL-8 -251 A/T polimorfizminin yüksek oranda ilişkili olabileceğini vurgulamıştır. Xue ve ark. (2012) Çin Han popülasyonunda -251AA genotipinin gastrik kanser hassasiyetini göstermede önemli bir biyobelirteç olduğunu düşünmüşlerdir. Çoğu önceki yapılan çalışmalarda IL-8 (-251A/T) gen polimorfizmi ile prostat, göğüs, oral ve kolorektal kanseri arasında anlamlı sonuç elde edilmiştir (Shimizu ve ark., 2008; Xue ve ark., 2012; Wang ve ark., 2013; McCarron ve ark., 2002).

Enterovirus 71 (EV71) enfeksiyonu olan Çin Han çocuklarında IL-8 gen polimorfizmi incelenmiş ve anlamlı bulunmuştur. Xu ve ark.(2016) buldukları bu sonuçlar ile Lu ve ark. (2010) buldukları sonuç ile uyumlu bulunmuştur.

Invaziv aspergilloz (IA), *Aspergillus spp'nin* neden olduğu hayatı tehdit eden bir enfeksiyondur (Neofytos ve ark.,2013). *Aspergillus fumigatus* fungal patojene karşı oluşturulan immün cevap fagositlere, endotel hücrelerine ve epitel hücrelerine dayanmaktadır (Gresnigt ve ark., 2012).IL-8 781C/T polimorfizmi ile artmış IA riskinin ilişkili olduğunu öngörülmüştür(Lupiañez ve ark. 2016).

Yine çoğu otoimmün hastalıklarda 781 C/T polimorfiziminin alakası incelenmiştir. Gu ve ark. (2009)'nın Çin popülasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada 781C aleline sahip kişilerin Graves oftalmopatisi ve Graves' hastalığı olma riskleri fazla bulunmuştur. Buna benzer olarak Hollanda da yapılan bir araştırmada, IL-8 + 781 CC genotipinin romatoid artrit hastalığının erken evresi ile alakalı olduğu gözlemlenmiştir($p<0.0001$) (Emonts ve ark., 2011). Henoch-Schönlein Purpurası hastalığında da 781 C/T polimorfizi incelenmiş ancak anlamlı bulunmamıştır.

Araştırdığımız kadarı ile IL-8 -251A/T ve 781C/T polimorfizmi ve akut bronşiolit ile olan ilişkisi şimdiye kadar Türkiye’de çalışılmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARI

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Polikliniğine ve Acil servise akut bronşiolit tanısı konulmuş 104 hasta ile akut bronşiolit tanısı konulmamış rutin kontroller için gelen 104 birey çalışma grubuna katılmıştır. Gelen hasta ve kontrol grubunun ebeveynlerinden izin alınarak çalışma yürütülmüştür. Bu kapsamda, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında bulunan ve Etik kurul komisyonundan 2015/19 toplantı nolu, 15-KAEK-206 proje nosuyla onay alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen bebeklerin ebeveynlerinin onam formunu onaylamasıyla araştırma yürütülmeye başlanmıştır. Bütün çalışmalar Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda yürütülmüştür.

Çalışmada hasta ve kontrol grubunun belirlemedeki kriterler Tablo 3.1.de belirlenmiştir.

Tablo 3.1. Hasta ve kontrol grubuna dahil edilme kriterleri.

Araştırmaya dâhil edilme kriterleri	Çalışma grubunda akut bronşiolit tanısı konulmuş. Kontrol grubuna akut bronşiolit dışı bir nedenle başvuran bebeklerden toplanan kanlar ile çalışma sürdürülmüştür. Ebeveynler tarafından olur formu imzalanmıştır
Araştırmaya dâhil edilmeme kriterleri	Akut bronşiolit dışında hışıltıyı açıklayacak başka hastalığı olan (astım, tekrarlayan akciğer hastalığı, yabancı cisim aspirasyonu, tanımlanmış immün yetmezlik sendromu, bronkopulmoner displazi, konjenital kalp hastalığı ve anomalileri) tanısı almış olanlar hasta grubuna dahil edilmemiştir Olur formu doldurmayan ebeveynlerin bebekleri dahil edilmemiştir.

3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ALET ve CİHAZLAR

3.2.1 Aletler ve Cihazlar

1. GeneAll kiti (Lot N106079J)
2. Sıcak su banyosu (Memmert)
3. Vorteks (VELP Scientifica, F20220176)
4. Etanol (Merc, Almanya)
5. Santrifüj (Mikro 120, Hettich Zentrifugen)
6. Buz dolabı (İndesit, TN5 FNF)
7. PZR Cihazı(5 Prime Thermal Cyclers, 5PRIMEG102)
8. Mikrodalga Fırın (Arçelik MD554)
9. Hassas Terazi (KERN, ABJ 220-4M)

10. Elektroforez Tankı (Clever Scientifica, MHCHOİCE)
11. Elektroforez Güç Kaynağı (Consort, EV26)
12. Jel Görüntüleme Sistemi (Transilluminator)
13. Bilgisayar (Exper, intelcore)
14. Manyetik Karıştırıcı (VELP Scientifica, F20520162)
15. pH metre (İhanna, 507702)

3.3. ÇÖZELTİLER

Agaroz Jelde Kullanılan Çözeltiler ve Bunların Hazırlanışı

- EDTA (Etilendiamin Tetra Asetik Asit) Solüsyonu (0.5M) Hazırlanışı (100ml)
18,16gr Na₂EDTAx2H₂O (Ambresco, Lot 3228B038) + 80ml dH₂O içerisinde çözüldü. Çözülme olması için ≈2.0 gr sodyum hidroksit (NaOH) (Riedel-de Haën, Lot 70440) karışıma eklendi. pH metre ile pH'ı ölçüldü. pH=8.0 olmasına dikkat edildi eğer değilse üstüne hidrojen klorür (HCl) (Riedel-de Haën, Lot 80460) eklenerek pH'ı 8'e eşitlemeye çalışıldı. En son çözelti 100ml'ye dH₂O ile tamamlandı. Otoklavlanıp oda sıcaklığında bekletildi.
- 5XTBE (Tris-Borat-EDTA) Tamponu
54gr Trisma Base (Bioshop, Lot 1L22940), 27.5gr Borik Asit (Carlo Erba, Lot 0L057180L) ve 20ml EDTA solüsyonuna 500ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda biraz çözüldürüldü. Daha sonra total hacim 1lt olacak şekilde distile su eklendi. Çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi.
- Etidyum bromür solüsyonu hazırlanışı
0.1 gr Etidyum bromür (Serva, 090107), 10 ml distile su içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Etidyum bromür solüsyonunun saklanacağı tüp alüminyum folyo ile kaplandı ve +4°C de muhafaza edildi.

3.4. DNA İZOLASYONU

Kanlar EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) içeren tüplerde +4 °C izolasyon olana kadar bekletilmiştir. Periferik kan lökositlerinden GeneAll (Lot No: N106079J) kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapılmış, hasta ve kontrol grubunun DNA'sı elde edilmiştir.

DNA izolasyon protokolü

1. 1.5ml ependorf tüpüne 20 µl proteinaz K alındı. Üzerine EDTA'lı tüplerde bulunan kanlardan 200µl kan eklendi, homojen olana kadar vortekslendi ve 2dk oda sıcaklığında inkübe edildi.
2. 220µl olan karışımın üzerine 200µl BL buffer eklendi ve yine vortekslendi.
3. 420µl olan karışım 10dk 56°C'de sıcak su banyosuda inkübe edildi.
4. Her örneğe 200µl saf soğuk etanol eklendi ve vortekslendi.
5. 620µl olan karışımların her biri dikkatli bir şekilde spin kolonlara eklendi
6. 1 dk 11000rpm'de sentrifüj edilir. Bununla DNA'nın filtreli kısmında kalması sağlanmış olundu. Sentrifüjden sonra filtrlere kolon yeni tüpe takıldı.
7. Örneklerin her birine 600µl BF Buffer eklendi ve yeniden 11000 rpm'de 1dk sentrifüj edildi. Toplama tüpleri atıldı ve filtreli kolonlar yeni tüplere takıldı.
8. 700µl TW Buffer eklendi. 1dk 13000 rpm'de sentrifüj edildi. Yıkama bufferının tamamen kalıntılarından kurtulmak için tüpler atılıp yeni tüpler boş kolonlara eklenerek tekrar 1 dk'da 13000rpm'de sentrifüj edildi.
9. Kolonlar yeni 1.5ml'lik ependorf tüplere takıldı 200µl AE Buffer eklenerek 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve 13000rpm'de 1dk sentrifüj edildi. Böylelikle filtrede bulunan DNA'nın ependorf tüpüne geçişi sağlanmış olundu. Örnekler etiketlenip -20°C'de saklandı. Kalan kanlar +4°C'de buzdolabında saklanmaya devam edildi.

3.5. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) 1980'lerde Kary Mullis tarafından geliştirilen devrim niteliğinde bir yöntemdir. PZR, DNA polimerazın kalıp DNA'nın karşılığı olan yeni tamamlayıcı DNA zincirini oluşturmasına dayanır. DNA polimeraz nükleotidleri sadece var olan 3'-OH grubuna bağlayabildiği için primere gereksinim duymaktadır. Primerler araştırmacının çoğaltmak istediği kalıp zincir bölgesine bağlanmaktadır. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>)

PZR döngüsü 3 aşamada gerçekleşir. Denatürasyonda sıcaklık 94-98 °C yükselterek DNA sarmalının açılması sağlanır. Burada DNA çift sarmallı bazlar arasındaki hidrojen bağlarını kırılmasıyla tek iplikli DNA'ya dönüşür (kalıp DNA oluşur). Bağlanmada 20-40sn'liğine sıcaklık 50-65°C 'ye düşer. Primerlerin tek iplikli DNA'ya bağlanması sağlanır. Uzamada ise sıcaklık kullanılan polimeraza göre değişir Taq polimerazda bu sıcaklık 72°C de 60-180sn'dir. Bu aşamada deoksinükleotidler (dNTP) DNA kalıp zincirine bağlanırlar. Bu basamaklar ortalama 30 döngü tekrarlar. PZR için kullanılan malzemeler; Kalıp DNA, dH₂O, MgCl₂, tampon, primerler, dNTP'ler ve Taq DNA polimerazdır (Saiki ve ark., 1988 ; Gibbs, 1990)

IL-8 gen bölgesi için kullanılan primerler (Tablo 3.2) , primerlerin bağlandıkları bölge ve SNP (Şekil 3.1.), PZR kullanılan bileşenler ve miktarları (Tablo 3.3) ve döngü çizelgesi (Tablo 3.4) aşağıda verilmiştir.

Tablo 3.2. Primerler

Gen varyantları	rs numarası	Primerler	PZR ürünü uzunluğu
IL-8 251 A > T	4073	F: 5'TCATCCATGATCTTGTTCTAA3' (IDT,70213148) R: 5'GGAAAACGCTGTAGGTCAGA3' (IDT,70213149)	542bç
IL-8 781 C > T	2227306	F: 5'CTCTAACTCTTTATATAGGAATT3' (IDT,70213150) R: 5'GATTGATTTTATCAACAGGCA3' (IDT, 70213151)	203bç

```

4681 aaaaaataat tatgccatta aaagaaaatc atccatgatc ttgttctaac acctgccact
4741 ctagtactat atctgtcaca tggactatg ataaagttat ctagaataa aaaagcatac
4801 aRttgataat tcaccaaatt gtggagcttc agtattttaa atgtatatta aaattaaatt
4861 attttaaaga tcaaagaaaa ctttcgtcat actccgtatt tgataaggaa caaataggaa
4921 gtgtgatgac tcaggtttgc cctgagggga tgggccatca gttgcaaatc gtggaatttc
4981 ctctgacata atgaaaagat gagggtgcat aagtttctta gtagggtgat gatataaaaa
5041 gccaccggag cactccataa ggcacaaact ttcagagaca gcagagcaca caagcttcta
5101 ggacaagagc caggaagaaa ccaccggaag gaaccatctc actgtgtgta aacatgactt
5161 ccaagctggc cgtggctctc ttggcagcct tcctgatttc tgcagctctg tgtgaaggta
5221 agcacatctt tctgacctac agcgttttcc tatgtctaaa tgtgatcctt agatagcaaa

```

a

```

5761 attgaccaga taaaaatacc atgaagatgt tgatattgta caaaaagaa tctaactctt
5821 tataataggaa gtRgttcaat gttgtcagtt atgactgttt tttaaaacaa agaactaact
5881 gaggtcaagg gctaggagaa tattcaggaa tgagttcact agaaacatga tgccttccat
5941 agtctccaaa taatcatatt ggaattagaa aggaagtagc tggcagagct gtgcctgttg
6001 ataaaatcaa tcttaataca ctttttcccc caacaggtgc agttttgcca aggagtgcta

```

b

Şekil 3.1.IL-8 geninde (a) -251 A>T (b) +781C>T göstermektedir. (a) ve (b)'de primerlerin bağlandıkları bölge siyah kare içerisinde alınmıştır. Kırmızı kalın harfli “R” SNP'nin bulunduğu yeri göstermektedir.

Tablo3.3. PZR kullanılan bileşenler ve miktarları.

PZR Bileşenleri	µl/TÜP
Steril su (ddH ₂ O)	17,00 µl
Taq Buffer KCl-MgCl ₂ (1.25 ml) (Thermo Scientific, Lot 00213242)	2,50 µl
MgCl ₂ (25 mM) (Thermo Scientific, Lot00211626)	1,50 µl
dNTP Mix (12,5 mM) (Thermo Scientific, Lot 00213116)	0,3 µl
Forward Primer	0,8 µl
Reverse Primer	0,8 µl
Taq DNA Polimeraz (5U/ µl)	0,10 µl
Genomik DNA	2 µl

Tablo 3.4. PZR programı

	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Ön Denatürasyon	95°C	5dk	-
Denatürasyon	94°C	45sn	
Bağlanma (IL-8 -251)	60°C	45sn	35
Bağlanma (IL-8 781)	56°C	45sn	
Uzatma	72°C	1dk	
Final	72°C	10dk	-

Uygulanan PZR koşullarıyla IL-8 -251A>T 542bp'lik PZR ürünleri ile 781C>T 203bp'lik PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde 123V'da 20dk yürütülerek jel görüntüleme aracı ile görüntüleri elde edilmiştir.

3.6. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) ANALİZİ:

Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), tek nükleotit polimorfizmi (SNP) tespit etmek için en basit ve en erken yöntemi olduğu düşünülmektedir. RFLP’de kullanılan restriksiyon enzimi 5 ile 10 bazlık spesifik yeri tanıyarak DNA’yı ikiye ayırmaktadır. Jel görüntüsünden bu bölgelerin kesilip kesilmediğini RFLP ürünü boyutuna bakarak anlamak mümkündür. RFLP, özellikle tek nokta mutasyonunun tespiti için önemli bir yöntemdir. Analiz etmek için önce PZR sonra restriksiyon enzimi kullanarak mutasyon bölgesi tespit edilir(<http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/RFLP.html>).

Bu yöntem kullanılarak IL-8 -251A>T ve 781C>T polimorfizimleri için kullanılan restriksiyon enzimleri Tablo 3.5 de verilmiştir.

Tablo 3.5. Restriksiyon Enzimleri ve Özellikleri

Gen varyantları	Enzim	Kesim dizesi	Kesim	Süre	Sıcaklık
IL-8 -251 A > T	<i>Mfe</i> 1(MunI)	5’-C↓AATTG-3’	T: 542	1 saat	37°C
		3’-GTTAA↑C-5’	A: 449		
IL-8 781 C > T	<i>Eco</i> R1	5’-G↓AATTC-3’	T: 203	1saat	37°C
		3’-CTTAA↑G-5’	C: 185		

IL-8 geni -251A>T ve 781C>T polimorfizimini belirlemek için Tablo3.6. de belirtilen oranda restriksiyon enzimi karışımı hazırlandı ve sırasıyla *Mfe*1 ile *Eco*R1 kullanıldı ve 1saat 37°C’de etüvde bekletildi.

Tablo 3.6. -251 A>T ve 781 C>T kesimi için kullanılan malzemeler ve miktarları

dH₂O	8.50 µl
Buffer	1.20 µl
Enzim	0.30 µl
PZR ürünü	10 µl

İnkübasyon sonrasında 20µl olan kesim ürünlerinden 10µl alındı ve %2'lik agaroz jele yüklendi. En baştaki kuyucuğa 2µl'lik marker (Thermo scientific, Lot; 00164725) yüklenerek 125V'da 30dk yürütüldü. UV ışığı altında görüntüleri elde edildi.

3.7. AGARUZ JEL ELEKTROFOREZİ

Jel elektroforezi, makromolekülleri (DNA, RNA ve proteinler) ve bunların parçalarını boyutu ve yüklerine göre ayırarak analiz yapmamızı sağlayan bir yöntemdir. Klinik kimyada proteinleri yük ve/veya boyutlarına göre ayırmakta, biyokimya ve moleküler biyolojide DNA ve RNA fragmanlarının boyutunu tahmin etmek için ya da proteinleri yüklerine göre ayırmak için kullanılmaktadır (Kryndushkin, 2003). Agaroz jel içerisinde elektrik akımına maruz kalan negatif yüklü nükleik asit molekülleri birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Küçük olan moleküller jel gözeneklerinden kolay geçtiklerinden dolayı büyük moleküllere oranla daha hızlı ilerlemektedir (Sambrook, 2001).

Hassas terazide 2gr agaroz(SİGMA, ABD, Lot SLBD2493V) tartıldı. Ehlenmayer içerisinde boşaltıldı ve üzerinde 100ml 1XTBE eklendi. Mikrodalga fırında 1.5-2dk ısıtıldı. Yaklaşık 60°C oluncaya kadar beklendi ve üzerinde 3µl Etidyum

bromür (10mg/ml) eklenerek iyice karıştırıldı. Etidyum bromür çift zincirli DNA'nın bazları arasına girerek UV ışınlarında görünmelerini sağlamaktadır. Çözelti tarakları hazırlanmış kasete döküldü. Jelin donması için 20dk beklenildi.

Hazırlanan jel içinde 1XTBE solüsyonu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. 10µl'lik mikropipet ile 7µl PZR ürünlerinden alındı ve parafilm üzerinde bulunan 1µl'lik Brom Fenol Mavisi ve gliserol (BBF, Lot;0LB0054) içeren takip boyası ile pipetaj yöntemi yapılarak karıştırıldı ve kuyuculara yerleştirildi. En baştaki kuyucuğa PZR ürünlerinin boylarını tespit etmek için marker (Thermo scientific, Lot; 00164725) 2 µl konuldu. 125 Voltta 20dk yürütüldü ve UV ışığı altında görüntüleri elde edildi.

3.8. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Epi Info Software 3.2.2 programı ve Openepi 3.01 (<http://www.openepi.com>) yazılım programları kullanıldı. Hasta ve kontrol grubundaki genotip dağılımlarının karşılaştırılması ve Hardy-Weinberg dengesinde sapma olup olmadığı Ki kare testi ile araştırıldı. p değeri 0,05'den küçük bulunduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. ARAŞTIRMA GRUBUNA AİT BULGULAR

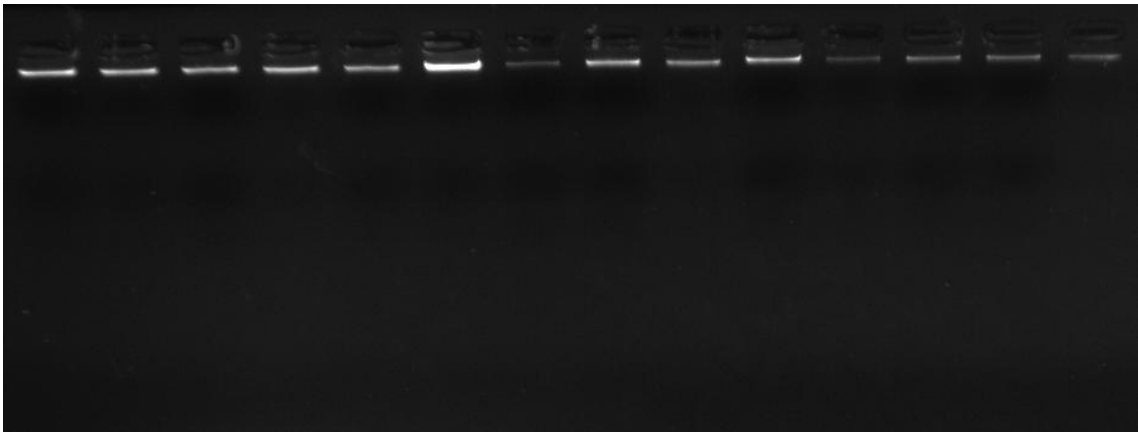
Çalışmaya 91 kadın 117 erkek olmak üzere toplamda 213 kişi katılmıştır. Akut bronşiolit grubunda 104 (42 kadın, 62 erkek), kontrol grubunda 104 (49 kadın, 55 erkek) birey yer aldı. Tablo 4.1. verilmiştir.

Tablo 4.1. Tez Çalışmasında Yer Alan Hasta ve Kontrol Gruplarındaki Kişilerin Yaş ve Cinsiyete Göre Dağılımı

	Akut Hastalar (N=104)	Bronşiolit (N=104)	Kontrol Grubu (N=104)
Cinsiyet			
Kadın	42		49
Erkek	62		55
Yaş	23,05(ay)		19,07(ay)
Yaş ortalaması			

4.2. DNA'NIN KALİTATİF TAYİNİ

DNA izolasyon protokolü izlendikten sonra elde edilen DNA örnekleri %2'lik jelde 124V, 20dk'da yürütülmüştür ve UV ışığı altında incelenmiştir (Şekil 4.1).

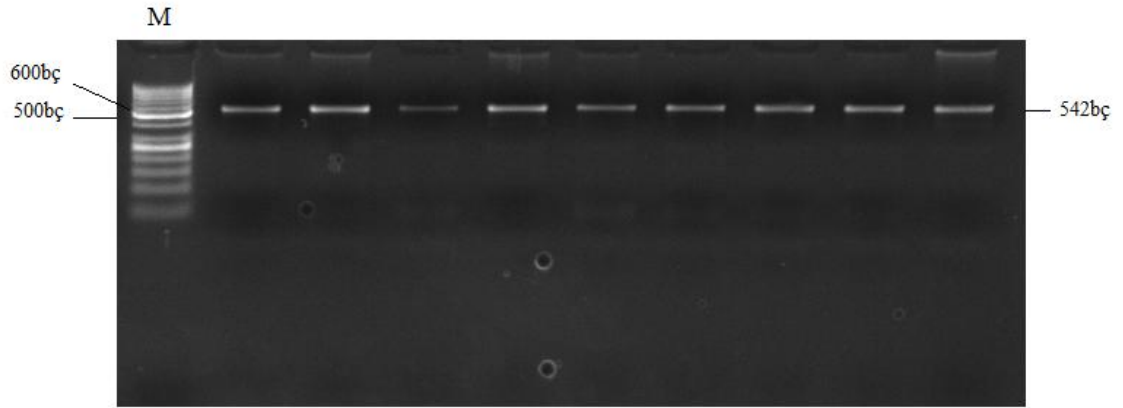


Şekil 4.1. Genomik DNA'nın agaroz jel görüntüsü

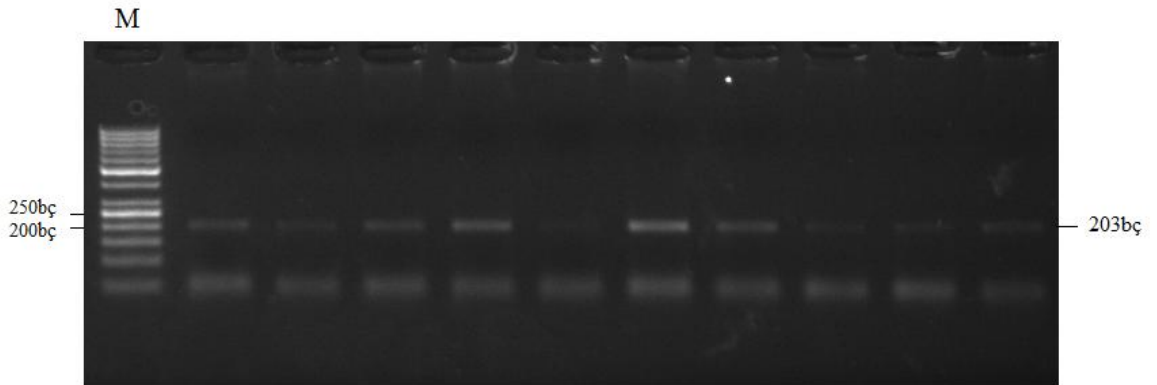
4.3. PZR ANALİZLERİ

IL-8 geninin restriksiyon enzimi kesim analizi yapılacak olan -251 A>T polimorfik noktasını içeren 542 bç'lik bölgesi ile 781 C>T polimorfik noktasını içeren 203 bç'lik bölgesi Tablo 3.3 PZR karışımı ile Tablo 3.4 de belirtilen PZR programına göre çoğaltılmış ve %2'lik agaroz jel elektroforezi ile incelendi (Şekil 4.2)





(a)



(b)

Şekil 4.2. (a) -251 A>T polimorfizmi için elde edilen 542bç'lik PZR ürünü jel görüntüsü. (b) 781C>T polimorfizmi için elde edilen 203bç'lik PZR ürünü jel görüntüsü. (M: Marker, 50 bp DNA ladder)

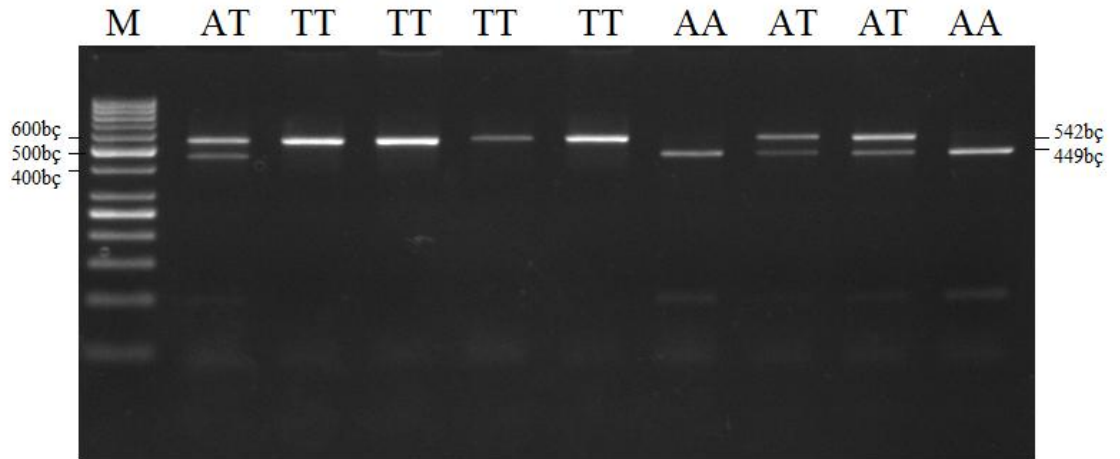
4.4. RFLP ANALİZİ

IL-8 geninin 542 bç'lik promotor bölgesi PZR ile çoğaltıldıktan sonra *Mfe*I restriksiyon enzimi ile 37°C'de 1 saat kesime bırakıldı. Daha sonra -251A>T polimorfizmini görüntülemek için %2'lik agaroz jele yüklenerek 125V 30dk yürütüldü. UV ışığı altında incelendi.

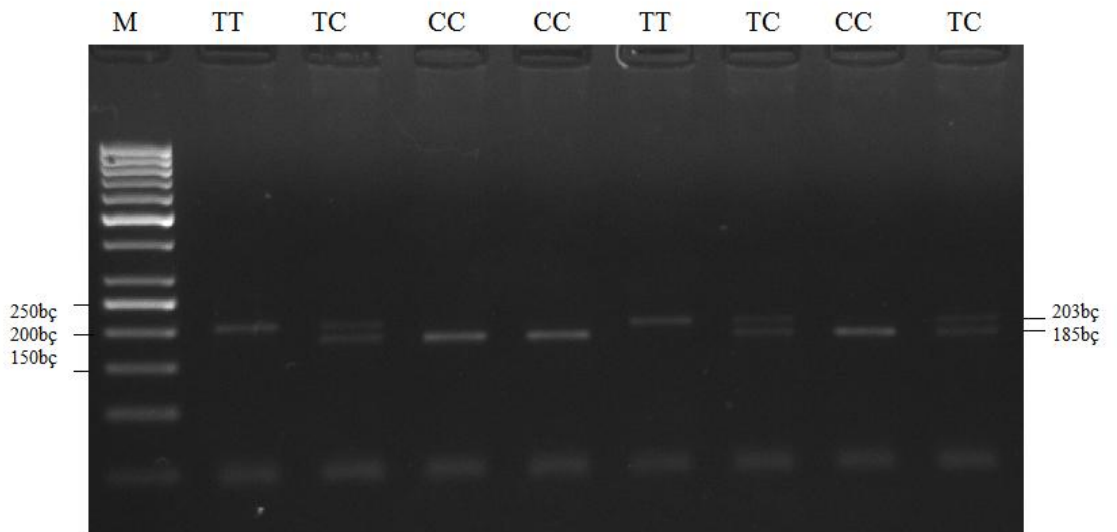
PZR ile çoğaltılan 203 bç'lik bölge *Eco*R1 enzimi ile 1 saat 37°C de kesime bırakıldı. %2'lik agaroz jelde 125V 30dk yürütüldükten sonra UV altında görüntüleri elde edildi.

IL-8 542bç'lik PZR ürünü *Mfe*I restriksiyon enzimi ile kesilirse A kesilmezse T alleli oluşur. Buna göre hasta ve kontrol olan bireylerin -251A>T jel UV ışığında incelendiğinde 542bç TT genotipini, 542bç ve 449bç AT genotipini ve 449bç AA genotipini göstermektedir.

IL-8 203bç'lik PZR ürünü *Eco*R1 restriksiyon enzimi ile kesilirse C kesilmez ise T alleli oluşturur. Buna göre hasta ve kontrol olan bireylerin 781C>T jel UV ışığı altında incelendiğinde 203bç TT genotipini, 203bç ve 185bç CT genotipini ve 185bç CC genotipini göstermektedir.



Şekil 4.3. IL-8 geninin -251A>T polimorfizminin PZR ürünü MfeI enzimi ile kesilmesi sonucunda 542bç ve 449bç'lik kesim ürünleri %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri. AA: homozigot, AT:heterozigot, TT: homozigot.(M: Marker, 50 bp DNA ladder)



Şeki 4.4. IL-8 geninin 781C>T polimorfizminin PZR ürünü EcoRI enzimi ile kesilmesi sonucunda 203bç ve 185bç'lik kesim ürünleri %2'lik agaroz jeldeki görünüşleri. TT: homozigot, TC:heterozigot, CC: homozigot.(M: Marker, 50 bp DNA ladder)

4.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ BULGULARI

Akut bronşiolit hastalarında ve kontrol grubunda IL-8 geninin (-251A>T ve 781C>T) polimorfiziminin istatistiksel analizi Tablo 4.2. de verilmiştir.

Tablo 4.2.IL-8 (-251>T ve 781 C>T) polimorfizminin istatistiksel analizi

IL_8			Akut Bronşiolit hastaları n=104 (%)	HWE p	Kontrol grubu n=104(%)	HWE p	P	OR (CI 95%)
-251A>T	Genotip			0.06		0.25	0.8315	
		AA	22 (%21,15)		21 (%20,19)			
		AT	41 (%39,42)		45 (%43,27)			
		TT	41 (%39,42)		38 (%36,54)			
	Allel Sıklığı							
		A	85 (%40,87)		87 (%41,82)		0.421	0.96 (0.65-1.42)
		T	123 (%59,13)		121 (%58,17)			
781C>T	Genotip			0.01		0.07	0.5723	
		TT	15 (%14,42)		17 (%16,35)			
		TC	33 (%31,73)		39 (%37,5)			
		CC	56 (%53,85)		48 (%46,15)			
	Allel Sıklığı						0.149	0.80 (0.53-1.21)
		T	63 (%30,29)		73 (%35,10)			
		C	145 (%69,71)		135 (%64,90)			

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Akut bronşiolit genelde 2 yaş altı çocuklarda görülen hışıltılı solunuma ve alt solunum yolu enfeksiyonuna neden olan bir hastalıktır. Sıkça çocuklarda görülmesine rağmen bütün yaşlarda görülebilen bir hastalıktır. Mevsimsel olup ılıman iklime sahip ülkelerde kış ve ilkbaharda görülürken, tropikal iklim yaşıyan ülkelerde yağmurlu dönemlerde enfeksiyon sıklığı artmaktadır. Hastalık erkek çocuklarında kız çocuklarına oranla 1.5 kat daha fazladır (Black 2003).

Akut bronşiolite neden olan patojenler RSV, hMPV, parainfluenza virüs, influenza virüs ya da adenovirüs olarak bilinmektedir. Bunlar burun salgısı, havadaki damlacıklar ve formitler teması ile bulaşmaktadır. 2 yaş altı akut bronşiolit nedeni ile hastaneye gelen bebeklerin %72'sinde RSV ajanı izole edilmiştir. Bu nedenle çoğu akut bronşiolit çalışmalarında patojen olarak RSV ele alınmıştır (Mansbach ve ark., 2008).

Paramyxoviridae familyasından olan RSV negatif anlamlı, tek sarmallı bir RNA virüsüdür. Bebeklik ve çocukluk döneminde alt solunum yolu enfeksiyonlarının oluşmasına neden olmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, bebeklerin% 60'ı ilk RSV sezonu boyunca enfekteye uğramakta ve neredeyse tüm çocuklar bu virüs ile 2-3 yaşları arasında karşılaşmaktadır (Glezen ve ark., 1986). Bu yüzden çoğu çalışmalarda akut bronşiolit RSV bronşiolit olarak da geçmektedir.

Solunum yolu viral enfeksiyonlarında, nötrofillerin konakçı savunmasında ve solunum yolu semptomlarında rol oynayabileceğine dair kanıtlar artmaktadır (Faden ve Ogra, 1986). RSV enfeksiyonunun insan alveolar makrofajlarını ve hava yolu epitel hücrelerini uyararak büyük miktarda IL-8 ürettiği bazı çalışmalarda görülmüştür (Becker ve ark., 1993; Becker ve ark 1991). IL-8'in nötrofiller için güçlü bir kemoatraktan ve aktivatör olduğu ve RSV enfeksiyonlarında nötrofil göçünde merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir. Bu nedenle akut bronşiolitte görülen patolojiye ve semptomlara önemli katkı sağladığı kanıtlanılabilir (Leonard ve ark., 1990). IL-8 düzeyi ile hastalığın şiddetinin doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. RSV enfeksiyonuna uğramış hava yolu hücrelerinde IL-8 ekspresyonunun arttığı görülmüş ayrıca aşırı miktarda IL-8'in havayolu iltihaplanmasına neden olabileceği bir mekanizma

oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, RSV enfeksiyonundaki IL-8 üretiminin hava yolu hasarı yapma ihtimali bulunmaktadır (Fiedler ve ark., 1996).

IL-8 nötrofil reseptörlerine bağlanarak nötrofillerin kemotaksisini sağlamaktadır. IL-8, IL-8 reseptör alfa (IL8RA, CXCR1) ve beta (IL8RB, CXCR2)'ya bağlanmaktadır (Holmes ve ark., 1991). IL-8 G protein kenetli reseptör olan CXCR1'e bağlanarak nötrofilleri aktive etmektedir. Aynı zamanda, diğer CXC aile üyeleri ile reseptör CXCR2 üzerinde de etkilidir ve kemotakside önemli bir kemoatraktandır (Rossi ve Zlotnik 2000). CXCR1, IL-8'e yüksek afinite ile bağlanır ve sinyal G proteinini aktive ederek ikincil mesajlaşma sistemine iletmektedir. Birincil ligand olan IL-8 ile uyarılan CXCR1, nötrofil kemotaksisine ve aktivasyonuna neden olmaktadır (Bergin ve ark., 2010). Son zamanlarda IL8RA polimorfizm ile astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı arasındaki ilişki incelenmiştir. IL8RA, 31R ve 335C allelleri kronik obstrüktif akciğer hastalarda ve astımlı çocuklarda sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir (sırasıyla P = 0.0073 ve 0.023) (Stemmler ve ark., 2005).

En güçlü nötrofil kemoatraktantı olarak bilinen IL-8, deneysel olarak RSV enfeksiyonuna uğramış hava yolu epitel hücrelerinde diğer proinflamatuvar sitokinlerden daha yüksek seviyede görülmüştür (Fiedler ve ark., 1996). Klinik çalışmalarda akut bronşiolit olan bebeklerin plazma ve nasal salgılarında IL-8 çok sayıda tespit edilmiştir (Biswas ve ark.1995, Abu-Harb ve ark., 1999). Bu çalışmalar IL-8'in RSV bronşiolit patogenezinde önemli bir faktör olup olmadığı sorusunu akıllara getirmiştir. Bu olayı çözümlenmenin diğer bir yolu IL-8 fonksiyonunun ayarlanmasında genetik faktörlerin rolüne bakmaktır. Ayrıca bebeklik döneminde şiddetli RSV enfeksiyonu, tekrarlayan wheezing (hırıltılı solunum) yada bronşial astıma neden olmaktadır (Sigurs ve ark., 2005). Dolayısıyla hem astım hem de akut bronşiolitin ortak genetik arka plana sahip olduğu hipotezi ileri sürülmüştür (Stein ve ark., 1999). Dahası yapılan bir araştırmada tek yumurta ikizlerinin çift yumurta ikizlerine oranla RSV enfeksiyonuna yatkınlıkları daha yüksek bulunmuştur (Thomsen ve ark., 2008)

IL-8 geni 4q13-q12 kromozomunda bulunmaktadır ve 4 ekzon ile 3 intron içermektedir. IL-8 geni tarafından kodlanan protein CXC kemokin ailesinin 10 üyesinden biridir(www.ncbi.nlm.nih.gov)

Yapılan çalışmalarda gen transkripsiyonu kontrolünde promotor bölgenin büyük önem taşıdığı ve Tip II alveol hücresi (A549) modelinde RSV replikasyonunun IL-8 gen ekspresyonunu arttırdığı görülmüştür (Garofalo ve ark.,1996). IL-8 promotor bölgesi mutasyonu analizi sonucunda RSV ve TNF ile uyarılan hücrelerde IL-8 gen transkripsiyonunda NF-kB'nin kesinlikle gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. NF-kB heterodimer formasyonunda yer alan p65, Protein Kinase A (PKA) tarafından sitozolde fosforilasyon olur ve buna karşıt olarak çekirdekte Mitogen- and Stress-Activated Protein Kinase-1/2 (MSK1/2) aracılı fosforilasyonu gerçekleştirir (Vermeulen ve ark., 2003). MSK1/2 aracılı fosforilasyon IL-1 α , TNF α ve RSV de dahil olmak üzere çeşitli uyarıcı ile aktive olur ve iltihap sırasında SCF ve IL-8 ekspresyonuna teşvik ettiği görülmüştür. Önceki çalışmalarda, IL-8 gen ekspresyonu düzenlenmesinin hücre tipi ve spesifik uyarıcıya özgü olduğu görülmüştür (Reber ve ark., 2009; Jamaluddin ve ark., 2009). Epitel hücrelerinde RSV-indüklü IL-8 üretimi transkripsiyonel olarak regüle edilmektedir. Bu regülasyon, nükleer faktör (NF) -kB, NF-IL6 ve aktivatör protein-1 (AP-1) transkripsiyon faktörleri arasında etkileşimi ile gerçekleşmektedir (Mastrorade ve ark., 1996). Mastrorade ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada IL-8 gen ifadesi işbirliği etkileşiminde NF-IL6'ya nazaran AP-1'in NF-kB tarafından daha fazla tercih edilebileceğini öne sürülmüşlerdir.

Promotor bölgesindeki regülasyondan dolayı akut bronşiolit ile -251A/T polimorfizmi arasındaki ilişki birçok araştırmaya konu olmuştur. -251A/T polimorfizminin yanısıra 781C/T polimorfizmi de incelenmiştir (Hull ve ark., 2000;).

Bronşiolitin genetik yatkınlığının belirlenmesinde ilk kanıtı Hull ve ark. (2000) sağlamışlardır. Literatürü taradığımız kadarıyla IL-8 -251A>T ve 781 C>T polimorfizmlerinin akut bronşiolitte birlikte araştırıldığı bir çalışmaya ülkemizde rastlanmamıştır.

Çalışmamızda IL-8 781 C>T ve promotorda bulunan -251A>T polimorfizleri ile akut bronşiolit arasındaki ilişki incelenmiş ve anlamsız olduğu görülmüştür. -251A>T polimorfizminde AA, AT, TT genotiplerinin sıklığı sırasıyla hastalarda %21,15 , %39,42, %39,42 ve kontrol grubunda %20,19, %43,27 , %36,54 bulunmuştur. Allel sıklığı hastalarda A alleli için %40,82, T alleli için %59,13 kontrol grubunda A alleli için %41,82 ve T alleli için %58,17 bulunmuştur (p=0,421). 781 C>T polimorfizminde TT, TC, CC genotiplerinin sıklığı sırasıyla hastalarda %14,42, %31,73, %53,85 ve kontrol grubunda %16,35, %37,5, %46,15 olarak bulunmuştur. Allel sıklığı hastalarda T alleli için %30,29, C alleli için %69,71, kontrol grubunda T alleli için %35,10, C alleli için %64,90 olarak bulunmuştur (p=0,149).

Hull ve ark. (2000) IL-8 promotör bölgesindeki gen varyasyonunun IL-8 geninin transkripsiyonunun değişmesine yol açabileceğini düşünmüşlerdir. İngiltere popülasyonunun yarısından fazlasında IL-8 transkripsiyon başlangıç bölgesinde bulunan -251 tek nükleotidli polimorfizminin heterozigot olduğu görülmüştür. Verilere bakıldığında LPS ile in vitro stimule edilen tam kanlarla yapılan çalışmada IL-8 -251A alleli ile IL-8 üretiminin ilişkili olduğu tespit edilmiştir. IL-8 -251A alleli şiddetli bronşiolitin gelişme riskini iki katına çıkardığını öne sürmüşlerdir. RSV bronşiolit olan bebekler ve ailelerinin analizine bakıldığında IL-8 -251A allelinin hastalığın şiddeti ile alakalı olabileceği düşünülmüştür (P = 0.07).

Hull ve ark. önceki yaptıkları çalışmayı baza alarak IL-8 gen ifadesinin bronşiolit ile alakalı olduğunu düşünmüşler ve IL-8 lokusunda 9 SNP tanımlamışlardır. İngiliz popülasyonu üzerinde yapılan araştırma sonucunda 781T aleli -251A taşıyan haplotipi iki gruba ayrılmıştır: -251A haplotipini taşıyanların %90'ında 781T taşıdığı, %10'unda 781C taşıdığı görülmüştür. Transmission disequilibrium test (TDT) kullanılarak -251A /781T haplotipi analizi elde edildiğinde RSV bronşiolitin ağır yaşadığı görülmüştür (%63 iletim, p= .0008). Buna karşın -251A/781C haplotipinin bronşiolite karşı direncine dair anlamlı bir eğiliminin olmadığı görülmüştür (%40 iletim, p= .3) (Hull ve ark., 2001)

Puthothu ve ark. (2006) 322 astım hastası çocuk, 131 bronşiolit bebek ile 270 kontrol grubu üzerinden yaptıkları çalışmada, -251A/T polimorfizmi ile ilgili AA,AT ve TT genotiplerinin sıklıkları sırasıyla bronşiolit olan hastalarda %26, %73, %34 ve

kontrolde %70, %24, %74 olarak bulunmuştur ($p=0.550$). IL-8 781 C/T polimorfizmi için ise hasta grubunda CC %37, CT %62 ve TT %27 bulunmuş olup kontrol grubunda bu değerler CC %84, CT %124 ve TT %61' dir ($p=0.937$). Sonuç olarak, -251A/T ve 781 C/T polimorfizmlerinin hem SNP'de hem de haplotip analizinde bronşiolit ile alakalı olmadığını bulmuşlardır. Bu da Alman popülasyonunda IL-8'in ağır RSV enfeksiyonunun gelişmesinde önemli bir rolü olmadığını düşündürmüştür.

Heinzmann ve ark.(2004) şiddetli akute bronşiolit enfeksiyonu olan çocukların ilerleyen dönemlerde bronşial astım gelişiminde risk faktörü olduğunu düşünmüştür. Bu iki hastalığın klinik bulgularında bronşiyol hiperaktivitenin olması nedeni ile aynı genetik yapıya sahip olduklarınıileri sürmüşlerdir. Dahası,IL-8'in solunum yollarına tekrar tekrar uygulanması kobaylarda bronş hiperaktivitesini uyarmaktadır ve insanlarda hastaların balgamlarında IL-8'in artması astımın şiddetlenmesinden önce görülmektedir. Bu benzerliklerden yola çıkarak Heinzmann ve ark. (2004), Hull ve ark. (2001)'nin akut bronşiolit üzerinde yaptıkları polimorfizm çalışmalarını ele almış, -251A/T ve 781C/T polimorfizmleri ile astım hastalığının arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır.En güçlü ilişki C781T ile görülmüştür ($P = .008$) ve astımlı hastalarda C allelin daha sık olduğu tespit edilmiştir. En zayıf ilişki -A251T ile gösterilmiş ($P = .03$) ve T allelin astımlı hastalarda daha sık olduğu sonucuna varılmıştır. Bu Hull ve ark. (2001) yaptıkları çalışmaya ters düşmektedir. Sonuca bakılarak akut bronşiolit ve bronşial astımın ortak bir gen yapısına sahip olduğu hipotezi çürütülmüştür.

El, ayak ve ağız sendromu (HFMS), aseptik menenjit, çocuk felci (poliomyelin), ensefalit, hava yolu hasarı ve miyokardit gibi klinik hastalıklara neden olan etkenin de bir virüs (enterovirus 71 (EV71)) olmasından dolayı IL-8 -251 A/T polimorfizmi çoğu çalışmalara konu olmuştur. Enterovirus 71 (EV71)'e karşı oluşturulan imün yanıt sonucunda merkezi sinir sisteminde IL-8 ifadesinin arttığı görülmüştür (Ooi ve ark., 2010; Wang ve ark., 2008). Xu ve ark. (2016) E71 enfeksiyonu olan Çin Han çocuklarında -251A/T polimorfizmini incelemiş ve IL-8 -251 T(AT-TT) aleli ile IL-8 ekspresyonunun artması arasında bir ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir ($P = 0.012$) . Buldukları bu sonuç Lu ve ark. (2010)'nın buldukları sonuç ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu durum Hull ve ark.(2000) İngilteredeki bebeklerde IL-8 -251A aleline sahip olanların RSV'ye karşı duyarlı oldukları sonucuna ters düşmektedir. Başka bir

araştırmada Puthothu ve ark. (2006) Alman çocuklarda bu lokusun RSV ile ilişkisi olmadığını göstermişlerdir. Bu tutarsızlığın nedenini enfekte olan virüslerin farklı olmasına ve çalışılan popülasyon grubunun küçük olmasına bağlanmıştır (Xu ve ark., 2016).

Çalışmamızda IL-8 -251A/T ve 781C/T ile akut bronşiolit ile arasındaki ilişki anlamsız bulunmuştur. Bu sonuç Puthothu ve ark. (2006)'nın yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuş, ancak Hull ve ark. (2000, 2001) buldukları sonuçlara ters düşmektedir. Bunun birçok nedeni olabilir. Bu sonuçların ters çıkmasının en önemli nedenlerden biri Hull ve ark. çalışma grubunda daha yaşça genç bebeklerin bulunması ve diğer bir etkende çalışmaya önceden kalp rahatsızlığı olan çocukların da dahil edilmesidir. Sonuç olarak Alman ve İngiliz popülasyonu beyaz ırkı temsil etmesine rağmen alerjik hastalılara genetik yatkınlıkları farklıdır. Bizim sonuçlarımız ile ters düşmesinin başka nedenleri de olabilmektedir. Örneğin farklı popülasyonda yapılmasından dolayı sonuçlar farklı çıkabilir, örnekleme büyüklüklerinin küçük olması bu eşişsizliğe neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak, literatürü taramış olduğumuz kadarıyla Türk toplumunda IL-8 gen polimorfizmi ile akut bronşiolit arasındaki bağlantı ilk defa çalışılmıştır. Bundan dolayı gelecekteki dönemlerde IL-8 geninin diğer polimorfizimleri de analiz edilmelidir. Bu tür çalışmaların sıklık kazanması ile ileriki zamanlarda bireyin genotipi ile tedavi edilmesine olanak tanınması mümkün olabilecektir. Ayrıca, bu hastalığın farmakolojik tedavisinin olmaması büyük bir sorundur. Bu nedenle gen çalışmaları ile yeni farmakolojik yada non-farmakolojik hedefler tespit edilerek ilaç geliştirilmesinde yardımcı olabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abu-Harb M., Bell F., Finn A., ark. 1999. IL-8 and neutrophil elastase levels in the respiratory tract of infants with RSV bronchiolitis. *Eur Respir J*, 14:139–43.
- Arnold J.C., Singh K.K., Spector S.A., Sawyer M.H. 2006. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis.* , 43(3):283-8
- Bacon K., Baggiolini M., Broxmeyer H., Horuk R., Lindley I., Mantovani A., Maysushima K., Murphy P., Nomiyama H., Oppenheim J., Rot A., Schall T., Tsang M., Thorpe R., Van Damme J., Wadhwa M., Yoshie O., Zlotnik A., Zoon K. 2002. Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *J. Interferon Cytokine Res*, 22 (10): 1067–8.
- Bada C, Carreazo N.Y., Chalco J.P., Huicho L. 2007 May 3. Inter-observer agreement in interpreting chest X-rays on children with acute lower respiratory tract infections and concurrent wheezing. *Sao Paulo Med J.*, 125(3):150-4
- Barnes P.J. 2002. New Treatments for COPD. *Nature*, 1: 437-436
- Becker S., Quay J., Soukup J. 1991. Cytokine (tumour necrosis factor, IL-6 and I1-8) production by respiratory syncytial virus-infected human alveolar macrophages. *Jf Immunol*, 12: 4307-12.
- Becker S., Koren H.S., Henke D.C. 1993. Interleukin-8 expression in normal nasal epithelium and its modulation by infection with respiratory syncytial virus and cytokines tumour necrosis factor, interleukin-I and interleukin-6. *Am Jf Respir Cell Mol Biol*, 8: 20-7.
- Bergin D.A., Reeves E.P., Meleady P., Henry M., McElvaney O.J., Carroll T.P., Condron C., Chotirmall S.H., Clynes M., O'Neill S.J., McElvaney N.G. 2010. α -1 Antitrypsin regulates human neutrophil chemotaxis induced by soluble immune complexes and IL-8. *J. Clin. Invest.*, 120 (12): 4236–50.
- Biswas S., Friedland J.S, Remick D.G., ark. 1995. Elevated plasma interleukin 8 in respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Pediatr Infect Dis J*, 14:919.
- Black C.P. 2003. Systematic review of the biology and medical management of respiratory syncytial virus infection. *Respir Care*, 48: 209-31
- Bao X., Liu T., Spetch L., Kolli D., Garofalo R.P., ve Casola A. 2007. Airway Epithelial Cell Response to Human Metapneumovirus Infection. *Virology*, 368(1): 91–101

- Bradley J.P., Bacharier L.B., Bonfiglio J., Schechtman K.B., Strunk R., Storch G., ark. 2005. Severity of respiratory syncytial virus bronchiolitis is affected by cigarette smoke exposure and atopy. *Pediatrics*, 115(1):e7-14.
- Brasier A.R., Jamaluddin M., Casola A., Duan W., Shen O., Garofalo R.P. 1998. A promoter recruitment mechanism for tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-8 transcription in type II pulmonary epithelial cells. Dependence on nuclear abundance of Rel A, NF-kappaB1, and c-Rel transcription factors. *J. Biol. Chem.*: 273, 3551-3561.
- Bronchiolitis, AAP Subcommittee on the Diagnosis and Management of Bronchiolitis. 2006. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics*, 118():1774–93
- Cambonie G., Milesi C., Fournier-Favre S., ark. 2006. Clinical effects of heliox administration for acute bronchiolitis in young infants. *Chest*, 129:676–82
- Caracciolo S., Minini C., Colombrita D., Rossi D., Miglietti N., Vettore E. 2008. Human metapneumovirus infection in young children hospitalized with acute respiratory tract disease: virologic and clinical features. *Pediatr Infect Dis J*, 27(5):406-12.
- Carroll K.N., Gebretsadik T., Griffin M.R., ark. 2007. Maternal asthma and maternal smoking are associated with increased risk of bronchiolitis during infancy. *Pediatrics*, 119(6):1104-12.
- Cherian T., Simoes E.A., Steinhoff M.C., ark. 1990. Bronchiolitis in tropical south India. *Am J Dis Child*, 144: 1026 -1030.
- Counihan M.E., Shay D.K., Holman R.C., Lowther S.A., Anderson L.J. 2001. Human parainfluenza virus-associated hospitalizations among children less than five years of age in the United States. *Pediatr Infect Dis J*, 20(7):646-53.
- Çağlar M., Kansu E. 2004. Kemokinler, kemokin reseptörleri ve inflamasyon. *ANKEM Dergisi*, 18(Ek2):164- 8.
- Dargaville P.A., South M., McDougall P.N. 1996. Surfactant abnormalities in infants with severe viral bronchiolitis. *Arch Dis Child*, 75:133–6
- DeNicola L.K., Maraqa N.F., Udeani J ve ark. Last reached 11/12/ 2016. Bronchiolitis. <http://emedicine.medscape.com/article/961963-overview#a5>
- Dobson JV, Stephens-Groff SM, McMahon SR, et al. 1998. The use of albuterol in hospitalized infants with bronchiolitis. *Pediatrics*, 101:361–8.
- Donnelly S.C., Haslett C. 1992. Cellular mechanisms of acute lung injury: implications for future treatment in the adult respiratory distress syndrome. *Thorax*; 47: 260-263.

- Ducoffre G., Cauchi P., Hendrickx E. Respiratory syncytial virus epidemiology in Belgium in 1998, 1999 and 2000. In: Carrera J. M. and Cabero L. 5th World Congress of Perinatal Medicine, 23-27 September, 2001, Barcelona, Spain
- Duppenthaler A., Ammann R.A., Gorgievski-Hrisoho M., Pfammatter J.P., Aebi C. 2004. Low incidence of respiratory syncytial virus hospitalisations in haemodynamically significant congenital heart disease. *Arch Dis Child*, 89(10):961-5.
- Edwards K.M., Snyder P.A., Wright P.F. 1986. Complement activation by respiratory syncytial virus infected cells. *Arch Virol*, 88: 49-56.
- Emonts M, Hazes MJMW, Houwing-Duistermaat JJ, van der Gaast-de Jongh CE, de Vogel L, Han HK, et al. 2011. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study. *BMC Med Genet*; 12:36.
- Everard M.L., Swarbrick A., Wright M., et al. 1994. Analysis of cells obtained by bronchial lavage of infants with respiratory syncytial virus infection. *Archives of Disease in Childhood*, 71: 428-432
- Everard M.L., Swarbrick A., Rigby A.S., et al. 2001. The effect of ribavirin to treat previously healthy infants admitted with acute bronchiolitis on acute and chronic respiratory morbidity. *Respir Med*, 95:275-80.
- Faden H., Ogra P. 1986. Neutrophils and antiviral defense. *Pediatr Infect Dis*, 5: 86-93.
- Field C.M., Connolly J.H., Murtagh G., et al. 1966. Antibiotic treatment of epidemic bronchiolitis – a double-blind trial. *Br Med J*, 1:83-5.
- Fiedler M.A., Wernke-Dollries K., Stark J.M. 1996. Mechanism of RSV-induced IL-8 gene expression in A549 cells before viral replication. *Am J Physiol*, 271(6 Pt 1):L963-71
- Figueras-Aloy J., Carbonell-Estrany X., Quero J.; IRIS Study Group. 2004. Case-control study of the risk factors linked to respiratory syncytial virus infection requiring hospitalization in premature infants born at a gestational age of 33-35 weeks in Spain. *Pediatr Infect Dis J*, 23: 815-20.
- Fodha I., Vabret A., Ghedira L., et al. 2007. Respiratory syncytial virus infections in hospitalized infants: association between viral load, virus subgroup, and disease severity. *J Med Virol*, 79(12):1951-8.
- Friss B., Andersen P., Brenoe E., et al. 1984. Antibiotic treatment of pneumonia and bronchiolitis. A prospective randomised study. *Arch Dis Child*, 59:1038-45
- Garcia-Garcia M.L., Calvo C., Casas I., et al. 2007. Human metapneumovirus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma at age 5. *Pediatr Pulmonol*, 42(5):458-64.

- Garofalo R., Kimpen J.I.L.L., Welliver R.C., Ogra P.L.. 1992. Eosinophil degranulation in the respiratory tract during naturally acquired syncytial virus infection. *Pediatr*, 120: 28-32.
- Garofalo R. P., Sabry M., Jamaluddin M., Yu R.K., Casola A., Ogra P.L., Brasier A.R. 1996. Transcriptional activation of the interleukin-8 gene by respiratory syncytial virus infection in alveolar epithelial cells: nuclear translocation of the RelA transcription factor as a mechanism producing airway mucosal inflammation. *J. Virol.* 70:8773.
- Gibbs R.A. 1990. DNA Amplification by the Polymerase Chain Reaction Analytical Chemistry, 62: 1202-1214
- Glezen W.P; Taber, LH; Frank, AL; Kasel, JA. 1986. Risk of primary infection and reinfection with respiratory syncytial virus. *Am J Dis Child.*,140(6):543-6.
- Glezen W.P., Paredes A., Allison J.E., ark. 1981. Risk of respiratory syncytial virus infection for infants from low- income families in relationship to age, sex, ethnic group, and maternal antibody level. *J Pediatr*, 98(5):708-15.
- Goetghebuer T, Isles K., Moore C., Thomson A., Kwiatkowski D., Hull J. 2004. Genetic predisposition to wheeze following respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Clin Exp Allergy*, 34(5):801-3.
- Gresnigt M.S., Netea M.G., van de Veerdonk F.L. 2012. Pattern recognition receptors and their role in invasive aspergillosis. *Ann N Y Acad Sci* 1273: 60 – 67
- Gross M.F., Spear R.M., Peterson B.M. 2000. Helium-oxygen mixture does not improve gas exchange in mechanically ventilated children with bronchiolitis. *Crit Care*, 4:188–92.
- Gu LQ, Jia HY, Zhao YJ, Liu N, Wang S, Cui B, et al. 2009. Association studies of interleukin-8 gene in Graves' disease and Graves' ophthalmopathy. *Endocrine*; 36(3):452-6.
- Hall C.B., Douglas R.G .Jr, Geiman J.M. 1976. Respiratory syncytial virus infections in infants: quantitation and duration of shedding. *J Pediatr*, 89(1):11-5.
- Hall C.B., Weinberg G.A., Iwane M. K., Blumkin A. K., et al. 2009. The Burden of Respiratory Syncytial Virus Infection in Young Children. *N Engl J Med* ,360:588-98
- Hartling L., Wiebe N., Russell K., ark. 2003. A meta-analysis of randomized controlled trials evaluating the efficacy of epinephrine for the treatment of acute viral bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 157:957–64.
- Hasudungan A. Last reached 6 Dec 2016. Immunology - Innate Immunity (Diapedesis). <https://www.youtube.com/watch?v=jUecrQqcx7k>.

- Hatipoğlu S., Arıca S., Çelik Y., Öztora S., Şevketoğlu E., Erkum T. 2009. Alt solunum yolu enfeksiyonu tanısıyla hastanemize yatırılan olgularda RSV enfeksiyonu sıklığı ve klinik özellikleri. *Düzce Tıp Dergisi*, 11: 38-44.
- Henderson F.W., Clyde W.A. Jr., Collier A.M., Denny F.W., Senior R.J., Sheaffer C.I. 1979. The etiologic and epidemiologic spectrum of bronchiolitis in pediatric practice. *J Pediatr*, 95(2):183-90.
- Heinzmann A., Ahlert I., Kurz T., Berner R., Deichmann K.A. 2004. Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL8 on bronchial asthma and respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Allergy Clin Immunol* 114(3):671-676
- Hoebee B., Bont L., Rietveld E., et al. 2004. Influence of promoter variants of interleukin-10, interleukin-9, and tumor necrosis factor- α genes on respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis*, 189:239-47.
- Holman R.C., Shay D.K., Curns A.T., Lingappa J.R., Anderson L.J. 2003. Risk factors for bronchiolitis-associated deaths among infants in the United States. *Pediatr Infect Dis J*, 22(6):483-90.
- Holmes W.E., Lee J., Kuang W.J., Rice G.C., Wood W.I. 1991. Structure and functional expression of a human interleukin-8 receptor. *Science*, 253:1278-80.
- Hull J., Thomson A., Kwiatkowski D. 2000. Association of respiratory syncytial virus bronchiolitis with the interleukin 8 gene region in UK families. *Thorax*, 55:1023-1027
- Hull J., Ackerman H., Isles K., Usen S., Pinder M., Thomson A., Kwiatkowski D. 2001. Unusual haplotypic structure of IL8, a susceptibility locus for a common respiratory virus. *Am J Hum Genet*, 69:413-9.
- Iwane M.K., Edwards K.M., Szilagyi P.G., Walker F.J., Griffin M.R., Weinberg G.A. 2004. Population-based surveillance for hospitalizations associated with respiratory syncytial virus, influenza virus, and parainfluenza viruses among young children. *Pediatrics*, 113(6):1758-64.
- Jamaluddin M., Tian B., Boldogh I., Garofalo R.P., Brasier A.R. 2009. Respiratory Syncytial Virus Infection Induces a Reactive Oxygen Species-Msk1-Phospho-Ser-276 RelA Pathway Required for Cytokine Expression. *J. Virol.*, 83, 10605-10615.
- Kimman T.G., Janssen R., Hoebee B. 2006. Future prospects in respiratory syncytial virus genetics. *Future Virology*, 1:483-92.
- Kolli D., Velayutham T.S., Casola A. 2013. Host-Viral Interactions: Role of Pattern Recognition Receptors (PRRs) in Human Pneumovirus Infections. *Pathogens*, 2: 232-263
- Krilov L.R., Mandel F.S., Barone S.R., Fagin J.C. 1997. Follow-up of children with respiratory syncytial virus bronchiolitis in 1986 and 1987: potential effect of

- ribavirin on long term pulmonary function. The Bronchiolitis Study Group. *Pediatr Infect Dis J*, 16(3):273-6.
- Kryndushkin D.S., Alexandrov I.M., Ter-Avanesyan M.D., Kushnirov V.V. 2003. Yeast [PSI⁺] prion aggregates are formed by small Sup35 polymers fragmented by Hsp104. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (49): 49636–43.
- Kuppermann N., Bank D.E., Walton E.A., Senac M.O. Jr., McCaslin I. 1997. Risks for bacteremia and urinary tract infections in young febrile children with bronchiolitis. *Arch Pediatr Adolesc Med.*, 151(12):1207-14.
- Lakshminarayanan V., Beno D.W., Costa R.H., Roebuck K.A. 1997. Differential regulation of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 by H₂O₂ and tumor necrosis factor-alpha in endothelial and epithelial cells. *J. Biol. Chem.*; 272, 32910-32918.
- Larsen C.G., Anderson A.O., Appella E., Oppenheim J.J., Matsushima K. 1989. The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes. *Science*: 243, 1464-1466.
- Leonard E.J., Yoshimura T. 1990. Neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1 [interleukin-8]). *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2: 479-86.
- Lu A., Wang L., Zhang X. 2010. Haplotype of IL-8-251T and 781C is associated with the susceptibility to respiratory syncytial virus. *J Trop Pediatr*, 56:242–246
- Levine D.A., Platt S.L., Dayan P.S, Macias C.G., Zorc J.J., Krief W., ark. 2004. Risk of serious bacterial infection in young febrile infants with respiratory syncytial virus infections. *Pediatrics.*, 113(6):1728-34.
- Libster R., Hortonedá J.B., Laham F.R. ark. 2009. Breastfeeding Prevents Severe Disease in Full Term Female Infants With Acute Respiratory Infection. *Pediatr Infect Dis J*, 28: 131–34.
- Liet J.M., Millotte B., Tucci M., ark. 2005. Noninvasive therapy with heliumoxygen for severe bronchiolitis. *J Pediatr*, 147:812–7.
- Lupiañez C. B., Canet L. M., Carvalho A., Alcazar-Fuoli L., Springer J. 2016. Polymorphisms in Host Immunity-Modulating Genes and Risk of Invasive Aspergillosis: Results from the AspBIOmics Consortium. *Infection and Immunity*, 8(3): 643-657
- Ma Q., Jones D., Borghesani ., Segal R.A., Nagasawa T., Kishimoto T., Bronson R.T., Springer T.A. 1998. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 9448–9453
- Mackay C.R. 2001. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nature Immunol*, 2:95-101.

- Mage D.T., Donner E.M. 2004. The fifty percent male excess of infant respiratory mortality. *Acta Paediatr*, 93(9):1210-5.
- Mansbach J.M., McAdam A.J., Clark S., Hain P.D., Flood R.G., Acholonu U. 2008. Prospective multicenter study of the viral etiology of bronchiolitis in the emergency department. *Acad Emerg Med.*, 15(2):111-8.
- Mastronarde J.G, He B., Monick M.M., Mukaida N., Matsushima K., Hunninghake G.W. 1996. Induction of interleukin (IL)-8 gene expression by respiratory syncytial virus involves activation of nuclear factor (NF)- κ B and NF-IL6. *J Infect Dis.*,174:262–7.
- Mastronarde J.G., Monick M.M., Mukaida N., Matsushima K., Hunninghake G.W. 1998. Activator Protein-1 Is the Preferred Transcription Factor for Cooperative Interaction with Nuclear Factor- κ B in Respiratory Syncytial Virus–Induced Interleukin-8 Gene Expression in Airway Epithelium. *The Journal of Infectious Diseases*, 177:1275–81
- Matsumoto M., Funami K., Tanabe M., Oshiumi H., Shingai M., Seto Y., Yamamoto A., Seya T. 2003. Subcellular localization of Toll-like receptor 3 in human dendritic cells. *J. Immunol.*, 171, 3154–3162
- Matsushima K., Morishita K., Yoshimura T., Lavu S., Kobayashi Y., Lew W., Appella E., Kung H.F., Leonard E.J., Oppenheim J.J. 1988. Molecular cloning of a human monocyte derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF) and the induction of MDNCF mRNA by interleukin 1 and tumor necrosis factor. *J. Exp. Med.*: 167, 1883-93
- McNamara P.S., Flanagan B.F., Smyth R.L., Hart C.A. 2007. Impact of human metapneumovirus and respiratory syncytial virus co-infection in severe bronchiolitis. *Pediatr Pulmonol*, 42(8):740-3.
- Menon K., Sutcliffe T., Klassen T.P. 1995. A randomized trial comparing the efficacy of epinephrine with salbutamol in the treatment of acute bronchiolitis. *J Pediatr*, 126:1004–7
- Milner M.E., Monte S.M de le, Hutchins G.M. 1985. Fatal respiratory syncytial virus infection in severe combined immunodeficiency syndrome. *Am J Dis Child*; 139: 1111-4.
- Mukaida N., Shiroo M., Matsushima K. 1989. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8. *J. Immunol.* 143, 1366-71.
- Neofytos D., Lu K., Hatfield-Seung A., Blackford A., Marr K.A., Treadway S., Ostrander D., Nussenblatt V, Karp J. 2013. Epidemiology, outcomes, and risk factors of invasive fungal infections in adult patients with acute myelogenous leukemia after induction chemotherapy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 75:144 –49
- Okutan Ö. ve Çeltik C. 2005. Akut Bronşiolitlerde Güncel Bilgiler. *Sted* , 14 (1): 5-7

- Ooi M.H., Wong S.C., Lewthwaite P., Cardosa M.J., Solomon T. 2010. Clinical features, diagnosis, and management of enterovirus 71. *Lancet Neurol*, 9:1097–1105
- Papoff P., Moretti C., Cangiano G., ark. 2011. Incidence and predisposing factors for severe disease in previously healthy term infants experiencing their first episode of bronchiolitis. *Acta Paediatr.*, 100(7):e17-23.
- Payne C.B. 1993. Bronchiolitis In: *Pediatric Respiratory Disease Diagnosis and Treatment*. Hilman BC (ed). W.B. Saunders Company, Philadelphia, 205-18.
- Puthothu B., Krueger M., Forster J., Heinzmann A. 2006. Association between severe respiratory syncytial virus infection and IL13/IL4 haplotypes. *J Infect Dis.*, 193:438–41.
- Reber L., Vermeulen L., Haegeman G., Frossard N. 2009. Ser276 Phosphorylation of Nf-Kb P65 by Msk1 Controls Scf Expression in Inflammation. *PLoS ONE*, 4, e4393.
- Respiratory syncytial virus infection: Clinical features and diagnosis. <http://www.uptodate.com/contents/respiratory-syncytial-virus-infectionclinical-features-and-diagnosis> (Erişim Tarihi: Mart 2014)
- Roebuck K.A. 1999. Regulation of Interleukin-8 Gene Expression. *Journal of Interferon and Cytokine Research*: 19:429-438
- Rossi D. ve Zlotnik A. 2000. The biology of chemokines and their receptors. *Annu. Rev. Immunol*, 18:217–242
- Rudan I., Tomaskovic L., Boschi-Pinto C., Campbell H. 2004. Global estimate of the incidence of clinical pneumonia among children under five years of age. *Bull World Health Organ*, 82(12):895-903.
- Rudd B.D., Burstein E., Duckett C.S., Li X., Lukacs N.W. 2005. Differential role for TLR3 in respiratory syncytial virus-induced chemokine expression. *J. Virol.*, 79, 3350–3357
- Saiki R. K., Gelfand D.H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Hrn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A. 1988. Primer direction enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239(4839):487-91.
- Sangsupawanich P., Anuntaseree W. 2017. Association of the Presence of Blood Eosinophils in Children with Acute Bronchiolitis and Recurrent Wheezing. *139(2): AB197*
- Sambrook J., Russel D.W. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY

- Sancaklı Ö., Yenigün A., Kırdar S. 2012. Alt Solunum Yolu Enfeksiyonunda Nazofaringeal Örneklerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları. *J Pediatr Inf.*, 6: 84-9
- Stemmler S., Arinir U., Klein W., Rohde G., Hoffjan S., Wirkus N., Reinitz-Rademacher K., Bufe A., Schultze-Werninghaus G., Epplen J.T. 2005. Association of interleukin-8 receptor alpha polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Genes Immun.*, 6:225-30.
- Schuh S., Coates A.L., Binnie R., ark. 2002. Efficacy of oral dexamethasone in outpatients with acute bronchiolitis. *J Pediatr*, 140(1):27–32.
- Schweich P.J., Hurt T.L., Walkley E.I., ve ark. 1992. The use of nebulized albuterol in wheezing infants. *Pediatr Emerg Care*, 8:184–8
- Shimizu Y, Kondo S, Shirai A, Furukawa M, Yoshizaki T. 2008. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 and interleukin-8 gene promoter predicts poor prognosis in tongue cancer. *Auris Nasus Larynx* 35:381–389
- Sigurs N., Gustafsson P.M., Bjarnason R., Lundberg F., Schmidt S., Sigurbergsson F., Kjellman B. 2005. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med.*, 171:137-41.
- Sorensen T. I., Nielsen G. G., Andersen P. K. and Teasdale T. W. 1988. Genetic and environmental influences on premature death in adult adoptees. *N. Engl. J. Med.*, 318:727–732
- Stein R.T., Sherrill D., Morgan W.J., ark. 1999. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet.*, 354(9178):541-5.
- Subcommittee on Diagnosis and Management of Bronchiolitis. 2006. Diagnosis and management of bronchiolitis. *Pediatrics.*, 118(4):1774-93.
- Tal G., Mandelberg A., Dalal I., ark. 2004. Association between common Toll like receptor 4 mutations and severe respiratory syncytial virus disease. *J Infect Dis*, 189:2057–63.
- Terrosi C., Di Genova G., Martorelli B., Valentini M., Cusi M.G. 2009. Humoral immunity to respiratory syncytial virus in young and elderly adults. *Epidemiol Infect.*, 137(12):1684-6.
- Thomsen S.F., Stensballe L.G., Skytthe A., Kyvik K.O., Backer V., ve Bisgaard H. 2008. Increased concordance of severe respiratory syncytial virus infection in identical twins. *Pediatrics*, 121:493–496.
- Thorburn K. 2009. Pre-existing disease is associated with a significantly higher risk of death in severe respiratory syncytial virus infection. *Arch Dis Child*. 94(2):99-103

- Tian B., Zhang Y., Luxon B. A., Garofalo R. P., Casola A., Sinha M, Brasier A. R. 2002. Identification of NF-B-dependent gene networks in respiratory syncytial virus-infected cells. *J. Virol.* 76:6800–6814.
- Topçuoğlu S., Arslanköylü A.E., Kuyucu S., Kuyucu N. 2009. Hişiltılı çocuklarda Respiratuar Sinsiyal Virüs, Parainfluenza Virüs, İnfluenza virüs, insan Metapnömovirüs sıklığının araştırılması. *J Pediatr Inf*, 3: 153-60.
- Turner R.B. 1990. The role of neutrophils in the pathogenesis of rhinovirus infections. *Pediatr Infect Dis.*, 9: 832-5.
- van den Hoogen B.G., de Jong J.C., Groen J., ark. 2001. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med.*, 7(6):719-24
- van den Hoogen B.G., Osterhaus D.M., Fouchier R.A. 2004. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J.*, 23(1 Suppl):S25-32.
- Ventre K., Haroon M., Davison C. 2006. Surfactant therapy for bronchiolitis in critically ill infants. *Cochrane Database Syst Rev.*, (3):CD005150.
- Vermeulen L., De Wilde G., Van Damme P., Vanden Berghe W., Haegeman G. 2003. Transcriptional Activation of the Nf-Kappab P65 Subunit by Mitogen- and Stress-Activated Protein Kinase-1 (Msk1). *EMBO J.*, 22, 1313–1324.
- Wang E.E., Law B.J., Stephens D. 1995. Pediatric Investigators Collaborative Network on Infections in Canada (PICNIC) prospective study of risk factors and outcomes in patients hospitalized with respiratory syncytial virus lower respiratory tract infections. *J Pediatrics*, 126(2):212-9.
- Wang S.M., Lei H.Y., Yu C.K., Wang J.R., Su I.J., Liu C.C. 2008 Acute chemokine response in the blood and cerebrospinal fluid of children with enterovirus 71-associated brainstem encephalitis. *J Infect Dis*, 198:1002–1006
- Wang Z, Wang C, Zhao Z, Liu F, Guan X, Lin X, Zhang L. 2013. Association between -251A > T polymorphism in the interleukin-8 gene and oral cancer risk: a meta-analysis. *Gene* 522:168–176
- Weber M.W., Mulholland E.K., Greenwood B.M. 1998. Respiratory syncytial virus infection in tropical and developing countries. *Trop Med Int Health.*, 3(4):268-80.
- Wegner S., Vann J.J., Liu G., Byrns P., Cypra C., Campbell W. 2004. Direct cost analyses of palivizumab treatment in a cohort of at-risk children: evidence from the North Carolina Medicaid Program. *Pediatrics*. 114(6):1612-9.
- Welliver R.C., Wong D.T., Sun M., Middleton E. Jr., Vaughan R.S., Ogra P.L. 1981. The development of respiratory syncytial virus-specific IgE and the release of

histamine in nasopharyngeal secretions after infection. *N Engl J Med.*, 305(15):841-6.

Williams J.V., Harris P.A., Tollefson S.J., Halburnt-Rush L.L., Pingsterhaus J.M., Edwards K.M. 2004. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med.*, 350(5):443-50.

Wright M., Mullett C.J., Piedimonte G., 2008. Pharmacological management of acute bronchiolitis. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 4(5) 895–903

Xu D., Li J., Huang X., Lin A., Gai Z., Chen Z. 2016. Impact of IL-8-251A/T gene polymorphism on severity of disease caused by enterovirus 71 infection. *Arch Virol.*, 161 (1) : 203–07

Xue H, Liu J, Lin B, Wang Z, Sun J, Huang G. 2012. A meta-analysis of interleukin-8 - 251 promoter polymorphism associated with gastric cancer risk. *PLoS One* 7:e28083

Yang S.K., Eckmann L., Panja, A., Kagnoff M.F. 1997. Differential and regulated expression of C-X-C, C-C, and C-chemokines by human colon epithelial cells. *Gastroenterology*: 113, 1214-23.

Yoshimura T., Matsushima K., Oppenheim J.J., Leonard E.J. 1987. Neutrophil chemotactic factor produced by lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human blood mononuclear leukocytes: partial characterization and separation from interleukin 1 (IL-1). *J. Immunol*: 139, 788-793.

Zhang L., Mendoza-Sassi R.A., Wainwright C., Klassen T.P. 2013. Nebulised hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *The Cochrane database of systematic reviews*, (7)

Zlotnik A. and Yoshie O. 2000. Chemokines: A New Classification System and Their Role in Immunity. *Immunity* 12 (2), 121-27

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/probe/docs/techpcr/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3576>

<http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CXCL8>

<http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/method/RFLP.html>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	Çisem Nildem Doğan
Doğum Yeri/Tarihi	Erzurum/02.10.1989
Ünvanı	BSc.

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Tokat Gaziosmanpaşa Anadolu Lisesi		2005-2009
İngilizce Hazırlık	Dil Merkezi (DİLMER) 1 yıl	Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu	2009-2010
Lisans	Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (%100 İngilizce)	Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu	2010-2014
Y. Lisans	Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat	2014-devam ediyor
Öğretmenlik Formasyon	Eğitim Fakültesi	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat	2015
Deney hayvanları kullanım sertifikası	Tıp Fakültesi	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat	2016

