

# Respiratuar distres sendromunun ve yenidoğanın geçici takipnesinin kalıtsal yönü

Murat Yurdakök

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Profesörü

**SUMMARY:** Yurdakök M. (Department of Pediatrics, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey). Inherited lung disorders in newborn infants. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2006; 49: 229-246.

Adaptation to breathing air at birth requires cellular processes to initiate fluid clearance and to synthesize and secrete pulmonary surfactant into alveoli. Some alleles and genotypes of surfactant protein A increase predisposition to neonatal lung disease. Deletions or mutations in surfactant proteins B and C cause acute and chronic lung disease in neonates and infants. Normal lamellar body formation requires surfactant protein B and a member of the ATP-binding cascade (ABC) family of ATP-dependent membrane-associated transport proteins, ABCA3. Mutations in ABCA3 cause fatal respiratory disease in newborn infants. The epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) contributes to the clearance of fetal lung liquid. In animal models, low ENaC activity and low expression level of alpha-ENaC have been associated with respiratory failure. However, the polymorphism in the alpha-ENaC gene remains to be studied as a factor explaining the variation in the incidence of transient tachypnea or respiratory distress syndrome in the newborn. Neonatal lung diseases may have a genetic background that is influenced by environmental, acquired and inherited factors.

*Key words:* inherited diseases, lung, newborn.

**ÖZET:** Doğumdan hemen sonra yaşama adaptasyonda hava yollarındaki sıvının temizlenmesi ve alveollerin içine surfaktan salınması önemlidir. Surfaktan protein A'nın bazı alelleri ve genotipleri yenidoğan bebeklerde akciğer hastalıklarına eğilim yaratmakta; surfaktan protein B ve C genlerindeki mutasyonlar yenidoğan bebeklerde ve süt çocuklarında çeşitli akut ve kronik akciğer hastalıklarına yol açmaktadır. Tip II pnömositlerde normal lameller cisimcik oluşumunda ABC (ATP-binding cascade) taşıyıcıları, özellikle ABCA3 önemlidir; bu proteindeki mutasyonlar yenidoğan bebeklerde ölümcül akciğer hastalığına yol açmaktadır. Fetal akciğer sıvısının temizlenmesinde epitelyal Na<sup>+</sup> kanalları önemlidir. Hayvanlarda bunun alfa ünitesinin az ekprese edilmesi durumunda solunum yetmezliği görülmektedir. Yenidoğanın geçici takipnesi ve respiratuar distres sendromunda bu proteinin polimorfizmi konusundaki çalışmalar devam etmektedir. Yenidoğan bebeklerin akciğer hastalıklarında kalıtsal, çevresel ve edinsel etmenlerin birlikte etkili oldukları sanılmaktadır.

*Anahtar kelimeler:* kalıtsal hastalıklar, akciğer, yenidoğan.

## RESPIRATUAR DİSTRES SENDROMU

Prematüre bebeklerin en önemli morbidite ve mortalite nedeni olan respiratuar distres sendromu'nun (RDS) etiyolojisinde genetik faktörlerin bulunduğunu gösteren epidemiyolojik bulgular vardır<sup>1-8</sup>. Her şeyden önce erkek cinsiyet RDS için önemli bir risk faktörüdür<sup>9</sup>. Prematüre doğan siyahlarda, beyazlara göre RDS sıklığı daha az olup şiddeti daha hafiftir<sup>10</sup>.

Bugüne kadar ikiz bebeklerde yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlarla RDS'ye eğilim yaratan genetik faktörlerin söz konusu olduğunu söylemek mümkün değildir. Ancak ırk olarak nispeten homojen bir yapı gösteren Finliler üzerinde son zamanlarda yapılmış iki çalışmada mono- ve dizigotik ikizlerde RDS sıklığının (konkordansının) benzer olduğu görülmüştür<sup>11,12</sup>.

Bununla birlikte değişik etnik ve cinsiyet gruplarında yapılan çalışmalarda bazı ailelerde RDS'nin daha sık görülmesi RDS'de genetik risk faktörlerinin bulunabileceğini düşündürmüştür. Nitekim daha önce doğan bebeğinde RDS olan bir kadının sonraki bebeğinde de RDS görülme olasılığı, normalden ortalama üç kat fazladır<sup>13-16</sup>. Bu bulgular RDS'de ailevi eğilim yaratan faktörlerin bulunabileceğini gösterirse de bir hastalığın ailevi olması, yalnız genlerinin benzerliğine değil, aynı çevresel faktörlerle karşılaşmalarına da bağlı olabilir<sup>17</sup>.

Gelişmiş ülkelerde bile RDS'li bebeklerde uzun-dönem respiratuar morbidite ve mortalite %5-25 kadardır. Bu ülkelerde aynı gebelik haftalarında doğmuş; oksijen ve mekanik ventilasyon gereksinimleriyle beslenme yetersizlikleri benzer olan bebeklerde RDS morbidite ve mortalitesinde belirgin farklılıkların olması, pulmoner prognozu etkileyen genetik faktörlerin olabileceğini düşündürmüştür<sup>18,19</sup>.

RDS'nin profilaksisinde rutine girmiş olan antenatal steroid uygulaması, önemli bazı soruları akla getirmiştir. Bazı bebeklerde antenatal steroid alsalar bile RDS gelişirken, bazıları hiç antenatal steroid almasalar bile RDS gelişmemektedirler (hipernormaller). Cinsiyet ve ırk da antenatal steroidlere verilen cevabı etkilemekte; cevap kızlarda erkeklerden, siyahlarda beyazlardan daha iyi olmaktadır.

Bir lipoprotein kompleksi olan surfaktanın yapımından sorumlu genlerin çalışmalarının düzenlenmesi de eşgüdümlü olmamaktadır. Örneğin antenatal steroidler surfaktan protein B (SP-B) gen ekspresyonunu artırırken, SP-A geninin ekspresyonunu azaltmaktadır. Ayrıca SP-A genlerinin ve/veya allellerinin antenatal steroidlere cevapları da farklı olmaktadır. Bütün bunlar RDS'de genetik faktörlerin söz konusu olabileceğini düşündürmüştür de kesin olarak belirlenememiştir. Elimizdeki bulgular RDS'de surfaktan proteinlerinin yapım ve işlevleriyle ilgili genetik faktörlerin bulunduğunu düşündürmektedir<sup>20</sup>.

Surfaktanın %70-80'i fosfolipidlerden, %10'u nötral lipidlerden, %8-10'u da proteinlerden oluşur. Surfaktan proteinleri hidrofobik (B ve C) ve hidrofilik (A ve D) olarak iki grupta incelenir. Alveollerde tip II epitel hücrelerinde yapılan surfaktan bu hücrelerde bulunan ve lameller cisimcikler denen özel sekretuar granüllerde depolanır. Surfaktan

fosfolipidleri lameller cisimciklerin en önemli kısmını oluşturur. Bu hücrelerde sentezlenen surfaktan fosfolipidleri doğrudan endoplazmik retikulumdan lameller cisimciklere geçerken, SP-B, Golgi kompleksinden lameller cisimciklere multiveziküler yapılar aracılığıyla ulaşırlar.

Lameller cisimcikler ekzositozla hücre dışına atılırlar ve alveolar boşlukta "çözülerek" tubüler miyelin denilen yapıları oluştururlar. Tubüler miyelinin oluşmasında SP-A ve SP-B kritik yerlere yerleşerek esansiyel rol oynarken, SP-C lipid "trafiğinde" etkili olur.

### Surfaktan Protein A

Surfaktan protein A (SP-A) 248 amino asitten oluşan büyük bir molekül olup, altı ünitesi ile bir "çiçek buketi"ne benzer. Her ünit üç polipeptitten oluşur. Bunlardan ikisi SP-A1 geni, biri SP-A2 geni tarafından kodlanır.

SP-A'nın surfaktan işlevlerine etkisi, diğer surfaktan proteinlerinden daha az olmasına rağmen tubüler miyelinin bir dantel gibi alveolar yüzeylere yayılmasında önemlidir. Surfaktanı serumda bulunan proteinlerin inaktive edici etkilerinden korur tip II hücrelerde surfaktan salgılanmasını baskılar ve tip II hücrelerin fosfolipid lipozomlarını alımını artırır.

SP-A yalnız surfaktanın oluşmasında değil, akciğerlerin savunmasında da çok önemlidir. SP-D, mannoz-bağlayan protein ve konglütinin ile birlikte C-tip lektinlerin bir alt grubunda (kollektinler) bulunan SP-A, kapsüllü bakterilerin bağlanması, alveolar makrofajların antibakteriyel etkilerinin kuvvetlendirilmesi, virusların opsonizasyonu, Pneumocystis carinii'nin fagositozunun artmasında çok etkilidir. Bunun yanı sıra bazı nötrofil işlevlerini baskılayarak, akciğerlerin enflamatuar cevabının düzenlenmesini sağlar; aşırı enflamatuar cevabı önler. Ayrıca zamanla yapı ve işlevi bozulan surfaktanın tip II hücrelere alınarak yeniden surfaktan yapımında (recycling) kullanılmasında ve plasma proteinlerini inaktive ederek surfaktanın inaktivasyondan korunmasında önemlidir<sup>21-23</sup>.

Konjenital olarak SP-A yapamayan (knockout) farelerin alveollerinde tubüler miyelin yapılamasa da akciğer mekaniği ve surfaktan hemostazı normaldir<sup>24-26</sup>. Ancak viral ve bakteriyel enfeksiyonlara eğilim artmıştır<sup>27,28</sup>. Bugüne kadar SP-A eksikliği olan insan tanımlanmamıştır.

Surfaktan protein A kromozom 10 üzerinde (10q22-q23) bulunan birbirlerine çok yakın ve oldukça polimorfizm gösteren iki fonksiyonel gen (SP-A1 ve SP-A2) tarafından kodlanır. Her genin dört ekzonu vardır ve her ekzon SP-A molekülün farklı bir kesimini kodlar. SP-A alelleri SP-A1 geni için  $6A^n$ , SP-A2 geni için  $1A^n$  şeklinde gösterilir. Beş SP-A1 aleli ve altı SP-A2 aleli orta sıklıkta görülürken, tanımlanan 30'dan fazla alel daha az sıklıkta görülür<sup>29-31</sup>. Bu alellerden en sık görülenleri  $6A^2$  ve  $1A^0$  dir. Ancak ilginç olan bu alellerin akciğerlerde SP-A transkripsiyonunun düşük düzeyde olmasına yol açarak RDS için yüksek riskli aleller olmasıdır. İkizlerde bunun tersi bir durum söz konusudur;  $6A^2$  ve  $1A^0$  RDS geliştirmeyen ikizlerde daha sıktır<sup>12</sup>. Buna karşılık  $6A^3$  RDS için düşük riskli bir aleldir<sup>32-38</sup>. Bronkopulmoner displazili hastalarda ise  $6A^6$  aleli daha sıktır<sup>29</sup>.

Gerek bugüne kadar kalıtsal SP-A eksikliği olan bir bebek tanımlanmaması, gerekse  $1A^0$  aleli birlikte çok farklı respiratuar fenotipler görülmesi nedeniyle, SP-A polimorfizminin belirlenmesinin RDS riskinin tanımlanmasında yararlı olamayacağını; ancak SP-A alelleriyle birlikte başka genetik faktörlerin bulunmasının RDS'ye eğilimi belirlemede söz konusu olabileceğini düşündürmüştür<sup>38</sup>.

$6A^2$  ve  $1A^0$  aleline sahip olanlar arasında RDS yönünde risk artışında SP-B ile  $131\text{Thr}$  fenotipi ve prematürelilik önemlidir. İlk doğan ikiz bebekler arasında RDS'nin daha az görüldüğü bilinmektedir; ancak bu ilişki SP-B ile  $131\text{Thr}$  polimorfizmi olan bebeklerde görülmektedir<sup>22</sup>.

### Surfaktan Protein D

Surfaktan protein D akciğer dışında mide mukozası gibi diğer dokularda da bulunur. Yukarıda belirtildiği gibi SP-A gibi kollektinlerden olan SP-D akciğerin enflamatuar cevabında önemlidir. Ancak SP-A'dan farklı olarak surfaktan özelliği yoktur, ancak tip II hücrelerde surfaktan metabolizmasını etkilediği sanılmaktadır<sup>39</sup>.

Surfaktan protein D'nin geni onuncu kromozom üzerindedir. İnsanlarda bugüne kadar SP-D eksikliği ve SP-D geninde mutasyon tanımlanmamıştır<sup>40</sup>. Konjenital olarak SP-D eksikliği olan (knockout) farelerde doğumda solunum sıkıntısı görülmez. Ancak intraalveoler surfaktan klirensi önemli derecede azalmıştır. Bu durumda alveollerin içinde surfaktan lipidleri ile SP-A ve SP-B giderek

birikerek alveolar makrofajların aktive olmasına; peribronşiyoler-perivasküler enflamasyon ve amfizem gelişmesine yol açar. Bu hayvanlarda enfeksiyonlara eğilim de artmıştır<sup>41,42</sup>.

SP-D'nin bugüne kadar üç tek nükleosid polimorfizmi bildirilmiştir. Ancak SP-A polimorfizminden farklı olarak SP-D polimorfizmi ile RDS ve BPOD arasında bir ilişki bulunmamıştır. Ancak yaşamın ilk günlerinde trakeal aspiratlarında SP-D düzeyi düşük olanlarda daha sonra kronik akciğer hastalığı sıklığı artmaktadır<sup>43</sup>.

### Surfaktan Protein B

Surfaktan protein B, 78 amino asit büyüklüğünde hidrofobik bir proteindir. Birbirine benzeyen iki polipeptit zincirinden oluşan SP-B, bu özelliği ile lipid tabakalarının birbirlerine iyice tutunmasını sağlar<sup>44-46</sup>. Fosfolipidlerinin alveoler yüzeylere adsorpsiyonunun artmasında ve surfaktan stabilitesinde önemlidir. Bu nedenle tubüler miyelinin oluşmasında esansiyeldir. Eksikliği ölümcül olduğundan surfaktan işlevi için mutlaka bulunması gerektiği kabul edilir.

Surfaktan protein A'nın tersine SP-B yapımının yeterli olmaması insanda neonatal respiratuar distres neden olur. İnsanlarda SP-B eksikliğine bağlı ilk ölümcül RDS vakası, Noguee ve arkadaşları tarafından 1993'de tanımlanmıştır<sup>47</sup>. O tarihten sonra şiddetli neonatal RDS'ye neden olan 27'den fazla mutasyon (75 bebekte) tanımlanmıştır<sup>7,8</sup>. Bu mutasyonların hepsi otozomal resesif kalıttır. Hasta bebeklerde sıklıkla benzer aile öyküsü vardır. Ancak mutasyonları çoğu ailelere özgü olduğundan, indeks vaka olmadan prenatal tanı yapılması mümkün değildir<sup>48</sup>.

Surfaktan protein B geni, ikinci kromozomdadır (2p12-p11.2). Bu gende bulunan 11 ekzon önce bir 318 amino asit büyüklüğünde bir proprotein (proSP-B) yapımını kodlar. Bu büyük molekül daha sonra glikolize ve metabolize edilerek matür SP-B ortaya çıkar. Matür proteini kodlayan ekzonlar ekzon 6 ve 7'dir<sup>49, 50</sup>. SP-B geninde ekzon 4'ün mutasyonları ve polimorfizmi önemli işlevsel bozukluklara yol açar<sup>51-53</sup>.

Surfaktan protein B eksikliği olan vakaların üçte ikisinden 121ins22 (g.1549C→GAA) mutasyonu sorumludur. Bunlarda ekzon 4'de translasyon durduğundan anormal yapıda proSP-B yapılmakta, proSB-B'nin glikolizasyonu bozulduğundan SP-B yapılamamaktadır<sup>52</sup>. 121ins22 mutasyonunun Kuzeydoğu Avrupa

kökenli (Frank-Sakson) olduğu sanılmaktadır<sup>55</sup>. Ancak bu ülkelerde bile toplum içinde bu mutasyonun sıklığı oldukça azdır. ABD’de alel sıklığı 1000’de 0.3-1.0, hastalık sıklığı milyonda birdir. Bu nedenle matür bebeklerde görülen RDS’lerin yalnız bu mutasyona bağlı olduğunu söylemek mümkün değildir.

Kalıtsal SP-B eksikliği olan bebekler tipik olarak zamanında doğmuş, benzer aile öyküsü olan, yaşamın ilk gününde RDS bulguları geliştirmiş bebeklerdir. Ancak bazılarında (%5-10) başlangıç bulguları hafiftir; daha sonra giderek ağırlaşır. Ekzojen surfaktan tedavisi etkili olmaz; akciğer transplantasyonu yapılmadıkça 1-6 ayda ölümcül gidiş gösterir. Histopatolojik incelemelerinde “alveolar proteinozis” vakalarında görüldüğü gibi tip II hücrelerde hiperplazi, spesifik olmayan interstisyel fibrozis ve alveolar boşluklarda eosinofilik PAS-pozitif material vardır. Bu proteinöz maddenin anormal yapı ve dağılımdaki surfaktan bileşenlerinin depolanmalarına bağlı olduğu sanılmaktadır. Bununla birlikte bazı hastalarda alveoler proteinozis yoktur. Pulmoner alveoler proteinozis vakalarının çoğu da SP-B eksikliğine bağlı değildir.

İmmünohistokimyasal incelemelerde tip II hücrelerde SP-B yoktur; SP-A tip II hücrelerde azdır, ancak alveolerin içinde bol miktardadır; proSP-C ve SP-C ise hem tip II hücrelerde hem de alveollerin içinde bol miktarda bulunur. Bu surfaktan proteinlerinin birikmesi nedeniyle alveoler makrofajlar büyüktür. Elektron mikroskopi incelemelerinde hiperplastik tip II hücrelerinde çok sayıda lameller cisimbenzeri yapılar (anormal lamellar cisimler) ve membranöz veziküller vardır. Biyokimyasal incelemelerde SP-C anormal, immatür yapıdadır. Bu bulgu SP-C’nin hücre içinde yapımında, SP-B’nin önemli olduğunu göstermektedir<sup>47,50,53,54,56-59</sup>. Fosfotidilgliserol düzeyleri de normal değildir. Bu hastalara dışarıdan SP-B ve SP-C içeren surfaktan preparatlarının verilmesinin yararlı olmamasının muhtemel nedenleri SP-B prekürsörlerinin bilmediğimiz işlevlerinin olması, anormal yapıda SP-C moleküllerinin birikmesi ya da SP-B’nin “recycling”inin bozulmasıdır.

Surfaktan protein B gen mutasyonları daha hafif fenotiplere de yol açabilir. Bebeklerde RDS gelişebileceği gibi bazen ilerleyici (progresif) kronik solunum yetmezliğine de neden olabilir. Bunlarda SPB aktivitesi azalmış olsa da bulguların

ağır olmasını engelleyecek ya da geç çıkmalarına neden olacak düzeydedir. İnsanlarda normal surfaktan metabolizması için en az ne kadar SP-B yapımının olması gerektiği bilinmemektedir. Ancak SP-B yapımı, normalin %8-10’u kadar SP-B yapabilen bebeklerin yaşamalarının mümkün olmadığı bildirilmiştir<sup>59-63</sup>. Bu nedenle doğumda akciğer işlevlerinin yeterli olabilmesi için normalin %20-25’i kadar SP-B yapımının olması gerektiği düşünülmektedir<sup>64</sup>. Teorik olarak yalnız bir alelde SP-B geninde mutasyon olduğu durumlarda (heterozigotlarda), normal aleldeki gen tarafından SP-B yapımı devam ettirildiğinden SP-B yapımının azalmış olarak devam edeceği (haployetmezlik) düşünülebilir. Ancak erişkin taşıyıcılarda bir alelde SP-B yapımı yokluğunda, akciğer işlevlerinin normal olduğu bildirilmiştir.

Bugüne kadar hafif (kısmî) SP-B eksikliği olan dört vaka bildirilmiştir. Bunlardan biri ekzon 5’deki bir mutasyondur (c.479G→T). Bu mutasyonu homozigot taşıyan ve birbirleriyle akraba olmayan iki bebekte klasik SP-B eksikliği bulguları görülmediği, bulguların biraz daha hafif olduğu; birinin oksijen-bağımlısı haline geldiği, diğerinde ise akciğer transplantasyonu gerektiği bildirilmiştir. Histolojik incelemelerinde hücre dışında proteinlerin birikmiş olduğu, atipik makrofajlar, epitelyal displazi ve pulmoner fibrozis vardır. Ancak bu değişikliklerin nedeninin SP-B eksikliği olup olmadığı açık değildir. Bu hastalarda az miktarda SP-B yapılmaktadır. Her iki bebeğin akciğer dokularının immünohistokimyasal incelemesinde SP-B eksikliği olduğu, ancak anormal yapıda bir proSP-B yapıldığı gösterilmiştir. DNA sekans analizlerinde ekzon 5’de mutasyon saptanan bu bebeklerde ekzon 7’de translyasyon durmakta anormal yapıda bir propeptit yapılmaktadır<sup>65</sup>.

Hafif SP-B eksikliği olarak adlandırılabilir bir durum da zamanında doğan ve RDS geliştirerek iki hafta “extracorporeal bypass” desteği gerektiren, daha sonra ventilatör ve oksijen-bağımlısı hale gelip 9.5 aylıkken beklenmedik bir şekilde ölen bir bebekte tanımlanmıştır. Bu bebeğin ölümünden önce yapılan trakeobronşial lavaj örneklerinin incelenmesinde SP-A olmasına karşın SP-B bulunmadığı; postmortem incelemelerinde de akciğer dokusunda normal düzeylerde SP-A, düşük düzeylerde SP-B bulunmasına karşın, bol miktarda SP-C ve onun prekürsör molekülü belirlenmiştir. DNA restriksiyon analizlerinde

vakada ve annesinde SP-B geninde 121ins2 heterozigot mutasyon; yine vakada, ancak babasında ekzon 7'de heterozigot bir nokta mutasyon (R236C) saptanmış; vakada iki heterozigot mutasyonun birlikte bulunmasının kısmî SP-B eksikliğine neden olduğu ileri sürülmüştür<sup>61</sup>.

Hafif SP-B eksikliği, geçici SP-B eksikliği şeklinde de olabilir. Doğduğundan beri persistan pulmoner hipertansiyon ve solunum yetmezliğinde olan 38 günlük erkek bir bebekte tanımlanan bu durumda hastanın trakeal aspirat lavaj sıvısının incelemesinde SP-B olmadığı, ancak anormal yapıda SP-C bulunduğu saptanmış; hastada önce kalıtsal SP-B eksikliği tanısı konmuşsa da postmortem incelemesinde akciğer dokusunda SP-B bulunduğu görülmüştür. DNA sekans incelemelerinde SP-B gen alellerinden birinde ekzon 5'de bir nokta mutasyon saptanmış; hastanın diğer SP-B alelinin normal olduğu, annesinin de bu mutasyon için taşıyıcı olduğu belirlenmiştir. Hastada saptanan bu heterozigot mutasyonun SP-B geninin transkripsiyon, mRNA translasyon ya da hücre içindeki işlem ve sekresyonunda yetersizliğe yol açtığı ileri sürülmüştür<sup>59</sup>.

DNA mutasyonu olmadan mRNA anormallikleri de SP-B eksikliğine yol açabilmektedir. Birbirlerinin kuzenleri olan sağlıklı Türk anne-babanın çocukları olan ve konjenital alveolar proteinozis nedeniyle ölen zamanında doğmuş iki erkek bebeğin trakeal aspiratlarının incelenmesinde ekzon 7 ve 8 ile ilgili mRNA bölgesinde bir anormallik saptanmıştır. Bu bebeklerdeki anormal yapıdaki mRNA, SP-B proproteinin yapımının bozulmasına yol açmaktadır<sup>66</sup>.

Benzer bir durum da yenidoğan döneminde RDS'den kaybedilmiş 14 vakanın bulunduğu ve çeşitli nesillerde aralarında akraba evlilikleri yapmış bir ailede görülmüştür. Dokuzunda SP-B eksikliğini açıklamayan SP-B polimorfizmi saptanan bu bebeklerde SP-B mRNA ile ilgili bir bozukluk olabileceği ileri sürülmüştür<sup>67</sup>.

Surfaktan protein B geninin polimorfik olduğu bilinmektedir. Bunlar arasında RDS ile ilişkisi olduğu bilinenlerden en önemlileri Ile131Thr varyasyonu ve intron 4 uzunluk varyasyonudur<sup>32,33</sup>. Ile131Thr varyasyonunda ekzon 4'de tek nükleotid mutasyonunda SP-B proproteinde 131 no.lu amino asit olan treonin

yerine isolösin geçmesine neden olmaktadır. Bu durum SP-B proproteinin endoplasmik retikulumda glikolizasyonunu etkilemekte ve Golgi organelinde N-terminal peptidin tamamen kopmasına yol açmaktadır. Lameller cisimciklerde matür SP-B bulunmasına rağmen, anormal glikolizasyon proteinin işlenmesini, katlanmasını, hücre içindeki transporunu veya enzimlere direncini etkilemekte; proteinin sekresyonu bozup hücre içinde birikmesine yol açmaktadır. Bu durum da RDS gelişmesine eğilim yaratmaktadır<sup>68-71</sup>. İtron 4'deki uzunluk varyasyonunun da bağımsız olarak<sup>72</sup> veya SP-A alelleriyle birlikte<sup>73</sup> RDS ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir.

Bu iki SP-B polimorfizminin RDS ile ilişkisi olduğu ileri sürülmüşse de bu konuda yapılan çalışmalar her ikisinin de RDS ile doğrudan ilişkisi olmadığını göstermiştir. Bununla birlikte SP-A alelleriyle RDS arasındaki ilişkide SP-B Ile131Thr genotipi önemlidir. SP-B Ile131Thr alelini taşıyan ve gebelik yaşları 32 haftanın altında olan bebeklerde SP-A alellerinden 6A<sup>2</sup> ve 1A<sup>0</sup> ile RDS arasındaki belirgin bir ilişki vardır<sup>74,75</sup>. Bu durum yüksek riskli SP-A alellerini taşıyanlarda proteinlerin yol açtığı surfaktan inaktivasyonun etkisinin bazı SP-B varyantlarında daha belirgin olarak ortaya çıkmasıyla açıklanmaya çalışılmaktadır. Ancak bunların tamamen dışında başka bir genetik durumun varlığı da söz konusu olabilir. Yine de aradaki ilişkide gebelik yaşı çok önemli bir faktör olarak görülmektedir. Küçük bebeklerde RDS'ye bağlı akciğer zedelenmesinin daha fazla olması, bu ilişkinin daha belirgin görülmesine neden olabilir. Başka bir deyişle genetik olarak RDS'ye eğilimli bebeklerde, küçük gebelik yaşı hastalığın ortaya çıkmasını kolaylaştırıyor olabilir. Tekiz ve ikizlerde yapılan başka bir çalışmada SP-A ve SP-B genetik varyantlarıyla RDS riski arasında bir ilişki bulunmamıştır<sup>76</sup>. 14 bebeğin SP-B eksikliğine bağlı RDS nedeniyle kaybedildiği akraba evlilikleri olan bir ailede, dokuz bebekte SP-B polimorfizmi saptanmış, ancak bunun SP-B eksikliğine yol açması açıklanmamıştır. Bu hastaların akciğer dokularında anormal yapıda SP-B mRNA saptanmıştır<sup>77</sup>.

### Surfaktan Protein C

İşlevleri SP-B'ye benzerse de tubüler miyelinin oluşması için esansiyel değildir. Hücre içinde surfaktan kompleksinin işlenmesinde ve

surfaktanın stabilizasyonunda rolü olduğu düşünülmektedir. SP-C, 35 amino asitten oluşan küçük bir moleküldür. SP-C yapımında önce bir 191 veya 197 amino asit büyüklüğünde bir prekürsör molekül, sonra matür molekül yapılır. Bu olaylar için SP-B'nin varlığı gerekir<sup>78</sup>.

Kalıtsal SP-B eksikliği yenidoğan bebeklerde ölümcül gitmesine karşın SP-C eksikliği bulguları çok değişkenlik göstermektedir. Konjenital olarak SP-C eksikliği olan (knockout) iki cins fare vardır. Bunlardan birinde (Swiss black) RDS görülmez, ancak akciğer fonksiyonlarında akciğer direnci ile elastikiyet arasındaki ilişki (histerezis) bozulmuştur<sup>79</sup>. Diğer cinsten (129/Sv) ise daha ağır akciğer hastalığı vardır. Doğumda akciğerlerin yapısı normalken iki ay içinde amfizem, pnömonitis, makrofaj infiltrasyonu, anormal lipid birikimi ve pulmoner fibrozis gelişir. Dokuda SP-B normalken, SP-A ve SP-D artmıştır<sup>80,81</sup>.

Bugüne kadar SP-C geninde 25'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. Ancak bugüne kadar SP-C geninin her iki alelinde SP-C eksikliği yapan bir mutasyon, dolayısıyla, tam SP-C eksikliği olan insan tanımlanmamıştır. 2001 yılında SP-C geninin intron 4'ünde mutasyon saptanan ve otozomal dominant kalıtım gösteren kronik interstisyel akciğer hastalığı olan bir aile tanımlanmış<sup>82</sup>, daha sonra da nedeni bilinmeyen kronik akciğer hastalığı olan bebeklerin üçte birinde (34 çocuğun 11'inde) benzer dominant mutasyon gösterilmiştir<sup>51,83</sup>. Bu hastaların genetik incelemelerinde SP-C geninin alellerinden birinde intron 4'de bir mutasyon (c.460+1 G→A) olduğu, bunun transkripsiyonda ekzon 4'ün atlanmasına, dolayısıyla proSP-C'de 37 amino asitlik kayıba yol açtığı gösterilmiştir. Bu anormal yapıdaki proSP-C birikmesi kronik akciğer hastalığı ile sonlanmaktadır.

Daha sonra interstisyel akciğer hastalığı veya kronik akciğer hastalığı olan 116 hastaya ait 232 allelden yedisinde (birbirleriyle akraba olmayan yedi çocukta) I13T mutasyonu saptanmıştır<sup>84</sup>. Ancak hastaların klinik ve patolojik bulguları çok değişkenlik göstermekte; aynı mutasyonun olduğu ailelerde ortaya çıkış ve akciğer zedelenmesi bulguları çok değişken olmaktadır. SP-C eksikliği olanlarda SP-B yapımı devam ettiğinden, yenidoğan döneminde surfaktan eksikliği bulguları görülmemekte, ancak surfaktanın yapısı dengesiz ve kararsız

olduğundan tekrarlayan atelektazilere eğilim olmakta, çevresel etmenlerin etkisi ile kronik akciğer hastalığı gelişmektedir. SP-C geninde mutasyon olmayan ailevi interstisyel akciğer hastalığı olanların akciğerlerinde de SP-C eksikliği olması, bu hastalığı patogenezinde SP-C'nin önemli olduğunu düşündürmektedir<sup>85,86</sup>. Kalıtsal veya edinsel SP-C eksikliği olanlarda akciğer hastalığının patogenezinde matür SP-C eksikliğinin ve/veya anormal proSP-C birikmesinin toksik etkileri olduğu ileri sürülmektedir.

Fare deneylerinde ekzon 4'ün atlanmasına bağlı anormal yapıdaki SP-C birikintilerinin perinükleer agregatlar şeklinde olduğu gösterilmiş ve akciğer dokusu üzerinde toksik etki yaptığı düşünülmüştür<sup>87</sup>. Aynı durumun heterozigot mutasyonları olan kişilerde de görüldüğü sanılmaktadır<sup>88</sup>. SP-C geninin ekzon 3'deki mutasyonda üç aylık interstisyel pnömonitisli bir bebekte SP-C mRNA'sının normal büyüklük ve miktarda olduğu, ancak tip II hücrelerinde proSP-C agregatlarla normal ve disorganize lameller cisimlerin olduğu görülmüştür<sup>89</sup>. Ekzon 3'deki bir missense mutasyonda (c.243 T>C) matür SP-C proteini vardır, ancak beraberinde anormal proSP-C de bulunmaktadır. Ekzon 5'deki bir mutasyonda (c.525 G>A / R176Q) da anormal yapıda proSP-C yapılmaktadır<sup>88</sup>.

Bu nedenle SP-C ile ilgili akciğer hastalıkları ya matür SP-C nin yapılamamasına ve/veya hücre içinde bol miktarda anormal proSP-C birikmesine bağlıdır. SP-C genindeki heterozigot mutasyonlarda anormal yapıda proSP-C birikerek, hücre içinde SP-C yapımını bozmakta, sonuçta SP-C eksikliği ortaya çıkmaktadır. Hücre içinde aşırı miktarda proSP-C biriktiğinde yıkılarak temizlenememekte, hücrede zedelenme olmakta, pulmoner enflamasyona yol açarak zamanla interstisyel akciğer hastalığına yol açmaktadır. SP-C mutasyonlarına ek olarak viral hastalıklar ve hipoksi gibi tetikleyici nedenlerde olayı artırmaktadır. SP-C'nin surfaktan parçalarının alınarak yeniden kullanılmasının yanı sıra bağışıklık sisteminde de etkili olması böyle bir hipotezi güçlendirmektedir.

Surfaktan protein C genindeki iki tek nükleotid polimorfizminin 4 alelik varyanta neden olduğu bilinmektedir<sup>91-93</sup>. Ekzonik SP-C geni polimorfimi ile RDS arasındaki ilişki araştırılmış ve özellikle gebelik yaşı ile birlikte ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>94</sup>.

## Lameller Cisimlerin Yokluğu ve Dev Lameller Cisimler

Surfaktan proteinlerinde eksiklik olmadan tip II hücrelerde lameller cisimlerin yokluğu yenidoğan bebeklerde ağır RDS'ye yol açmaktadır. Bu durum doğumdan kısa süre RDS'den ölen zamanında doğmuş bir kız bebekte gösterilmiştir. Histokimyasal ve SP-B gen sekans incelemeleri normal bulunan bu hastanın akciğerlerinin elektron mikroskopik incelemesinde tip II hücrelerde diğer organeller normal olmasına rağmen lameller cisimciklerin olmadığı belirlenerek hastalığın buna bağlı olduğu ileri sürülmüştür<sup>95</sup>.

Hermansky-Pudlak sendromu ile Chediak-Higashi sendromunda akciğerlerdeki tip II hücrelerinde dev lameller cisimlerle dejenerasyon ve interstisyel enflamasyon görülür. Hermansky-Pudlak sendromu genetik olarak heterojen otozomal resesif bozuklukların toplanmasıyla oluşur. Okülokütanöz albinizm ve trombosit depo hastalığı; uzamış kanama zamanı, konjenital nötropeni, pulmoner fibrozis ve granülatöz kolit vardır. Melanositlerde, trombositlerde akciğerdeki tip II epitel hücrelerde ve sitotoksik T hücrelerde anormallikler vardır. Bu sendromun hücre içindeki lizozom-ilişki organellerdeki protein trafiğinin bozulmasına bağlı olduğu kabul edilir.

Chediak-Higashi sendromu da otozomal resesif kalıtılan bir çoklu-organ hastalığıdır; okülokütanöz albinizm, kanamaya eğilim, tekrarlayan bakteriyel enfeksiyonlar ve çeşitli nörolojik semptomlar görülür. Hücre içinde vezikül oluşumu bozuk olduğundan çeşitli hücrelerde dev granüller (örneğin melanositlerde dev melanozomlar, kemişik iliği ve periferik kan hücrelerinde dev granüller) vardır. Zamanla çeşitli hücrelerde lenfositosis ile büyüme ve hemofagositoz olur.

## Diğerleri

Surfaktan sisteminin dışında çok değişik sistem solunum sistemini etkileyebilir. Bunlara örnek olarak alveoler epitel hücrelerinde iyon taşınmasını katalize eden proteinler, solunum yollarının gelişmelerini etkileyen büyüme faktörleri, pulmoner vasküler kan akımını kontrol eden mekanizmalar ve enflamatuar cevabı etkileyen faktörler verilebilir<sup>98-100</sup>.

Surfaktan proteinlerinin yapılarının düzenlenmesinde çeşitli hormonlar ve büyüme (growth) faktörleri önemlidir. Bunlar gebelik yaşına bağlı

olarak surfaktan yapımını olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilirler<sup>101</sup>. Ayrıca bu etkilenmede bazı SP-A genotipleri önemli olabilir<sup>102</sup>.

Surfaktan inaktivasyon mekanizmalarındaki anormallikler de respiratuar distres gelişmesinden sorumlu olabilir. GM-CSF (Granülosit-makrofaj koloni-stimulan faktör) veya reseptörünü kodlayan gende bozukluk olan farelerde pulmoner alveolar proteinozis görülmektedir. İnsanda da GM-CSF reseptörü "common"  $\beta$ -zinciri eksikliği olanlarda ve GM-CSF'ye karşı IgG yapısında nötralizan antikor olanlarda akkiz alveolar proteinozis tanımlanmıştır<sup>103-106</sup>. Bu gözlemler de akciğer-dışı gen ürünlerinin surfaktan yapım, fonksiyon ve yıkımlarında önemli olduğunu göstermektedir.

## ABCA3 Gen Mutasyonları

Kalıtsal surfaktan eksikliklerinde ABCA3 gen mutasyonları da sorumlu tutulmaktadır<sup>6-8</sup>. Evrimsel gelişmenin en eski dönemlerinden itibaren bulunurlar. ABC (ATP-binding cascade) taşıyıcılarının hepsi benzer yapıdadır; ATP bağlayan ve hidrolize eden iki bağları ile iki "membrana-bağplanan-kısım" (membrane-spanning domains; MSDs) vardır. Bunlar hücre veya organellerin lipid membranlarından bulunan enerji kaynağı olarak ATP'yi kullanan taşıyıcılardır<sup>107-109</sup>. Bakterilerde yalnız hücre içi maddeleri dışarı atma şeklinde değil, kendileri için elzem olan besin maddelerini hücre içine taşımak için de kullanırlar. Gelişmiş canlılarda ise esas işlevleri hücre içindeki metabolitleri ya da çeşitli nedenlerle hücre içine girmiş toksik maddeleri dışarı atmaktır. Antibiyotiklere ve kemoterapötiklere direnç sağlayan hücre mekanizmalarından birisi bu şekilde olmaktadır<sup>110,111</sup>.

Ağustos 2005'e kadar insan ABC gen ailesinde yedi alt grupta 48 tip tanımlanmıştır ve bunlara ait mutasyonlara bağlı çeşitli hastalıklar vardır. Tangier hastalığında ABC taşıyıcı 1 (ABCA1) genindeki mutasyon nedeniyle makrofajlarda ve periferik dokularda kolesterol birikmesi ve yüksek-dansiteli lipoproteinlerde eksiklik vardır. ABCA4 fotoreseptörlerde ekprese edilir ve rod hücrelerinin fotoreseptör membran disklerinde retinal-fosfotidiletanolamin komplekslerinin transportundan sorumludur. ABCA4 gene resesif geçişli çeşitli retina dejenerasyonu yaoan hastalıklarda (Stargardt hastalığına bağlı maküler distrofi dahil), resesif geçişli "cone-

rod” distrofilerinin çoğunda ve resesif geçişli bazı retinitis pigmentosalarda mutasyona uğramıştır. ABA3 mutasyonunda fosfolipidlerin taşınmasındaki bozukluk yenidoğan bebeklerde surfaktan eksikliğine, ABCA12 mutasyonunda glukozilserami ve henüz bilinmeyen başka maddelerin taşınmasındaki bozukluk lameller iktiyozis tip II (hafif) ve Herlequin iktiyozis’e (ağır) ABCB4/11 mutasyonunda safra asitlerinin taşınmasındaki bozukluk ilerleyici ailevi intrahepatik kolestaza, ABCC2 mutasyonunda bilirubin transportundaki bozukluklar Dubin-Johnson sendromuna, ABCC6 mutasyonunda bazı organik anyonların taşınmasındaki bozukluklar psödoksantoma elastikuma, ABCC7 mutasyonunda klor kanalındaki bozukluklar kistik fibrozise, ABCC8 mutasyonunda sulfonilüre reseptöründeki bozukluklar ailevi persistan hiperinsülinemik hipoglisemi ve otozomal dominant tip II diyabetes mellitusa, ABCC9 mutasyonundaki kardiak K(ATP) kanal bozukluğu ventriküler taşikardi ile dilate kardiyomiyopatiye, ABCD1 mutasyonunda çok uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasındaki bozukluk adrenolökodistrofiye, ABCG5/8 mutasyonunda steroidlerin taşınmasındaki bozukluk sitosterolemiye neden olur<sup>112</sup>.

1704-amino asitlik bir protein olan ABCA3 alveoler tip II hücrelerinde lameller cisimciklerin membranlarında bulunur. Bu yerleşimi ve ABCA tipi taşıyıcıların membranlarda lipid taşınmasında görevli oldukları gözönüne alındığında; ABCA3’ün surfaktan yapımı için gerekli olan fosfolipidlerin ve kolesterolün lameller cisimler içine taşınmasını veya lamellar cisimler içinde ortaya çıkan ve surfaktan işlevlerini bozan lipidlerin hücre dışına atılmasını sağladığı düşünülmektedir. ABCA3 yokluğunda surfaktanın yapım ve işlevleri bozulmakta RDS gelişmektedir<sup>113,114</sup>.

Çoğu kaybedilen bu bebeklerde bulgular yaşamın ilk günü görülür; surfaktan eksikliğine bağlı RDS tablosu vardır; ancak ekzojen surfaktan tedavisine dirençlidir. Akciğer dokularının histolojik incelemesinde alveoler tip II hücrelerde reaktif kuboidal hiperplazi, distal hava yollarında lipid, protein ve makrofajlarda birikme ve değişik miktarlarda proteinöz madde birikimi, interstisyel kalınlaşma, anormal “remodelling” ile karakterize infantil deskuamatif interstisyel pnömoni ve neonatal alveoler proteinozis tablosu vardır. Lameller cisimciklerde tipik inklüzyonlar yoktur.

Elektron mikroskopik incelemelerinde ise lameller cisimciklerin normalden daha küçük oldukları, içlerindeki membranların daha dens paketlenmiş ve ekzantrik yerleşimli dens inklüzyon cisimcikleri olduğu görülmüştür; tubüler myelin yoktur<sup>89</sup>. Bu hastalarda görülen alveoler tip II hücrelerdeki işlev bozukluğu ve surfaktan eksikliğinin mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Onaltıncı kromozom üzerinde bulunan ABCA3 geni çok büyüktür; 30 kodlayan ekzonu olan yaklaşık 60.000 bazlık bir genidir. Bu gende hepsi otozomal resesif kalıtılan çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır. Ancak bu mutasyonların toplum içindeki sıklıkları bilinmemektedir. Muhtemelen kalıtsal SP-B ve SP-C eksikliğinden çok daha sıktır.

ABD’de yapılan bir çalışmada çeşitli etnik gruplardan gebelik yaşları 36 hafta ve üzerinde, doğumdan hemen sonra başlayan RDS’ye bağlı ağır solunum yetmezliği olan 337 bebekten 15’inde diğer nedenler (alveoler kapiller displazi, total anormal pulmoner venöz dönüş, viral pnömoni, asiner displazi, pulmoner lenfanjiektazi gibi) ve 47’sinde (%13.9) SP-B eksikliği saptanmış; geri kalan 275 bebekten 121’i incelenmiş ve bunların altısında (%5.0) SP-C eksikliği saptanmıştır. Anne-baba akrabalığı ve/veya kardeş ölüm öyküsü olan 14 aileden 21 bebekte yapılan incelemede ABCA3 geninde kodlayan ekzonlarda mutasyon araştırılmış ve 16’sında (%76.2) çeşitli mutasyonlar saptanmıştır. Bu bebeklerde ABCA3 geninin ekzonlarında ve intronlarında çeşitli polimorfizmler de saptanmıştır. Ancak ABCA3 geninin bir alelinde “missense” mutasyon, diğerinde tanımlanmamış bir mutasyon saptanan bir bebeğin hayatta olması, bazı mutasyonların daha hafif hastalık bulgularıyla birlikte olduğunu düşündürmüştür<sup>114</sup>. Bugüne kadar incelenen vakaların ölümcül olmaları nedeniyle ABCA3 mutasyonlarının gerçek sıklığı bilinmemektedir.

Her ne kadar ABCA3 mutasyonlarının zamanında doğan bebeklerde fatal surfaktan eksikliğine yol açtığı bildirilmişse de, her zaman fatal seyretmeyebileceği ve interstisyel akciğer hastalığına yol açabileceği düşünülerek yapılan incelemelerde, birbirleriyle akraba olmayan on yaşından büyük ve deskuamatif interstisyel pnömonitis tanısı konmuş dört çocuktan üçünde her iki alellerinde ABCA3 mutasyonu



(hepsinde aynı missense E292V mutasyonu) bulunmuştur<sup>115</sup>. Ayrıca çocuk ve erişkinlerde görülen ailevi interstisyel akciğer hastalığının patogenezinde de etkileri olabilir.

ABCA1 gen mutasyonları da kalıtsal akciğer hastalıklarının patogenezinde önemli olabilir. Hücre membranının bazolateral bölgesinde bulunan ABCA1, lipidlerin hücre içine taşınması, dolayısıyla surfaktan yapımı açısından önemlidir<sup>116</sup>. Farelerde ABCA1 geninin bozulmasının önemli akciğer değişikliklerine neden olduğu gösterilmiştir<sup>117</sup>. Makroskopik olarak yaşla artma gösteren çok sayıda soluk odaklar görülür. Bunlar lipid depolanması nedeniyle köpüksü görünüm kazanmış tip II hücrelere, alveoler makrofajlara ve kolesterol kleflerine bağlıdır. Ayrıca lenfosit ve plazma hücrelerinin infiltrasyonu alveoler septalar kalınlaşmıştır. Ağır vakalarda hipertrofik ve hiperplazik tip II hücreler nedeniyle akciğer yapısı tamamen bozulur<sup>51</sup>.

### YENİDOĞANIN GEÇİCİ TAKİPNESİ

Yaşam boyu solunum yollarındaki sıvının absorbe edilerek temizlenmesi gerekir. Alveoller fetal akciğer sıvısı ile dolu olduğundan bu işlev doğumda daha da önemlidir. Vajinal doğum sırasında göğüσε olan baskı, kuvvetli ilk solunumun yarattığı negatif transpulmoner basınç ve pozitif hava yolu basıncı fiziksel olarak bu sıvıyı azaltmaya çalışır. Daha sonra distal hava yollarındaki sıvı ve Na<sup>+</sup> akuaporinler, epitelyal Na<sup>+</sup> kanalı (ENaC), klor taşıyıcısı, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> taşıyıcısı ve diğerleri ile temizlenir<sup>118-121</sup>.

Bu absorpsiyonun geciktiği durumlarda yenidoğanın geçici takipnesi denilen durum ortaya çıkar. Zamanında doğan bebeklerin %1-2'sinde görülen bu durum genellikle birkaç günde düzelir. Başlıca risk faktörleri prematürelilik, sezaryenle doğum, erkek cinsiyet ve ikizliktir (ikinci doğanda).

### Surfaktan Proteinleri

Yenidoğanın geçici takipnesinin nedenleri arasında hafif ve geçici surfaktan eksikliği de düşünülmektedir. Bu konuda surfaktan proteinlerinin genlerinde polimorfizmin incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Türk ve Alman bebeklerde yapılan bu çalışmada yenidoğanın geçici takipnesi olan bebeklerde SP-B 121ins2 mutasyonu için heterozigotluk ve intron 4 varyasyonlarının sağlıklı bebeklerden farklı olmadığı bulunmuştur<sup>122</sup>.

### Epitelyal Na<sup>+</sup> Taşınması

Akciğerlerde, distal kolonda, tükürük bezlerinde, ter bezlerinde ve böbrek toplayıcı kanallarında bulunan ENaC Na<sup>+</sup> un ve buna bağlı suyun emilmesinde önemlidir. Epitelde Na<sup>+</sup> taşınması iki adımda olur. Epitel hücresinin apikal membranında bulunan ENaC, Na<sup>+</sup> u hücre içine taşır. Hücre içine giren Na<sup>+</sup> bazolateral membrandaki Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPaz ile hücre dışına atılarak, Na<sup>+</sup> un hücre içinde taşınması tamamlanır. Bu taşınmada kontrol ENaC ile sağlanır. Kanalların hızlı açılıp kapanması şeklinde çalışan diğer iyon kanallarının tersine, ENaC büyük ölçüde birçok reseptör ve transporter gibi hücre yüzeyindeki miktarı, endositozu ve parçalanmasıyla kontrol edilir. ENaC kanalı bir diüretik olan amilorid ile bloke edilebilir<sup>123</sup>.

ENaC kanalları üç benzer, ancak aynı olmayan alt-birimden ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ENaC) oluşur. Etkin ENaC ikisi  $\alpha$ , biri  $\beta$  ve biri  $\gamma$  alt-birim olmak üzere tetramer yapısındadır. Tek başka  $\alpha$  alt-birimi fonksiyonel bir kanal yapabilirken,  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimleri tek başlarına veya birlikte bir kanal oluşturamazlar. Ancak  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimlerin bulunması kanalın etkinliğini ve ömrünü artırır.

Fazla Na<sup>+</sup> taşınması gerekmeyen durumlarda (örneğin fazla Na<sup>+</sup> alınmadığı, solunum yollarının epiteli zedelenmediği, fazla oksijenle karşılaşmadığı durumlarda)  $\alpha$  alt-birimi az miktarda yapılır; kullanılmayan  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimleri hücre içinde proteozomlar tarafından parçalanır. Diğer bir deyişle ENaC yapımı  $\alpha$  alt-biriminin yapılması ile denetlenir. Aldosteron ve deksametazon  $\alpha$  alt-biriminin yapımını artırırken,  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimlerinin yapımı üzerinde etkileri yoktur.

ENaC yoluyla Na<sup>+</sup> taşınması esas olarak iki hormonal yolla düzenlenir. Bu hormonlar aldosteron ve vasopressin'dir. Aldosteron, "heat shock protein"leri 90, 70 ve 50 ile kompleks yapan mineralokortikoid reseptörlere bağlanır. Bu kompleks nükleus içine girerek "hormona-duyarlı elemanlara" bağlanır ve birçok genin transkripsiyonu artırır; ENaC bunlardan biridir. Kortikosteroidler de benzer yolla Na<sup>+</sup> taşınmasını artırır. Vasopressin, böbrek toplayıcı kanallarında bazolateral membrandaki V2 reseptörlerine bağlanarak cAMP ve PKA (protein kinaz A) yoluyla Na<sup>+</sup> taşınmasını artırır. Bu yolla Na<sup>+</sup> taşınması (dakikalar içinde), özel protein yapımını gerektirmediğinden, aldosteron yoluyla yapılan taşınmadan çok daha hızlıdır.

Hücre içinde Nedd4 ve protein ligazları (özellikle Nedd4-2, diğer adıyla Nedd4L), ENaC'nin  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimlerine bağlanarak hücre yüzeyinde ENaC ekspresyonunu, dolayısıyla NA taşınmasını azaltır. Aldosteron ve vazopressin, Nedd4-2'nin üç yerinde fosforilasyon yaparak, Ned4-2'nin ENaC'ye bağlanmasını önlerler, böylece ENaC ekspresyonu, dolayısıyla  $\text{Na}^+$  taşınması artırılır.

Doğumdan sonra fetal akciğer sıvısının resorpsiyonundaki gecikme yenidoğan bebeklerin geçici takipnesine neden olur. Bu bebekler genellikle prematüre ve eylemsiz sezaryenle doğmuş bebeklerdir.  $\beta$ -adrenerjik uyarımın cAMP düzeyini artırarak ENaC'yi aktive ettiği gösterilmiştir. Bununla birlikte doğrudan adrenal verilmesinin benzer etkisi yoktur. Glukokortikoidler ve tiroid hormonları da immatür akciğerde ENaC yapım ve aktivitesini artırmaktadır<sup>124</sup>.

Bebeklerin gebelik yaşları büyüdükçe solunum yollarında  $\text{Na}^+$  absorpsiyonu artar; bu ENaC'lerin sayısındaki artışa bağlıdır. RDS'li bebeklerde bunların sayısı<sup>125,126</sup>, buna bağlı olarak solunum yollarında  $\text{Na}^+$  absorpsiyonu daha azdır<sup>127</sup>. Yenidoğan bebeklerde ENaC ile akciğer kompliansı arasında yakın ilişki bulunmuştur<sup>128</sup>.

Homozigot  $\alpha$  alt-birim eksikliği olan fare modellerinde akciğer gelişiminin normal olduğu, ancak bu hayvanların doğumdan sonra 40 saat içinde intraalveoler fetal akciğer sıvısının temizlenememesine ("intrapulmoner boğulma"ya) bağlı olarak pulmoner ödemden öldükleri bildirilmiştir<sup>129</sup>. Buna karşılık  $\beta$  ve  $\gamma$  altbirimlerinin yapılamaması durumunda akciğer bulguları yoktur; fareler psödohipoaldosteronizme bağlı elektrolit dengesizliğinden ölürlür<sup>130-132</sup>.

ENaC'nin alt-birimlerinin yapımı 12 ve 16. kromozomlarda bulunan genler tarafından kontrol edilir. Bu genlerle promotör bölgelerinde çeşitli polimorfizmler ve mutasyonlar tanımlanmıştır. ENaC'nin etkinliğinde  $\alpha$  alt-birimi önemli olduğundan bunun yapımı ile ilgili polimorfizmler daha çok incelenmiştir. Ancak sonuçlar beklendiğinden karmaşıktır. Örneğin  $\alpha$  alt-biriminin ekzon 13'ündeki bir polimorfizmin hipertansiyona karşı koruyucu olduğu<sup>133</sup>, buna karşılık bu bölgedeki başka bir polimorfizmin böyle bir koruyucu etkisi olmadığı gösterilmiştir<sup>134</sup>.

ENaC gen polimorfizminin yenidoğanın geçici takipnesinin ortaya çıkmasında önemli olabileceği ileri sürülmüştür. ENaC fonksiyonunda bozulmaya neden olan en önemli aday bölgeler  $\alpha$  alt-birimin ekzon 12 ve ekzon 13 bölgeleri olduğundan bu bölgedeki polimorfizm incelenmiştir. Bu çalışmada Alman ve Türk bebekler incelenmiştir (Türk Çalışma Grubu: S. Arslanoğlu, B. Ilıkkan, H. Koç, A. Kumral, F. Ovalı, R. Örs, G. Sarman, M. Satar, A. Yıldırım, M. Yurdakök). Yenidoğanın geçici takipnesi (n: 43) ve sağlıklı (n: 50) olan Türk bebekleri ile, RDS'li Alman prematüre bebekler (n: 57) üzerinde yapılan bir çalışmada bu bölgelerde polimorfizm bulunmamıştır. Ancak bu gözlem sınırlı olduğundan bir genelleme yapılması mümkün değildir<sup>135</sup>. Başka bir deyişle fetal akciğer sıvısının resorpsiyonundaki gecikmeye yol açabilen genetik bir eğilim henüz kanıtlanamamıştır<sup>136</sup>.

Hücre yüzeyinde ENaC ekspresyonu  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  alt-birimlerinin hepsinin C-uçlarında korunan bir sekansla kontrol edilir. Bu sekansın "missense" mutasyonu veya delesyonu, ENaC'nin yüzey ekspresyonunu artırır. Böylece böbrekten aşırı  $\text{Na}^+$  taşınması ile karakterli Liddle sendromu ortaya çıkar. ENaC alt-birimlerinin yapımlarıyla ilgili kalıtsal bozukluklar ise psödohipoaldosteronizm tip 1'nin nedenlerinden biridir.

Psödohipoaldosteronizmde aldosterona cevapsızlık vardır. Distal nefronda  $\text{Na}^+$  taşınmasının bozuk olmasına bağlı olarak böbrekten tuz kaybı ve yüksek aldosteron düzeyi ile karakterize bir hastalıktır. Yaşamın ilk haftasında dehidratasyon, hiponatremi, hiperpotasemi ve metabolik asidoz ile bulgu verir. Başlıca iki tipi vardır. Otozomal dominant geçen "renal" tipinde mineralokortikoid reseptördeki kalıtsal bir bozukluk nedeniyle aldosterona cevapsızlık görülür. Otozomal resesif geçen "sistemik" şeklinde ise ENaC'nin alt-birimleri ile ilgili çeşitli mutasyonlar vardır. Bu tipte çeşitli organlarda (böbrekler, kolon, tükürük bezleri, ter bezleri gibi) tuz kaybı vardır. Bununla birlikte hastalığın sistemik şeklinde akciğer hastalığının fenotipini ve patofizyolojisi yeterince bilinmemektedir.

Solunum yollarında bulunan sızıntıların sürekli olarak emilerek temizlenmeleri ve hava ile dolu boşlukların sağlanması gerekir. Psödohipoaldosteronizmin sistemik şeklinde üst ve alt hava yollarında  $\text{Na}^+$  taşınmasının

bozulmasına bağlı olarak hava yollarında sıvı miktarı fazladır. Bu hastalarda sürekli berrak burun akıntısı dikkat çekebilir. Solunum yollarındaki salgıların fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak etkilenmesi; mukosilier temizlik ve endojen antibakteriyel moleküller için en uygun yapının bozulması nedeniyle yaşamlarının ilk yıllarında solunum yolu hastalıkları sıklığıdır. Bu hastaların hiçbirinde doğumda solunum sıkıntısı yokken, birkaç hafta veya ay içinde tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları görüldüğü bildirilmiştir<sup>137-139</sup>.

Bugüne kadar biri Türk olan 22 hastada ENaC'nin alt-birimleriyle ilgili çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan 19'u "missense" mutasyon değildir. Delesyon, insersiyon veya "splice site" mutasyonlar nedeniyle anormal uzunlukta mRNA veya protein yapılır. "Missense" mutasyonlarda ise yapılan alt-birim normal büyüklükte olduğundan bulgular daha hafif olmaktadır.  $\alpha$  alt-birimi ile ilgili mutasyonların daha ağır gittiği de düşünülmüştür. Bugünü kadar bildirilen 22 mutasyondan 14'ü  $\alpha$  alt-birimi ile ilgilidir. Hacettepe Üniversitesi'nden bildirilen yenidoğan vakasında  $\alpha$  alt-birimi ile ilgili genin ekzon 8'inde bir mutasyon saptanmıştır<sup>140</sup>.

### Akuaporinler

Akuaporinler yapıları ve önemleri son yirmi yılda anlaşılmış hücre zarındaki "su kanalları" dır. Bu süre içinde onbir üyesi tanımlanmıştır. Eksikliklerinin bazı hastalıklara neden olduğu gösterilmiştir. Örneğin AQP2 mutasyonları nefrojenik diyabetes insipidusa; AQP0 mutasyonları bazı konjenital kataraktlara; gözyaşı ve tükürük bezlerinde AQP5 yokluğu Sjögren sendromuna neden olmaktadır.

Akciğerde en az dört akuaporinin bulunduğu bilinmektedir: AQP1, AQP3, AQP4 ve AQP5 Bugüne kadar incelenen memeli türlerinde akuaporinlerin dağılımlarının küçük farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. İnsan, koyun, fare ve sıçan bronşlarında dört tip akuaporin de bulunurken; insan bronşiollerinde AQP1 ve AQP3, koyun bronşiollerinde AQP1, AQP3 ve AQP4 (sıçan ve faredekiler bilinmemektedir) bulunur. Buna karşılık insan alveollerinde dört tip akuaporin de vardır; ancak koyunda AQP1 ve AQP5, sıçan ve farede AQP1 ve AQP3 bulunur.

AQP1 alveollerin etrafındaki damarların endotel hücrelerinin, AQP4 hava yolu epitel hücrelerinin ve AQP5 alveoler epitel hücrelerinin membranlarında bulunur. Akuaporinlerin hücre membranlarında daha yoğunluk gösterdikleri bölgeler farklıdır. AQP1 akciğerlerde en çok damarların endotelinde, özellikle alveollerin etrafındaki damar pleksusunundaki endotel hücrelerinin membranlarında; AQP3 proksimal ve terminal bronşiollerini döşeyen epitel hücrelerinin apikal membranlarında ve tip 2 pnömositlerin bazolateral membranlarında hava yollarının bazal membranlarında; AQP4 trakea ve bronş epitelinin basolateral membranlarında; AQP5 alveoler tip 1 hücrelerin apikal membranlarında bulunur.

Ancak bu kadar basit bir ayırım yapılması mümkün değildir. Aynı hücrenin farklı yüzey membranlarında değişik akuaporinler bulunabilir. Bronşların yüzeyel epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde AQP5, bazolateral yüzlerinde AQP4; submukozal bezlerdeki hücrelerin apikal yüzlerinde AQP5, bazolateral yüzlerinde AQP3 ve AQP4; bronşiollerin psödostrafiye epitelinin apikal yüzlerinde AQP3, bazolateral yüzlerinde AQP4; tip 1 alveoler hücrelerinin apikal yüzlerinde AQP5; farelerde tip 2 alveoler hücrelerinin apikal yüzlerinde AQP5, insanlarda bazolateral yüzlerde AQP3 bulunur<sup>141-144</sup>.

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda AQP1 geninde delesyon olan hayvanlarda alveoler-kapiller osmotik su geçirgenliğinin 10 kat azaldığı, aynı durumun AQP5 delesyonu olan hayvanlarda da görüldüğü, ancak hem AQP1 hem de AQP5 delesyonu varsa alveoler-kapiller osmotik su geçirgenliğinin otuz kat azaldığı görülmüştür. AQP3 ve AQP4 delesyonu olan hayvanlarda üst hava yollarının osmotik su geçirgenliği de azalmaktadır<sup>143,144</sup>.

Akuaporin 1 (AQP1) en ilkel canlılardan beri membranda su hareketlerini sağlayan bir kanaldır. Önceleri eritrositlerde ve böbrek proksimal tubülü hücrelerinde tanımlanmıştır. Eritrositlerde Colton-kan grubu olarak bilinmektedir. AQP1-eksikliği olanların idrar konsantrasyonunu artırmadaki kısıtlılıkları dışında böbrek işlevleri sınırdadır normaldir Beşi normal, ikisinde AQP1-eksikliği olan yedi erişkin üzerinde HRCT (high-resolution computed tomography) ile yapılan bir çalışmada intravenöz sıvı yüklenmesine cevap olarak

pulmoner damarların genişlediği; hava yollarının lümenlerinde değişiklik olmadığı, buna karşılık hava yollarının duvar kalınlıklarının arttığı gösterilmiştir. AQP1-eksikliği olanlarda hava yollarını etrafında bu şekilde sıvı birikmesi muhtemelen endotelden sıvı ekstrasvazyonuna bağlıdır<sup>145</sup>. Bildiğimiz kadarıyla bugüne kadar yenidoğan döneminde solunum sıkıntısı olan bebeklerde akuaporin düzeyleri konusunda bir çalışma yapılmamıştır.

Postnatal adaptasyonda alveoler sıvının temizlenmesinde akuaporinlerin önemli etkileri olduğu sanılmaktadır<sup>146</sup>. Hayvan deneylerinde AQP1, AQP3, AQP4 ve AQP5'in doğumdan önce geliştiklerini, hatta AQP1 ve AQP5'in erişkinlerden fazla bulunduğu gösterilmiştir<sup>147</sup>.

Doğumdan hemen sonra AQP4 ekspresyonu da zirve yapması, bu su kanalının alveollerdeki suyu temizlenmesinde çok önemli olduğunu düşündürmektedir<sup>148</sup>. Anneye verilen kortikosteroidler AQP1'i artırırken, AQP5'i etkilememektedir<sup>149</sup>. AQP4 de glukokortikoidler ve beta-adrenerjik agonistlerle artış göstermektedir<sup>148</sup>.

Hava yollarındaki sıvının asidifikasyonu AQP3 yoluyla su taşınmasını inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu durum asfiktik ve asidotik bebeklerde akciğerlerdeki su taşınmasının bozulmasının nedenlerinden biri olabilir<sup>150</sup>.

## AKCİĞER MALFORMASYONLARI

Akcığerlerin gelişimi çok sayıda genin kontrolü altındadır. Günümüzde bunlardan çok azı bilinmektedir. Akcığeğerlerin gelişmesinde FGF (fibroblast growth factor),  $\beta$ -katenin, BMP-4 ve SSH (sonic hedgehog) yollarından gelen sinyallerle düzenlenir. Akcığeğerlerin gelişmesinde TTF-1 (thyroid transcription factor-1), GATA-6, Foxa2, Foxj1, Foxf1, RAR $\alpha/\beta$ , Hox-b5 ve Gli ailesi üyeleri gibi transkripsiyon faktörlerinin; alveoler gelişmede FGF-R3/4, PDGF $\alpha$ , Foxa2 ve GATA-6 ile FGF sinyallerinin; akciğerin lobulasyonunda LFTY-1, NODAL ve GDF-1 gibi genlerin önemli etkileri ardır. Bunların dışında elastin genindeki mutasyonlar ve heparin-sülfat proteoglikanlarının yapımının bozulması alveollerin gelişmesini bozar<sup>8,151-153</sup>.

SHH (sonic hedgehog) yolunun mutasyonlarında akciğerler dahil birçok organı etkileyen sendromik konjenital malformasyonlar olur. SHH embriyonik akciğer tomurcuklarındaki

epitel hücrelerinde yapılır ve salgılanır. Embriyonik gelişmenin erken döneminde trakea ve ösefagus birleşim yerinin ventral (trakea) tarafındaki hücrelerde SHH yapılması trakea ve ösefagusun ayrılmasında önemlidir. SHH proteolitik olarak HIP'yi (hedgehog interacting protein) parçalayarak onunla ve reseptörüyle bağlanarak hedef hücrelerde Gli1, Gli2 ve Gli3'ün bulunduğu Gli transkripsiyon faktörlerini aktive eder. Farelerde SHH/Gli2/3 ve HIP ilişkisinin bozulmasının ağır akciğer malformasyonlarına; SHH yokluğunun trakeoösefageal fistüle, akciğerlerde bronşial dallanmanın ve damarsal gelişimin bozulmasına; solunum epitel hücrelerinde yerel yokluğunun trakeobronşial kıkırdak oluşumunda bozulmasına, düz kasların farklılaşmalarının baskılanmasına ve bronşial dallanmanın bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir.

SHH uyarı yollarının bozulmasının Pallister-Hall, VACTERL (vertebral, anal, kardiak, trakeoösefageal, renal ve ekstremitte anomalileri) ve Smith-Lemli-Opitz sendromuna yol açtığı gösterilmiştir. Pallister-Hal sendromu otozomal dominant geçen bir bozukluk olup kromozom 7p13'deki Gli3 genindeki mutasyonlara bağlıdır. Smith-Lemli-Opitz sendromunda kolesterol yapımı için gerekli olan  $\Delta$ -7-dehidrokolesterol redüktaz enzimi yoktur; bu enzimin yapılamaması, muhtemelen SHH aktitesinde değişikliğe neden olarak farelerde akciğerlerde hipoplaziye ve solunum yetmezliğine neden olmaktadır.

FGF (fibroblast growth factor) uyarıları da akciğerin gelişmesinde önemlidir. Farelerde FGF-10 yokluğunda akciğerlerde agenezis olur. FGF-10 embriyolojik gelişimde akciğer tomurcuklarındaki mezansimal hücrelerde yapılmakta ve buradaki endodermal hücrelerin FGF-R2IIIb reseptörlerine bağlanarak etkili olmaktadır. FGF-R2IIIb yokluğu veya bir hücre içi FGF-sinyal inhibitörü verilmesi ya da FGF mutant reseptörleri akciğerlerde gelişmeyi durdurmaktadır. FGF uyarıları akciğerlerin gelişmesinde değişik basamaklarda da etkilidir. FGF-9 yokluğunda akciğerde hipoplazi, aşırı FGF-18 yapılması trakeobronşial kıkırdak malformasyonlarına neden olmaktadır. Benzer trakeobronşial anormallikler Crouzon, Apert, Pfeiffer ve Carpenter sendromlarında da görülmektedir.

TTF-1 (thyroid transcription factor-1) akciğerlerin gelişmesinde de önemlidir. Farelerde TTF-1 yokluğunda tiroid ve trakeoösefageal fistül ile

birlikte çeşitli akciğer anomalilerine neden olur. TTF-1 geninin de bulunduğu 14q'nun heterozigot delesyonlarında tiroid disfonksiyonu, akciğer ve merkez sinir sistemi anomalileri ile hareket bozuklukları görülür. TTF-1 mutasyonlarında benign kalıtsal kore görülür, yenidoğanda hipotiroidi ve solunum yetmezliğine neden olur.

Memelilerde fkh (forkhead; HNF-3: hepatocyte nuclear factor-3) ya da ailesinden en az 30 transkripsiyon faktörü vardır. "Forkhead" ailesinden Foxa grubundan Foxa1 (HNF-3 $\alpha$ ), Foxa2 (HNF-3 $\beta$ ), ve Foxa3 (HNF-3 $\gamma$ ) embriyonik gelişmenin erken dönemlerinden başlayarak yapılırlar. Foxa2 akciğer gelişmesinde Titf1, Sftpb, Scgblal gibi birçok genin transkripsiyonun düzenlenmesinde önemlidir; in vitro çalışmalarda Foxa1'in Scgblal promotor ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir.

Foxa1 ve Foxa2 hava yollarında ve alveollerdeki tip II hücrelerde birlikte ekprese edilerek akciğerlerin gelişmesinde etkili olurlar. Foxa1<sup>-/-</sup> (transgenik homozigot mutant) farelerin doğduklarında yapısal bir bozukluk görülmez. Foxa1 "null" (knockout) farelerde büyüme geriliği vardır ve birkaç gün içinde ölürlür. Buna karşılık Foxa2 genindeki bozukluklar ağır malformasyonlara neden olur. Foxa2 özellikle alveolarizasyon ve doğumdan sonra epitel hücrelerinin farklılaşması için gereklidir. Foxa2<sup>Δ/Δ</sup> fareler doğduklarında hava yollarında bir anormallik görülmez, ancak alveoler septasyon ve periferik sakkulasyon azalmıştır; surfaktan lipid ve proteinlerinin yokluğu ile birlikte RDS'nin bütün morfolojik, moleküler ve biyokimyasal bulguları görülür. Bu hayvanlarda alveoler tip I hücreler görülmez, damarların gelişmeleri normal olsa bile alveoler-kapiller bileşim oluşmaz. Tip II hücreler immatürdür, lameller cisimler yoktur; apikal mikrovilluslar azdır<sup>154</sup>.

#### KAYNAKLAR

- Cole FS, Hamvas A, Noogee LM. Genetic disorders of neonatal respiratory function. *Pediatr Res* 2001; 50: 157-162.
- Hallman M, Haataja R, Marttila R. Surfactant proteins and genetic predisposition to respiratory distress syndrome. *Semin Perinatol* 2002; 26: 450-460.
- Hallman M, Haataja R. Genetic influences and neonatal lung disease. *Semin Neonatol* 2003; 8: 19-27.
- Hamvas A, Cole FS, Noogee LM. Inherited disorders of surfactant protein metabolism. *Biol Neonate* 2002; 82: 276-277.
- Yurdakök M. Inherited disorders of neonatal lung diseases. *Turk J Pediatr* 2004; 46:105-114.
- Noogee LM. Genetic mechanisms of surfactant deficiency. *Biol Neonate* 2004; 85: 314-318.
- Clark M, Clark LS. The genetics of neonatal respiratory disease. *Semin Fetal Neonatal Med* 2005; 10: 271-282.
- Whitsett JA, Wert SE, Xu Y. Genetic disorders of surfactant homeostasis. *Biol Neonate* 2005; 87: 283-287.
- Khoury MJ, Marks JS, McCarthy BJ, Zaro SM. Factors affecting the sex differential in neonatal mortality: the role of respiratory distress syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151: 777-782.
- Hulsey TC, Alexander GR, Robillard PY, Annibale DJ, Keenan A. Hyaline membrane disease: the role of ethnicity and maternal risk characteristics. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 572-576.
- Marttila R, Haataja R, Ramet M, et al., Evaluation of the genetic susceptibility to RDS in monozygotic and dizygotic twins. *Pediatr Res* 2001; 49: 387A.
- Marttila R, Haataja R, Ramet M, Lofgren J, Hallman M. Surfactant protein B polymorphism and respiratory distress syndrome in premature twins. *Hum Genet* 2003; 112: 18-23.
- Hamvas A, Wise PH, Yang RK, et al. The influence of the wider use of surfactant therapy on neonatal mortality among blacks and whites. *N Engl J Med* 1996; 334: 1635-1640.
- Khoury MJ, Calle EE, Joesoef RM. Recurrence of low birth weight in siblings. *J Clin Epidemiol* 1989; 42: 1171-1178.
- Raven SN, Misenheimer HR. Respiratory distress syndrome and the high risk mother. *Am J Dis Child* 1965; 109: 489-494.
- Lankenau HM. A genetic and statistical study of the respiratory distress syndrome. *Eur J Pediatr* 1976; 123: 167-177.
- Nagourney BA, Kramer MS, Klebanoff MA, Usher RH. Recurrent respiratory distress syndrome in successive preterm pregnancies. *J Pediatr* 1996; 129: 591-596.
- McColley SA. Bronchopulmonary dysplasia: impact of surfactant replacement therapy. *Pediatr Clin North Am* 1998; 45: 573-586.
- Parker RA, Lindstrom DP, Cotton RB. Evidence from twin study implies possible genetic susceptibility to bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 1996; 20: 206-209.
- Mallory GB Jr. Surfactant proteins: role in lung physiology and disease in early life. *Paediatr Resp Rev* 2001; 2: 151-158.
- Meyer KC, Zimmerman J. Inflammation and surfactant. *Paediatr Resp Rev* 2002; 3: 308-314.
- Wright JR. Pulmonary surfactant: a front line of lung host defense. *J Clin Invest* 2003; 111: 1453-1455.
- McCormack FX, Whitsett JA. The pulmonary collectins, SP-A and SP-D, orchestrate innate immunity in the lung. *J Clin Invest* 2002; 109: 707-712.
- Korfhagen TR, Bruno MD, Ross GF, et al. Altered surfactant function and structure in SP-A gene targeted mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 9594-9599.

25. Ikegami M, Korfhagen TR, Whitsett JA, et al. Characteristics of surfactant from SP-A-deficient mice. *Am J Physiol* 1998; 275: L247-L254.
26. Ikegami M, Korfhagen TR, Bruno MD, Whitsett JA, Jobe AH. Surfactant metabolism in surfactant protein A-deficient mice. *Am J Physiol* 1997; 272: L479-L485.
27. Levine AM, Kurak KE, Bruno MD, Stark JM, Whitsett JA, Korfhagen TR. Surfactant protein-A deficient mice are susceptible to *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 700-708.
28. Levine AM, Gwozdz J, Stark J, Bruno M, Whitsett J, Korfhagen T. Surfactant protein-A enhances respiratory syncytial virus clearance in vivo. *J Clin Invest* 1999; 103: 1015-1021.
29. Pantelidis P, Veeraraghavan S, du Bois RM. Surfactant gene polymorphisms and interstitial lung diseases. *Respir Res* 2002; 3: 14-21.
30. Floros J, Hoover RR. Genetics of the hydrophilic surfactant proteins A and D. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408: 312-322.
31. Hamvas A. Surfactant protein B deficiency: insights into inherited disorders of lung cell metabolism. *Curr Probl Pediatr* 1997; 27: 325-345.
32. Haataja R, Rämetsä M, Marttila R, Hallman M. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 2751-2760.
33. Kala P, Ten Have T, Nielsen H, Dunn M, Floros J. Association of pulmonary surfactant protein A (SP-A) gene and respiratory distress syndrome: interaction with SP-B. *Pediatr Res* 1998; 43: 169-177.
34. Rämetsä M, Haataja R, Marttila R, Floros J, Hallman M. Association between the surfactant protein A (SP-A) gene locus and respiratory-distress syndrome in the Finnish population. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1569-1579.
35. Rämetsä M, Haataja R, Marttila R, Floros J, Hallman M. Association between the surfactant protein A (SP-A) gene locus and respiratory-distress syndrome in the Finnish population. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1569-1579.
36. Haataja R, Marttila R, Uimari P, Lofgren J, Rämetsä M. Respiratory distress syndrome: evaluation of genetic susceptibility and protection by transmission disequilibrium test. *Hum Genet* 2001; 109: 351-355.
37. Karinch AM, deMello DE, Floros J. Effect of genotype on the levels of surfactant protein A mRNA and on the SP-A2 splice variants in adult humans. *Biochem J* 1997; 321: 39-47.
38. Floros J, Kala P. Surfactant proteins: molecular genetics of neonatal pulmonary diseases. *Annu Rev Physiol* 1998; 60: 365-384.
39. Ikegami M, Na CL, Korfhagen TR, Whitsett JA. Surfactant protein D influences surfactant ultrastructure and uptake by alveolar type II cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L552-561.
40. Lahti M, Lofgren J, Marttila R, et al. Surfactant protein D gene polymorphism associated with severe respiratory syncytial virus infection. *Pediatr Res* 2002; 51: 696-699.
41. Wert SE, Yoshida M, LeVine AM, et al. Increased metalloproteinase activity, oxidant production, and emphysema in surfactant protein D gene-inactivated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 5972-5977.
42. Botas C, Poulain R, Akiyama J, et al. Altered surfactant homeostasis and alveolar type II cell morphology in mice lacking surfactant protein D. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 11869-11874.
43. Hartl D, Griesse M. Interstitial lung disease in children: genetic background and associated phenotypes. *Respir Res* 2005; 6(1): 32.
44. Hawgood S, Derrick M, Poulain F. Structure and properties of surfactant protein B. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408: 150-160.
45. Clark JC, Wert SE, Bachurski CJ, et al., Targeted disruption of the surfactant protein B gene disrupts surfactant homeostasis, causing respiratory failure in newborn mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 7794-7798.
46. Whitsett JA, Weaver TE. Hydrophobic surfactant proteins in lung function and disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 2141-2148.
47. Nogee LM, Wert SE, Proffitt SA, Hull WM, Whitsett JA. Allelic heterogeneity in hereditary surfactant protein B (SP-B) deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 973-981.
48. Hamvas A, Cole FS, deMello DE, et al. Surfactant protein B deficiency: antenatal diagnosis and prospective treatment with surfactant replacement. *J Pediatr* 1994; 125: 356-361.
49. Nogee LM, de Mello DE, Dehner LP, Colten HR. Brief report: deficiency of pulmonary surfactant protein B in congenital alveolar proteinosis. *N Engl J Med* 1993; 328: 406-410.
50. Cole FS, Hamvas A, Rubinstein P, et al. Population-based estimates of surfactant protein B deficiency. *Pediatrics* 2000; 105: 538-541.
51. Nogee LM. Genetics of pediatric interstitial lung disease. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18: 287-292.
52. Nogee LM. Surfactant protein-B deficiency. *Chest* 1997; 111 (6 suppl): 129S-135S.
53. Nogee LM, Garnier G, Dietz HC, et al. A mutation in the surfactant protein B gene responsible for fatal neonatal respiratory disease in multiple kindreds. *J Clin Invest* 1994; 93: 1860-1863.
54. Hamvas A, Nogee LM, Mallory Jr GB, et al. Lung transplantation for treatment of infants with surfactant protein B deficiency. *J Pediatr* 1997; 130: 231-239.
55. Tredano M, Cooper DN, Stuhmann M, et al. Origin of the prevalent SFTPB indel g.1549C > GAA (121ins2) mutation causing surfactant protein B (SP-B) deficiency. *Am J Med Genet* 2006; 140: 62-69.
56. Beers MF, Hamvas A, Moxley MA, et al. Pulmonary surfactant metabolism in infants lacking surfactant protein B. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22: 380-391.
57. Vorbroeker DK, Proffitt SA, Nogee LM, Whitsett JA. Aberrant processing of surfactant protein C in hereditary SP-B deficiency. *Am J Physiol* 1995; 268: L647-L656.

58. Stuhmann, Bohnhorst B, Peters U, Bohle RM, Poets CF, Schmidtke J. Prenatal diagnosis of congenital alveolar proteinosis (surfactant protein B deficiency). *Prenat Diagn* 1998; 18: 953-955.
59. Klein JM, Thompson MW, Snyder JM, et al. Transient surfactant protein B deficiency in a term infant with severe respiratory failure. *J Pediatr* 1998; 132: 244-248.
60. Yusen RD, Cohen AH, Hamvas A. Normal lung function in subjects heterozygous for surfactant protein-B deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 411-414.
61. Ballard PL, Noguee LM, Beers MF, et al. Partial deficiency of surfactant protein B in an infant with chronic lung disease. *Pediatrics* 1995; 96: 1046-1052.
62. Akinbi HT, Breslin JS, Ikegami M, et al. Rescue of SP-B knockout mice with a truncated SP-B propeptide: function of the C-terminal propeptide. *J Biol Chem* 1997; 272: 9640-9647.
63. Tokieda K, Ikegami M, Wert SE, Baatz JE, Zou Y, Whitsett JA. Surfactant protein B corrects oxygen-induced pulmonary dysfunction in heterozygous surfactant protein B-deficient mice. *Pediatr Res* 1999; 46: 708-714.
64. Melton KR, Nesselin LL, Ikegami M, et al. SP-B deficiency causes respiratory failure in adult mice. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 2003; 285: L543-L549.
65. Dunbar AE III, Wert SE, Ikegami M, et al. Prolonged survival in hereditary surfactant protein B (SP-B) deficiency associated with a novel splicing mutation. *Pediatr Res* 2000; 48:275-282.
66. Mildenerger E, de Mello DE, Lin Z, Kössel H, Hoehn T, Versmold HT. Focal congenital alveolar proteinosis associated with abnormal surfactant protein B messenger RNA. *Chest* 2001; 119: 645-647.
67. Lin Z, deMello DE, Batanian JR, et al. Aberrant SP-B mRNA in lung tissue of patients with congenital alveolar proteinosis (CAP). *Clin Genet* 2000; 57: 359-369. [Erratum in: *Clin Genet* 2000; 58: 156].
68. Lin Z, deMello DE, Wallot M, Floros J. An SP-B gene mutation responsible for SP-B deficiency in fatal congenital alveolar proteinosis: evidence for a mutation hotspot in exon 4. *Mol Genet Metab* 1998; 64: 25-35.
69. Floros J, Pavlovic J. Genetics of acute respiratory distress syndrome: challenges, approaches, surfactant proteins as candidate genes. *Semin Respir Crit Care Med* 2003; 24: 161-168.
70. Hallman M, Haataja R, Marttila R. Surfactant proteins and genetic predisposition to respiratory distress syndrome. *Semin Perinatol* 2002; 26: 450-460.
71. Haataja R, Hallman M. Surfactant proteins as genetic determinants of multifactorial pulmonary diseases. *Ann Med* 2002; 34: 324-333.
72. Floros J, Veletzka SV, Kotikalapudi P, Krizkova L, Karinch AM, Friedman C, et al. Dinucleotide repeats in the human surfactant protein-B gene and respiratory distress syndrome. *Biochem J* 1995; 305: 583-590.
73. Kala P, Ten Have T, Nielsen H, Dunn M, Floros J. Association of pulmonary surfactant protein A (SP-A) gene and respiratory distress syndrome: Interaction with SP-B. *Pediatr Res* 1998; 43: 169-177.
74. Haataja R, Ramet M, Marttila R, Hallman M. Surfactant proteins A and B as interactive genetic determinants of neonatal respiratory distress syndrome. *Human Mol Genet* 2000; 9: 2751-2760.
75. Marttila R, Haataja R, Rämetsä M, Löfgren J, Hallman M. Surfactant protein B polymorphism and respiratory distress syndrome in premature twins. *Hum Genet* 2003; 112: 18-23.
76. Marttila R, Haataja R, Guttentag S, Hallman M. Surfactant protein A and B genetic variants in respiratory distress syndrome in singletons and twins. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1216-1222.
77. Lin Z, Pearson C, Chincilli P, Pietschmann SM, Pison U, Floros J. Polymorphisms of human SP-A, SP-B and SP-D genes: associations of SP-B Thr131Ile with ARDS. *Clin Genet* 2000; 58: 181-191.
78. Johansson J. Structure and properties of surfactant protein C. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1408: 161-172.
79. Glasser SW, Burhans MS, Korfhagen TR, Na CL, Sly PD, Ross GF, et al. Altered stability of pulmonary surfactant in SP-C-deficient mice. *Proc National Acad Sci USA* 2001; 98: 6366-6371.
80. Glasser SW, Korfhagen TR, Perme CM, Pilot-Matias TJ, Kister SE, Whitsett JA. Two SP-C genes encoding human pulmonary surfactant proteolipid. *J Biol Chem* 1988; 263: 10326-10331.
81. Glasser SW, Detmer EA, Ikegami M, Na CL, Stahlman MT, Whitsett JA. Pneumonitis and emphysema in sp-C gene targeted mice. *J Biol Chem* 2003; 278: 14291-14298.
82. Noguee LM, Dunbar AE, Wert SE, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA. A mutation in the surfactant protein C (SP-C) gene associated with familial interstitial lung disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 573-579.
83. Noguee LM, Dunbar AE, III, Wert S, Askin F, Hamvas A, Whitsett JA. Mutations in the surfactant protein C gene associated with interstitial lung disease. *Chest* 2002; 121 (Suppl 3): 20S-21S.
84. Cameron HS, Somaschini M, Carrera P, Hamvas A, Whitsett JA, Wert SE, Deutsch G, Noguee LM. A common mutation in the surfactant protein C gene associated with lung disease. *J Pediatr* 2005; 146: 370-375.
85. Tredano M, Griese M, Brasch F, et al. Mutation of SFTPC in infantile pulmonary alveolar proteinosis with or without fibrosing lung disease. *Am J Med Genet (Part A)* 2004; 126A: 18-26.
86. Amin RS, Wert SE, Baughman RP, et al. Surfactant protein deficiency in familial interstitial lung disease. *J Pediatr* 2001; 139: 85-92.
87. Bridges JP, Wert SE, Noguee LM, Weaver TE. Expression of a human surfactant protein C mutation associated with interstitial lung disease disrupts lung development in transgenic mice. *J Biol Chem* 2003; 278: 52739-52746.
88. Wang WJ, Mulugeta S, Russo SJ, Beers MF. Deletion of exon 4 from human surfactant protein C results in aggresome formation and generation of a dominant negative. *J Cell Sci* 2003; 116:683-692.
89. Hamvas A, Noguee LM, White FV, et al. Progressive lung disease and surfactant dysfunction with a deletion in surfactant protein C gene. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 30: 771-776.

90. Noguee L, Shulenin S, Annilo T, et al. Mutations in the ABCA3 gene are a frequent cause of fatal neonatal surfactant deficiency. *Am J Respir Crit Care Med* (International Conference Abstracts [B85], 2004.
91. Glasser SW, Korfhagen TR, Perme CM, Pilotmatias TJ, Kister SE, Whitsett JA. 2 Sp-C genes encoding human pulmonary surfactant proteolipid. *J Biol Chem* 1988; 263: 10326-10331.
92. Warr RG, Hawgood S, Buckley DI, et al. Low-molecular-weight human pulmonary surfactant protein (Sp5): isolation, characterization, and Cdna and amino-acid-sequences. *Proc Nat Acad Sci USA* 1987; 84: 7915-7919.
93. Hatzis D, Deiter G, deMello DE, Floros J. Human surfactant protein-C: genetic homogeneity and expression in Rds: comparison with other species. *Exp Lung Res* 1994; 20: 57-72.
94. Lawson WE, Grant SW, Ambrosini V, et al. Genetic mutations in surfactant protein C are a rare cause of sporadic cases of IPF. *Thorax* 2004; 59: 977-980.
95. Cutz E, Wert SE, Noguee LM, Moore AM. Deficiency of lamellar bodies in alveolar type II cells associated with fatal respiratory disease in a full-term infant. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 608-614.
96. Guttentag SH, Akhtar A, Tao JQ, et al. Defective surfactant secretion in a mouse model of Hermansky-Pudlak syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33: 14-21.
97. Tang X, Yamanaka S, Miyagi Y, Nagashima Y, Nakatani Y. Lung pathology of pale ear mouse (model of Hermansky-Pudlak syndrome 1) and beige mouse (model of Chediak-Higashi syndrome): severity of giant lamellar body degeneration of type II pneumocytes correlates with interstitial inflammation. *Pathol Int* 2005; 55: 137-143.
98. Pitkanen O. Lung epithelial ion transport in neonatal lung disease. *Biol Neonate* 2001; 80 (Suppl 1): 14-17.
99. Compennolle V, Brusselmans K, Acker T, et al. Loss of HIF-2alpha and inhibition of VEGF impair fetal lung maturation, whereas treatment with VEGF prevents fatal respiratory distress in premature mice. *Nat Med* 2002; 8: 702-710.
100. Waterer GW, Quasney MW, Cantor RM, Wunderink RG. Septic shock and respiratory failure in community-acquired pneumonia have different TNF polymorphism associations. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1599-1604.
101. Vayrynen O, Glumoff V, Hallman M. Regulation of surfactant proteins by LPS and proinflammatory cytokines in fetal and newborn lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L803-L810.
102. Hoover RR, Floros J. SP-A 3'-UTR is involved in the glucocorticoid inhibition of human SP-A gene expression. *Am J Physiol* 1999; 276: L917-L924.
103. Dranoff G, Crawford AD, Sadelain M, et al. Involvement of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in pulmonary homeostasis. *Science* 1994; 264: 713-716.
104. Dirksen U, Nishinakamura R, Groneck P, et al. Human pulmonary alveolar proteinosis associated with a defect in GM-CSF/IL-3/IL-5 receptor common beta chain expression. *J Clin Invest* 1997; 100: 2211-2217.
105. Kitamura T, Tanaka N, Watanabe J, et al. Idiopathic pulmonary alveolar proteinosis as an autoimmune disease with neutralizing antibody against granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1999; 190: 875-880.
106. Thomassen MJ, Yi T, Raychaudhuri B, Malur A, Kavuru MS. Pulmonary alveolar proteinosis is a disease of decreased availability of GM-CSF rather than an intrinsic cellular defect. *Cell Immunol* 2000; 95: 85-92.
107. Locher KP, Borths E. ABC transporter architecture and mechanism: implications from the crystal structures of BtuCD and BtuF. *FEBS Lett* 2004; 564: 264-268.
108. Locher KP. Structure and mechanism of ABC transporters. *Curr Opin Struct Biol* 2004; 14: 426-431.
109. Inagaki N, Yamada K, Zhao LX, et al. Cloning, tissue distribution and function of ABCA transporters. *Int Congree Series* 2004; 1262: 578-581.
110. Chang G. Multidrug resistance ABC transporters. *FEBS Lett* 2003; 555: 102-105.
111. Ferguson LR, Flora SD. Multiple drug resistance, antimutagenesis and anticarcinogenesis. *Mutat Res* 2005; 591: 24-33.
112. Uitto J. The gene family of ABC transporters: novel mutations, new phenotypes. *Trends Mol Med* 2005; 11: 341-343.
113. Hallman M. Lung surfactant, respiratory failure, and genes. *N Engl J Med* 2004; 350: 1278-1280.
114. Shulenin S, Noguee LM, Annilo T, Wert SE, Whitsett JA, Dean M. ABCA3 gene mutations in newborns with fatal surfactant deficiency. *N Engl J Med* 2004; 350: 1296-1303.
115. Bullard JE, Wert SE, Whitsett JA, Dean M, Noguee LM. ABCA3 mutations associated with pediatric interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172: 1026-1031.
116. Zhou JM, You Y, Ryan AJ, Mallampalli RK. Upregulation of surfactant synthesis triggers ABCA1-mediated basoateral phospholipid efflux. *J Lipid Res* 2004; 45: 1758-1767.
117. McNeish J, Aiello RJ, Guyot D, et al. High density lipoprotein deficiency and foam cell accumulation in mice with targeted disruption of ATP-binding cassette transporter-1. *Proc Nat Acad Sc USA* 2000; 97: 4245-4250.
118. Matalon S, Lazrak A, Jain L, Eaton DC. Invited review: biophysical properties of sodium channels in lung alveolar epithelial cells. *J Appl Physiol* 2002; 93: 1852-1859.
119. Matthay MA. Regulation of ion and fluid transport across the distal pulmonary epithelia: new insights. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L595-L598.
120. Kemp PJ, Kim KJ. Spectrum of ion channels in alveolar epithelial cells: implications for alveolar fluid balance. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287: L460-L464.
121. Eaton DC, Chen J, Ramosevac S, Matalon S, Jain L. Regulation of Na<sup>+</sup> channels in lung alveolar type II epithelial cells. *Proc Am Thorac Soc* 2004; 1:10-16.



122. Tutdibi E, Hospes B, Landmann E, Gortner L, Satar M, Yurdakok M, Dellagrammaticas H, Ors R, Ilikkan B, Ovali F, Sarman G, Kumral A, Arslanoglu S, Koc H, Yildiran A. Transient tachypnea of the newborn (TTN): a role for polymorphisms of surfactant protein B (SP-B) encoding gene? *Klin Padiatr* 2003; 215: 248-252.
123. Snyder PM. Regulation of epithelial Na<sup>+</sup> channel trafficking. *Endocrinology* 2005; 146: 5079-5085.
124. Olver RE, Walters DV, M Wilson S. Developmental regulation of lung liquid transport. *Annu Rev Physiol* 2004; 66: 77-101.
125. Bland RD. Loss of liquid from the lung lumen in labor: more than a simple "squeeze". *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L602-L605.
126. Helve O, Pitkanen OM, Andersson S, O'Brodovich H, Kirjavainen T, Otulakowski G. Low expression of human epithelial sodium channel in airway epithelium of preterm infants with respiratory distress. *Pediatrics* 2004; 113: 1267-1272.
127. Barker PM, Gowen CW, Lawson EE, Knowles MR. Decreased sodium ion absorption across nasal epithelium of very premature infants with respiratory distress syndrome. *J Pediatr* 1997; 130: 373-377.
128. Helve O, Pitkanen O, Kirjavainen T, Andersson S. Sodium transport in airway epithelium correlates with lung compliance in healthy newborn infants. *J Pediatr* 2005; 146: 273-276.
129. Hummler E, Barker P, Gatzky J, et al. Early death due to defective neonatal lung liquid clearance in alpha-ENaC-deficient mice. *Nat Genet* 1996; 12: 325-328.
130. Barker PM, Nguyen MS, Gatzky JT, et al. Role of  $\gamma$  ENaC subunit in lung liquid clearance and electrolyte balance in newborn mice: insights into perinatal adaptation and pseudohypoaldosteronism. *Clin Invest* 1998; 102: 1634-1640.
131. McDonald FJ, Yang B, Hrstka RF, et al. Disruption of the beta subunit of the epithelial Na<sup>+</sup> channel in mice: hyperkalemia and neonatal death associated with a pseudohypoaldosteronism phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1727-1731.
132. Hummler E, Horisberger JD. Genetic disorders of membrane transport. V. The epithelial sodium channel and its implication in human diseases. *Am J Physiol* 1999; 276(3 Pt 1): G567-571.
133. Xue MZ, Bonny O, Morgenthaler S, et al. Use of constant denaturant capillary electrophoresis of pooled blood samples to identify single-nucleotide polymorphisms in the genes (Scnn1a and Scnn1b) encoding the alpha and beta subunits of the epithelial sodium channel. *Clin Chem* 2002; 48: 718-728.
134. Ambrosius WT, Bloem LJ, Zhou L, et al. Genetic variants in the epithelial sodium channel in relation to aldosterone and potassium excretion and risk for hypertension. *Hypertension* 1999; 34(4 Pt 1): 631-637.
135. Landmann E, Schmidtpott M, Tutdibi E, Gortner L. Is transient tachypnea of the newborn associated with polymorphisms in the epithelial sodium channel encoding gene? Investigation of the second transmembrane spanning domain of the alpha subunit. *Acta Paediatr* 2005; 94: 317-323.
136. Hallman M. Delayed clearance of fetal lung liquid and sodium transport—genetic predisposition not evident yet. *Acta Paediatr* 2005; 94: 258-260.
137. Kerem E, Bistritzer T, Hanukoglu A, et al. Pulmonary epithelial sodium-channel dysfunction and excess airway liquid in pseudohypoaldosteronism. *N Engl J Med* 1999; 341: 156-162.
138. Schaedel C, Marthinsen L, Kristoffersson AC, et al. Lung symptoms in pseudohypoaldosteronism type 1 are associated with deficiency of the alpha-subunit of the epithelial sodium channel. *J Pediatr* 1999; 135: 739-745.
139. Thomas CP, Zhou J, Liu KZ, Mick VE, MacLaughlin E, Knowles M. Systemic pseudohypoaldosteronism from deletion of the promoter region of the human beta epithelial Na<sup>(+)</sup> channel subunit. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27: 314-319.
140. Edelheit O, Hanukoglu I, Gizewska M, Kandemir N, Tenenbaum-Rakover Y, Yurdakok M, Zajacsek S, Hanukoglu A. Novel mutations in epithelial sodium channel (ENaC) subunit genes and phenotypic expression of multisystem pseudohypoaldosteronism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62: 547-553.
141. Agre P, King LS, Yasui M, et al. Aquaporin water channels: from atomic structure to clinical medicine. *J Physiol* 2002; 542(Pt 1): 3-16.
142. Agre P, Kozono D. Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Lett* 2003; 555: 72-78.
143. Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest* 2002; 109: 1395-1399.
144. King LS, Yasui M. Aquaporins and disease: lessons from mice to humans. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 355-360.
145. King LS, Nielsen S, Agre P, Brown RH. Decreased pulmonary vascular permeability in aquaporin-1-null humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 1059-63.
146. Zelenina M, Zelenin S, Aperia A. Water channels (aquaporins) and their role for postnatal adaptation. *Pediatr Res* 2005; 57(5 Pt 2): 47R-53R.
147. Liu H, Wintour EM. Aquaporins in development: a review. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3:18.
148. Yasui M, Serlachius E, Lofgren M, Belusa R, Nielsen S, Aperia A. Perinatal changes in expression of aquaporin-4 and other water and ion transporters in rat lung. *J Physiol* 1997; 505(Pt 1): 3-11.
149. King LS, Nielsen S, Agre P. Aquaporin-1 water channel protein in lung: ontogeny, steroid-induced expression, and distribution in rat. *J Clin Invest* 1996; 97: 2183-2191.
150. Zelenina M, Bondar AA, Zelenin S, Aperia A. Nickel and extracellular acidification inhibit the water permeability of human aquaporin-3 in lung epithelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 30037-30043.
151. Whitsett JA, Wert SE, Trapnell BC. Genetic disorders influencing lung formation and function at birth. *Hum Mol Genet* 2004;13 (Spec No 2): R207-15.

152. Kumar VH, Lakshminrusimha S, Abiad MT, Chess PR, Ryan RM. Growth factors in lung development. *Adv Clin Chem* 2005; 40: 261-316.
153. Warburton D, Bellusci S, De Langhe S, et al. Molecular mechanisms of early lung specification and branching morphogenesis. *Pediatr Res* 2005; 57 (5 Pt 2): 26R-37R.
154. Wan H, Xu Y, Ikegami M, Stahlman MT, Kaestner KH, Ang SL, Whitsett JA. Foxa2 is required for transition to air breathing at birth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 14449-14454.