

## Prematüre bebeklerde serum hyaluronik asit düzeyi; bronkopulmoner displazinin işareti olabilir mi?

Tuğba Gürsoy<sup>1</sup>, Gülsevin Tekinalp<sup>2</sup>, Ayşe Lale Doğan<sup>3</sup>, Mutlu Hayran<sup>4</sup>

Şule Yiğit<sup>2</sup>, Murat Yurdakök<sup>2</sup>

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi <sup>1</sup>Neonatoloji Uzmanı, <sup>2</sup>Pediyatri Profesörü, <sup>3</sup>Biyokimya Doçenti, <sup>4</sup>Halk Sağlığı Yardımcı Doçenti

**SUMMARY:** Gürsoy T, Tekinalp G, Doğan AL, Hayran M, Yiğit Ş, Yurdakök M. (Department of Pediatrics, Hacettepe University Faculty of Medicine, Ankara, Turkey). Serum hyaluronic acid level in preterms: can it predict bronchopulmonary dysplasia? Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2007; 50: 227-230.

Fetal tissues contain high concentrations of hyaluronic acid (HA) concentrations of which were shown to increase in lung diseases. Here, we aimed to evaluate whether serum HA levels in preterm babies can predict bronchopulmonary dysplasia. The study group consisted of 12 neonates who developed respiratory distress syndrome upon admission and bronchopulmonary dysplasia later. The control group consisted of 13 neonates who developed neither of these pathologies. There was no significant difference in HA levels of the groups; therefore, serum HA levels are unlikely to be used as a predictor of bronchopulmonary dysplasia.

*Key words: bronchopulmonary dysplasia, hyaluronic acid, premature.*

**ÖZET:** Fetal dokularda yüksek miktarda hyaluronik asit (HA) bulunmaktadır. Akciğer patolojilerinde bu düzeylerin daha da arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada amacımız prematüre bebeklerde serum HA düzeylerinin bronkopulmoner displazi tanısını öngörmeye prediktif değeri olup olmayacağını araştırmaktır. Bu amaçla, çalışma grubuna doğumda respiratuar distress sendromu ardından bronkopulmoner displazi geliştiren 12 bebek, kontrol grubuna ise bu hastalıkların her ikisini de geçirmeyen 13 bebek alındı. Gruplar arasında HA düzeyleri açısından fark saptanmadı. Bu nedenle serum HA düzeylerinin bronkopulmoner displazi geliştirme açısından prediktif değeri olmadığı düşünüldü.

*Anahtar kelimeler: bronkopulmoner displazi, hyaluronik asit, prematüre.*

Fetal dokularda yüksek miktarda hyaluronik asit (HA) bulunmaktadır<sup>1</sup>. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda, erişkin tipi respiratuar distress sendromu (RDS) olan vakalarda ve prematüre maymunlarda RDS'nin erken döneminde akciğer dokusunda yüksek düzeyde HA saptanmıştır<sup>2,3</sup>. Kronik bronşit, kronik obstrüktif veya parankimal akciğer hastalığı, astım, idiyopatik pulmoner akciğer hastalığı ve akciğer fibrozisi olan vakalarda bronkoalveolar lavaj sıvısında HA düzeylerinde artma gözlenmiştir<sup>4-6</sup>.

Bronkopulmoner displazide (BPD) en belirgin bulgu pulmoner fibrozistir<sup>7</sup>. Alveolar makrofajlar tarafından üretilen “transforming growth

factor-β” (TGF-β) ve “platelet derived growth factor” (PDGF) düzeyleri BPD’de artmıştır ve bu moleküllerin fibrozisin aktif hücreleri olan fibroblastlarda HA sentezini arttırdığı gösterilmiştir<sup>7</sup>. Akciğerlerdeki HA emilerek temizlenmeden doğan prematüre bebeklerde kalan HA’nın suya bağlanarak akciğer ödemi artıracağı, gaz değişimini ve ventilasyonu bozduğu, dolayısıyla RDS için ayrı bir tetikleyici faktör olarak rol oynadığı gösterilmiştir<sup>8</sup>. RDS’nin geç sekelleri ise fibrozis ve BPD’dir<sup>8</sup>. Ayrıca BPD patogeneğinde rol alan hiperoksi ve serbest oksijen radikallerinin<sup>9</sup> fibroblastları uyurarak HA düzeyini artırdığı bildirilmiştir<sup>10</sup>.

Bu bilgilerin ışığında serum HA düzeylerinin BPD'de artmış olacağını, hatta erken dönemde alınacak olan serum HA düzeylerinin prematürelde BPD gelişimi açısından prediktif değer taşıyacağını düşündük. Sunduğumuz çalışmada prematüre bebeklerin serum HA düzeylerinin belirlenmesini ve bu düzeylerin BPD'yi öngörebilecek bir işaret olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmayı amaçladık.

### Materyal ve Metot

Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Yenidoğan Ünitesi'nde izlenen 1250 gr'ın altında doğan 40 prematüre bebek çalışmaya alındı. Üç bebek çalışma sırasında sepsis geliştirdiği için çalışmadan çıkarıldı. RDS olmaksızın BPD geliştiren dokuz bebek ve RDS olduğu halde BPD olmayan üç bebek çalışma dışı bırakıldı. Doğumda RDS ardından BPD geliştiren 12 bebek çalışma grubunu oluştururken, her iki hastalığı da göstermeyen 13 bebek kontrol grubunu oluşturdu. Annesinde korioamniyonit olan bebekleriyle, enfeksiyonu veya major konjenital anomalisi olan bebekler çalışmaya alınmadı.

Yaşamın ilk saatlerinde RDS'nin akciğer grafisi ve kan gazı bulguları ile birlikte, devamlı pozitif hava yolu basıncı (CPAP) dahil mekanik ventilasyona ihtiyaç duyan solunum yetmezliği olan bebeklere RDS<sup>11</sup>, akciğer grafisi bulguları ile birlikte postkonsepsiyonel 36. haftada halen oksijen ihtiyacı olan bebeklere ise BPD tanısı kondu<sup>12</sup>.

Bebeklerden yaşamın ilk günü ve üçüncü haftasında 1 ml venöz kan örneği alındı. Ayrılan serumlar -70°C'de saklandı. Serum HA düzeyleri ELISA (Corgenix Inc., USA) yöntemi ile her bir serum iki kere olmak üzere çalışıldı. Veriler medyan (en düşük- en yüksek) değerler olarak belirtildi. İki grup

arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile, birbirine bağımlı değerler Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Korelasyonlar için Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. 0.05'in altındaki P değeri anlamlı kabul edildi.

Hacettepe Üniversitesi Etik Komitesi çalışmayı onayladı (No. FON 04/3-7). Çalışmaya alınan bebeklerin ailelerinden yazılı onam formu alındı.

### Bulgular

Gruplar arasında gebelik haftası, doğum ağırlığı, cinsiyet, doğum şekli ve antenatal dönemde steroid kullanımı açısından fark yoktu. İlk gün ve üçüncü hafta HA düzeyleri ve bu iki düzey arasındaki fark karşılaştırıldığında iki grup arasında fark saptanmadı (Tablo I). HA düzeyleri ile doğum ağırlığı ve gebelik haftası arasında korelasyon yoktu. Antenatal steroid uygulamasının da HA düzeylerini etkilemediği görüldü. Kontrol grubunda serum HA düzeyleri birinci günden üçüncü haftaya doğru artma gösterirken, çalışma grubunda azalma göstermekle birlikte, her iki grupta da bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 1).

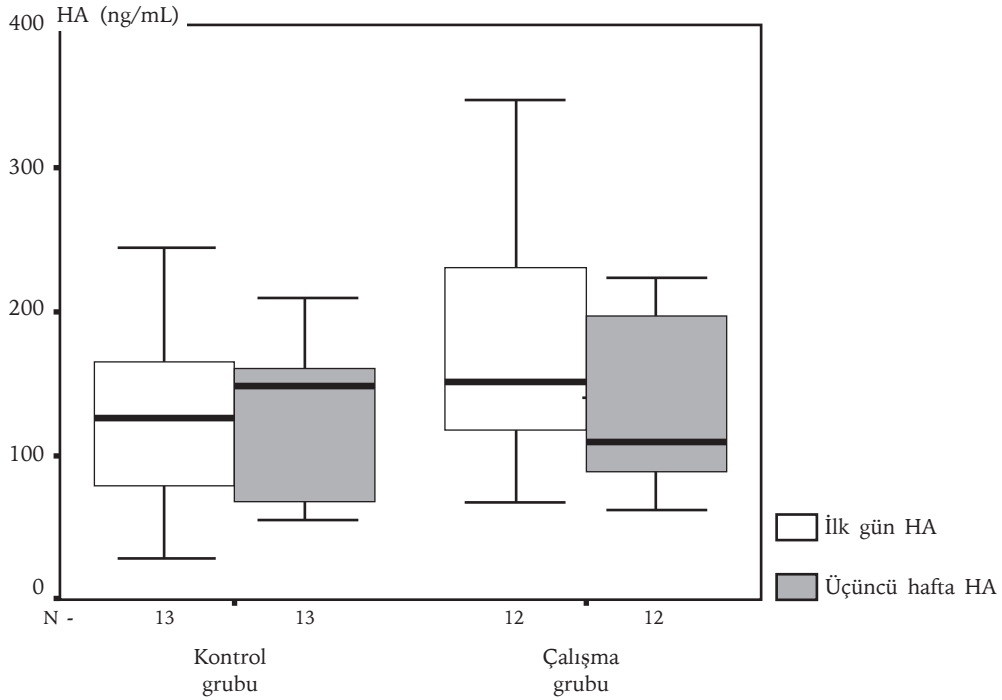
### Tartışma

Literatürde akciğer dokusu HA düzeyleri ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar vardır<sup>1-3, 8, 10, 13</sup>. Johnsson ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada<sup>1</sup> 117 bebeğin otopsi ile elde edilen akciğer dokusunda HA düzeyleri ölçülmüştür. Akciğer dokusundaki ortalama HA düzeyiyle gebelik haftası arasında güçlü bir negatif korelasyon saptanmıştır<sup>1</sup> En yüksek akciğer HA düzeyi BPD nedeniyle ölen iki bebekte saptanırken, RDS nedeniyle ölen bebeklerde de düzeyler

**Tablo I.** Grupların antropometrik özellikleri ve hyaluronik asit (HA) düzeyleri

	Kontrol grubu (n=13)	Çalışma grubu (n=12)
Doğum ağırlığı (gr)	1060 (740-1250)	980 (570-1250)
Gebelik yaşı (hafta)	29 (27-31.6)	28.6 (25.3-29.2)
Cinsiyet (K/E)	6/7	6/6
Doğum şekli (NSVY/CS)	4/9	2/10
Antenatal steroid (-/+)	6/7	5/7
İlk gün HA (ng/mL)	126.4 (29.1-308.7)	150.9 (68-347.9)
Üçüncü hafta HA (ng/mL)	148.3 (55.8-346.3)	109.5 (61.9-223.1)
ΔHA (ng/mL)	34 [(-179.0)-219.9]	-12 [(-281.0)-56.2]

K/E kız/erkek, NSVY/CS normal spontan vajinal yol/sezeryan, ΔHA ilk gün HA düzeyi-üçüncü hafta HA düzeyi.



**Şekil 1.** Kontrol ve çalışma gruplarının ilk gün ve üçüncü hafta HA değerlerinin dağılım özellikleri (koyu çizgi ortanca değeri, kutuların alt ve üst sınırları 25. ve 75. persentilleri, hata çubukları uç değer olmayan en düşük ve en yüksek değerleri göstermektedir). Her iki grupta ilk gün ve üçüncü hafta HA değerleri karşılaştırıldığında değişim istatistiksel olarak anlamlı değildi (kontrol grubunda  $p=0.5$ , çalışma grubunda  $p=0.06$ ).

yüksek bulunmuştur<sup>1</sup>. Başka bir çalışmada prematüre maymunların akciğer dokusundaki HA düzeylerinin RDS şiddetiyle orantılı olarak arttığı gösterilmiştir<sup>3</sup>. Bu artışın RDS'de gözlenen artmış akciğer sıvısına, azalmış akciğer kompliyansına ve artmış pulmoner vasküler dirence katkıda bulunduğu öne sürülmüştür<sup>3</sup>. Ancak biz bu çalışmada serum HA düzeyleriyle RDS ve BPD arasında bir ilişki gösteremedik. Ayrıca serum HA düzeyleri ile gebelik haftası arasında da korelasyon saptamadık.

Antenatal dönemde betametazon verilen tavşanların prematüre doğan yavrularında akciğer dokusu HA düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir<sup>13</sup>. Ancak insanlarda yapılan bir araştırma bu bulguyu desteklememiştir, yani antenatal steroid uygulaması sonrası akciğer HA düzeyinde azalma saptanmamıştır<sup>1</sup>. Benzer şekilde bu çalışmada da antenatal dönemde verilen steroidin serum HA düzeyi üzerine etkisi saptanmamıştır.

Bu çalışmada serum HA düzeyleri her iki grupta da referans değer olan 1-100 ng/ml'nin üzerinde ölçülmüştür. Lindqvist ve arkadaşlarının<sup>14</sup> yaptığı çalışmada da yenidoğan döneminde

serum HA düzeyi daha yüksek saptanmıştır ve düzeyler, bizim çalışmamızda olduğu gibi, gebelik haftası veya doğum ağırlığı ile korelasyon göstermemiştir.

Aktif vaskülitli hastaların serum HA düzeyleri yüksek saptanmıştır ve hastalık aktivitesinin ve doku zedelenmesi miktarının göstergesi olarak kabul edilmiştir<sup>15</sup>. Rosenbaum ve arkadaşlarının çalışmasında<sup>16</sup> akciğere radyasyon uygulandıktan sonra HA düzeyleri ölçülmüş ve bu düzeylerin enflamasyonun göstergesi olduğu belirtilmiştir. Ancak çalışmanın sonunda bu düzeylerin radyasyon pnömonisini öngörmede kullanılamayacağı bildirilmiştir<sup>16</sup>. Başka bir çalışmada pulmoner fibrozisi olan hastaların bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısında bakılan HA düzeyleri yüksek saptanırken, serum düzeyleri sağlıklı bireylerden farklı saptanmamıştır<sup>17</sup>. Kropf ve arkadaşları<sup>18</sup> ağır erişkin tipi RDS'si olan hastaların ekstrakorporeal karbondioksit temizleyen bir cihaz ile tedavisi sırasında serum HA düzeylerini ölçmüş ve tedaviye cevap veren hastaların serum HA düzeylerinde düşüş saptamıştır. Çalışmanın sonunda erişkin tipi RDS'si olan hastalarda serum HA düzeylerinin prognozu belirlemede değerli

olabileceği bildirilmiştir<sup>18</sup>. Çeşitli çalışmalarda kronik akciğer hastalığı olan vakaların BAL sıvısında yüksek HA düzeyleri saptanmıştır<sup>4-6</sup>. Ancak bu çalışmada RDS ve BPD'si olan bebekler ile kontrol grubu arasında HA düzeyleri açısından fark saptanmamıştır. Bu bulgunun, serum HA düzeylerinin akciğer dokusunda artan HA düzeylerini yansıtmamasına bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışmada, RDS'li veya BPD'li vakalarda serum HA düzeyleri değişmemiştir. Bu nedenle serum HA düzeylerinin BPD tanısını öngörmede kullanılmayacağını düşünmekteyiz.

#### KAYNAKLAR

1. Johnsson H, Eriksson L, Gerdin B, Hallgren R, Sedin G. Hyaluronan in the human neonatal lung: association with gestational age and other perinatal factors. *Biol Neonate* 2003; 84: 194-201.
2. Hallgren R, Samuelsson T, Laurent TC, Modig J. Accumulation of hyaluronan (hyaluronic acid) in the lung in adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 682-687.
3. Juul SE, Kinsella MG, Jackson JC, Truog WE, Standaert TA, Hodson WA. Changes in hyaluronan deposition during early respiratory distress syndrome in premature monkeys. *Pediatr Res* 1994; 35: 238-243.
4. Riise GC, Ahlstedt S, Larsson S, et al. Bronchial inflammation in chronic bronchitis assessed by measurement of cell products in bronchial lavage fluid. *Thorax* 1995; 50: 360-365.
5. Ronchetti R, Midulla F, Sandstrom T, et al. Bronchoalveolar lavage in children with chronic diffuse parenchymal lung disease. *Pediatr Pulmonol* 1999; 27: 395-402.
6. Cantin AM, Larivee P, Martel M, Begin R. Hyaluronan (hyaluronic acid) in lung lavage of asbestos-exposed humans and sheep. *Lung* 1992; 170: 211-220.
7. Kotecha S, Wangoo A, Silverman M, Shaw RJ. Increase in the concentration of transforming growth factor beta-1 in bronchoalveolar lavage fluid before development of chronic lung disease of prematurity. *J Pediatr* 1996; 128: 464-469.
8. Allen SJ, Sedin EG, Jonzon A, Wells AF, Laurent TC. Lung hyaluronan during development: a quantitative and morphological study. *Am J Physiol* 1991; 260: H1449-H1454.
9. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia and oxidative stress: are we closer to an understanding of the pathogenesis of BPD? *Acta Paediatr* 1997; 86: 1277-1282.
10. Johnsson H, Eriksson L, Jonzon A, Laurent TC, Sedin G. Lung hyaluronan and water content in preterm and rabbit pups exposed to oxygen or air. *Pediatr Res* 1998; 44: 716-722.
11. Rodriguez RJ, Martin RJ, Fanaroff AA. The respiratory distress syndrome and its management. In: Fanaroff AA, Martin RJ (eds). *Neonatal Perinatal Medicine Disease of the Fetus and Infant* (7th ed). St Louis: Mosby, 2002: 1001-1011.
12. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1723-1729.
13. Johnsson H, Eriksson L, Sedin G. Antenatal beta-methasone administration decreases the lung hyaluronan concentration in preterm rabbit pups. *Pediatr Res* 2001; 49: 566-571.
14. Lindqvist U, Laurent TC. Serum hyaluronan and aminoterminal propeptide of type III procollagen: variation with age. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 613-621.
15. West DC, Yaqoob M. Serum hyaluronan levels follow disease activity in vasculitis. *Clin Nephrol* 1997; 48: 9-15.
16. Rosenbaum D, Peric S, Holecsek M, Ward He. Hyaluronan in radiation-induced lung disease in the rat. *Radiat Res* 1997; 147: 585-591.
17. Milman N, Kristensen MS, Bentsen K. Hyaluronan and procollagen type III aminoterminal peptide in serum and bronchoalveolar lavage fluid from patients with pulmonary fibrosis. *APMIS* 1995; 103: 749-754.
18. Kropf J, Grobe E, Knoch M, Lammers M, Gressner AM, Lennartz H. The prognostic value of extracellular matrix component concentrations in serum during treatment of adult respiratory distress syndrome with extracorporeal CO<sub>2</sub> removal. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1991; 29: 805-812.