

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**DENEYSEL SEPSİSTE BETAİN VE
PREDNİZOLONUN İMMÜNOMODÜLATÖR ETKİSİ**

Dr. Murat PEKEL

**Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ESKİŞEHİR
2007**

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DENEYSEL SEPSİSTE BETAİN VE
PREDNİZOLONUN İMMÜNOMODÜLATÖR ETKİSİ

Dr. Murat PEKEL

Genel Cerrahi Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ercüment PAŞAOĞLU

ESKİŞEHİR
2007

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

Dr. Murat PEKEL'e ait "Deneysel Sepsiste Betain ve Prednizolonun İmmünomodülatör Etkisi" adlı çalışma jürimiz tarafından Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Ercüment PAŞAOĞLU Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye	Prof.Dr. Tarık ÇAĞA Genel Cerrahi Anabilim Dalı
Üye	Prof.Dr. Adnan ŞAHİN Genel Cerrahi Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun
.....Tarih ve Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özcan BÖR
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarıma; tezimde danışmanlığımyı yapan hocam Prof.Dr.E.PAŐAÖĐLU'na, tezimde yardımları olan Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Güngör KANBAK'a, Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Yard.Doç.Dr.Cengiz BAL'a, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ruhi UYAR'a teşekkürlerimi sunarım. Klinikte birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma ve tüm çalışanlara teşekkür ederim.

ÖZET

Pekel,M. Deneysel sepsiste betain ve prednizolonun immünomodülatör etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi,Eskişehir,2007. Betain ve prednizolonun sepsisteki nitrik oksit düzeyi üzerine etkilerini araştırmak amacıyla 40 adet Sprague-Dawley cinsi albino rat kullanıldı. Deney hayvanları herbiri 8'er adet rattan oluşan kontrol (K), sepsis-laparotomi (sham), betain (B), prednizolon (P), prednizolon ve betainin (P+B) birlikte kullanıldığı gruplar olmak üzere beş gruba ayrıldı. Postoperatif 24 saat süreyle ratlar takibe alındı. Sepsis modeli oluşturulmak üzere tüm gruplara çekal ligasyon ve perforasyon yapıldı. Sepsis modeli oluşturulan ratlara 24 saat sonra rektal yoldan ateş ölçümü ve relaparotomi uygulandı. Serum nitrik oksit ve lökosit düzeyleri için intrakardiyak kan, dokuda nitrik oksit ve myeloperoksidaz düzeyi için de karaciğerden doku örneği alındı. Sepsis modeli oluşturulduktan sonra yapılan hematolojik ve biyokimyasal incelemeler sonucunda prednizolon olmaksızın betainin sepsiste daha yararlı ve etkili olduğunu saptadık.

Anahtar kelimeler: betain, prednizolon, sepsis, nitrik oksit.

Destekleyen kurum: T.İ.C.A.M.

ABSTRACT

Pekel,M. Immunomodulatory effects of betaine and prednisolone in experimental sepsis model. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Department of General Surgery,Eskişehir,2007. Our aim in this study was to research of betaine and prednisolone on the level of nitric oxide in sepsis. Fourty Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups, each consisting of 8 rats, including control group, sepsis and laparotomy (sham) group, betaine treatment group (B), prednisolone group (P) and both prednisolone and betaine treatment group (P+B). Experimental sepsis was induced by caecal ligation and perforation in all rats. Twenty-four hours after the operation, rectal temperature of each animal was assessed and all underwent relaparotomy. Nitric oxide and leukocyte levels of blood, nitric oxide and myeloperoxidase levels of tissue, respectively, obtained from heart and liver, were studied. As a result, according to hematologic and biochemical assessments, we concluded that betaine administration without prednisolone is more useful and effective in decreasing susceptibility to sepsis.

Key Words: betaine, prednisolone, sepsis, nitric oxide

Supported by : T.İ.C.A.M.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sepsis	3
2.1.1. Sepsis Tanımlar	3
2.1.2. Etiyoloji	5
2.1.3. Epidemiyoloji	6
2.1.4. Fizyopatoloji	6
2.1.5. Klinik belirti ve bulgular	9
2.1.6. Prognoz	10
2.1.7. Tedavi	11
2.2. Nitrik oksit(NO)	16
2.2.1. NO tanımı ve tarihçesi	16
2.2.2. NO biyokimyası ve özellikleri	17
2.2.3. NO sentezi ve NO sentaz izoformları	17
2.2.4. NO'nun etki mekanizması	17
2.2.5. NO'nun patofizyolojik olaylardaki rolü	18
2.3. Betain	18
2.3.1. Betainin tanımı	18
2.3.2. Betain sentezi	19
2.3.3. Betain metabolizması	20
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
3.1. Gereçler	21
3.1.1. Deney hayvanları	21
3.2. Yöntemler	21
3.2.1. Sepsis oluşturma protokolü	21
3.2.2. Maddelerin uygulanması	22
3.2.3. Kan ve doku örneklerinin elde edilmesi	22
3.2.4.Karaciğer ve serum NO düzeylerinin belirlenmesi	22
3.2.5. Karaciğer MPO aktivitesi ölçümü	23
3.3. İstatistiksel çalışmalar	23
4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ	35
KAYNAKLAR	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

ARDS	Akut Respiratuar Distres Sendromu
ATP	Adenozin Trifosfat
B6	Vitamin B6
BH4	Tetrahidrobiopterin
CA	Amoksisilin+Klavulanik Asid
CBS	Sistation Beta Sentaz
CH3-THF	5-Metil Tetrahidrofolat
cGMP	Guanozin Monofosfat
cNOS	Yapısal Nitrik Oksit Sentaz
CRP	C-Reaktif Protein
ÇLP	Çekal Ligasyon ve Perforasyon
DİK	Dissemine İntravasküler Koagülasyon
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EDRF	Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FMN	Flavin Dinükleotid
GM-CSF	Granülosit-Monosit Koloni Stimülan Faktör
IL-1,2,6,8,10,12	İnterlökin-1,2,6,8,10,12
IL-1Ra	İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti
iNOS	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
LBP	Lipopolisakkarit Bağlayıcı Protein
LPS	Lipopolisakkarit
MODS	Multipl Organ Disfonksiyonu Sendromu
MPO	Myeloperoksidaz
MRSA	Metisiline Dirençli Stafilokokkus Aureus
MS	Metionin Sentaz
MTHFR	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
NAD	Nikotin Adenin Dinükleotid
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
PAF	Platelet Aktive Edici Faktör
PDFG	Trombositten Açığa Çıkan Büyüme Faktörü
PEEP	Pozitif Ekspiryum Sonu Basınç
PG I2	Prostaglandin I2
SA	Sulbaktam+Ampisilin
SAM	S-Adenozil Metiyonin
SİYS	Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu
s-TNF α	Çözünebilir Tümör Nekroz Faktör Reseptörü
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör-Alfa
VCAM	Damar Hücresi Adezyon Molekülü

ŞEKİLLER

Sayfa

Şekil 2.1. Nitrik oksitin NOS enzimi etkisiyle L-arjinin aminoasidinden sentezlenmesi	16
Şekil 2.2. Betain ve metionin döngüsünde transmetilasyon	19
Şekil 4.1. Gruplar arasındaki serum lökosit değerlerinin karşılaştırılması	24
Şekil 4.2. Gruplar arasındaki ateş değerlerinin karşılaştırılması	25
Şekil 4.3. Gruplar arasındaki kan NO değerlerinin karşılaştırılması	26
Şekil 4.4. Gruplar arasındaki karaciğer NO değerlerinin karşılaştırılması	27
Şekil 4.5. Gruplar arasındaki karaciğer MPO değerlerinin karşılaştırılması	28

TABLULAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler	7
Tablo 2.2. Sepsiste en sık görülen klinik belirti ve bulgular	9
Tablo 2.3. Hastane dışı sepsis kaynakları	13
Tablo 2.4. Hastane içi sepsis kaynakları	14
Tablo 4.1. Lökosit değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması	24
Tablo 4.2. Ateş değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması	25
Tablo 4.3. Kan NO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması	26
Tablo 4.4. Karaciğer NO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması	27
Tablo 4.5. Karaciğer MPO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması	28

1.GİRİŞ

Sepsis, enfeksiyon ve inflamasyona olan sistemik bir yanıttır. Sepsis ve sonucunda gelişen sepsis sendromu, septik şok, yetişkin respiratuar distres sendromu ve multipl organ yetmezliği sendromu gibi antiteler agresif cerrahi tedavi, özgül antibiyotik tedavisi ve diğer farmakolojik ajanların kullanılmasına rağmen halen yoğun bakım ünitelerindeki mortalitenin en önemli sebebini oluşturmaktadır. Sepsis ve septik şokta mortalite % 30-70 arasında değişmektedir (1).

İnflamasyon, inflamatuvar bir stimulusa cevap olarak elde edilen dinamik olaylar zinciridir. İnflamasyon alanında vazodilatasyonu takiben kan akımı değişiklikleri, damar permeabilite artışı, ödem ve lokal lökosit birikimi oluşur. Birbirini takip eden bu olayların gelişiminden çeşitli mediatörler sorumludur. İnflamasyonda mediatör çağı 1927 yılında Thomas Lewis' in, histaminin "üçlü cevap" olarak bilinen etkisini tanımlamasıyla başlamıştır (2).

Histamin, inflamasyonda rol oynadığı gösterilen ilk mediatörlerden biri olmasına karşın, bu olayda çok sayıda mediatörün katkısının olduğu daha sonra gösterilmiştir. Bradikinin, P maddesi, 5-Hidroksitriptamin, prostoglandinler, lökotrienler, PAF, kompleman sistemi ürünleri ve nitrik oksit bunlardan başlıcalarıdır (2).

NO, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L-Arjinin' den sentezlenen yarı ömrü kısa, potent, serbest radikal yapısında bir moleküldür (3,4). Vasküler tonusun ve platelet fonksiyonlarının düzenlenmesi ile inflamasyona immünolojik yanıt, otonomik tonus ve duyu iletilsinin regülasyonu gibi birçok fizyolojik olayda rol oynarken, aynı zamanda önemli bir nörotransmitter-nöromodülatördür (5).

Farklı ajanların uyarısı ile monositler, mast hücreleri, makrofajlar, Kupffer hücreleri ve nötrofiller NO sentezleme yeteneğine sahip olurlar(2).

İndüklenebilir NOS (iNOS) aktivitesi daha çok L-Arjinin analogları tarafından inhibe edilmektedir. Yapısal NOS (cNOS) aktivitesi glukokortikoidlerden etkilenmezken, iNOS aktivitesi glukokortikoidlerce inhibe edilir (6,7).

NO düşük konsantrasyonda hücre içi ve hücreler arası haberci görevini görür. Yüksek konsantrasyonda ise sitotoksik ve sitostatik mitokondrial solunumu inhibe ederek DNA harabiyetine yol açar. NO ayrıca serbest oksijen radikalleri ile reaksiyona girerek dokular için zararlı bileşiklerin oluşumuna neden olur (8).

Makrofajlardan NO sentezinin immünolojik indüksiyonu; bakteri, protozoa ve tümör hücrelerine karşı gelişen savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar. Buna karşın sepsis esnasında oluşan aşırı NO üretimi ciddi dolaşımsal komplikasyonlara neden olur ve standart NO sentaz inhibitörleri de sepsis tedavisinde yeterli olamayabilir (9). Bu çalışmada; betain ve steroidlerin sepsiste NO düzeyi üzerine olan etkisini araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

2.1.1.Tanımlar

Sepsis, yıllar boyunca tıp dünyasının tedavisi güç ve mortalitesi yüksek sorunlarının başında yer almıştır. Son yıllarda, organ destek sistemlerinde gelişen teknolojiye ve sepsis fizyopatolojisinin daha iyi anlaşılmasına rağmen, yoğun bakım ünitelerindeki (YBÜ) hastalarda önde gelen mortalite nedeni olmaya devam etmektedir. Günümüzde sepsis ve septik şoka bağlı mortalite %30-70 arasında değişmektedir. Özellikle şok belirtilerinin tabloya eklendiği durumlarda, en iyi merkezlerde bile mortalite halen çok yüksektir (1).

Yunan dilinde “pislenme” anlamına gelen sepsis ve septik şok konusundaki terminolojiye açıklık getirilmesi için 1992 yılında “American College of Chest Physicians” ve “Society of Critical Care Medicine” bir konsensus toplantısı gerçekleştirmiş ve sepsis konusunda yeni, anlaşılabilir tanımlamalar ve sınıflamalar geliştirmişlerdir. Bu konsensus toplantısının sonuçları Haziran-1992 “Chest” ve “Critical Care Medicine” dergilerinde yayınlanmıştır. Kabul edilen terminolojiye göre tanımlamalar aşağıdaki gibidir (10);

İnfeksiyon: Normal konakta, mikroorganizma invazyonu sonucunda ortaya çıkan inflamatuvar yanıttır.

Bakteriyemi: Kanda canlı bakteri bulunmasıdır. Virüs (viremi), mantar (fungemi), parazit (parazitemi) ve diğer patojenlerin kanda bulunması, benzer şekilde ifade edilmelidir.

Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu: Herhangi bir nedene bağlı olarak gelişen sistemik inflamatuvar yanıt (SİYS) ile birlikte aşağıdaki bulgulardan en az iki veya daha fazlasının bulunması olarak tanımlanır:

- Vücut ısısı > 38 °C veya < 36 °C
- Kalp hızı > 90 vuru/dakika
- Solunum hızı >20/dakika veya PaCO₂ < 32 mmHg
- Lökosit > 12000/mm³ veya < 4000/mm³, > %10 band formasyonu

SiYS, infeksiyon dışında; yanıklar, pankreatit, iskemi, multipl travma, hemorajik şok ve immünolojik nedenli organ hasarları sonucunda da gelişebilmektedir.

Sepsis: İnfeksiyona bağlı gelişen inflamatuvar yanıtla birlikte aşağıdaki bulgulardan en az iki veya daha fazlasının bulunmasıdır:

- Vücut ısısı > 38 °C veya < 36 °C
- Kalp hızı > 90 vuru/dakika
- Solunum hızı >20/dakika veya PaCO₂ < 32 mmHg
- Lökosit > 12000/mm³ veya < 4000/mm³, > %10 band formasyonu

Ağır Sepsis: Sepsis bulguları ile birlikte aşağıdakilerin bulunmasıdır:

- Multipl organ disfonksiyonu (MOD); hipoperfüzyon ve/veya hipotansiyona bağlı
- Hipoksi (PaO₂ < 75 mmHg)
- Oligüri
- Laktik asidoz
- Mental konfüzyon
- Diğer organ yetmezliği bulguları

Septik şok: Yeterli sıvı resüsitasyonuna rağmen hipotansiyonun mevcut olduğu durumdur; sistolik kan basıncının < 90 mmHg olması veya başlangıç değerinin 40 mmHg altına düşmesi söz konusudur.

Erken Septik şok: Bir saatlik yoğun sıvı tedavisine yanıt veren şok durumudur.

Refrakter Septik şok: Bir saatlik yoğun sıvı tedavisine yanıt vermeyen şok durumudur.

Multipl Organ Disfonksiyonu Sendromu (MODS): Herhangi bir destek tedavisi olmadan organ fonksiyonlarının homeostazisini koruyamadıkları durumdur.

2.1.2. Etiyoloji

Sepsis ve septik şok hastanın klinik durumunu yansıtır terimler olup, mikrobiyolojik yönden bir bilgi vermemektedir. Sepsis tablosu; bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitlerden kaynaklanabildiği gibi, ağır travma veya pankreatit gibi noninfeksiyöz olaylarla da gelişebilmektedir(11).

Sepsise neden olan mikroorganizmaların sıklığı, sepsisin hastane içi ya da hastane dışında gelişmiş olmasına göre değişiklik gösterir. Toplumda kazanılmış sepsis olgularında en sık rastlanan etken mikroorganizmalar; E.coli, S.Pneumoniae ve S.aureus'tur. Hastane içinde gelişen sepsise neden olan mikroorganizmalar ise yıllara göre bazı değişiklikler göstermiştir. Antibiyotiklerin kullanıma girmesi ile gram pozitif bakterilerin neden olduğu hastalıklar tedavi edilebilir hale gelmiş ve gram negatif bakteriler gittikçe artan oranda (olguların %50'sinden fazlasında) sepsis etkeni olarak izole edilmeye başlanmıştır (12).

Gram negatif bakteriyel sepsislerde en sık etkenler, sıklık sırasına göre; E.coli, Enterobacter, Pseudomonas, Proteus, Acinetobacter ve Klebsiella türleri ile diğer nadir gram negatif bakterilerdir. Gram pozitif bakteriyel sepsislerde ise; koagülaz negatif stafilokoklar, S.aureus ve enterokok türleri en sık etken olarak izole edilmektedir (12).

Bütün sepsis olgularının % 5-15'inden anaeroblar sorumludur. En sık izole edilen etken Bacteroides fragilis ve fusobacterium türleridir (12).

Ayrıca son yıllarda sepsis olgularının yaklaşık % 5'i başta Kandida türleri olmak üzere mantarlarla gelişmektedir. Hastanede sepsis gelişen hastaların % 20'sinde ise polimikrobiyal sepsis saptanmaktadır (13).

2.1.3. Epidemiyoloji

Sepsis, septik şok ve organ yetmezliği gibi sepsis ile ilgili klinik tabloların gerçek insidansını vermek ülkemiz için olduğu gibi diğer ülkeler için de zordur. Bunda klinik tablonun tanımında görüş birliğinin olmamasının yanında, hastalığın bildirimi zorunlu bir hastalık olmamasının da rolü büyüktür. Buna rağmen Amerika, Avrupa ve diğer ülkelerde sepsis görülme sıklığında son yıllarda önemli artışlar olduğu dikkat çekmektedir. A.B.D.'de yılda 70000-300000 sepsis olgusu görüldüğü ve 30000-100000 olgunun kaybedildiği belirtilmektedir. Hollanda'da bir üniversite hastanesinde yapılan çalışmada, hastaneye yatırılan her 1000 hastanın 13,6'sında sepsis sendromu gözlenmiştir (12). Ülkemizde sepsisle ilgili en geniş çalışma Hacettepe Üniversitesi'nde yapılmıştır. 1983-1989 yılları arasındaki 7 yıllık sürede gram negatif bakteriyemi olguları değerlendirilmiş, yatan hastalar arasında sepsis insidansı %0,42 ve mortalite ise % 45 olarak bulunmuştur (14).

2.1.4.Fizyopatoloji

Sepsisteki fizyopatolojik olaylar oldukça karmaşıktır. Bakterilerin hücre duvarında yer alan birçok antijenik yapılar ve toksinler, dolaşımdaki mononükleer fagositler, endotel hücreleri ve diğer hücrelerden birçok güçlü mediyatörlerin salınımını başlatırlar. Bunların en önemlileri; tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlökin -1, 2 , 6 ve 8 (IL-1, IL-2 , IL-6 ve IL-8) ve trombosit aktive eden faktör (PAF)'dür (15,16,17). Sepsiste araşidonik asit metabolitleri de önemli rol oynar. Siklooksijenaz yolla prostoglandinler ve tromboksan A2, lipooksijenaz yolla ise lökotrienler açığa çıkar. Endotoksin ve TNF, IL-1 gibi mediyatörler araşidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını ve sentezini aktive eder. Tromboksan A2 kuvvetli vazokonstrüktör, prostoglandinler ise vazodilatör etkiye sahiptir. Araşidonik asit metabolitleri; ateş, taşikardi, takipne, ventilasyon-perfüzyon bozukluğu ve laktik asidoz oluşumunda rol alırlar (18). IL-1 ve IL-6, T hücrelerini aktive eder. Gama interferon (IFN- γ),IL-2, IL-4 ve granülosit-monosit koloni stimule eden faktör (GM-CSF) oluşur. Bu esnada koagülasyon kaskadı ve kompleman sistemi

de aktive olur (15,16,19). İnfeksiyona sistemik cevap bu salınan mediyatörler tarafından oluşturulur. Bu mediyatörlerin bir kısmı proinflamatuvar (TNF, IL-1, IL-8), bir kısmı ise antiinflamatuvar(IL-4, IL-10) özelliğe sahiptir. Sepsis patogenezinde rol oynadığı bilinen proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinler. (CRP: C-reaktif protein, ICAM: Hücre İçi Adezyon Molekülü, IFN- γ : İnterferon- γ , IL-1Ra: İnterlökin-1 Reseptör Antagonisti, LBP: Lipopolisakkarid Bağlayan Protein, PAF: Trombosit Aktive Eden Faktör, PDGF: Trombositten Açığa Çıkan Büyüme Faktörü, sTNFr: Çözünebilir TNF Reseptör, TGF- β : Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β , TNF: Tümör Nekroz Faktörü, VCAM: Damar Hücresi Adezyon Molekülü)

Konak Hücre	Proinflamatuvar mediyatörler	Düzenleyici mediyatörler	Antiinflamatuvar mediyatörler
Monosit/makrofaj	TNF- α , IL-1, IL-8, IFN- γ , lökotrienler, PAF, NO	IL-6, IL-12	IL-1Ra sTNFr TGF- β
Nötrofiller	İntegrin ekspresyonu, süperoksit, TNF- α , IL-1		Defensinler
Lenfositler	IFN- γ , TNF- α	IL-12	IL-4, IL-10
Endotel hücresi	Sellektin, VCAM, ICAM, NO, doku faktörü		
Trombositler	Serotonin, prostonidler	PDGF	
Plazma komponentleri	Koagulasyon kaskadı, kompleman aktivasyonu, bradikinin	CRP, LBP	

Normalde sitokin cevabı belli bir düzen içerisinde düzenlenir. Bu düzenin bozulmasını proinflamatuvar reaksiyon veya kompensatuvar antiinflamatuvar reaksiyon takip eder. Bu reaksiyonların sonucu olarak da sepsis klinik tablosu ortaya çıkar (17,20). TNF ve IL-1'in birçok biyolojik etkileri ortak olup sinerjistik etki gösterirler. Sepsiste; ateş, hipotansiyon ve

şok patogenezinde rol oynayan en önemli sitokinlerdir. IL-6 ve IL-10; TNF sentezini önler, akut faz reaktanlarının ve immünglobülinlerin etkisini artırır, T-lenfositlerinin ve makrofajların fonksiyonlarını ise inhibe eder. Sitokinler, bu özellikleri ile sepsiste inflamasyonu düzenleyici ve antiinflamatuvar rol oynarlar (18).

Etkisi en iyi bilinen bakteriyel antijen endotoksindir. Endotoksin mononükleer fagositleri, endotel hücrelerini ve diğer hücreleri de aktive eder. Bu hücrelerle beraber koagülasyon kaskadı ve kompleman sistemi de aktive olur (17,19,21). Sepsiste hedef organ damar endotelidir ve hemen hemen bütün mediyatörler damarlar üzerine etkilidir. Endotoksin, TNF-alfa, IL-1, PAF, lökotrienler, tromboksan A2 ve nitrik oksit (NO) endotel permeabilitesini artırır. Kompleman sisteminin aktivasyonu da endotel hasarı yapar. Komplemanın aktivasyonu, damar permeabilitesini direkt veya nötrofilleri aktive ederek indirekt yolla bozar. Ayrıca degranülasyon esnasında nötrofillerden açığa çıkan toksik oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler de endotel permeabilitesini artırır. Damar permeabilitesinin artması ve endotel hasarı, ekstrasvazasyon ve mikrotrombüslerin oluşumunu kolaylaştırır. Bir anatomik yerde yeterli endotel hasarı oluşunca, orada organ perfüzyonu bozulur ve organ yetmezliği gelişir. Eğer birçok yerde endotel hasarı oluşursa multiorgan yetmezliği ile sonuçlanır (15,16,18).

Sepsiste gelişen en önemli fizyopatolojik olaylardan biri de septik şoktur. Septik şok en fazla gram negatif bakteriyel sepsislerde görülür. Benzer klinik sendrom gram pozitif bakteriyel, mantar, mikobakteriyel, riketsia ve protozoar infeksiyonlarda da görülebilir(15).

Sepsiste açığa çıkan mediyatörlerin bir çoğu vazoregülatördür. Bunlar; PGI2, tromboksan A2, histamin (kompleman aktivasyonunu takiben mast hücrelerinden salınır), serotonin (aktive olan trombositlerden salınır) ve NO'dur. NO'nun septik şoka eşlik eden vazodilatasyonda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Endotoksin etkisiyle damar endotel ve düz kaslarında NO sentaz enziminin indüklendiği gösterilmiştir. Vazoaktif mediyatörlerin etkisi ile sistemik damar direnci azalır. Bu da dokulara giden kan akımının azalmasına neden olur. Ayrıca sepsiste miyokardı deprese

eden bir madde “myocardial depressant substance” izole edilmiştir. Bu madde, ventriküler dilatasyon, miyokarda depresyon ve sol ventikül ejeksiyon fraksiyonunda azalmaya neden olur (15,22,23). Diğer mediyatörler de kalbi etkiler; TNF- α miyokardı deprese eder, PAF kalp üzerine negatif inotropik etkilidir ve arteriyel kan basıncını düşürür. Lökotrienler C4, D4 ve E4 koroner ve miyokard kan akımını azaltır. IL-2 de kardiovasküler fonksiyon bozukluğuna yol açar. Sepsiste salınan bu mediyatörlerin etkisi ile hipotansiyon ve şok gelişir (19,24,25).

Sepsiste birçok organlarda patolojik değişiklikler görülebilir. En fazla organ hasarı akciğerler, karaciğer, böbrekler, kalp ve barsaklarda görülür. Bu değişiklikler, bakteriyel invazyon, bakteriyel toksinler ve enzimlerin direkt etkisi, mediyatörler aracılığı ile oluşan etki, perfüzyon bozukluğu ve DİK (Dissemine İntravasküler Koagülasyon) sonucu gelişen patolojik değişikliklerdir (26).

2.1.5. Klinik Belirti ve Bulgular

Sepsiste klinik belirti ve bulgularla komplikasyonlar kolaylıkla ayrılamaz. Tablo 2.2.'de sepsiste en sık görülen klinik belirti ve bulgular görülmektedir (17,27,28).

Tablo 2.2. Sepsiste en sık görülen klinik belirti ve bulgular.

Belirti ve Bulgu	Komplikasyon
Ateş veya hipotermi	Hipotansiyon
Üşüme ve titreme	Kanama
Hiperventilasyon	Trombositopeni
Taşikardi	Lökopeni
Deri lezyonları	Organ yetmezliği
Şuur değişikliği	Akciğer: ARDS
	Böbrek: Oligüri, anüri
	Karaciğer: Sarılık
	Kalp: Konjestif yetmezlik

Hipotansiyon, hipoksi, oligüri, kanama, asidoz ve sarılık başlıca bulgular olabilir. Ateş ve titreme tipiktir. Hiperventilasyon, sepsisin en erken belirtisi olabilir. Sonuçta respiratuar alkaloz gelişir. Sepsiste respiratuar alkaloz en erken ortaya çıkan metabolik değişikliktir (29).

Sepsiste önemli bir bulgu da; santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın hastada mental değişikliklerin olmasıdır. Klinik tablo bir ensefalopatidir. Sıklıkla konfüzyon, letarji, oryantasyon bozukluğu ve ajitasyon şeklinde ortaya çıkar (29,30).

Bazı hastalarda şok tablosu görülür. Septik şokta; vazodilatasyon ve vasküler permeabilitede artış sonucu dolaşan kan hacmi azalır (ılık şok). Daha sonra derin solukluk, vazokonstrüksiyon ve anüri ile karakterize soğuk şok tablosu gelişir. Bu fazda vital organlara yeterli perfüzyon sağlanamamaktadır. Solunum yetmezliği; pulmoner kompliansta azalma, irreversibl hipoksi ile karakterizedir ve şok akciğeri denir. Dispne, takipne ve progresif respiratuar distress (ARDS) görülür. Sepsis en sık akut DİK nedenidir. Trombositopeni, intravasküler trombin oluşumu, fibrin birikimi, pıhtılaşma faktörlerinde azalma ve fibrinoliz ile karakterizedir (29,30,31,32).

2.1.6. Prognoz

Değişik çalışmalarda sepsiste ölüm oranı %20-80 arasında bildirilmektedir. Bu çalışmalarda farklı ölüm oranlarının bildirilmesi çalışma gruplarının heterojen olmasına bağlıdır. Gram negatif bakteriyel sepsislerde %45-50, gram pozitif bakteriyel sepsislerde %20-30, anaerob sepsislerde ise %15-30 oranındadır(12).

Şok, DİK, ARDS ve diğer organ yetmezliği komplikasyonları geliştiğinde ölüm oranı %70-90 arasında değişmektedir. Etkenlere göre de ölüm oranı farklılık gösterir. En yüksek ölüm oranı P.aeruginosa sepsislerinde bildirilmektedir (29).

Sepsiste prognozu etkileyen faktörler şöyle özetlenebilir (12);

1. Altta yatan hastalıklar (nütropeni, diyabet, alkolizm, böbrek yetmezliği...)
2. İleri yaş

3. Tedavi başladığında infeksiyona bağlı komplikasyonların gelişmiş olması
4. Bakteriyeminin şiddeti (polimikrobiyal bakteriyemi)
5. İnfeksiyon kaynağı
6. İnfeksiyonun geliştiği yer (nazokomiyal)
7. Hastanın yattığı servis (yoğun bakım ünitesi)
8. Antibiyotik tedavisinin uygunluğu
9. Tedavinin başlamasına kadar geçen zaman

2.1.7. Tedavi

Sepsiste tedavinin başarısı; tanının erken konulması, uygun antibiyotik tedavisi ve destek tedavisinin hemen başlanması ile altta yatan hastalığın ortadan kaldırılması veya düzeltilmesine bağlıdır.

Tedaviyi aşağıdaki başlıklar altında toplayabiliriz :

- a. Destekleyici tedavi
- b. Antimikrobiyal tedavi
- c. Yeni tedavi yaklaşımları
- d. Glukokortikoid tedavisi

a. Destekleyici Tedavi: Ağır sepsis ve septik şokta tedavide en önemli nokta hipovoleminin düzeltilmesidir. Hastaya santral venöz basınç (CVP) veya pulmoner wedge (PW) basıncı takibi ile yeterli sıvı verilmelidir. Sıvı tedavisinde birçok solüsyon kullanılabilir. Serum fizyolojik, taze donmuş plazma, albumin ve değişik dekstran preparatları bu amaçla kullanılabilir(12,29,33).

Yeterli sıvı tedavisine rağmen, hastanın kan basıncı düzelmez ise vazopressör ilaçlar kullanılır. Bu amaçla dopamin ve dobutamin tercih edilmelidir. Dopamin, sistolik kan basıncını ve kalp hızını artırır. Dobutaminin etkisi dopamine benzer, fakat kronotropik etkisi daha azdır. Diüretikler septik şokun oligürik ve anürik döneminde kullanılmaktadır. Fakat bu konuda yeterli kontrollü klinik çalışma yoktur ve diüretiklerin kullanımı tartışmalıdır (12).

DİK'e bağılı kanamalarda yerine koyma tedavisi yapılmalıdır. Kanamalarda tam kan transfüzyonu, trombositopeni için trombosit süspansiyonu infüzyonu, hipofibrinojenemi için kriyopresipitat infüzyonu ve koagülasyon faktörlerini yerine koymak için taze donmuş plazma verilebilir(12,34,35).

Beta endorfin ve opiat antagonisti naloksanın septik şok tedavisinde yararlı etkisi olmadığı gösterilmiştir. Fenotiazin, antihistaminikler, antiinflamatuvar ilaçlar (indometazin, ibuprofen), alfa adrenerjik blokerler ve vazodilatatörler gibi pek çok ilaç deneysel septik şokta denenmiştir. Hiçbiri klinik kullanıma girememiştir. Pentoksifilin, TNF'nin nötrofiller üzerine etkisini inhibe etmektedir ve septik şok tedavisinde kullanımına ilişkin çalışmalar sürmektedir (12).

Dokulara yeterli oksijen iletimi için arteriyel hemoglobin satürasyonu %90'ın üzerinde olmalıdır; bunun için de PaO₂ 55-65 mmHg düzeyinde tutulmalıdır. Siyanotik ve hipoksemik her hastada oksijenoterapi gereklidir(12,18)

ARDS'de önceden %70 civarında olan mortalite oranı, PEEP uygulaması ile %50'lere düşmüştür. Akut dönem atlatılmış ise genellikle hastalarda hiçbir sekel kalmamaktadır. Ancak PEEP tedavisi ile hipoksi önlenese bile, multisistem organ yetmezliği (kalp, böbrek, karaciğer, pankreas vb.) ARDS'de ölümlerin başlıca sebebi olarak bildirilmektedir(12,18).

b. Antimikrobiyal Tedavi: Tedavinin esası, olası infeksiyon odağına yönelik antibiyotiklerin gecikmeksizin, parenteral olarak başlanmasıdır. Antimikrobiyal tedavinin başarılı olabilmesi için destek tedavisinin başarıyla yapılması, predispozan faktörlerin ortadan kaldırılması gerekir. Örneğin; infektif kateter çıkarılmalı, abse varsa drene edilmeli, yabancı cisim varsa çıkarılmalıdır(13).

Ampirik olarak, MRSA (Metisilin rezistan Stafilokokkus Aureus) ve dirençli gram negatif bakterilere karşı etkili vankomisin+aminoglikozid tedavisi uygun bir kombinasyondur. Her iki antibiyotik nefrotoksik olmalarına karşın, kültür sonuçları alınana kadar böbrek fonksiyonları

yakından takip edilerek kullanılmaları gerekir. Nefrotoksisitenin azaltılması amacıyla aminoglikozidler günde tek doz olarak uygulanabilir. Kültür-antibiyoqram sonuçları elde edildikten sonra tedavide modifikasyonlara gidilebilir ve spektrum daraltılabilir (13). Sepsis kaynağına göre olası infeksiyon etkenleri ve ampirik tedavi seçenekleri Tablo 2.3. ve Tablo 2.4.'te sunulmuştur(11).

Tablo 2.3. Hastane Dışı Sepsis Kaynakları. (SA:Sulbaktam+Ampisilin, CA: Amoksisilin+Klavulanik asid)

KLİNİK	PATOJEN	ANTİBİYOTİK
Toksik Şok Sendromu (Vajinal Tampon, Yanık, İnfekte yara)	S.aureus	Nafsilin Sefazolin SA CA
Toksik Şok Sendromu (Sellülit, Solunum Yolu İnfeksiyonu)	Grup A,B,C streptokoklar	Penisilin G Parenteral makrolid, Seftriakson
Sellülit ve Furonkülozis	S.aureus	Nafsilin SA/CA Sefazolin
Septik Abortus	Anaerobik bakteriler <i>B.fragilis</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>C. trachomatis</i>	(SA/CA, Sefoksitin) + Doksisiklin, Klindamisin+ (aminoglikozid, sefotaksim, seftriakson)
Üriner İnfeksiyon	<i>Enterobacteriaceae</i>	2. veya 3. kuşak sefalosporin SA/CA Aminoglikozid Florokinolon
Splenektomize Hasta (Odak yok)	<i>S.pneumoniae</i> <i>H.influenzae</i> <i>N.meningitidis</i>	Sefotaksim, Seftriakson, SA/CA
Bağırsak Perforasyonu veya Pelvik İnfeksiyon	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>B.fragilis</i> Enterokoklar	Sefoksitin, SA/CA, Klindamisin/ Metronidazol + Aminoglikozid

Tablo 2.4. Hastane İçi Sepsis Kaynakları. (SA:Sulbaktam+Ampisilin, CA:Amoksisilin+Klavulanik asid, MRSA: Metisiline Dirençli Stafilokokkus Aureus)

KLİNİK	PATOJEN	ANTİBİYOTİK
Dekübitüs Ülseri	Anaeroplara (<i>B.fragilis</i>), <i>Enterobacteriaceae</i> , S.aureus	SA/ CA+aminoglikozid, Sefoksitin+aminoglikozid, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Postoperatif Cerrahi Alan İnfeksiyonu (GİS ve kadın pelvik bölgesi dışında)	Grup A streptokok, S.aureus, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas spp.</i>	SA/CA/Sulbaktam-sefoperazon+aminoglikozid, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem Siprofloksasin+Klindamisin/metronidazol
Postoperatif Cerrahi Alan İnfeksiyonu (GİS ve kadın pelvik bölgesi)	Yukarıdakilere ek olarak; <i>B.fragilis</i> , enterokoklar, Grup B ve C streptokoklar	Sefoksitin, Klindamisin/Metronidazol+aminoglikozid, SA/CA, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Üriner İnfeksiyon	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P.aeruginosa</i>	Ofloksasin / Siprofloksasin, Amikasin Sulbaktam-Sefoperazon, Tikarsilin-Klavulanat, Piperasilin-Tazobaktam, Karbapenem
Yanık İnfeksiyonu	MRSA, <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Vankomisin/Teikoplanin + (Amikasin+seftazidim) Vankomisin/Teikoplanin + Karbapenem

Tedavi süresi, alınan klinik yanıt ve etkene bağlı olarak değişmekle birlikte genellikle 7-14 gündür. Genel bir kural olarak hastanın ateşi düştükten veya laboratuvar değerleri normale döndükten sonra 3 gün daha antibiyotiklere devam edilir. İstisna olarak febril nötropenik hastalarda en az 14 gün, S.aureus sepsisinde ise en az 21 gün tedavi sürdürülmelidir (13).

c. Yeni Tedavi Yaklaşımları: Bu yaklaşımların temeli bakteri toksinleri ve konakta salınan mediyatörlerin nötralize edilmesi yoluyla sendromun ilerleyişini durdurmak veya yavaşlatmak esasına dayanır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda bakteri toksinleri (endotoksin), TNF, IL-1 gibi inflamatuvar yanıtta rol oynayan sitokinler, nötrofil gibi inflamatuvar hücreler, NO, PAF, Bradikinin gibi inflamatuvar yanıtın çeşitli elemanları hedef olarak alınmaktadır. Sepsiste yeni tedavi yaklaşımları aşağıda özetlenmiştir (12,13,29) :

A. Antiendotoksin Tedavi :

1. Poliklonal antikolar (J5)
2. Monoklonal antikolar (E5, HA-1A)

B. Antisitokin Tedaviler :

1. Anti-TNF antikolar
2. IL-1 reseptör antagonistleri (IL1ra)

C. Nötrofillere Yönelik Tedavi Yaklaşımları :

1. Monoklonal lökosit adezyon kompleks (CD11/18) antikoları
2. Granülosit-monosit koloni stimulan faktör

D. NO sentaz inhibitörleri

Tüm bu yeni tedavi yaklaşımlarına karşın henüz yararı kesin olarak gösterilmiş ve rutin uygulamaya girmiş bir tedavi modalitesi yoktur.

d. Glukokortikoid Tedavisi: Etki mekanizması;

1. Endotoksine bağlı mikrovasküler permeabilite artışı azalır.
2. Lizozom ve hücre membranını stabilize eder.
3. Fosfolipazı inhibe ederek araşidonik asit metabolizmasının lipooksijenaz ve siklooksijenaz yollarının bioaktif lipidlerinin yapımını azaltır.
4. Kompleman aktivasyonunu önler.
5. Oksijen-hemoglobin disosiasyon eğrisini sağa kaydırır.
6. Granülosit agregasyonunu önler.
7. Miyokardiyal performansı artırır. Muhtemelen serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önler.

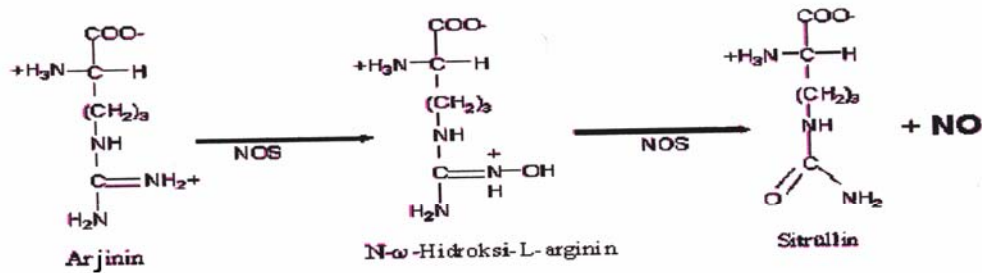
8. Pulmoner venöz spazmın çözülmesini sağlar. Permeabilite defekti de düzeldiğinden pulmoner vasküler kan akımı normalleşir.
9. Trombosit agregasyonunu azaltır.

2.2. Nitrik Oksit

2.2.1. Nitrik Oksitin Tanımı ve Tarihçesi

1980 yılında Furchgott ve Zawadzki' nin, asetilkolinin, endotel hücrelerinden bir faktör salınımına yol açtığını ve bu faktörün düz kasa difüze olarak vazodilatasyona neden olduğunu kanıtlamaları ile yeni ve oldukça geniş bir araştırma sahası açılmış oldu. Bu faktöre endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verildi (36,37,38).

1986-1987 yıllarında Furchgott ve diğer bir araştırmacı L.Ignarro, birbirinden bağımsız olarak EDRF' nin nitrik oksit olabileceğini iddia ettiler. 1987 yılında da Salvador Moncada' nın grubu, NO'ın L-Arjinin aminoasidinden sentezlendiğini ve bu sentezin basamaklarını ortaya koydular (36,37,38). Aynı yıl hem Palmer ve ark., hem de Ignarro ve ark. farklı araştırmaları ile bu faktörün NO olduğunu kanıtladı (36,37).



Şekil 2.1. Nitrik oksitin NOS enzimi etkisiyle L-arjinin aminoasidinden sentezi

2.2.2. Nitrik Oksit Biyokimyası ve Özellikleri

NO; güçlü vazodilatör, önemli bir hücre içi sinyalleme ajanı, atipik bir nörotransmitter, immünolojik sataşmada rol oynayan nonspesifik sitotoksik bir mediatördür. Çevresel bir toksin ve biyolojik bir ulak olarak fonksiyon gören gaz yapısında ilk moleküldür. Düşük konsantrasyonda iken toksik değildir ve önemli fizyolojik işlevlerde rol alır (37,39).

NO'in yarı ömrü oldukça kısadır. Dokudaki yarı ömrü 10-60 saniye kadardır; ancak ortamda doku olmaması ve oksijen varlığında 4 dakikaya kadar uzayabilir. Ancak yine de uygun in vivo ve in vitro koşullarda nitrit ve nitrat birikimi NOS aktivitesinin izlenmesi ve ölçülmesinde kullanılmaktadır (40).

2.2.3. NO Sentezi ve NO Sentaz İzofomları

Aynı anda farklı hücre türlerinde sentezlenen; otokrin veya parakrin mediatör fonksiyonu gören NO, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenmektedir. NOS stereospesifik olarak yarı esansiyel aminoasit olan L-Arjinini substrat olarak kullanmakta ve sonuçta NO ve L-Sitrülin oluşmaktadır. Bu oluşum esnasında moleküler oksijen ile kofaktör olarak, redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiopterin (BH₄)' e ihtiyaç vardır (38,41,42).

Bilinen üç NOS geninde sekiz DNA sekansı olduğu saptanmıştır; sinir ve bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide, uterus) bulunan nöronal NOS (nNOS), immünolojik uyarılarla indüklenen ve hemen hemen tüm çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenebilir NOS (iNOS) ve endotel hücrelerde bulunan endotelyal NOS (eNOS)' tur. nNOS ve eNOS' a birlikte yapısal NOS (cNOS) denir. Endotoksin ve proinflamatuvar sitokinlerin (bazı interleokinler, TNF ve interferon) iNOS' u indükleyerek NO üretimini artırdığı gösterilmiştir (6,8).

2.2.4. Nitrik Oksitin Etki Mekanizması

NO' in birçok etkisi çözünebilir hem içeren guanilat siklaz aktivasyonu ile oluşur. Sonuçta oluşan cGMP, hücre içi serbest kalsiyum seviyelerinde azalmaya neden olan hücre içi olayın tetiklenmesini sağlamaktadır. NO'in biyolojik etkileri hücre içi kalsiyum seviyelerini etkileyen maddeler ile

yakından ilişkilidir. cNOS aktivitesi hücre içi kalsiyum akışına bağlıyken, iNOS aktivitesi için istirahat halinde hücre içindeki kalsiyum miktarı yeterlidir. Serbest oksijen radikali olarak NO oldukça reaktiftir ve birçok madde ile etkileşebilir. NO kanda hemoglobinin hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrate metabolize olur. Kanda nitrat, NO' in esas stabil biyoreaksiyon ürünüdür. Hemoglobin olmayan doku kültüründe esas ürün nitrittir. NO ayrıca proteinlerin ve aminoasitlerin thiol (-SH) grupları ile reaksiyona girer ve sonuçta sabit nitrozothioller oluşabilir (6,8).

2.2.5. Nitrik Oksitin Patofizyolojik Olaylardaki Rolü

Oksidatif stres altında NO' in apoptozisi, sitotoksiteyi, mutagenезisi ve DNA hasarını artırıcı etkisi vardır. Ayrıca NO demir-sülfür içeren enzimlerin fonksiyonunu değiştirir, mitokondrial solunumu bozucu zararlı etkiler gösterir . NO' in süperoksitle reaksiyonu peroksinitrit üzerinden hidroksil ve nitrojen-dioksit radikallerini oluşturur. Oluşan peroksinitrit hücrede nükleer bir enzim olan poli(ADP-riboz) sentazı (PARS) aktive eder. PARS enzimi nikotinamid adenin dinükleotidi substrat olarak kullanır. Sonuçta bu olay ATP tüketimine ve hücrenin ölümüne yol açabilir (43,44,45).

2.3. Betain

2.3.1. Betain Tanımı

Betain; mikroorganizma, bitki ve hayvanlarda bulunan, buğday, midye, şeker pancarı, ıspanak gibi birçok yiyecekte de yer alan bir yapıdır. Betain; trimetil glisin, glisin betain ve lizin olarak bilinir (46-55). Glisin aminoasidinin metil türevidir ($(CH_3)_3 NCH_2 COO^-$) ve 3 kimyasal reaktif metil grubu nedeniyle metilamin yapıdadır (56).

İlk kez 19. yüzyılda şeker pancarı suyunda keşfedilmiş ve sonraları diğer organizmalarda da bulunmuştur (57).

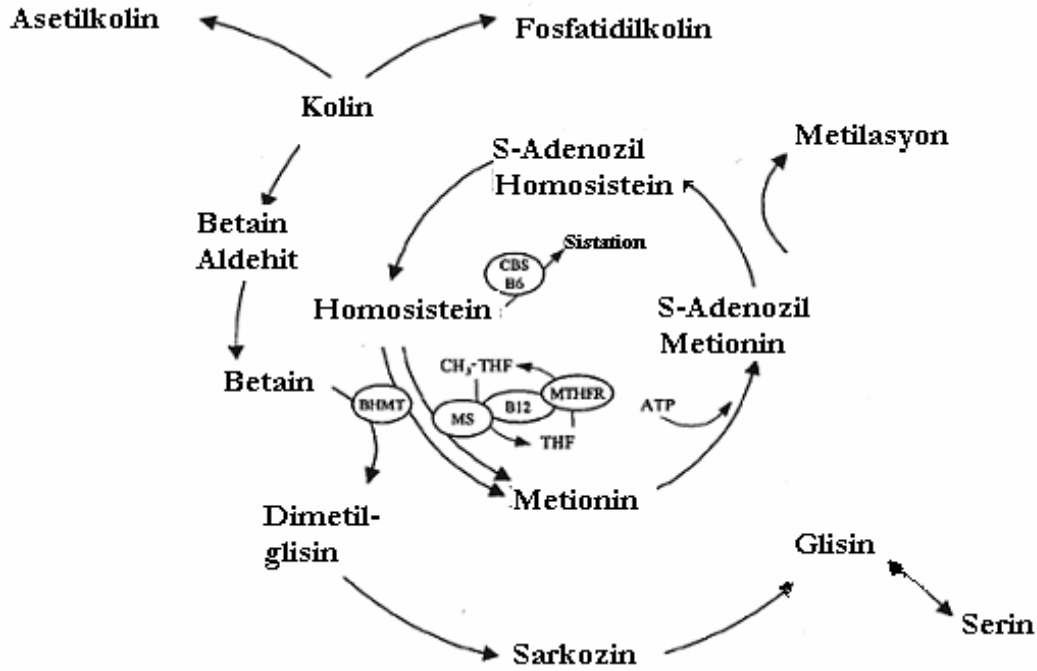
Betainin temel fizyolojik rolü hem bir osmolit, hem de metil donörü olmasıdır. Osmolit olarak; hücre, enzim ve proteinleri çeşitli streslerden korur.

Metil donörü olarak öncelikle karaciğer ve böbrekte birçok kimyasal yolda kullanılmak üzere transmetilasyon yoluyla metil grubu sağlar (57).

Bitki ve mikroorganizmalarda temel rolü, osmotik değişimlere karşı hücreleri korumaktır (58).

2.3.2. Betain Sentezi

Kolinin temel metabolik süreci, karaciğer ve böbrekte irreversibl oksidasyonla betaine dönüşmektir (59-63).



Şekil 2.2. Betain ve metionin döngüsünde transmetilasyon. (B6: Vitamin B6, B12: Vitamin B12 (kobalamin), BHMT: Betain Homosistein Metiltransferaz, CBS: Systation Beta-Sentaz, MS: Metionin Sentaz, THF: Tetrahidrofolat, MTHFR: Metilentetrahidrofolat Redüktaz, CH₃-THF: 5-Metiltetrahidrofolat.

Öncelikle; kolin, kolin dehidrogenaz enzimiyle betain aldehide dönüşür (64). Kolin dehidrogenaz enzimi mitokondride aktivite gösterir (65-67). Ardından betain aldehyd NAD bağımlı betain aldehyd dehidrogenaz enzimiyle hem mitokondri, hem sitozolde betaine dönüşür (68). Kolinin geri kalanı ise asetilkolin ve fosfatidilkolin yapılmak üzere kullanılır (69).

2.3.3. Betain Metabolizması

Betain, temelde karaciğer ve böbrek hücrelerinin mitokondrisinde katabolize olur (70-77). Bu transmetilasyon reaksiyonları, metionin döngüsünde metil grubunun transferini içerir. Homosisteinin metionine dönüşümü; metioninin korunması, homosisteinin detoksifikasyonu ve S-adenozilmetionin (SAM) yapımında önemlidir. SAM; antisteatotik, antiinflamatuvar, antioksidan ve antifibrotik özellikler taşır(78). Homosisteinden methionin oluşumu betainle olur. Hayvan çalışmaları, betainin temel metilasyon ajanı olduğunu göstermiştir (79-83).

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı, Fizyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Tıbbi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratuvarında yapıldı. Çalışma için gerekli olan etik kurul raporu alındı(22.05.2007/231).

3.1. Gereçler

3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 230±30 gram ağırlığında, Sprague-Dawley cinsi albino ratlar kullanıldı. Tüm deney hayvanları Tıbbi Cerrahi Araştırma Merkezi'nden temin edilerek, 12'şer saat aydınlık-karanlık ışıklandırması olan, ısısı 20±2°C ve nemi %45-50 otomatik ayarlanmış odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm ratlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemiyle beslendi ve çeşme suyu verildi.

Ratlar her grupta 8 hayvan olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Gruplar şöyle belirlendi;

- Grup 1 (n=8): Kontrol grubu (K)
- Grup 2 (n=8): Sepsis- laparotomi grubu (S)
- Grup 3 (n=8): Prednizolon grubu (P)
- Grup 4 (n=8): Betain+Prednizolon grubu (P+B)
- Grup 5 (n=8): Betain grubu (B)

3.2. Yöntemler

3.2.1. Sepsis Oluşturma Protokolü

Deney hayvanları 40 mg/kg Ketamin HCL anestezisi uygulanarak sırtüstü pozisyonda, sıcaklığı ayarlanmış diseksiyon tablası üzerine yerleştirildi. Daha sonra karın orta hattın yaklaşık 2,5-3 cm'lik insizyonla laparotomi yapıldı. Çekum; pasaj engellenmeyecek şekilde ileoçekal valvin hemen altından 3/0 ipekle bağlandı çekumun antimezenterik yüzünden 18-G iğne ile 2-3 ayrı lokalizasyondan perfore edildi. Fekal içerik batına yayıldıktan

sonra laparotomi insizyonları 4/0 ipek kullanılarak sürekli dikişlerle kapatıldı. Laparotomi uygulanan hayvanlar ayrı ayrı kafeslere konuldu ve deney süresince yaşatıldı.

3.2.2. Maddelerin Uygulanması

Grup-1 (Kontrol grubu): Hayvanlara sadece laparotomi uygulanarak aynı anda intrakardiyak kan ve karaciğerden doku örneği alındı.

Grup-2 (Sepsis-laparotomi grubu): Çekal ligasyon / perforasyon+ intraperitoneal serum fizyolojik uygulaması ve laparotomiden 24 saat sonra intrakardiyak kan ve karaciğerden doku örneği alındı.

Grup-3 (Prednizolon grubu): Çekal ligasyon/perforasyon + serum fizyolojik içinde intraperitoneal 30 mg/kg prednizolon verildi. Laparotomiden 24 saat sonra intrakardiyak kan ve karaciğerden doku örneği alındı.

Grup-4 (Betain+Prednizolon grubu): Çekal ligasyon/perforasyon + serum fizyolojik içinde intraperitoneal 30 mg/kg prednizolon ve 75 mg betain birlikte verildi. Laparotomiden 24 saat sonra intrakardiyak kan ve karaciğerden doku örneği alındı.

Grup-5 (Betain grubu): Çekal ligasyon/perforasyon + serum fizyolojik içinde intraperitoneal 75 mg betain verildi. Laparotomiden 24 saat sonra intrakardiyak kan ve karaciğerden doku örneği alındı.

3.2.3. Kan ve Doku Örneklerinin Elde Edilmesi

Çekal ligasyon / perforasyonu takiben 24. saatte ratlara tekrar Ketamin HCL anestezisi uygulandı ve anestezi altındaki ratlar dekapitasyon yoluyla kurban edildi. Ölümden hemen önce alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve NO tayini için -70 °C' de saklandı.

Alınan karaciğer dokuları serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra NO ve myeloperoksidaz (MPO) tayini için -70 °C' de saklandı.

3.2.4. Karaciğer ve Serum NO Düzeylerinin Belirlenmesi

Birçok çalışmada, vücutta endojen olarak üretilen NO konsantrasyonu total nitrit ve nitrat cinsinden hesaplanır.Çünkü üretilen NO hızla önce nitrite, sonra da nitrate dönüşür. Deproteinizasyon işlemi ile ortamdan proteinler

uzaklaştırıldıktan sonra nitrit ve nitrat ölçümlerine geçilir. Deproteinizasyon işleminden sonra standartın konsantrasyonundan yararlanılarak ve dilüsyon faktörü de gözönüne alınarak serum örnekleri için NO değerleri mikromol/litre cinsinden, doku örneği için mikromol/ miligram protein olarak hesaplandı (84).

3.2.5.Karaciğer MPO Aktivitesi Ölçümü

Karaciğer dokusundaki myeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü, H₂O₂ varlığında, myeloperoksidazın okside ettiği Guaiacol'un 470 nm'deki absorbans değişimine dayanan Dessler ve arkadaşlarının (85) yöntemi esas alınarak ölçüldü. Sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

3.3.İstatistiksel Çalışmalar

Çalışmada elde edilen tüm veriler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda değerlendirildi. Analizlerde SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 15.0 programı kullanıldı. Değişkenlerin normallik varsayımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Analizlerde parametrik testlerden tek yönlü varyans analizi, çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD ve Tamhane testleri kullanıldı. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

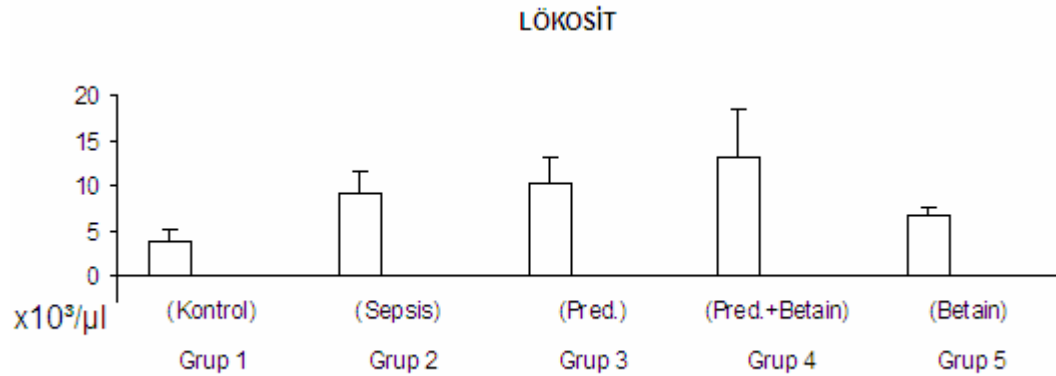
4. BULGULAR

Tablo 4.1. Lökosit değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması.

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Sepsis)	Grup 3 (Pred.)	Grup 4 (Pred.+Betain)	Grup 5 (Betain)
Grup 1 (Kontrol)	—	*	**	***	ns
Grup 2 (Sepsis)	*	—	ns	ns	ns
Grup 3 (Pred.)	**	ns	—	ns	ns
Grup 4 (Pred.+Betain)	***	ns	ns	—	**
Grup 5 (Betain)	ns	ns	ns	**	—

ns: anlamlı değil, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

Lökosit düzeylerine göre Grup 1 ile Grup 2, Grup 3, Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. Grup 2, Grup 3, Grup 4 lökosit düzeylerinin Grup 1'den daha yüksekti. Grup 1 ile Grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 4.1.).



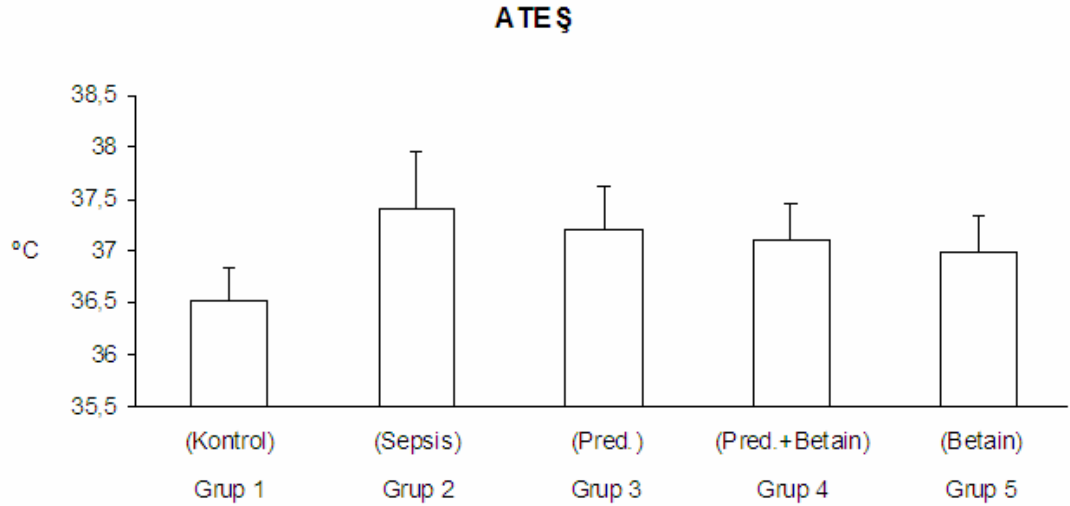
Şekil 4.1. Gruplar arasında serum lökosit düzeylerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.2. Ateş değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması.

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Sepsis)	Grup 3 (Pred.)	Grup 4 (Pred.+Betain)	Grup 5 (Betain)
Grup 1 (Kontrol)	—	**	**	*	ns
Grup 2 (Sepsis)	**	—	ns	ns	ns
Grup 3 (Pred.)	**	ns	—	ns	ns
Grup 4 (Pred.+Betain)	*	ns	ns	—	ns
Grup 5 (Betain)	ns	ns	ns	ns	—

ns: anlamlı değil, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

Ateş düzeylerine göre Grup 1 ile Grup 2, Grup 3, Grup 4 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. Grup 2, Grup 3, Grup 4'ün ateş düzeylerinin Grup 1'den daha yüksek olduğu görüldü. Grup 1 ile Grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Gruplar arasında ateş düzeylerinin karşılaştırılması.

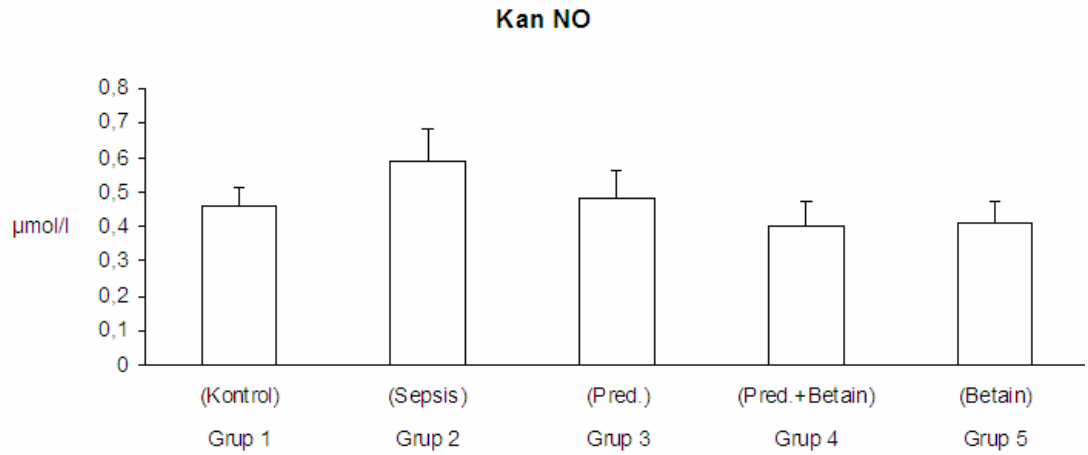
Tablo 4.3. Kan NO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması.

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Sepsis)	Grup 3 (Pred.)	Grup 4 (Pred.+Betain)	Grup 5 (Betain)
Grup 1 (Kontrol)	—	**	ns	ns	ns
Grup 2 (Sepsis)	**	—	*	***	***
Grup 3 (Pred.)	ns	*	—	ns	ns
Grup 4 (Pred.+Betain)	ns	***	ns	—	ns
Grup 5 (Betain)	ns	***	ns	ns	—

ns: anlamlı değil, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

Kan NO düzeylerine göre Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. Grup 2 kan NO düzeyi Grup 1'den daha yüksekti. Grup 1 ile Grup 3, Grup 4, Grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup 2 ile Grup 3, Grup 4, Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. Bu farklılık Grup 4 ve Grup 5'te istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlıydı. Kan NO düzeyleri Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te Grup 2'ye göre daha düşüktü (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Gruplar arasında kan NO düzeylerinin karşılaştırılması.

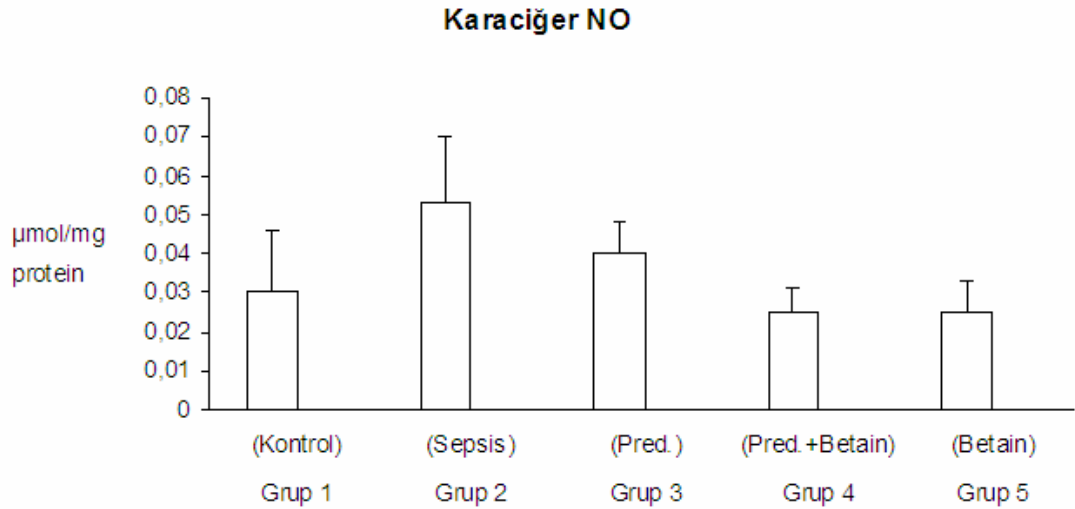
Tablo 4.4. Karaciğer NO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırması.

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Sepsis)	Grup 3 (Pred.)	Grup 4 (Pred.+Betain)	Grup 5 (Betain)
Grup 1 (Kontrol)	—	**	ns	ns	ns
Grup 2 (Sepsis)	**	—	ns	**	**
Grup 3 (Pred.)	ns	ns	—	ns	ns
Grup 4 (Pred.+Betain)	ns	**	ns	—	ns
Grup 5 (Betain)	ns	**	ns	ns	—

ns: anlamlı değil, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

Karaciğer NO düzeylerine göre Grup 1 ile Grup 2 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. Grup 2'nin karaciğer NO düzeyi Grup 1'den daha yüksekti. Grup 1 ile Grup 3, Grup 4 ve Grup 5 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup 2 ile Grup 3, Grup 4, Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. Bu farklılık Grup 4 ve Grup 5'te istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlıydı. Karaciğer NO düzeyleri Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te Grup 2'ye göre daha düşüktü (Şekil 4.4.).



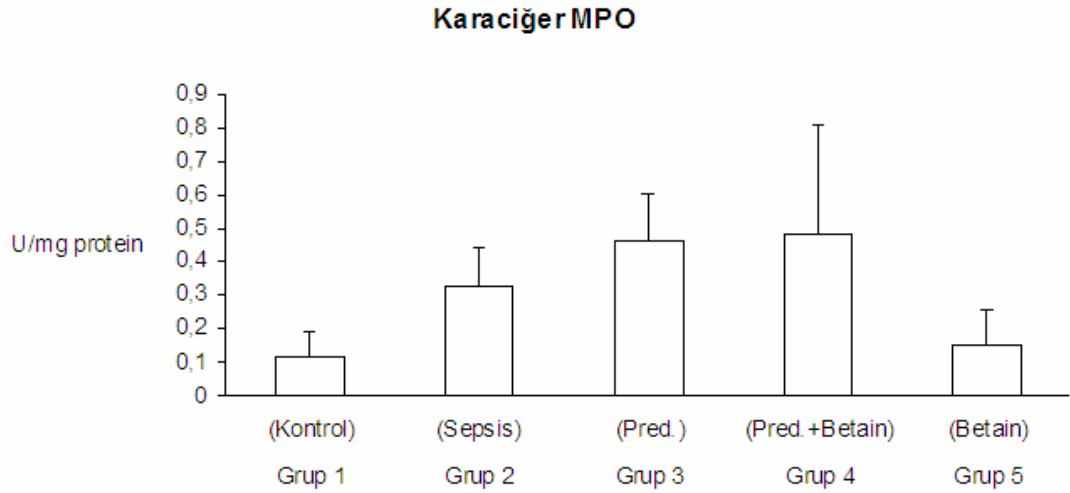
Şekil 4.4. Gruplar arasında karaciğer NO düzeylerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.5. Karaciğer MPO değerlerinin gruplar arasındaki farklılıklarını gösteren çoklu karşılaştırma tablosu.

	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Sepsis)	Grup 3 (Pred.)	Grup 4 (Pred.+Betain)	Grup 5 (Betain)
Grup 1 (Kontrol)	—	*	**	ns	ns
Grup 2 (Sepsis)	*	—	ns	ns	ns
Grup 3 (Pred.)	**	ns	—	ns	*
Grup 4 (Pred.+Betain)	ns	ns	ns	—	ns
Grup 5 (Betain)	ns	ns	*	ns	—

ns: anlamlı değil, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$.

Karaciğer MPO değerlerine göre Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı. Grup 2 ve Grup 3'ün karaciğer MPO düzeyleri Grup 1'den yüksekti. Grup 1 ile Grup 4 ve Grup 5 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Gruplar arasında karaciğer MPO düzeylerinin karşılaştırılması.

5.TARTIŞMA

Sepsis; birçok sistemi tutan, özellikle hemodinamik değişiklere yol açan, şok, organ fonksiyon bozukluğu ve organ yetmezliğine kadar giden öldürücü bir infeksiyon hastalığıdır (34).

Cerrahi yoğun bakım ünitelerinde gözlenen en sık sepsis nedeni gastrointestinal sistem duvarı bütünlüğünün bozulmasıdır (perfore apendisit,kolon perforasyonu...).Bu durumu taklit etmek için bazı deneysel modeller geliştirilmiştir ve en çok kullanılan model çekal ligasyon-perforasyondur (ÇLP) (86). ÇLP ile hayvanlarda oluşturulan sepsisin erken ve geç bifazik klinik belirtileri ile insanlardaki sepsise benzediğı kabul edilir (87).

Overhaus ve ark. (88)'nin yaptığı deneysel çalışmada ileusa bağı sepsis yöntemi olarak ÇLP uygulanmıştır.

Wichtermann ve ark. (89)'nin yaptığı deneysel çalışmada sepsis ÇLP ile oluşturulmuştur.

Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda vücut ısısı yükselir. Bazı hastalarda vücut ısısı normal sınırlarda olabileceğı gibi hipotermi de görülebilir. Sepsise bağı hipotermi; yenidoğanlarda, yaşlılarda, üremi ve alkalizm gibi kronik hastalığı olan hastalarda görülür. Hipotermi sepsiste kötü prognoz işaretidir (29).

Hematolojik bulgulardan ise genellikle lökositoz ve sola kayma görülür. Lökopeni de görülebilir. Lökopeni; genellikle viral infeksiyonlarda, nadiren de brusella, salmonella ve listeria gibi intraselüler bakteri infeksiyonlarında görülür ve kötü prognozu akla getirir (12).

İnfeksiyon, travma, anoksi gibi durumlarda makrofajlar ve monositlerden sitokinler salınır. Sitokinler de inflamatuvar hücreleri(nötrofiller, trombositler..) aktive eder.Artmış nötrofil infiltrasyonu dokulardaki oksidatif hasarla ilişkilidir. Dokulardaki nötrofil infiltrasyonunun göstergesi de myeloperoksidaz(MPO) aktivitesidir (90).

Roger ve ark. (91)'nin yaptığı çalışmada sepsis sendromlu 191 hastanın 84'ünde bakteriyemi tespit edilmiştir. Bakteriyemik ve non-

bakteriyemik 191 hastada, lökosit sayısı her iki grupta da yüksek bulunmuştur.

Duran ve ark. (92)'nin yaptığı deneysel çalışmada, tavşanlarda ÇLP yöntemiyle oluşturulan sepsis grubunda kontrol grubuna oranla lökosit sayısının arttığı gösterilmiştir.

Hersch ve ark. (93)'nin yaptığı deneysel çalışmada, koyunlarda ÇLP ile sepsis modeli oluşturulup lökosit sayısına bakılmış ve sepsis grubunda lökosit sayısının düşük olduğu tespit edilmiştir.

Taner ve ark. (94) endotoksin verilen ratlarda, pulmoner MPO aktivitesi ve bronkoalveolar lavaj nötrofil konsantrasyonunun kontrol grubuna göre yüksek olduğunu göstermiştir.

Hedge ve ark. (95)'nin yaptığı deneysel çalışmada, ÇLP ile sepsis oluşturulan ratlarda pulmoner MPO aktivitesi kontrol grubuna göre artmıştır.

Şener ve ark. (96)'nin yaptığı deneysel çalışmada, ÇLP ile sepsis oluşturulan ratlarda beyin, kalp, böbrek, akciğer ve karaciğer dokularında MPO aktivitesinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmada , kontrol grubu hariç tüm gruplardaki ratlara sepsis modeli olarak ÇLP uygulandı. Sepsis grubunda ateş, lökosit sayısı ve MPO aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu.

NO homeostazın sağlanmasında önemli bir moleküldür. Hipertansiyondan septik şoka dağılım gösteren birçok patolojik durumda etkilidir. NO'in akut ve kronik inflamasyon, sistemik inflamatuvar yanıt ve sepsiste rol oynadığı gösterilmiştir (97).

İnterferon ve bakteri lipopolisakkaritleri (LPS) tarafından aktive edilen makrofajlar büyük miktarlarda NO sentezlerler. Aktivasyonun olmadığı durumlarda makrofajlarda NOS bulunmaz. İndüksiyondan sonra enzim sentezi ve dolayısıyla NO sentezi meydana gelir. Ancak fazla miktarda NO sentezi hücreler için oldukça zararlı etkiler oluşturur (98).

Demirbilek ve ark. (99)'nin yaptığı deneysel çalışmada sepsis modeli olarak ÇLP yöntemi uygulanmış ve hem 9. saatte hem de 18. saatte alınan doku örneklerinde NO düzeyinin yükseldiği görülmüştür.

Preiser ve ark. (100)'nin yaptığı çalışmada sepsisli yanık hastalarında kan NO düzeyinin sepsis görülmeyen gruptaki hastalara oranla arttığı gösterilmiştir.

Smith ve ark. (101)'nin yaptığı çalışmada, sepsis gelişen yoğun bakım hastalarında vücutta üretilen NO'in bir göstergesi olan idrarda nitrat-nitrit atılımı kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur.

Yoshimura ve ark. (102)'nin LPS uygulayarak sepsis oluşturdukları ratlarda karaciğer, böbrek ve kan NO düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.

Bergamini ve ark. (103)'nin LPS uygulayarak sepsis oluşturdukları ratlarda karaciğer, böbrek ve kan NO düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.

Kleschyov ve ark. (104)'nin yaptığı deneysel çalışmada LPS verilmesini takiben damar adventisyasında iNOS'un aktive olduğu saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda, sepsis grubundaki kan ve karaciğer NO düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış görüldü.

Betain, çeşitli yiyecek türlerinde bulunan ve diyetle alınabilen önemli bir yapısal maddedir. Kalp, karaciğer ve böbrek sağlığı açısından temel biyolojik olaylarda rol oynayan bir metilasyon ajanıdır(105). Osmotik hasara uğramış karaciğer makrofajlarında (kupffer hücreleri) TNF-alfa salınımını ve fagositozu sağlar, prostoglandin yapımını ve siklooksijenaz 2 salınımını suprese ederek immün fonksiyonları düzenler (106).

Yapılan çalışmalarda; ratlarda hepatik yağlanma, siroz ve hiperlipidemiye karşı koruyucu ve tedavi edici etkisi saptanmıştır (107,108). Kloroform, metotreksat, karbon tetraklorür gibi toksinlere karşı rat karaciğerini korur (109-111).

Karbon tetraklorürün nefrotoksik etkilerine karşı böbreği koruyucu etkisi vardır (112). Eritrosit membran ATPaz regülasyonu yoluyla hücre volüm kontrolünü sağlar (113). Genetik çalışmalarda; betain desteği yapılan rat grubunda gebelik öncesi ve gebelik esnasında DNA metilasyonu artmış ve çalışma sonucunda ratlarda olumlu fenotipik değişiklikler elde edilmiştir (114).

Kim ve ark. (115)'nin yaptığı deneysel çalışmada, betainin rat karaciğerinde lipopolisakkarite karşı koruyucu etkinliği saptanmıştır.

Go ve ark. (116)'nin yaptığı çalışmada, betainin siklooksijenaz 2 ve iNOS gen ekspresyonunu suprese ederek ratlarda yaşlanma ve inflamasyona karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir.

Warskulat ve ark. (117)'nin yaptığı çalışmada betainin LPS uygulanan ratlarda iNOS ekspresyonunu suprese ettiği görülmüştür.

Sjakste ve ark. (118)'nin yaptığı deneysel çalışmada LPS uygulanarak sepsis oluşturulan ratlarda, betain türevi olan gama-bütirobetain verilmesi sonrası NOS inhibisyonu olmaksızın kan ve karaciğerde NO düzeyleri gerilemiştir. Koeck ve ark. (119) gama-bütirobetainin bu etkisini NO ile direk ve indirek yolla etkileşimi yoluyla olabileceğini belirtmiştir.

Shutenko ve ark. (120) gama-bütirobetainin ve bazı türevlerinin antioksidan etkisini göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda, betain grubundaki kan ve karaciğer NO düzeylerinde sepsis grubuna göre azalma görüldü ve istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı bir farklılık elde edildi. Betain grubu ile kontrol grubu arasında NO düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Sepsiste ortaya çıkan mediatörler ile hipotalamus-hipofiz-adrenal yolun uyarılması sonucu kortizol üretimi artmaktadır. Düşük seviyede sitokinler kortikosteroidlere doku duyarlılığını artırırken, sepsis süresince sitokinlerin çok artması kortikosteroid direncine neden olur. Kortikosteroidlerin daha çok antiinflamatuvar etkilerinden faydalanmak için çalışmalar yapılmıştır. Kortikosteroidler proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu azaltır, siklooksijenaz 2 ve iNOS sentezini inhibe ederler (121).

Steroidlerin kan tablosu üzerine de önemli etkileri vardır. Periferik kandaki nötrofil, eritrosit ve trombositlerin sayısını artırırken başta lenfositler olmak üzere eozinofil, bazofil ve monositlerin sayısını azaltır (121).

Wang ve ark. (122) ratlarda LPS uygulayarak sepsis modeli oluşturmuşlar ve deksametazon verilmesini takiben beyin dokusunda NOS ekspresyonunun inhibe olduğunu göstermişlerdir.

Tsao ve ark. (123)'nin yaptığı deneysel çalışmada, ratlarda LPS uygulanarak oluşturulan sepsis modelinde düşük doz deksametazon verilmesini takiben plazmada ve böbrek dokusunda NO üretiminin baskılandığı ve böbrek dokusunda nötrofil infiltrasyonunun gerilediği görülmüştür.

Maeda ve ark. (124)'nin yaptığı deneysel çalışmada, LPS ile septik şok tablosu oluşturulan ratlarda metilprednizolon verilmesini takiben 16. saatte NO sentezinin inhibe olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda, prednizolon grubunda kan NO düzeyleri bakımından sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş saptandı ($p<0.05$), karaciğer NO değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Genel olarak değerlendirildiğinde; lökosit değerleri bakımından sadece betain grubunda sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş saptandı ($p<0.05$). Betain grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Ateş değerleri bakımından sadece betain grubunda sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş saptandı ($p<0.01$). Betain grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Kan NO değerleri bakımından; sepsis grubuna göre prednizolon grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş görüldü ($p<0.05$). Betain ve Pred.+Betain gruplarında ise sepsis grubuna göre istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı düşüş görüldü ($p<0.001$).

Karaciğer NO değerleri bakımından; sepsis grubu ile prednizolon grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Betain ve Pred.+Betain gruplarında ise sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş görüldü ($p<0.01$).

Karaciğer MPO değerleri bakımından; prednizolon grubunda sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artış görüldü ($p>0.05$). Betain ve Pred.+Betain gruplarında ise sepsis grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüş görüldü ($p<0.05$).

Elde ettiğimiz sonuçlara göre; sepsis grubunda artmış olan kan NO, karaciğer NO ve karaciğer MPO değerleri hem betain hem de pred.+betain grubunda kontrol grubu düzeyine geriledi. Sepsis grubunda artmış olan ateş ve lökosit değerleri ise sadece betain grubunda kontrol grubu düzeyine ulaştı.

Çalışmamızda; sepsis tedavisinde steroid olmaksızın tek başına betain tedavisinin daha yararlı olduğu sonucuna ulaştık.

6. SONUÇ

Bu çalışmamızda betain, prednizolon, pred.+ betain ile tedavi edilen septik rat modellerinde; ateş, lökosit, kan ve karaciğer NO, karaciğer MPO düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırdık. Bu amaçla ateş, kan lökosit ve NO, karaciğer MPO ve NO değerlerini ölçtük. Sonuç olarak;

1. Septik ratlarda ateş, lökosit, kan-karaciğer NO ve karaciğer MPO düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış belirlendi.

2. Ateş ve lökosit değerleri bakımından sadece betain verilen grupta sepsis grubuna göre anlamlı bir gerileme saptandı. Betain grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu.

3. Kan NO değerleri bakımından hem betain hem pred.+ betain verilen grupta sepsis grubuna göre önemli ölçüde anlamlı bir gerileme saptandı. Betain ve pred.+ betain grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu.

4. Karaciğer NO değerleri bakımından hem betain hem pred.+ betain verilen grupta sepsis grubuna göre anlamlı bir gerileme saptandı. Betain ve pred.+ betain grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu.

5. Karaciğer MPO değerleri bakımından hem betain hem pred.+ betain verilen grupta sepsis grubuna göre anlamlı bir gerileme saptandı. Betain ve pred.+ betain grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktu.

Betain ve prednizolonun tedavide kombine kullanılması NO ve MPO düzeylerini düşürdü. Ancak betainin tek başına ateş ve lökosit üzerine olan etkisini gerçekleştirmedi. Bu yüzden, steroid olmaksızın sadece betain tedavisinin sepsis ve komplikasyonları üzerine daha yararlı ve etkili olduğunu düşündük.

KAYNAKLAR

1. Hines DW, Bone RC. Septic Shock. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR(eds). Infectious Diseases. Second Edition. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992; 544-48
2. Coleman JW. Nitric oxide in immunity and inflammation. *Int. Immunopharmacol.* 2001; 1(8): 1397-1406.
3. Diaz-Ruiz A, Ibarra A, Perez-Severiano F, Guizar-Sahgun G, Grijalva A, Rois C. Constitutive and inducible nitric oxide synthase activities after spinal cord contusion in rats. *Neurosci. Lett.* 2002; 319: 129-132.
4. Liu C, Jin A, Zhou C, Chen B. Gene expression of inducible nitric oxide synthase in injured spinal cord. *Med. J.* 2002; 115(5): 740-772.
5. Blantz RC, Satriano J, Gabbai F, Kelly C. Biological effects of arginine metabolites. *Acta Physiol Scand.* 2000; 168: 21-25.
6. Schulz R, Nava E, Moncada S. Induction and potential biological relevance of a calcium independent nitric oxide synthase in the myocardium. *Br. J. Pharmacol.* 1992; 105: 575-580.
7. İskit AB, Güç MO, İlhan M. L-canavanine and dexamethasone attenuate endotoxin-induced suppression of ischaemia-reperfusion arrhythmias. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; 326: 183-190.
8. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol.Rev.* 1991; 43: 109-143.

9. Kirkeboen KA, Strand A. The role of nitric oxide in sepsis-an overview. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 1999; 43: 273-278.
10. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. American College of Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in Sepsis. *Crit Care Med.* 1992; 20: 864-874.
11. Young LS. Sepsis Syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth Edition.* Churchill Livingstone Penn. 2000; 806-819.
12. Doğanay M. Sepsis. Willke A, Söyletir G, Doğanay M (editörler). *İnfeksiyon Hastalıkları Kitabı'nda.* İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 1996; 473-485.
13. Uzun Ö. Sepsiste Empirik Tedavi Yaklaşımı. Akalın HE, Karna G (editörler). *Empirik Antibiyotik Tedavisi Kitabı'nda.* Ankara: Güneş Kitabevi. 1994; 175-186.
14. Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in gram-negative bacteraemia: Evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis.* 1992; 15: 866-873.
15. Bone RC. The pathogenesis of Sepsis. *Ann Intern Med.* 1991; 115: 457.
16. Bone RC. Gram-positive organisms and Sepsis. *Arch Intern Med.* 1994; 154: 26.

17. Lynn WA. Sepsis. In: Armstrong D, Cohen J (eds). *Infectious Diseases*. London: Mosby. 1999; 47(1): 1-14.
18. Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe Sepsis. *N Eng J Med*. 1999; 340: 207.
19. Doğanay M. Sepsis: Yeni tanımlar ve patogenez. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*. 1996; 1: 3.
20. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*. 1997; 112: 235.
21. Doğanay M. Gram negatif bakteri sepsislerinde patogenez ve tedavi. In: Tümbay E, Ang Ö, Karakartal G, yazarlar. 1. Ulusal İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi. Kongre Kitabı, İzmir: Bilgehan Basımevi. 1987;48.
22. Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, et al. Septic shock, multipl organ failure, and disseminated intravascular coagulation. *Chest*. 1992; 101: 816-822.
23. Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitc RJ, Young L. Current understanding of Sepsis. *Clin Infect Dis*. 1996; 22: 407.
24. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: Pathogenesis. *Lancet*. 1991; 338: 732.
25. Voyce SJ, Becker SC, Mass W. Adaptive and maladaptive cardiovascular response in human Sepsis. *Am Heart J*. 1991; 122: 1441.

26. Archer LT. Pathologic manifestations of septic shock. In: Proctor RA, ed. Handbook of Endotoxin, Vol 4, Amsterdam: Elsevier. 1986: 18.
27. Martin MA, Silverman HJ. Gram negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis.* 1992; 14: 1213.
28. Harris RL, Musher DM, Bloom K, et al. Manifestations of sepsis. *Arch Inter Med.* 1987; 147: 1895.
29. Akpınar S, Tekeli E. Septik Şok: Klinik Yaklaşım-Patogenez-Terapötik Yaklaşım. Şahinoğlu AH (ed). Yoğun Bakım Sorunları ve Tedavileri Kitabı'nda. Ankara: Türkiye Klinikleri Tıp Kitabevi. 1992; 567-574.
30. Parrat JR, Stoclet JC. Vascular smooth muscle function under conditions of sepsis and ARDS. In: Role of Nitric Oxide in Sepsis and ARDS. Fink MP, Payen D (eds). Springer Verlag, Berlin. 1995; 44.
31. Levi M, Cate HT. Disseminated intravascular coagulation. *N Eng Med.* 1999; 341: 586.
32. Septic Shock. In: Salyers AA, Whitt DD (eds). Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach. ASM Pres, Washington DC. 1994; 56-60.
33. Mayer J, Hajek R, Vorlicek J, Tomiska M. Sepsis and septic shock: II. Treatment. *Support Care Cancer.* 1995; 3: 111.

34. Aube H, Milan C, Blettery B. Risk factors septic shock in the early management of bacteremia. *Am J Med.* 1992; 93: 283.
35. Doğanay M. Sepsis tedavisi. *Türkiye Tıp Dergisi.* 1998; 5: 42.
36. Altuđ S, Demiryürek AT, Kanlık İ. Nitrik oksit ve peroksinitritin myokard üzerindeki etkileri. *FABAD J Pharm Sci.* 1998; 23: 153-159.
37. Güray A, Türköz Y, Özerol H. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. *T Klin J Med Sci.* 1997; 17: 115-119.
38. Roselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of Nitric Oxide in The Biology, Physiology and Pathophysiology of Reproduction. *Hum Reprod Update.* 1998; 4(1): 3-24.
39. Çekmen MB, Turgut M, Türköz M, Aygün AD, Gözükara EM. Nitrik oksit ve nitrik oksit sentazın fizyolojik ve patolojik özellikleri. *T Klin J Pediatr.* 2001; 10: 226-236.
40. Tunçtan B, Abacıođlu N. Biyolojik örneklerde NO ölçümü: Diazotizasyon Yöntemi. *FABAD J Pharm Sci.* 1998; 23: 161-170.
41. Aladađ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. *T Klin J Med Sci.* 2000; 20: 107-111.
42. Muriel P. Regulation of nitric oxide synthesis in the liver. *J Appl Toxicol.* 2000; 20: 189-195.

43. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci, USA*. 1990; 87: 1620-1624.
44. Szabo C. Role of poly (ADP-ribose) synthase in inflammation. *Eur J Pharmacol*. 1998; 350: 1-19.
45. Gross SS, Wolin MS. Nitric Oxide: Pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol*. 1995; 57: 737-769.
46. Sakamoto A, Nishimura Y, Ono H, Sakura N. Betaine and homocysteine concentrations in foods. *Pediatr Int*. 2002; 44: 409-413.
47. Koc H, Mar MH, Ranasinghe A, Swenberg JA, Zeisel SH. Quantitation of choline and its metabolites in tissues and foods by liquid chromatography/electrospray ionization-isotope dilution mass spectrometry. *Anal Chem*. 2002; 74: 4734-4740.
48. Zeisel SH, Mar MH, Howe JC, Holden JM. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. *J Nutr*. 2003; 133: 1302-1307.
49. Budavari S, ed. *The Merck index*. 11th ed. Rahway NJ: Merck & Co, Inc, 1989.
50. Guggenheim M. Betaine. In: *Die Biogenen Amine*. (The biogenic amines) Basel, Switzerland: Karger. 1951:240-242.

51. Hendler SS, Rorvik D, eds. PDR for nutritional supplements. 1st ed. Montvale NJ: Meedical Economics,2001.
52. LeRudulier D, Strom AR, Dandelkar AM, Smith LT, Valentine RC. Molecular biology of osmoregulation. *Science*. 1984; 224: 1064-1068.
53. Konosu S, Hayashi T. Determination of beta-alanine betaine and glycine betaine in some marine invertebrates. *Bull Jpn Soc Sci Fisheries*. 1975; 41: 743-746.
54. Konosu S, Yamaguchi K. The flavor components in fish and shellfish. In: Flick GJ, Hebard CE, Ward DR, eds. *Chemistry and biochemistry of marine food products*. Westport, CT: AVI Publishing Co, 1982.
55. Waggle DH, Lambert MA, Miller GD, Farrel EP, Deyoe CW. Extensive analyses of flours and millfeeds made from nine different wheat mixes. II. Amino acids, minerals, vitamins, and gross energy. *Cereal Chem*. 1967; 44: 48-60.
56. Yancey PH, Clark ME, Hand SC, Bowlus RD, Somero GN. Living with water stres: evolution of osmolyte systems. *Science*.1982; 217: 1214-1222.
57. Betaine. Monograph. *Altern Med Rev*. 2003; 8: 193-196.
58. Virtanen E. Piecing together the betaine puzzle. *Feed Mix*. 1995; 3: 12-17.
59. Park EL, Garrow TA. I nteraction between dietary methionine and methyl donor intake on rat liver betaine-homocysteine methyltransferase gene expression and organisation of the human gene. *J Biol Chem*. 1999; 274: 7816-7824.

60. Bianchi G, Azzone GF. Oxidation of choline in rat liver mitochondria. *J Biol Chem.* 1964; 239: 3945-3955.
61. Weinhold PA, Sanders R. The oxidation of choline by liver slices and mitochondria during liver development in the rat. *Life Sci.* 1973; 13: 621-629.
62. Mann PJG, Woodward HE, Qaestel JH. Hepatic oxidation of choline and arsenocholine. *Biochem J.* 1938; 32: 1024-1032.
63. Davies SE, Woolf DA, Chalmers RA, Rafter JEM, Iles RA. Proton nmr studies of betaine excretion in the human neonate: consequences for choline and methyl group supply. *J Nutr Biochem.* 1992; 3: 523-530.
64. Tsuge H, Nakano Y, Onishi H, Futamura Y, Ohashi K. A novel purification and some properties of rat liver mitochondrial choline dehydrogenase. *Biochim Biophys Acta.* 1980; 614: 274-284.
65. Wilken DR, McMacken ML, Rodriguez A. Choline and betaine aldehyde oxidation by rat liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta.* 1970; 216: 305-317.
66. Kaiser W, Bygrave FL. Incorporation of choline into the outer and inner membranes of isolated rat liver mitochondria. *Eur J Biochem.* 1968; 4: 582-585.
67. Streumer-Svobodova Z, Drahotka Z. The development of oxidative enzymes in rat liver mitochondria. *Physiol Bohemoslov.* 1977; 26: 525-534.

68. Dragolovich J. Dealing with salt stress in animal cells.: the role and regulation of glycine betaine concentrations. *J Exp Zool.* 1994; 168: 139-144.
69. Zeisel SH, Growdon JH, Wurtman RJ, Magil SG, Logue M. Normal plasma choline responses to ingested lecithin. *Neurology.* 1980; 30: 1226-1229.
70. Du Vigneaud V, Chandler JP, Moyer AW, Keppel DM. The effect of choline on the ability of homocysteine to replace methionine in the diet. *J Biol Chem.* 1939; 131: 57-76
71. Du Vigneaud V, Dyer HM, Keis MW. A relationship between the nature of the vitamin B complex supplement and the ability of homocysteine to replace methionine in the diet. *J Biol Chem.* 1939; 130: 325-340.
72. Du Vigneaud V, Simmonds S, Chandler JP, Cohn M. A further investigation of the role of betaine in transmethylation reactions in vivo. *J Biol Chem.* 1946; 165: 639-648.
73. Du Vigneaud V, Rachele JR. The concept of transmethylation in mammalian metabolism and its establishment by isotopic labelling through in vivo experimentation. In: Shapiro SK, Schlenk F, eds. *Transmethylation and methionine biosynthesis.* Chicago: University of Chicago Press. 1965.
74. Nociantri KA, Sakakibara S, Kano T, Kikuchi H, Kurasaki M, Aoyama Y. Influence of dietary methionine mRNA level in rats. *Biosci Biotechnol.* 2002; 66: 2465-2470.

75. Dubnoff JW. Utilization of choline and betaine methyl in the Guinea Pig. *Arch Biochem.* 1949; 22: 474-475.
76. Dubnoff JW. The role of choline oxidase in labilizing choline methyl. *Arch Biochem.* 1949; 24: 251-262.
77. Muntz JA. The ability of choline to transfer a methyl group directly to homocysteine for methionine formation. *J Biol Chem.* 1950; 182: 489-499.
78. Cantoni GL. The nature of the active methyl donor formed enzymatically from L-methionine and adenosinetriphosphate. *J Biol Chem.* 1952; 74: 2942-2943.
79. Cantoni GL. S-Adenosylmethionine; a new intermediate formed enzymatically from L-methionine and adenosinetriphosphate. *J Biol Chem.* 1953; 204: 403-416.
80. Mudd SH, Poole JR. Labile methyl balances for normal humans on various dietary regimens. *Metabolism.* 1975; 24: 721-735.
81. Barak AJ, Beckenhauer HC, Tuma DJ. Betaine, ethanol, and the liver: a review. *Alcohol.* 1996; 13: 395-398.
82. Finkelstein JD, Martin JJ. Methionine metabolism in mammals. Distribution of homocysteine between competing pathways. *J Biol Chem.* 1984; 259: 9508-9513.
83. Finkelstein JD, Martin JJ. Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. *J Biol Chem.* 1986; 261: 1582-1587.

84. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem.* 1990; 36(8): 1440-1443.
85. Desser RK, Himmelhoch SR, Evans WH, Janusca M, Mage M, Shelton E. *Arch Biochem Biophys.* 1972; 148: 452-465.
86. Baker CC, Chaudry IH, Gaines HO, et al. Evaluation of factors affecting mortality rate after Sepsis in a murine caecal ligation and puncture model. *Surgery.* 1983; 94(2): 331-335.
87. Wang P, Zheng F, Irshad H. Mechanism of hepatocellular dysfunction during early sepsis. *Arch Surg.* 1997; 132: 364-370.
88. Overhaus M, Togel S, Pezzone M, Bauer AJ. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2004; 287: 685-694.
89. Wichtermann KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and Septic Shock- a review of laboratory models and proposal. *J Surg Res.* 1980; 29: 189-201.
90. Hashimoto T, Ohno N, Adachi Y, Yadomae T. Enhanced production of inducible nitric oxide synthase by β -glucans in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 1997; 19: 131-135.
91. Bone RC, Fisher JC, Clemmes TP, et al. Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit Care Med.* 1989; 17 (5): 389-393.
92. Duran A, Kafalı ME, Şahin M, Köylü Ö, Gökalp A, Arslan U, Toy H. Tavşanlarda oluşturulan deneysel sepsis modelinde düşük doz n-asetilsistein tedavisinin etkinliği. *Selçuk Tıp Dergisi.* 2004; 20: 140-149.

93. Hersch M, Gnidec AA, Bertsen AD, et al. Histologic and ultrastructural changes in non-pulmonary organs during early hyperdynamic Sepsis. *Surgery*. 1990; 107 (4): 397-410.
94. Taner AŞ, Topgöl K, Küçükkel F, Özel H, Temel S. Pars inhibitor 3-aminobenzamide attenuates lung injury in experimental endotoxemia: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2005; 12(2): 63-66.
95. Hedge A, Zhang H, Mochala S, Bathia M. Neurokinin-1 receptor antagonist treatment mice against lung injury in polymicrobial Sepsis. *Journal of Leucocyte Biology*. 2007; 82.
96. Şener G, Toklu H, Ercan F, Erkanlı G. Protective effect of β -glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int Immunopharmacol*. 2005; 5: 1387-1396.
97. Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg*. 1995; 82: 1598-1610.
98. Türköz Y, Özerol E. Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*. 1997; 4(4): 453-459.
99. Demirbilek S, Sızanlı EE, Karaman A, Karadağ N, Bayraktar N, Türkmen E, Ersoy MÖ. Septik ratlarda metilen mavisinin akciğer hasarı üzerine etkileri. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2004; 11(4): 207-212.
100. Preiser JC, Reper P, Vlasseale D. Nitric oxide production is increased in patients after burn injury. *J Trauma*. 1996; 40: 368-371.

101. Smith LM, Cuthbertson B, Harvie J, Webster N, Robins S, Ralston SH. Increased bone resorption in the critically ill: association with Sepsis and increased nitric oxide production. *Crit Care Med.* 2002; 30: 837-840.
102. Yoshimura TH, Yokoyama S, Fujii F, Takayama K. Oikwa & Kamada: In vivo EPR detection and imaging of endogenous nitric oxide in lipopolisaccharide-treated mice. *Nature Biotechnology.* 1996; 14: 992-994.
103. Bergamini SC, Rota R, Canali M, Stafieri F, Daneri A, Bini F, Giovannini A, Tomasi & A.Iannone: N-acetylcysteine inhibits in vivo nitric oxide production by inducible nitric oxide synthase. *Nitric Oxide.* 2001; 5: 349-360.
104. Kleschyov AB, Muller T, Keravis ME, Stoeckel JC, Stoclet: Adventitia-derived nitric oxide in rat aortas exposed to endotoxin: cell origin and functional consequences. *Amer J Physiol Heart Circ.* 2000; 279: 2743-2751.
105. Barak AJ, Beckenhauer HC, Tuma JC. Use of S-adenosylmethionine as an index of methionine recycling in rat liver slices. *Anal Biolchem.* 1982; 127: 372-375.
106. Zhang F, Warskulat U, Wettstein M, Haussinger D. Identification of betaine as an osmolyte in rat liver macrophages. *Gastroenterology.* 1996; 110: 1543-1552.
107. Mehta K, Van Thiel DH, Shah N, Mobarhan S. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants. *Nutr Rev.* 2002; 60: 289-293.

108. Sugiyama K, Akai H, Muramatsu K. Effects of methionine and related compounds on plasma cholesterol level in rats fed a high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 1986; 32: 537-549.
109. Kim SK, Kim YC. Effects of singly administered betaine on hepatotoxicity of chloroform in mice. *Food Chem Toxicol*. 1998; 21: 790-792.
110. Barak AJ, Kemmy RJ, Tuma DJ. The effect of methotrexate on homocysteine methylating agents in rat liver. *Drug Nutr Interact*. 1982; 1: 303-306.
111. Junnila M, Barak AJ, Beckenhauer HC, Rahko T. Betaine reduces hepatic lipidosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Vet Hum Toxicol*. 1998; 40: 263-266.
112. Öztürk F, Uçar M, Öztürk İC, Vardı N, Batçioğlu K. Carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity and protective effect of betaine in rats. *Urology*. 2003; 62: 353-356.
113. Ortiz-Costa S, Sorenson MM, Sola-Penna M. Counteracting effects of urea and methylamine in functions and structure of skeletal muscle myosin. *Arch Biochem Biophys*. 2002; 408: 272-278.
114. Wolff GL, Kodell RL, Moore SR, Cooney CA. Maternal epigenetics and methyl supplements affects agouti gene expression in *Avy/a* mice. *FASEB J*. 1998; 12: 949-957.

115. Kim SK, Kim YC. Attenuation of bacterial lipopolisaccharide-induced hepatotoxicity by betaine or taurine in rats. *Food Chem Toxicol.* 2002; 40: 545-549.
116. Go EK, Jung KY, Kim JY, Yu BP, Chung HY. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2005; 60(10): 1252-1264.
117. Warskulat U, Schliess F, Haussinger D. *Biol Chem.* 1998; 379(7): 867-874.
118. Sjakste N, Baumann L, Boucher JL, Dzintare M, Meirena D, Sjakste J, Lauberte L, Kalvinsh I. Effects of γ -butyrobetaine and mildronate on nitric oxide production in lipopolisaccharide-treated rats. *Clin Pharma & Toxicol.* 2004; 94: 46-50.
119. Koeck T, Kremser KL. Carnitine alters nitric oxide synthase activity in fibroblasts depending on the peroxisomal status. *Int J Biochem Cell Biol.* 2003; 35: 149-156.
120. Shutenko ZH, Aparneva DV, Meirena AV, Strump SG, Venediktova R, Ozola I, Kalvinsh E, Lukevits I. Comparative study of the antioxidant activity of gamma-butyrobetaine and its naturel and synthetic derivatives in vitro. *Eksp Klin Farmakol.* 1997; 60: 54-57.
121. Keh D, Boehnke T, Weber-Cartens S, et al. Immunologic and hemodynamic effects of low dose hydrocortisone in septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003; 167: 512-520.
122. Wang H, Wu YB, Du XH. Effect of dexamethasone on nitric oxide synthase and Caspase-3 gene expressions in endotoxemia in neonate rat brain. *Biomed Environ Sci.* 2005; 18(3): 181-186.

123. Tsao CM, Ho ST, Chen A, Wang JJ, Li CY, Tsai SK, Wu CC. Low-dose dexamethasone ameliorates circulatory failure and dysfunction in conscious rat with endotoxemia. *Shock*. 2004; 21(5): 484-491.
124. Maeda T, Marubayashi S, Fukuma K, Sugino K, Koyama S, Yamado K, Ito H, Dohi K. Effect of antileukocyte adhesion molecule antibodies, nitric oxide synthase inhibitor, and the corticosteroids on endotoxin shock in mice. *Surg Today*. 1997; 27(1): 22-29.