

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ANNE SÜTÜNDE NİTRİK OKSİT YIKIM ÜRÜNLERİ
VE ASİMETRİK DİMETİLARJİNİN DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. HAKAN ÖZTÜRK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ESİN KOÇ**

**ANKARA
AĞUSTOS 2015**

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

İÇİNDEKİLER.....	i
KISALTMALAR	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Anne Sütü	3
2.1.1. Anne Sütünün Tarihçesi	3
2.1.2. Türkiye’de ve Dünyada Anne Sütü İle Beslenme	4
2.1.3. Anne Sütünün İçeriği.....	5
2.1.4. Anne Sütünün Evreleri	8
2.1.5. Gestasyonel Yaşın Anne Sütü İçeriğine Etkisi.....	9
2.2. Nitrik Oksit	10
2.2.1. Nitrik Oksitin Tarihçesi	10
2.2.2. Nitrik Oksitin Yapısı	10
2.2.3. Nitrik Oksitin Sentez ve Yıkımı	11
2.2.4. Nitrik Oksitin Görevleri.....	12
2.2.5. Nitrik Oksit Döngüsü.....	14
2.2.6. Nitrik Oksit ve Klinik Önemi	15
2.3. Asimetrik Dimetilarjinin.....	16

2.3.1. Asimetrik Dimetilarjininin Tarihçesi.....	16
2.3.2. Asimetrik Dimetilarjininin Sentez ve Yıkımı.....	16
2.3.3. Asimetrik Dimetilarjinin ve Süperoksit Radikalleri.....	18
2.3.4. Asimetrik Dimetilarjinin ve Endotel Disfonksiyonu.....	19
2.3.5. Asimetrik Dimetilarjininin Klinik Önemi	19
2.4. Nekrotizan Enterokolit.....	21
2.4.1. Epidemiyoloji	22
2.4.2. Patogenez.....	22
2.4.3. Klinik Bulgular	25
2.4.4. Laboratuvar Bulguları.....	25
2.4.5. Radyolojik Bulgular	26
2.4.6. Evreleme	26
2.4.7. Tanı.....	27
2.4.8. Tedavi	28
2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Nitrik Oksit	29
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	34
3.1. Numunelerin Toplanması	34
3.2. Anne Sütlerinin Sınıflandırılması	34
3.3. Analiz.....	35
3.3.1. Sütün Ön Hazırlığı.....	35
3.3.2. Nitrik Oksit Yıkım Ürünlerinin Ölçümü	35
3.3.3. Asimetrik Dimetilarjinin Ölçümü.....	35
3.3.4. İstatistiksel Analiz	36

3.4. Etik Kurul Onayı.....	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA.....	41
6. SONUÇLAR	47
7. KAYNAKLAR.....	48
8. ÖZET	67
9. SUMMARY	69
10. ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

ADMA	:	Asimetrik dimetilarjinin
APA	:	Amerikan Pediatri Akademisi
ATP	:	Adenozin trifosfat
BH4	:	Tetrahidrobiopterin
DDAH	:	Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
EDRF	:	Endotel kaynaklı gevşeme faktörü
FAD	:	Flavin adenin dinükleotid
FMN	:	Flavin mononükleotid
ICAM-1	:	Hücreler arası adezyon molekül-1
Ig	:	İmmünglobulin
IL1	:	İnterlökin 1
KAT	:	Katyonik amino asit taşıyıcıları
LC-PUFA	:	Çok uzun zincirli poliansatüre yağ asitleri
LDL	:	Düşük dansiteli lipoprotein
L-NMMA	:	NG monometil arjinin
MAPK	:	Mitojen aktive protein kinazların
NAD	:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NEK	:	Nekrotizan enterokolit
NO	:	Nitrik oksit

NOS	:	Nitrik oksit sentaz
PRMT	:	Protein arjinin metil transferaz
SDMA	:	Simetrik dimetilarjinin
SOD	:	Süperoksit dismutaz
TNF	:	Tümör nekrozis faktör
TNSA	:	Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması
VCAM-1	:	Vasküler hücresel adezyon molekül-1

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Anne sütündeki lipit, karbonhidrat ve protein konsantrasyonlarının postnatal günlere göre değişimi.....	7
Tablo 2. NEK için Modifiye Bell Evrelemesi.....	27
Tablo 3. Çalışmaya katılan annelerin demografik özellikleri	37
Tablo 4. Kolostrum, geçiş sütü ve olgun süttteki NO ve ADMA düzeylerinin karşılaştırılması	39
Tablo 5. Preterm, geç preterm ve term grupların NO ve ADMA düzeylerinin karşılaştırılması	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	L-arjininden NO sentezi.....	12
Şekil 2.	ADMA'nın sentez ve yıkımı.....	18
Şekil 3.	NO ve NO'nun hücre sinyal yolağına etkisi	33
Şekil 4.	Anne sütündeki NO düzeylerinin postnatal günlere göre değişimi	38

1. GİRİŞ

Anne sütü, bebeğin büyüme ve gelişmesi için gerekli olan tüm öğeleri içeren canlı bir besindir. Anne sütünün besleyici özelliği dışında bağışıklık sistemi, nörogelişim ve kronik hastalıklar (obezite, diyabet, allerjik hastalıklar, gastrointestinal sistem hastalıkları vs.) üzerine programlayıcı etkisi bulunmaktadır. Anne sütü ile ilgili çalışmalar son yıllarda artmakta ve her geçen gün yeni bir özelliği keşfedilmektedir. Anne sütünün psikososyal ve ekonomik rolü de yadsınamaz düzeydedir. Bu nedenlerden ötürü anne sütü tüm dünyada bir halk sağlığı stratejisi haline gelmiştir. Anne sütü bebeğin ihtiyaçlarına göre değişiklik göstermekte ve içeriği gebelik haftasına ve postnatal yaşa göre değişmektedir. Tıp ve teknoloji alanındaki gelişmeler sayesinde yenidoğan yoğun bakım şartlarında iyileşmeler olmuştur. Bu iyileşmelerle beraber viabilite sınırı daha aşağılara çekilebilmiştir. Bu durum birçok bilinmeyeni de beraberinde getirmektedir. Bu bilinmeyenlerden biri de prematür bebeklerin anne sütüdür. Prematür bebeklerin ihtiyaçları term bebeklere göre farklılık göstermektedir. Bu noktadan hareketle prematür bebeklerin anne sütünün term bebeklerin anne sütünden farklı olabileceği öngörülerek birçok çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir.

Nekrotizan enterokolit (NEK), prematür bebeklerin sık yaşadığı ve mortalitesi yüksek olan gastrointestinal sistem hastalığıdır. Azalmış gastrointestinal kan akımı, mukus bariyerde incelmeye ve delinme, patojenik bakteri invazyonu ile karakterizedir. Nitrik oksit (NO)'ın NEK etiyopatogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir. NEK tanısı alan hastaların tanı anında bakılan ve

NO'nun öncüsü olan plazma arjinin düzeylerinin düşük olarak saptanması da bu hipotezi desteklemektedir. Anne sütü, mama ve parenteral nütrisyonunda düşük düzeyde nitrat ve nitrit olduğundan yenidoğanlar, erişkinlere göre daha az nitrat ve nitrit almaktadır. NEK'ten koruyucu olabileceği düşüncesiyle prematür bebeklerin beslenmesine NO öncüsü olan L-arjinin katılması konusunda tartışmalar gündemdedir.

İskemi reperfüzyon hasarı etiyopatojenezinde de NO'nun kritik rolü olduğu keşfedilmiştir. NO biyoaktivitesi dokuları iskemik strese karşı korumaktadır. Prematür yenidoğanlar hipoksik iskemik zedelenmelere açık olduklarından risk altındadırlar.

NO düzeyi ölçülürken NO'nun yarı ömrü çok kısa (10-60sn) olduğundan indikatörü olarak yıkım ürünleri olan nitrat ve nitrit kullanılmaktadır. Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ise NO'nun inhibitörüdür.

Literatürde anne sütünde NO düzeyinin çalışıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bunlardan sadece birinde term ve preterm bebeklerin anne sütü kıyaslanmış ancak geç preterm olarak kabul edilen 34-36⁷. gebelik haftasında doğan bebeklerin anne sütü ayrı bir grup olarak hiç değerlendirilmemiştir. ADMA düzeyleri ile ilgili plazma çalışmaları bulunmasına rağmen anne sütündeki düzeyi ile ilgili çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Bu çalışmada; anne sütünün koruyucu özelliğinde rol oynayan NO ve NO'nun inhibitörü olan ADMA'nın anne sütündeki düzeylerinin tespit edilmesi ve bu düzeylerin gestasyonel yaşa ve laktasyonun değişik evrelerine göre karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anne Sütü

Anne sütü bebekler için en ideal besindir. Anne sütünün yenidoğanlar üzerinde sayısız faydası vardır. Term doğan bebekler için en uygun beslenme doğar doğmaz anne sütüne başlamak ve 6 ay boyunca sadece anne sütü ile beslemektir. Prematür bebeklerde ise doğumdan hemen sonra, mümkünse enteral, değil ise parenteral beslenmenin başlanması gerekmektedir (1). Amerikan Pediatri Akademisi (APA) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 6 ay boyunca sadece anne sütü verilmesini, eğer anne ve bebek karşılıklı olarak isterse 1 yıl veya daha uzun süre emzirmeyi önermektedir (2). Anne sütünün başta bebeğe olmak üzere anneye ve ekonomiye birçok faydası vardır. Anne sütü, bebekleri solunum yolu enfeksiyonları, otitis media, ani bebek ölümü sendromu, NEK, allerjik hastalıklar, çölyak hastalığı, obezite, diyabet, çocukluk çağı lösemi ve lenfomasından korur ve daha iyi nörogelişim sağlar. Potpartum kanama, depresyon, ihmal ve istismar, meme ve over kanseri emzirmeyen annelerde riski artan hastalıklardan bazılarıdır. Anne ve bebeğe faydalarının dışında ekonomik açıdan herhangi bir maliyetinin olmaması da anne sütünün değerini arttırmaktadır (3).

2.1.1. Anne Sütünün Tarihçesi

Anne sütüyle beslenme ile ilgili ilk yazılı belgelere MÖ 1550 yılında Eski Mısır'da rastlanmaktadır. Ebers Papirus'unda bebeklere verilecek tek besinin anne sütü olduğu ve üç yaşına kadar verilmesi gerektiği yazmaktadır. Babiller

baştanrıçaları İştar'ı bebeğini emzirirken tasvir etmişlerdir. Yakut Türkleri'ndeki inanışa göre analık tanrıçası Ayzıt, bebeğine anne sütü vererek can vermiştir. Endüstri Devrimi'ne kadar, anne sütünün bebekler için en iyi besin olduğuna inanılırdı (4). Ancak 20. yüzyıldan itibaren kadınların çalışma hayatına girmesi ile birlikte anne sütü ile beslenme azalmış ve biberon modern anneliğin simgesi olmuştur. 1970'lerden itibaren anne sütü ile ilgili çalışmalar hız kazanmış ve hiçbir besinin anne sütünün yerini alamayacağı görülmüştür. Bu gelişmeler üzerine anne sütü ile beslenme oranları katlanarak artmıştır (5).

2.1.2. Türkiye'de ve Dünyada Anne Sütü İle Beslenme

20 Kasım 1989'da kabul edilen ocuk Haklarına Dair Sözleşme'nin 24. maddesinde de değinildiği üzere anne sütü ile beslenmenin yararları konusunda toplumun bilgilendirilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır (6).

Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması (TNSA)-2008 verilerine göre Türkiye'de bebeklerin %97'si belirli sürelerle anne sütü almaktadır. Ortanca emzirme süresi de 16 ay olarak saptanmıştır. Doğumdan sonra bir saat içinde emzirilen bebek oranı %40 iken ilk gün içinde emzirilen bebek oranı ise %73'tür. Bu oranlar anne sütü ile beslenmeye başlamanın oldukça geç olduğunu göstermektedir (7). Amerika Birleşik Devletleri'nde ise emzirme oranı %79,2 olarak saptanmıştır (8). İngiltere'de bu oran %83'e, Avustralya'da ise %92'ye çıkmaktadır (9-11).

2.1.3. Anne Sütünün İçeriği

Anne sütünün içeriği bebeğin ihtiyaçlarına göre değişiklik göstermektedir

(1). Emzirmenin başı ile sonuna, gebelik haftasına ve postpartum güne göre anne sütünün içeriği değişkenlik göstermektedir. Anne sütünün ana bileşenleri karbonhidratlar, proteinler, lipitler, mineraller, vitaminler, hormonlar ve diğer eser elementlerdir. Anne sütündeki bu bileşenlerin değişkenlik oranı ise çok yüksektir (12). Bunun yanında anne sütünün içeriği genetik, maternal ve çevresel faktörlerden de etkilenmektedir (13).

Anne sütündeki temel karbonhidrat laktozdur. Kolostrumun laktoz içeriği düşüktür ancak birkaç hafta içinde hızla artar. Daha sonra ise düzeyinde ciddi değişiklikler olmaz (14, 15). Yapılan bazı çalışmalarda preterm bebeklerin anne sütünde laktoz konsantrasyonu düşük bulunmuştur (16, 17). Buna karşın diğer birçok çalışmada ise gestasyonel yaştan anne sütündeki laktoz konsantrasyonu ile ilişkisi gösterilememiştir (18). Laktoz dışında anne sütünde tespit edilen bir diğer grup karbonhidrat ise oligosakkaritlerdir. Yenidoğan için koruyucu özellikler taşıdığı düşünüldüğünden son yıllarda birçok çalışmaya konu olmuştur.

Anne sütünün bir diğer önemli komponenti de proteinlerdir. Anne sütündeki temel proteinler kazein ve wheydir. Kazein oranı emzirmenin başlangıcında düşük iken sonuna doğru artmaktadır. Whey proteini ise tüm emzirme sürecinde yüksek oranda bulunmaktadır. Anne sütündeki protein oranının postpartum zamana göre değişimine bakıldığında ilk 1 aylık süreçte yüksek düzeyde olduğu görülmüştür (19). Daha sonra ise düşüğe geçerek yaklaşık

6. ayda plato çizmektedir (20, 21). Yapılan bir çalışmada ise preterm ve term bebeklerin anne sütündeki protein oranları arasında fark saptanmamıştır (14).

Lipitler anne sütünün önemli bir parçasıdır. Sadece enerji kaynağı olarak kullanılmakla kalmaz aynı zamanda birçok sentezde görev alır. Örneğin; kolesterol, hücre membranının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Uzun zincirli poliansatüre yağ asitleri (LC-PUFA), bebeklerde esansiyel yağ asitlerindendir, göz ve beyin hücre membranında yer alırlar ve immün sistem üzerine etkileri vardır (22). Anne sütündeki lipit içeriği özellikle emzirmenin başı ile sonu arasında fark göstermektedir. Emzirmenin başında düşük olan lipit miktarı sonuna doğru artmaktadır. Bu da bebeğe doygunluk sağlamaktadır. Bunun dışında lipit içeriği postpartum süre, diüurnal ritm, gestasyonel yaş, annenin diyeti ve beden-kitle indeksi, parite ve sigara kullanma durumuna göre değişkenlik göstermektedir (23).

Hester ve arkadaşlarının yayınladığı bir meta-analizde 20 ayrı çalışmadaki toplam 1214 anne sütünde bakılan lipit, karbonhidrat ve protein düzeyleri postnatal günlere göre karşılaştırılmıştır. Sonuçlar Tablo-1’de gösterilmiştir (24).

Tablo 1. Anne sütündeki lipit, karbonhidrat ve protein konsantrasyonlarının postnatal günlere göre değişimi

	Kolostrum 1–5 günler (g/100 ml)	Geçiş Sütü 6–14 günler (g/100 ml)	Olgun Süt >14 günler (g/100 ml)
Lipit	2.2 ± 0.2	3.0 ± 0.1	3.8 ± 0.1
Karbonhidrat	5.6 ± 0.6	5.9 ± 0.4	6.7 ± 0.2
Protein	2.5 ± 0.2	1.7 ± 0.1	1.3 ± 0.1

Ortalama±Standart Sapma

Anne sütünde sodyum, potasyum, klor, kalsiyum, fosfor gibi birçok mineral bulunmaktadır. Ancak anne sütünde formül mama ve inek sütüne göre daha az mineral vardır. Bunun da nedeni olgunlaşmakta olan böbreğe fazla solüt yük getirmemektir. Prematür bebeklerde ise kalsiyum ve sodyum eksikliği olabileceğinden anne sütüne eklenmeleri gerekebilir. Japonya’da yapılan bir çalışmada sodyum ve potasyumun gün geçtikçe azaldığı, magnezyum, fosfor, kalsiyum ve klorun düzeyinin ise laktasyonun evresine göre değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (25).

Eser elementler anne sütünün bir diğer kısmını oluşturmaktadır. Demir, çinko, flor, bakır eser elementlerden bazılarıdır. Anne sütünün demir içeriği inek sütüne göre düşüktür. Ancak anne sütüyle alınan demirin biyoyararlanımı inek sütüne göre 5-10 kat daha fazladır (26). Bakır ve çinko eksiklikleri anne sütüyle beslenen bebeklerde sıklıkla görülen durumlar değildir.

Yenidoğan bir bebeğin ihtiyacı olan tüm vitaminler anne sütünde bulunmaktadır. Sadece D vitamini eksikliği anne sütü alan bebeklerde

görülebilmektedir. Bu nedenle ülkemizde Sağlık Bakanlığı tarafından 2005/71 sayılı genelge ile bebeklere D vitamini takviyesi önerilmektedir.

Anne sütünde, kaynağı memenin epitelyal, stromal hücreleri ve makrofajlar olan büyüme faktörleri ve hormonlar da bulunmaktadır. Anne sütünde bulunan büyüme faktörü ve hormonlardan bazıları şunlardır: epidermal büyüme faktörü, anne sütü büyüme faktörü 1-2-3, insülin benzeri büyüme faktörü, tiroksin, tiotropin salgılatıcı hormon, kortizol, kolesistokinin, beta endorfin, prostaglandin vb (27).

2.1.4. Anne Sütünün Evreleri

2.1.4.1. Kolostrum

Doğumdan sonra ilk 5 güne kadar salgılanan süte kolostrum adı verilmektedir. Bu sütün olgun süte göre birçok farkı vardır. Sarı renkli, yapışkan, az hacimli ancak yoğun bir süttür. Kolostrumun sarı renginin nedeni beta karotendir. Kolostrum; sekretuar immünglobulin (Ig) A, laktoferrin, lökosit gibi immünolojik ajanlar ve epidermal büyüme faktörü gibi büyüme faktörleri açısından çok zengindir (28). Kolostrumun laktoz içeriği olgun süte göre daha düşüktür. Bunun nedeni ise kolostrumun immünolojik ve trofik görevlerinin ön planda olmasıdır. Kolostrumda olgun süte göre sodyum, klor, magnezyum yüksek; potasyum ve kalsiyum ise düşüktür (29). Kolostrum yenidoğanda laktobacillus bifidusun bağırsakta kolonizasyonuna yardımcı olmakta ve mekonyum çıkışını hızlandırmaktadır (27). Meme epitelindeki sıkı bağlantıların kapanmasıyla birlikte sodyum/potasyum oranı düşer, laktoz konsantrasyonu artar

ve böylelikle laktogenezin 2. evresine geçilir ve geçiş sütü salgılanmaya başlar. Bazen bu geçiş preterm doğum, maternal obezite, erken sütteki sodyum, potasyum, sitrat, laktoz gibi faktörlere bağlı olarak gecikebilmektedir (30, 31).

2.1.4.2. Geçiş Sütü

Postpartum 5. günden 2. haftaya kadar salgılanan süte geçiş sütü adı verilmektedir. Geçiş sütü kolostromun bazı özelliklerini taşımakla birlikte hızlı büyüyen bebeğin gelişimi ve beslenmesi için ihtiyaçlarını içeren volüm olarak artış eğiliminde olan süttür (32). Bu evrede sütteki protein, Ig düzeyi azalırken; laktoz, yağ, enerji miktarı artmaktadır.

2.1.4.3. Olgun Süt

Postpartum 2. haftadan itibaren salgılanan süttür. Kolostruma göre belirgin farklılıklar görülmektedir. Protein içeriği kolostruma göre yarıya düşmüştür. Laktoz ve yağ içeriği iyice artmıştır. Bu da besleyici özelliğinin ön planda olmasını sağlamaktadır (27).

2.1.5. Gestasyonel Yaşın Anne Sütü İçeriğine Etkisi

Preterm ve term bebeklerin ihtiyaçları farklılık gösterdiğinden anne sütlerinin içeriğinin de farklı olabileceği düşüncesi son yıllarda birçok araştırmaya konu olmuştur. 41 çalışma alınarak yapılan bir derlemede preterm anne sütünde termlere göre daha yüksek oranda protein olduğu ancak aradaki farkın gün

geçtikçe kapandığı ve yaklaşık 10-12. haftada eşitlendiği saptanmıştır. Preterm ve term anne sütündeki yağ miktarları karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir. Laktoza bakıldığında ise preterm anne sütünde, terme göre belirgin düşük olduğu saptanmıştır. Kalsiyum, fosfor gibi minerallere gelindiğinde ise gestasyonel yaşa göre genellikle yakın değerler elde edilmiştir (33).

2.2. Nitrik Oksit

2.2.1. Nitrik Oksitin Tarihçesi

1977’de Ferid Murad, NO’nun nitrogliserinden sentezlendiğini ve damar düz kası üzerine etkisi olduğunu keşfetmiştir. Robert Furchgott ve John Zawadzki ise astilkolin bağımlı vazorelaksasyonda endotelin önemini farkettiler. 1987’de ise Louis Ignarro ve Salvador Moncada endotel kaynaklı gevşeme faktörünün (EDRF) aslında NO olduğunu tanımlamışlardır. Robert Furchgott, Louis Ignarro ve Ferid Murad NO’nun bir sinyal molekülü olduğunu göstererek 1998’de Nobel Ödülü’nü kazanmışlardır (34).

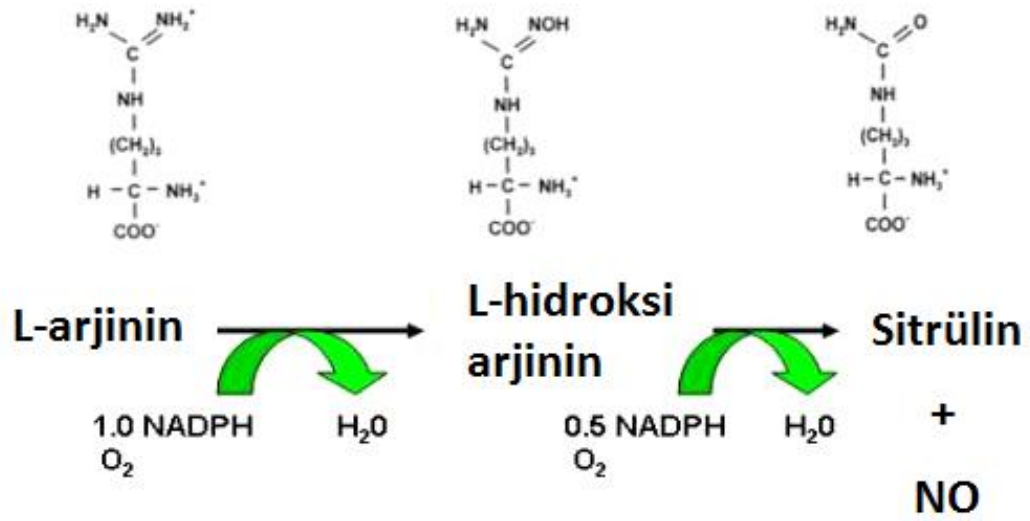
2.2.2. Nitrik Oksitin Yapısı

NO, bir atom nitrojen ve bir atom oksijenden oluşan serbest bir radikaldir. Çiftleşmemiş elektronu bulunan küçük, yüksüz bir moleküldür. NO küçük bir moleküldür ve molekül stabilitesi yüksektir. Bu nedenlerden ötürü biyolojik koşullarda membranlardan rahatlıkla diffüze olabilir. NO, reaktif olduğundan protein yapıdaki birçok bileşikle kolaylıkla tepkimeye girer ve bu da NO’nun 10-

60 saniye gibi kısa ömürlü olmasına neden olur. Yarı ömrünün kısa olmasına rağmen yüksek diffüzyon yeteneği ile içinde bulunduğu hücreden hızla çıkarak komşu hücrelerde de etkisini gösterir ve daima yüksek konsantrasyonda olduğu yerden düşük olan yere doğru hareket eder (35, 36).

2.2.3. Nitrik Oksit Sentez ve Yıkımı

NO, iki yolla sentezlenebilmektedir. Birincisi enzimatik yol, ikincisi ise nitrik oksit sentaz (NOS)dan bağımsız yoldur. Enzimatik yolda L-arjinin NOS yardımıyla NO'ya dönüşmektedir. NOS, L-arjinini öncelikle L-hidroksiarjinine ardından ise NO ve sitriline çevirmektedir (Şekil-1). NOS'un 3 izoformu vardır. Nöronal ya da beyin kaynaklı olan nNOS (NOS-1) olarak adlandırılmaktadır. İkincisi ise indüklenebilir olan iNOS (NOS-2)'tur. Üçüncü form ise endotel kaynaklı eNOS (NOS-3)'tur. Her üç NOS da elektron vericisi olarak nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) kullanır ve bu reaksiyonun 5 kofaktörü vardır (37). Bu kofaktörlerden en önemlileri tetrahidrobiopterin (BH₄), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN)dir. Substans P, asetilkolin, serotonin, tromboksan A₂ gibi faktörler eNOS enziminin regulasyonunda görevlidir. NO sentezini arttırmak üzere substratı olan L-arjinini oral yoldan ya da nebulize olarak verilebilir (38). NO sentezini arttırmanın bir diğer yolu ise kofaktörü olan BH₄ uygulamasıdır (39).



Şekil 1. L-arjininden NO sentezi

NO sentezinde diğer bir yol ise NOS'tan bağımsız yoldur. Bu yolda bir enzime gerek olmadan nitrit, NO'ya dönüşmektedir. Bu dönüşüm için ortamın asidik olması gerekmektedir. Örneğin; oral alınan nitrat oral flora bakterileri tarafından nitrite çevrilip mideye ilerlemektedir. Midenin asidik ortamında nitrit, NO'ya dönüşmektedir. Bir diğer örnek ise dokuların hipoksik kaldığı durumlarda asidoz gelişmesi ile nitritten NO sentezi olmasıdır (40). NO görevini tamamladıktan sonra nitrat ve nitrite yıkılmaktadır.

2.2.4. Nitrik Oksitin Görevleri

Eskiden toksik bir gaz olduğu düşünülen NO'nun günümüzde nöronal iletişim, kan damarlarının modülasyonu, immün cevap gibi birçok görevi olduğu keşfedilmiştir. İnsan vücudunda en yüksek düzeyde NO, nöronlarda bulunmaktadır. Otonomik sinir sisteminde nonadrenarjik, nonkolinerjik

nörotransmitter olarak görev alır. Bu nonadrenarjik, nonkolinerjik yolla NO serebral, gastrointestinal, ürogenital, respiratuvar damarlarda düz kas gevşemesi gibi önemli bir rol oynamaktadır. Bu mekanizmadaki bozukluk sonucu migren, NEK, öğrenme ve hafıza bozuklukları, inme gibi hastalıklara zemin hazırlamaktadır (41). NO, süperoksit radikallerinin vasküler salınımını azaltıp düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu inhibe ettiğinden endojen anti aterosjenik molekül olarak da adlandırılmaktadır (42).

NO'nun vasküler hemostazda önemli bir düzenleyici olduğunun anlaşılmasının ardından, en büyük klinik yansıma primer persistan pulmoner hipertansiyonu olan yenidoğanlarda inhale NO kullanılması olmuştur. İnhal NO kullanılmasıyla beraber yenidoğanların ekstrakorporeal membran oksijenizasyonuna olan ihtiyaç belirgin azalmıştır (43). NO'nun akciğerlerde etkisini gösterdikten hemen sonra kan dolaşımına geçerek milisaniyeler içinde yıkıldığı düşünülüyordu (44). Ancak günümüzde NO'nun metabolitlerinin de akciğerden periferik organlara giderek NO biyoaktivitesi için öncül görevi gördüğü ile ilgili çalışmalar vardır. Yapılan bir çalışmada inhale NO tedavisi alan yenidoğanların bakılan nitrit ve nitrat kan düzeylerinin 2 ve 4 kat kadar arttığı bulunmuştur (45). Nitrit ve nitratın ise bazı mekanizmalar ile yeniden NO'ya dönüştüğü bilinmektedir.

Erişkinler, nitrat ve nitriti gıdalarla almaktadır. Özellikle yer altı suları, yeşil yapraklı sebzeler, tütülenmiş et nitrat ve nitrit açısından zengindir. Ancak fazla alınmaları methemoglobinemi, gastrointestinal kanserler ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı açısından risk oluşturmaktadır (46, 47). Bu nedenlerden ötürü

günlük nitrat ve nitrit tüketimi için sınırlamalar getirilmiştir. DSÖ tarafından belirlenen kabul edilebilir günlük alım, nitrat için 3,7 mg/kg; nitrit için 0,06mg/kg'dır (48). 7 yenidoğan üzerinde yapılan bir çalışmada ise günlük 21mg/kg nitratı tolere ettikleri belirtilmiş ve sadece bir hastada siyanoz görülmeden methemoglobinemi geliştiği bildirilmiştir (49). Yüksek miktarda tüketilmeleriyle ilgili çekinceler olmasına rağmen erişkinlerde hipertansiyonu engellemek adına DSÖ'nün önerdiğinden 5 kat daha fazla nitrat alınabileceğini belirten yayınlar da vardır (50). Yapılan hayvan çalışmalarında nitrat ve nitritin mukozal kan akımını arttırdığı, antimikrobial etkinlik gösterdiği, kalp krizi ve inmeye karşı koruyucu olduğu saptanmıştır (51-53). Yine erişkinler üzerinde yapılan çalışmalarda kan basıncını düşürdüğü, platelet agregasyonunu inhibe ettiği, kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı, vasküler komplianceyi iyileştirdiği gösterilmiştir (54-56). Non steroid anti inflamatuvar ilaçların ratların gastrointestinal sistemlerinde neden olduğu ülserlere diyetle alınan nitratın yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (57).

2.2.5. Nitrik Oksit Döngüsü

Vücuttaki nitrat ve nitritin büyük kısmı diyetle alınmaktadır. Erişkinde tükrükteki nitrat konsantrasyonu plazmadakinin yaklaşık 10 katı kadardır. Bu da kandan tükrük bezlerine aktif transport ile nitratın taşındığını düşündürmektedir (58). Oral alınan nitrat ağızda yerleşen flora elemanı simbiyotik bakteriler (*Veillonella*, *Actinomyces*, *Rothia*, *Staphylococcus* türleri) tarafından nitrat redüktaz enzimi ile nitrite indirgenmektedir. *Veillonella* ve *Actinomyces*

yenidoğanın oral florasında ilk kolonize olan bakterilerdir (59). Bu bakteriler olmasına rağmen oral nitrat redüktaz aktivitesi yenidoğanlarda erişkinlere göre düşüktür. Bu düşüklüğün nedeninin bilinmemesine rağmen bakterilerin sayıca az olması, bakterilerin nitrat redüktaz kapasitesinin yetersizliği ya da kofaktör eksikliği bazı etkenler olabilir. Yenidoğanların tükürüğünde bakılan nitrat redüktaz aktivitesinin ilk 5 günde ölçülebilir düzeyde olmadığı, 2-8 haftalardaki düzeyinde erişkinin ancak %10'u kadar olduğu saptanmıştır (60). Oral nitrat verilen ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada antiseptik ağız yıkama sonrası gastrik NO, plazma nitrit düzeyi ve mide mukus kalınlığında azalma, kan basıncında yükselme görülmüştür (61). Nitrit, midenin asidik ortamında NOS'tan bağımsız olarak NO'ya dönüşmektedir (62). Gastrik NO; vazodilatasyon, mukus salgısında artış, platelet agregasyon inhibisyonu, inflamatuvar sinyal yolağının modülasyonu gibi birçok değişime yol açar. En önemli görevlerinden biri ise Salmonella, Shigella, Helicobacter pylori, Escherichia coli, Yersinia enterocolitica, Clostridium difficile, ve Candida albicans gibi enteropatojenlerin etkisiz hale getirmesidir (63, 64).

2.2.6. Nitrik Oksit ve Klinik Önemi

Son yıllarda NO ile ilgili çalışmalar giderek artmaktadır. Bu çalışmalar sadece neonatoloji alanında değil kardiyoloji, nefroloji, gastroenteroloji gibi birçok alanda yapılmaktadır. Myokard infarktüsü ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Bir çalışmada koroner reperfüzyon öncesinde ve esnasında NO inhalasyonu mikrovasküler perfüzyonu iyileştirdiği ve infarkt alanını küçülttüğünden, myokard infarktüsünün yeni ve cazip bir tedavisi olarak

önerilebileceği söylenmektedir (65). Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada iskemi sonrası reperfüzyon döneminde 40 ya da 80 ppm NO solutmak myokard infarktüs alanında ciddi küçülme ve sol ventrikül fonksiyonunda iyileşme sağladığı gösterilmiştir (66). İn hale NO tedavisi denen en başka bir grup ise karaciğer nakil hastalarıdır. Nakil sonrası yüksek konsantrasyonda (80ppm) NO verilen hastalarda hastanede kalış sürelerinin kısaldığı, serum transaminazlar ve koagülasyon zamanlarının daha hızlı düzeldiği saptanmıştır (67). Kronik böbrek hastalarının NO düzeyinin kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun da kronik böbrek hastalarında hipertansiyonun bir nedeninin NO düşüklüğü olabileceği düşünülmektedir (68).

2.3. Asimetrik Dimetilarjinin

2.3.1. Asimetrik Dimetilarjinin Tarihçesi

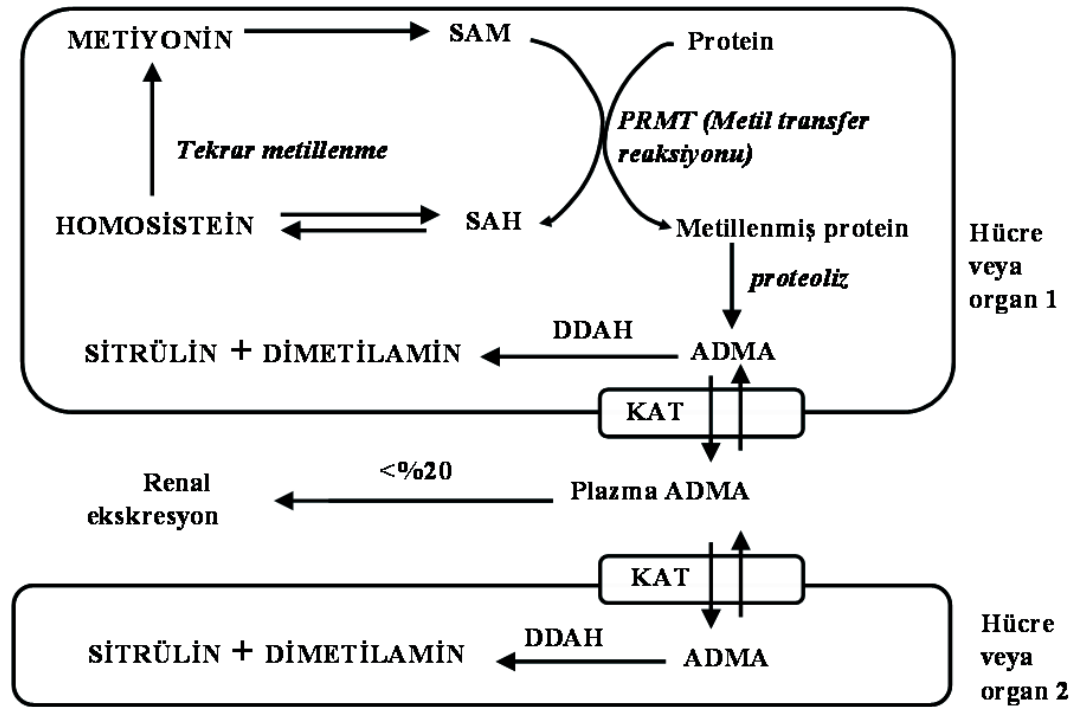
ADMA, endojen bir NO inhibitörüdür. ADMA'nın keşfi 1970 yılına dayanmaktadır. İlk olarak idrarda metillenmiş arjininler görülmüştür (69). Daha sonra ise 1992 yılında Vallance ve ark. ADMA'nın NOS için L-arjinin ile yarıştığını ve endojen kaynaklı bir NO inhibitörü olduğunu göstermişlerdir (70).

2.3.2. Asimetrik Dimetilarjinin Sentez ve Yıkımı

ADMA bir metil arjinin türevidir. Bu grupta ADMA dışında simetrik dimetilarjinin (SDMA), NG monometil arjinin (L-NMMA) da bulunmaktadır. Metil arjininler proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyonu ile metillenmesi sonucu oluşurlar. Metilasyon aşamasında görevli

enzim protein arjinin metil transferaz (PRMT) enzimidir. PRMT enzimi metil vericisi olarak S-adenozil metionini kullanır ve iki alt grubu vardır. Tip 1 PRMT'nin dimetilasyonu ile ADMA, Tip 2'nin dimetilasyonu ile SDMA oluşur. Her iki enzimin monometilasyonu ile de L-NMMA oluşur. ADMA sentezinde son aşama ise metillenmiş proteinin hidrolizlenmesidir. Benzer yapıda olmalarına rağmen ADMA, NOS inhibisyonu yaparken; SDMA yapmamaktadır (71, 72). ADMA sentezinde yan ürün olarak homosistein oluşmaktadır. Bunun sonucu olarak da plazma homosistein ve ADMA düzeyleri arasında pozitif bir ilişki vardır (73). Sentezlenen ADMA'nın büyük bir kısmı (%80-85) sentezlendiği hücrenin içinde dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzimi ile yıkılmaktadır. Yıkım ürünü olarak sitrülün ve dimetilamin oluşmaktadır. ADMA'nın küçük bir kısmı ise katyonik amino asit taşıyıcıları (KAT) ile hücre içinden plazmaya taşınır. KAT mekanizmasındaki bir defekt, plazma ADMA düzeyinde artış ile sonuçlanır. Metilarjininler hücre içine transport için arjinin ile yarışır. ADMA'nın konsantrasyonunun artışı ile arjinin transportu azalır ve bu da NO sentezinde azalmaya neden olur (74). Kan dolaşımına geçen ADMA ise ya böbrekten değişime uğramadan atılmakta ya da karaciğer ve böbrekte tekrar hücre içine alınarak DDAH ile metabolize edilmektedir (Şekil-2) (75). DDAH enziminin aktivitesinin azalması sonucu plazma ADMA düzeyinde artış görülür. ADMA düzeyindeki artış NO sentezinde azalma neden olur ve bu durum da birçok hastalığın patogenezinin sorumludur. DDAH enzim aktivitesi başta karaciğer, böbrek olmak üzere kalp ve iskelet kası, plasenta, eritrosit, akciğer, beyin gibi birçok dokuda gösterilmiştir (76, 77).

DDAH sitozolik bir enzimdir ve bilinen bir kofaktörü yoktur. DDAH enziminin iki izoformu vardır. Bunlardan birincisi 1 nolu kromozomda yer alan genler ile kodlanan DDAH-1, ikincisi ise 6 nolu kromozomdaki DDAH-2'dir. DDAH-1 daha çok nNOS, DDAH-2 ise daha çok eNOS ekspresyonu yapan dokularda bulunmaktadır (75). Sağlıklı insanlarla yapılan bir çalışmada ADMA infüzyonu sonrası bakılan plazma ADMA düzeyleri değerlendirildiğinde ADMA'nın plazma yarı ömrü 24 ± 7 dakika olarak hesaplanmıştır (78).



Şekil 2. ADMA'nın sentez ve yıkımı

2.3.3. Asimetrik Dimetilarjinin ve Süperoksit Radikalleri

DDAH enziminin aktif bölgesinde bulunan sisteinin yükseltgenmesiyle aktivitesi azalmaktadır. Bu yükseltgenmede NO da görev alabilmektedir. Oksidatif stres, inflamasyon gibi süperoksit radikallerinin arttığı durumlarda NO

ile süperoksit radikalleri birleşerek peroksinitrite (ONOO^-) dönüşmektedir. Peroksinitrit ise DDAH enziminin aktif bölgesine bağlanarak aktivitesini azaltmaktadır (79).

2.3.4. Asimetrik Dimetilarjinin ve Endotel Disfonksiyonu

Endotel kaynaklı NO'nun damarların yapısını koruyucu etkisi vardır. Endotel fonksiyonlarını engelleyecek bir harabiyet meydana geldiğinde NO sentezi azalmaktadır. Buna bağlı olarak damar düz kaslarında proliferasyon, lökosit adezyonu, trombosit agregasyonu gelişmekte damar esnekliği azalarak vazodilatasyon kaybı oluşabilmektedir (80).

2.3.5. Asimetrik Dimetilarjininin Klinik Önemi

Böbrek yetmezliği olan hastalarda plazma ADMA düzeyi yükselmektedir. Yapılan bir çalışmada evre 2-3 kronik böbrek hastalığı olan çocuklarda tansiyon yüksekliğine ADMA yüksekliğinin de eşlik ettiği görülmüştür (81). Transplantasyon yapılan kronik böbrek hastalarında ise ADMA düzeyinin nakil sonrası ilk günden itibaren düştüğü saptanmıştır (82).

NO; trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu, düz kas proliferasyonunu inhibe ederek antiaterosklerotik etki göstermektedir. ADMA NO'yu inhibe ettiğinden plazmada artması ateroskleroza yatkınlık yaratmaktadır. Yapılan bir çalışmada vazospastik anjinalı hastalarda bakılan ADMA düzeyleri yüksek, NO düzeyleri ise düşük olarak saptanmıştır (83). ADMA düzeyi ile ventrikül kontraksiyonu ve kalp hızı arasında ilişki tespit edilmiş ve kalp yetmezliğinde

düzeyinin arttığı gösterilmiştir (84). Kalp yetmezliği tümör nekrozis faktör (TNF) α ve okside LDL düzeyleri artışa neden olmakta ve bu artış DDAH aktivitesini azaltan oksidan stresi indükleyerek ADMA düzeyini arttırmaktadır. ADMA düzeyini azaltıp NO düzeyini arttırarak bu etkileri önlemek amacıyla oral L- arjinin desteği verilen hastalarda endotel fonksiyonu, myokard perfüzyonu, anjina, erektil disfonksiyon ve egzersiz toleransında iyileşme görülmüştür (85).

Hücre içinde yıkıma uğramadan kan dolaşımına geçen ADMA'nın bir kısmı karaciğere alınarak burada metabolize edilmektedir. Karaciğer hastalıklarında ADMA yıkılamayarak düzeyi artmaktadır. Karaciğer transplantasyonu sonrası plazma ADMA düzeyi takibi yapıldığında başarılı transplantasyon sonrası düzeyin hızlıca düştüğü, rejeksiyon durumunda ise yüksek kaldığı görülmüş ve bu nedenle karaciğer transplantasyon izleminde belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (86).

Pulmoner hipertansiyon hastalarında hipoksiye bağlı olarak serbest radikallerin oluşumu artmaktadır. Serbest radikaller ise DDAH enziminin aktivitesini azaltarak plazma ADMA düzeyini arttırmaktadır. Gestasyonel yaşı 34 haftanın üzerinde olan 45 yenidoğan üzerinde yapılan bir çalışmada, primer pulmoner hipertansiyonu olan yenidoğanların sağlıklı kontrol grubuna göre daha yüksek ADMA düzeyine sahip oldukları saptanmıştır (87).

İnsülin direnci ve tip 2 diyabetes mellitus nedeniyle izlenen hastalarda ADMA düzeyi yüksek olarak bulunmuştur. Metformin başlanan hastalarda ise ADMA düzeyinin düştüğü görülmüştür (88).

Şok durumunda bakılan ADMA düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Bunun nedenlerinden biri olarak da doku hipoksisi gösterilmektedir. Yoğun bakımda yatan 52 kritik hastanın plazma ADMA düzeyi değerlendirildiğinde ADMA'nın mortalite için güçlü ve bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (89).

Gebelik süresince annede hemodinamik olarak birçok değişiklik olmaktadır. Bu değişiklikler sonucunda NO düzeyinde artış ve ADMA düzeyinde azalmaya bağlı olduğu düşünülen kan basıncında düşüklük gelişmektedir (90). Sağlıklı bir gebede NO artıp ADMA düşerken, preeklampitik gebelerde durum tam tersine dönmektedir. Preeklampsi etiyopatogenezinde endotel disfonksiyonu, trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu, kompleman sistem aktivasyonu olduğu düşünüldüğünde ADMA'nın preeklampsi ile ilişkisi güçlenmektedir. Yapılan birçok çalışmada preeklampitik gebelerde plazma ADMA düzeylerinin sağlıklı gebelere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (91, 92).

Gebelerdeki düzey çalışmalarından sonra yenidoğanlarla ilgili çalışmalar başlamıştır. Tsukahara ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada umbilikal kord kanında ADMA düzeyi bakılmış ve sağlıklı çocuk ve erişkinlere göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca umbilikal kord kanındaki ADMA düzeyinin doğum şekli ve maternal preeklampsiden bağımsız olduğu gösterilmiştir (93).

2.4. Nekrotizan Enterokolit

NEK yenidoğanın yaşamını tehdit eden, sık görülen gastrointestinal sistemin hastalığıdır. Azalmış gastrointestinal kan akımı, mukus bariyerde

incelme ve delinme, patojenik bakteri invazyonu ile karakterizedir. Gastrointestinal sistemin her yerini tutabilir. Fokal, multifokal, panintestinal kanama, ülserasyon ve nekroz yapabilir (94).

2.4.1. Epidemiyoloji

Amerika'da NEK sıklığı her 1000 canlı doğumda 1-3'tür. Yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda sıklığı artarak %2-4'e kadar yükselmektedir (95). Türkiye'de NEK sıklığı ile ilgili bir çalışmada %3,8, bir diğesinde ise %6 olarak saptanmıştır (96, 97). NEK prematür ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hastalığıdır. NEK tanısı alan hastaların %90'ından fazlası 2000gr, %48'i ise 1500gr'ın altındadır. Yapılan bir çalışmada NEK tanısı alan bebeklerin ortalama gestasyonel yaşları 30-32 hafta olarak saptanmıştır (98). NEK'in mortalite oranı çok yüksektir. Yenidoğanların doğum ağırlıkları ve gestasyon yaşları azaldıkça mortalite oranı artmaktadır (99). Hastalığın başlama zamanı bir gün ile üç ay arasında değişebilmektedir. Ancak sıklıkla ikinci haftada görülmektedir. Yapılan bir çalışmada yenidoğanların NEK tanısı aldıkları ortalama zamanlar 30 hafta ve daha önce doğanlarda 20.2 gün, 31-33. haftalarda arasında doğanlarda 13.8 gün, 34 hafta ve sonrasında doğanlarda 5.4 gün olarak tespit edilmiştir (95).

2.4.2. Patogenez

NEK'in etiyopatogenezi tam olarak bilinmemekle beraber birçok mekanizma suçlanmaktadır. Ancak NEK ile ilişkisi gösterilen etmenlerden biri

prematüritedir. Bunun nedeni ise bağırsağın yapısal ve fonksiyonel olarak yeterli matüritede olmamasıdır. Prematür bebeklerin midelerinin asit salımını yetersizdir ve bağırsakların mikrovillüs membranlarının geçirgenliği yüksektir. Gastrik pH'nın yüksek olması burada yararlı mikroorganizmaların azalmasına ve patojen etkenlerin kolonizasyonuna yol açmaktadır (100). Prematüritenin getirdiği bir diğer sorun ise immün sistemin de yetersiz oluşudur. Yenidoğanın bağırsağında salgısal Ig A ve T lenfosit sayılarında düşüklük saptanmıştır (101).

NEK gelişiminde etkili bir diğer etmen ise beslenmedir. Enteral beslenmeye erken dönemde ve fazla miktarda başlanması bağırsakların oksijen ihtiyacında artışa neden olmaktadır. Enteral beslenmede kullanılan anne sütü değil de hiperosmolar mamalar olduğunda NEK gelişme riski belirgin olarak artmaktadır. Anne sütü lenfosit, makrofaj, laktoferrin, lizozim, sekretuar Ig A, kompleman yönünden zengin olduğundan NEK'i önleme açısından çok önemlidir (102). Prematür bebeklerin bağırsak motilitesi termlere göre yavaştır. Bu duruma mama ile beslenme eklendiği zaman sindirilemeyen mama, bakteriler için substrat oluşturmakta ve NEK'e zemin hazırlamaktadır (95).

NEK ile ilişkili mekanizmalardan en önemlilerinden biri de bağırsak kan akımıdır. Bağırsak kan akımının düzenlenmesinde hedef, dokular için optimum oksijen ve besin sağlamaktır. Bu kontrolde en önemli mediatörler endotelin-1 ve NO'dur. Endotelin-1 damar düz kaslarında bulunan reseptörleri aracılığıyla vazokonstrüksiyona neden olur. NO ise endotelin-1'in tam tersi olarak vazodilatasyona neden olmaktadır. Bağırsak damar düz kaslarında vazokonstrüksiyon ve vazodilatasyon arasında bir denge vardır ve bu denge

bağırsak kan akımını düzenlemektedir. Yenidoğanlarda bu denge bir miktar NO ve vazodilatasyon lehinedir. Hipoksi, endotel disfonksiyonu, bozulmuş kan akımı gibi durumlarda bu denge vazokonstrüksiyon tarafına kaymakta ve NEK gelişimine zemin hazırlamaktadır (103).

Hipoksik iskemik hasarın, NEK patogeneğinde en önemli etmen olduğu düşünülmektedir. Yenidoğanlarda hipoksi, asidoz, hipotansiyon, hipotermi gibi dolaşımı bozan durumlarda vücut refleksi olarak kanı kalp ve beyin gibi hayati organlara yönlendirmektedir. Böylelikle bağırsakları besleyen splenik damarlarda şiddetli bir vazokonstrüksiyon meydana gelmekte ve bu durum iskekiye sonuçlanabilmektedir. Bu reflekse diving refleksi denmektedir (104). İskekiye sonrası reperfüzyon aşamasında serbest oksijen radikallerinin artması üzerine TNF α , platelet aktive edici faktör gibi inflamatuvar mediatörler salınarak mukozal hasarı arttırmakta ve NEK'e gidişi hızlandırmaktadır (105).

NEK yenidoğanların bağırsağının steril olduğu dönemde görülmemektedir. Bu durum bakteriyel kolonizasyonun NEK gelişimindeki önemini göstermektedir. Doğum esnasında annenin rektovajinal florası bebeğe geçmekte, laktobasilus ve bifidusbacteria gibi anaerob bakteriler bağırsakta kolonize olmaktadır. Kommensal bakteriler, patojen bakterilere karşı koruyucu rol almaktadır. Probiyotik kullanımı gündeme gelmiş ancak güvenirliliği ile ilgili yeterli çalışma olmadığından kullanımı kısıtlanmıştır (106). NEK tanısı alan hastalardan sıklıkla üretilen bakteriler Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa ve Clostridium difficile'dir. Nadiren fungal ve viral etkenler de izole edilebilmektedir (107).

2.4.3. Klinik Bulgular

NEK'in klinik bulgularını özellikle erken dönemde sepsisten ayırt etmek zordur. En erken bulgu olarak beslenme intoleransı, gastrik retansiyon görülebilir. Abdominal distansiyon, beslenme intoleransı, gastrik rezidülerin artışı, safralı kusma, gaitada makroskopik ya da mikroskopik kan görülmesi NEK'in en sık görülen bulgularıdır. Fizik muayenede ise dilate bağırsak ansları ele gelebilir, karın duvarında renk değişikliği izlenebilir. İlerleyen evrelerde vücut ısısında düzensizlik, apne, bradikardi, hipoglisemi, intestinal perforasyon, şok, asidoz, solunum yetmezliği, multiorgan yetmezliği gelişebilir. NEK semptomları hastanın takvim yaşı ortalama 2-3 hafta olduğunda başlamaktadır (108).

2.4.4. Laboratuvar Bulguları

Klinik bulgularla sepsis ile NEK ayrımını yapmanın güç olduğu gibi laboratuvar bulguları ile de bu ayrımı yapmak zordur. Aynı sepsiste olduğu gibi NEK'te de lökositoz veya lökopeni görülebilir. Yapılan çalışmalarda gram negatif etkenlere bağlı gelişen NEK olgularında lökositozdan ziyade lökopeni geliştiği gösterilmiştir (109). C reaktif proteininde artış görülebilir. Kan tablosunda meydana gelen bir diğer değişiklik ise trombositopenidir. Koagülasyon paramaterelerinde bozukluk, kan şekeri düzensizlikleri, elektrolit bozuklukları, metabolik asidoz NEK tanısı alan hastalarda görülebilecek durumlardır. NEK tanısıyla izlenen hastaların %30-35'inde kan kültürü pozitif olarak saptanmaktadır. En sık üreyen mikroorganizmalar ise Escherichia Coli, Klebsiella

spp, Enterobakter spp, koagulaz negatif stafilokok, Clostridium spp, Pseudomonas aeruginosa ve Candida albicans'tır (110).

2.4.5. Radyolojik Bulgular

NEK tanısında radyolojik tetkiklerin önemli bir yeri vardır. İlk yapılması gereken tetkik direkt grafidir. Direkt grafinin en erken bulgusu bağırsak anslarında dilatasyondur. Bağırsak duvarında incelmeye, hava-sıvı seviyesi, ileus NEK'in diğer erken dönem radyolojik bulgularıdır. Ancak NEK'in patognomonik bulgusu bakteriler tarafından üretilen hidrojenin subseroza ile muskularis mukoza tabakaları arasındaki görünümüdür. İntramural hava venöz yolla portal vene kadar gidebilir. İlerleyen evrelerde nekroz gelişiminden sonra intestinal perforasyon hastaların 1/3'ünde görülmektedir. Bu durumda direkt grafide batın içinde serbest hava görülür (111).

Ultrasonografi ise NEK açısından yapılabilecek bir diğer tetkiktir. Nekroz, batın içi serbest sıvı, portal vende hava ultrasonografi ile değerlendirilebilir. Portal vende hava ultrasonografi ile direkt grafiden daha önce saptanabilir. Portal vende hava görülmesi NEK'in ilerlediğinin göstergesidir ve mortalite ile yakından ilişkilidir (111, 112).

2.4.6. Evreleme

Walsh ve Kliegman tarafından 1986 yılında radyolojik bulguların eklenerek modifiye edilen evreleme günümüzde hala kullanılmaktadır. NEK evrelemesi Tablo-2'de gösterilmektedir (113).

Tablo 2. NEK için Modifiye Bell Evrelemesi

Evre	NEK'in Sınıflandırması	Sistemik Bulgular	İntestinal Bulgular	Radyolojik Bulgular
IA	Şüpheli	Isı düzensizlikleri, apne, bradikardi, letarji	Rezidü kalması, hafif abdominal distansiyon, kusma, gaitada gizli kan pozitifliği	Normal veya barsaklarda hafif dilatasyon, ileus
IB	Şüpheli	Evre IA ile aynı	Gaitada makroskopik kan	Evre IA ile aynı
IIA	Kesin	Evre IA ile aynı	Evre IA ile aynı ek olarak barsak sesleri alınamaz, abdominal hassasiyet +/-	İntestinal dilatasyon, ileus, pnömotozis intestinalis
IIB	Kesin	Evre IIA ile aynı, ayrıca hafif metabolik asidoz, hafif trombositopeni	Evre IIA ile aynı, barsak sesleri yoktur, abdominal hassasiyet vardır, abdominal sellülit veya sağ alt kadranda kitle +/-	Evre IIA ile aynı, asit +/-
IIIA	İleri, perforasyon yok	Evre IIB bulgularına ilaveten hipotansiyon, bradikardi, ciddi apne, kombine metabolik ve respiratuar asidoz, DİK, nötropeni	Evre IIB bulgularına ilaveten peritonit bulguları, abdomende distansiyon ve belirgin hassasiyet	Evre IIB bulguları ile aynı
IIIB	İleri, perforasyon var	Evre IIIA bulguları ile aynı	Evre IIIA bulguları ile aynı	Evre IIIA bulguları ile aynı ayrıca pnömoperitoneum mevcut

2.4.7. Tanı

NEK tanısı klinik ve laboratuvar bulgularına dayanarak konulur. Pnömotozis intestinalis gibi spesifik bir bulgu olduğunda kesin NEK tanısı konulur. İleri evrelerde bağırsak perforasyonu ile beraber pnömoperitoneum

görlür. Direkt grafide gaz görölmemesi, perforasyon ve peritoniti düşündürür (114). Perforasyon şüphesi olan durumlarda parasentez yapılabilir. Aspirasyon ile yeşil, kahverengi içerek gelmesi perforasyon açısından anlamlıdır.

2.4.8. Tedavi

NEK tedavisinde en önemli faktörlerden biri, hastada NEK düşünöldüğü anda tedaviye başlamaktır. İlk yapılması gereken işlem enteral beslenmenin kesilerek gastrik dekompresyona başlanmasıdır. Medikal tedavide amaç bağırsakları dinlendirmek, enfeksiyonu kontrol etmek, ileri evrelere geçişi önlemek ve metabolik dengeyi koruyarak destek tedavileri uygulamaktır. NEK tanısı alan hastaların çoğunda medikal tedavi yeterli olmaktadır. Enfeksiyonu kontrol etmek adına ampirik antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Tedavide bir penisilin türevi, bir aminoglikozid türevi ve anaerob etkinliğe sahip bir antibiyotik kombinasyonu tercih edilmelidir. Tedavi 10-14 güne kadar verilmelidir. Bu hastalarda trombositopeni, anemi gelişebileceğinden transfüzyon ihtiyacı açısından yakın takip edilmelidir (115).

Medikal tedavinin yeterli olmadığı bazı durumlarda cerrahi tedavi gerekmektedir. Acil cerrahi tedavinin en önemli endikasyonu intestinal nekroz ve perforasyondur. İntestinal perforasyon en sık terminal ileumda izlenmektedir. Karın duvarında eritem, abdominal kitle, portal vende gaz görölmesi diğer cerrahi tedavi endikasyonlarıdır. Cerrahi tedavi iki aşamalıdır. İlk aşamada nekrotize bağırsak bölgesi rezeke edilerek proksimal kısım dışarı ağızlaştırılmaktadır. İkinci aşamada ise hastanın genel durumu düzeldikten sonra reanastamoz yapılır. Çok

düşük doğum ağırlığı olan veya cerrahi müdahaleyi tolere edemeyecek hastalarda periton drenajı uygulanabilir (116). Perforasyon gelişmeden opere edilen hastalarda mortalite oranı %30 iken perforasyon sonrası opere edilen hastalarda %64'e kadar yükselmektedir (117).

2.5. İskemi Reperfüzyon Hasarı ve Nitrik Oksit

İskemi; kan akımının azalmasına bağlı dokuların yetersiz perfüzyonu sonucunda ihtiyacı olan oksijenin dokulara sunulamamasıdır. Hücresel enerji depolarının tükenmesi ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucunda hücrenin ölümüne neden olabilmektedir. İskemi sonrası yeniden kan akımı sağlandığında dokularda beklenenin tam aksine iskemi ile oluşan hasardan daha ciddi düzeyde hasar gelişebilmektedir. İskemi reperfüzyon hasarının fizyopatolojisi ile ilgili birçok mekanizma vardır. Reperfüzyon esnasında gelişen hasarda en önemli mekanizmalardan biri oksijenin hücre içine girmesiyle beraber oluşan serbest oksijen radikalleridir. İskemik dönemde hücre içinde birçok değişiklik meydana gelmektedir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile beraber hücresel oksidatif fosforilasyon azalır. Hücrenin enerji depolarının boşalması üzerine hücre zarında bulunan Na-K-ATPaz pompası çalışmaz ve hücre içi sodyum ve kalsiyum konsantrasyonu artar. Hücre içi kalsiyumun artması sitotoksik bir olaydır (118). Yine bu dönemde adenosin trifosfat (ATP) üretimi durmasına rağmen yıkımı devam etmektedir. Yıkım ürünü olan adenosin, diffüzyonla hücre dışına çıkarak inozin ve hipoksantine yıkılır. Hipoksantin ise ksantin ve ürik aside parçalanır. Normal şartlarda bu reaksiyonun elektron alıcısı nikotinamid adenin dinükleotid

(NAD)dir. Ancak iskemi anında ise elektron alıcısı olarak moleküler oksijen kullanılır ve serbest oksijen radikali oluşur. Serbest radikal hasarına karşı koruyucu antioksidan bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksit indirgenir. Hidrojen peroksit ise ya katalaz ve glutatyon peroksidaz aracılığıyla toksik olmayan ürünlere ya da geçiş metalleri yardımıyla Fenton reaksiyonu ile toksik olan hidroksil radikallerine dönüşür. Hidroksil radikali reaktif ve toksiktir. Büyük molekül yapısı ve elektronegativitesi nedeniyle DNA, protein, karbonhidrat ve lipitler gibi yapılarla reaksiyona girerek bu yapılarda oksidatif hasara neden olur (119).

İskemi döneminde hücre içi iyon konsantrasyonundaki değişiklikler sonucunda proinflatuvar sitokinlerin salımında artışa bağlı olarak lökosit adezyon moleküllerinin yapımında da artış meydana gelir. Endotel hücreleri ve lökositlerdeki adezyon molekülleri arasındaki etkileşim ile lökosit transmigasyonu gerçekleşir. Aktif lökositler hasar bölgesine doğru göç ederler ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve TNF α sentezine yol açarlar. Aktif lökositler salgıladıkları maddelerle oluşturdukları hasar dışında intravasküler alanda agregat oluşturarak ve trombositler ile birlikte endotele yapışarak mikrovasküler tıkanmaya neden olurlar (120). Bunun dışında nötrofiller içerdikleri granüllerde oksidan etkili NADPH oksidaz, elastaz ve myeloperoksidaz enzimlerini taşımaktadırlar. Bu enzimler aracılığıyla nötrofiller iskemi reperfüzyon durumunda serbest radikallerin salımına neden olurlar.

İskemi reperfüzyon hasarında kompleman sisteminin de rolü olduğu düşünülmektedir. Kompleman sisteminin tam olarak nasıl aktive olduğu

bilinmemektedir. Ancak kompleman sistemin aktivasyonu proinflamatuvar süreci tetiklemektedir. C3a, C5a, iC3b ve C5b-9 salımını ile lökosit aktivasyonu gerçekleşir ve kemotaksis uyarılır. C5b-9 endotel bağımlı vazodilatasyonu, siklik guanozin monofosfatı azalatarak inhibe etmektedir (121).

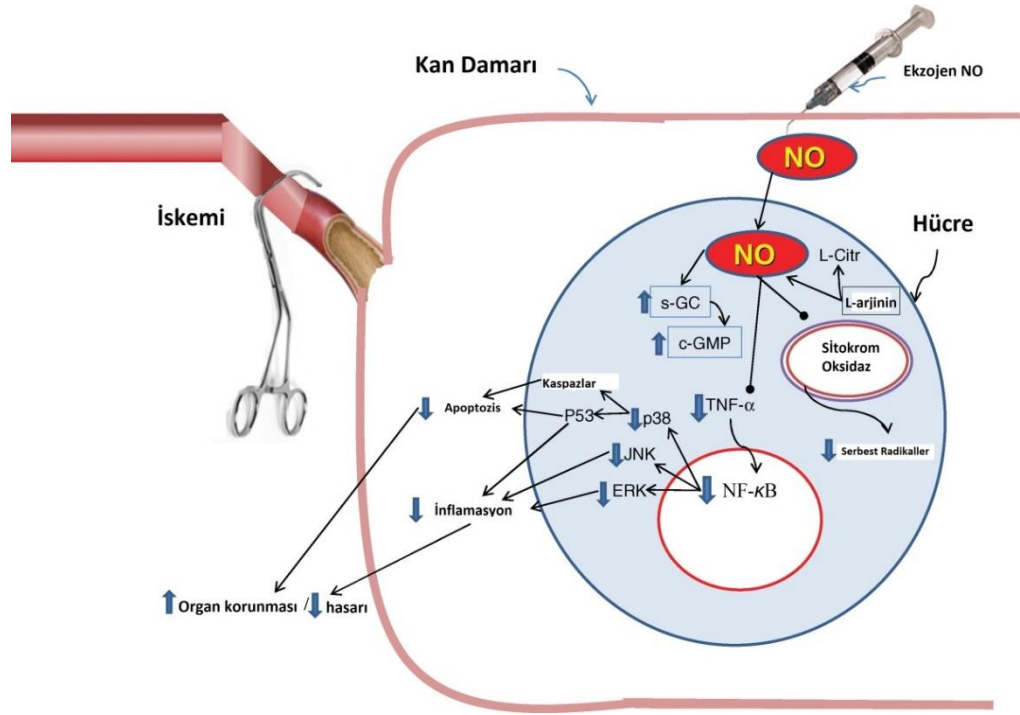
Endotel hücreleri iskemi reperfüzyon hasarında önemli bir role sahiptir. Oksidatif stres, endotel hücrelerin fonksiyonunu bozmaktadır. Endotel hücreleri, süperoksit radikalleri için hem hedef hem de kaynak konumundadır. Mikrovasküler hemostazda görevli endotelin-1 ve NO endotel hücrelerinden salınmaktadır. İskemi esnasında endotel hücrelerde fonksiyon kaybı gerçekleştiğinde NO ve endotelin-1 arasındaki denge endotelin-1 lehine bozulmaktadır ve damarlarda vazokonstriksiyon gelişmektedir (122).

NO'nun iskemi reperfüzyon hasarında antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir. NO antioksidan etkisini süperoksit anyonları peroksinitrite çevirerek göstermektedir. Peroksinitrit ise süperoksit radikalleri temizlede rol almaktadır. NO ayrıca iskemi durumunda sitokrom-c oksidaza bağlanarak mitokondrial solunumu inhibe etmektedir. Böylece iskemi anında hasarın şiddetinde önemli role sahip olan oksijen radikallerinin üretimini azaltmaktadır (123).

NO'nun iskemi reperfüzyon hasarından koruyucu bir diğer özelliği ise nötrofil infiltrasyonunu önlemek ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltmaktır. NO, proinflamatuvar sitokinlerin en önemlilerinden TNF α ve interlökin 1 (IL1)'i inhibe etmektedir. Yapılan bir hayvan çalışmasında böbrekte iskemi reperfüzyon yaratıldıktan sonra NO donörü olan molsidomin intrarenal

olarak verilmiş ve 48 saat sonra bakılan TNF α düzeylerinin anlamlı olarak düştüğü saptanmıştır (124). Ayrıca TNF α , inflamatuvar cevabı da içeren bir gen bölgesinin transkripsiyon faktörü olan NF- κ B'yi de aktive etmektedir. NO'nun proinflamatuvar sitokinler dışında vasküler hücresel adezyon molekül-1 (VCAM-1), hücreler arası adezyon molekül-1 (ICAM-1), endotelial lökosit adezyon molekül (E-selektin) gibi adezyon moleküllerini de azaltmaktadır.

NO'nun antiapoptotik etkisi bulunmaktadır. Bu etkiyi p53 gen ekspresyonunu azaltarak yapmaktadır. Bir hayvan çalışmasında iskemi reperfüzyon hasarı sonrasında p53 gen ekspresyonunun arttığı saptanmıştır. Yine bu çalışmada ekzojen NO donörü verildiğinde p53 gen ekspresyonu ve apoptozisin azaldığı görülmüştür (125). p53, kaspaz aracılı apoptozise neden olmaktadır. NO, mitojen aktive protein kinazların (MAPK) düzenleyicisidir. MAPK'lar hücre farklılaşması, proliferasyonu ve apoptozunda görevli gen ve protein ekspresyonunda iletişimi sağlamaktadırlar. Hücre dışı sinyal düzenleyici kinazlar (ERK), c-Jun N-terminal kinaz (JNK) ve p38 kinazlar en önemli MAPK'lardır (126). Tavşanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kondrosit apoptozunda NO düzenleyici olduğu p38 sinyal iletiminin etkin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca p38'in NF- κ B, p53 ve kaspaz-3'ü stimüle ettiği ve bu faktörlerin apoptoz üzerinde etkili olduğu saptanmıştır (127). Bu nedenlerle MAPK'ların inhibe edilmesiyle inflamatuvar yanıtın iletiminin durdurularak iskemi reperfüzyon hasarının azaltılabileceği düşünülmektedir (Şekil-3).



Şekil 3. NO ve NO'nun hücre sinyal yolağına etkisi

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Numunelerin Toplanması

Aralık 2014 – Mart 2015 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde doğmuş bebeklerin anneleri çalışmaya alınmıştır. Kronik hastalığı olan veya preeklampsi tanısı alan anneler dışlanmıştır. Çalışmaya katılan her bir anneden postpartum 3, 7 ve 28. günlerde olmak üzere toplam üçer anne sütü alınmıştır. Belirtilen günlerde tek göğüsleri vakumlu süt pompası (Medela Mini Electric) yardımıyla tamamen boşaltılarak sağılan süt çalkaladıktan sonra bir enjektör yardımıyla 4cc'lik kısmı cam tüpe konulmuştur. Numuneler +4° C'de, en geç 12 saat içinde, buz aküleri ile laboratuvara ulaştırılmıştır.

3.2. Anne Sütlerinin Sınıflandırılması

Çalışmaya toplam 26 bebeğin annesi alınmıştır. Her anneden 3,7 ve 28. günlerde olmak üzere üçer numune alınarak toplamda 78 numune ile çalışma tamamlanmıştır. 3. gün sütleri kolostrum, 7. gün sütleri geçiş sütü ve 28. gün sütleri olgun süt olarak adlandırılmıştır. 34 gebelik haftası ve altında doğanlar preterm, 34-37 hafta arası doğanlar geç preterm ve 37 hafta ve üzeri doğanlar term olarak kabul edilmiştir.

3.3. Analiz

3.3.1. Sütün Ön Hazırlığı

Numuneler labaratuvara ulaştığında +4°C’de, 4000devir/dakikada, 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Yüzeydeki yağ tabakası ince bir enjektör yardımıyla geçilerek süpernatant kısım alınmıştır. Süpernatant kısım, ependorf tüplerine konularak analiz edilinceye dek -80°C’de saklanmıştır.

3.3.2. Nitrik Oksit Yıkım Ürünlerinin Ölçümü

NO’nun yarı ömrünün çok kısa olması nedeniyle yıkım ürünleri olan nitrit ve nitrat, NO indikatörü olarak kullanılmaktadır. Anne sütünde nitrit ve nitrat ölçümünde diazotizasyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre nitrat öncelikle nitrat redüktaz aracılığıyla nitrite dönüşmektedir. Ardından nitrit ve sülfanilamid asit ortamda N-etilendiamin ile reaksiyon vererek pembe renkli kompleks oluşturması ve bunun 540nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyon Griess reaksiyonu olarak bilinmektedir. Absorbans ölçümünde kullanılan cihaz Model ELx 800 Bioelisa Microplate Reader Biokit, Spain’dir.

3.3.3. Asimetrik Dimetiltarjinin Ölçümü

Anne sütünde ADMA düzey ölçümü, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapılmıştır. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı Shimadzu LC, Japonya’dır. Analitik kolon olarak Phenomenex Hypersil marka, C18 ODS-2, 4,6 x 150 mm boyutlarında 5 µm partikül büyüklüğünde

kolon ve koruyucu kolon olarak Phenomenex C18 ODS-2 partikül büyüklüğü 5 µm olan kartrij kullanılmıştır.

3.3.4. İstatistiksel Analiz

26 anneden toplanan 78 anne sütünün analizinden elde edilen veriler SPSS 16.0 paket programına girilmiştir. Anne sütünün postnatal güne göre değişimi analiz edilirken veriler bağımlı olduğundan ve normal dağılım göstermediğinden non-parametrik test olan Friedman Testi kullanılmıştır. Veriler arasında anlamlı farklılık saptanması durumunda ($p < 0,05$) gruplar arası karşılaştırmalar için Wilcoxon İşaretli Sıralar Testi kullanılmıştır. Gestasyonel yaşa göre NO ve ADMA düzeyleri analiz edilirken veriler bağımsız olduğundan ve normal dağılım göstermediğinden bir diğer non-parametrik test olan Kruskal Wallis H Testi kullanılmıştır.

3.4. Etik Kurul Onayı

Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 08.12.2014 tarih ve 527 sayılı karar ile onay alınmıştır. Çalışmaya katılmadan önce annelere sözlü ve yazılı olarak çalışma hakkında bilgi verilip onam alınmıştır.

4. BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde doğum yapan 26 anne çalışmaya alınmıştır. Anneler 34. gebelik haftası ve öncesinde doğum yapanlar (preterm grup,n=9), 34 ve 37. gebelik haftaları arasında doğum yapanlar (geç preterm grup,n=8) ve 37. gebelik haftası ve sonrasında doğum yapanlar (term grup,n=9) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Çalışmaya katılan annelerin ortalama yaşı $29,5 \pm 4,2$ yıl olarak hesaplanmıştır. Yine çalışmaya katılan tüm annelerin ortalama gebelik süresine bakıldığında $35,1 \pm 3,7$ hafta olarak hesaplanmıştır. Çalışmaya katılan annelerin demografik özellikleri Tablo-3'te verilmiştir.

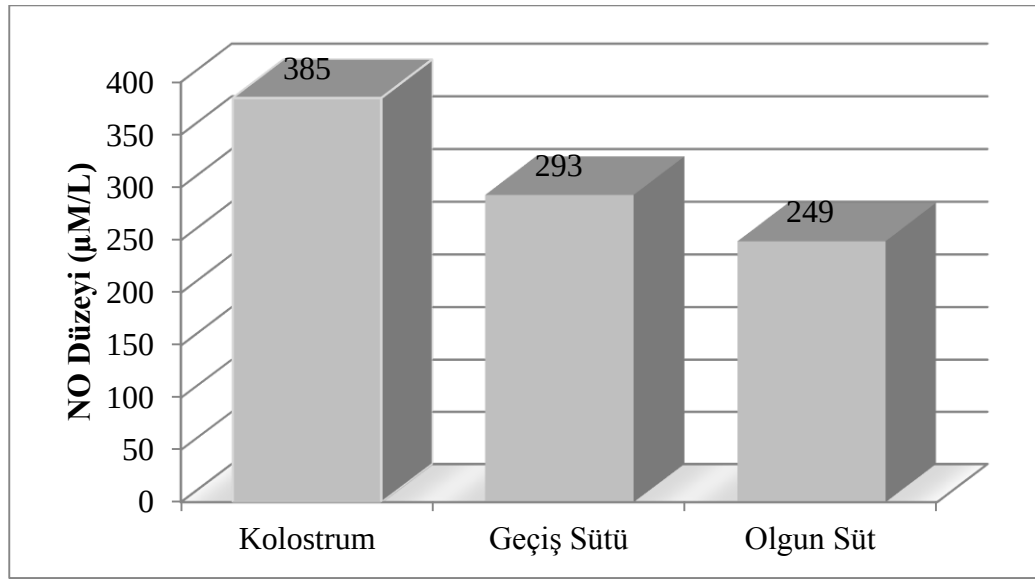
Tablo 3. Çalışmaya katılan annelerin demografik özellikleri

	Preterm (n=9)	Geç Preterm (n=8)	Term (n=9)	Tüm Grup (n=26)
Anne Yaşı (yıl)*	28,5±4,8	29,6±3,9	30,3±4,2	29,5±4,2
Gebelik Süresi (hafta)*	31±2,2	35,7±0,8	39±0,7	35,1±3,7

*Ortalama±Standart Sapma

Anne sütündeki NO düzeyleri gestasyonel yaştan bağımsız olarak sütün postnatal gününe göre karşılaştırıldığında; kolostrum, geçiş sütü ve olgun sütteki NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$). Kolostrumdaki NO düzeyi, geçiş sütü ve olgun süte göre belirgin yüksek bulunmuştur. Gruplar ikili olarak karşılaştırıldığında kolostrum ile geçiş sütü

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,035$). Benzer şekilde kolostrum ile olgun süt arasında da istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$). Ancak geçiş sütündeki NO düzeyi, olgun süte göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,110$). Kolostrum NO düzeylerinin ortalama değeri 0,385 mM/L, geçiş sütünde 0,293 mM/L ve olgun süte 0,249 mM/L olarak bulunmuştur. Anne sütündeki NO düzeylerinin postnatal günlere göre değişimi Tablo-4 ve Şekil-4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Anne sütündeki NO düzeylerinin postnatal günlere göre değişimi

Gestasyonel yaştan bağımsız olarak anne sütleri postnatal güne göre kolostrum, geçiş sütü ve olgun süt olarak üç gruba ayrılarak ADMA düzeyleri karşılaştırıldığında olgun süte ADMA düzeyleri bir miktar yüksek olsa da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,115$). Anne

sütündeki ADMA düzeylerinin postnatal günlere göre değişimi Tablo-4'te verilmiştir.

Tablo 4. Kolostrum, geçiş sütü ve olgun sütteki NO ve ADMA düzeylerinin karşılaştırılması

	Kolostrum (n=26)*	Geçiş Sütü (n=26)*	Olgun Süt (n=26)*	p
NO (mM/L)	0,385 (0,193-0,546)	0,293 (0,197-0,597)	0,249 (0,114-0,521)	0,001
ADMA (µM/L)	0,204 (0,058-0,766)	0,415 (0,162-0,862)	0,531 (0,333-0,844)	0,115

*Ortanca (En düşük değer – En yüksek değer)

NO düzeyleri annelerin gestasyonel yaşına göre üç gruba (preterm, geç preterm, term) ayrılarak karşılaştırılmıştır. Preterm grubun ortanca değeri 0,296mM/L, geç preterm grubun 0,353mM/L ve term grubun 0,272mM/L olarak bulunmuştur. Gestasyonel yaşa göre NO düzeyleri karşılaştırıldığında preterm, geç preterm ve term gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,429). Anne sütündeki NO düzeylerinin gestasyonel yaşa göre değişimi Tablo 5'te gösterilmektedir.

Anne sütündeki ADMA düzeyleri gestasyonel yaşa göre preterm (≤ 34 hafta), geç preterm (34-37 hafta) ve term (≥ 37 hafta) olarak üç gruba ayrılarak

karşılaştırılmıştır ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,865). Anne sütündeki ADMA düzeylerinin gestasyonel yaşa göre karşılaştırılması Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 5. Preterm, geç preterm ve term grupların NO ve ADMA düzeylerinin karşılaştırılması

	Preterm (n=27)*	Geç Preterm (n=24)*	Term (n=27)*	p
NO (mM/L)	0,296 (0,172-0,546)	0,353 (0,114-0,597)	0,272 (0,197-0,497)	0,429
ADMA (µM/L)	0,402 (0,136-0,799)	0,294 (0,058-0,862)	0,519 (0,123-0,766)	0,865

*Ortanca (En düşük değer – En yüksek değer)

5. TARTIŞMA

Anne sütündeki NO düzeyleri incelendiğinde en yüksek düzeyin kolostrumda olduğu görülmektedir. Bu durum kolostrumun yenidoğanlar açısından önemini göstermektedir. Annelerden 3, 7 ve 28. günlerde alınan sütlerdeki NO düzeyleri karşılaştırıldığında en yüksek düzeyin 3. günde olduğu saptanmıştır. 3. günden sonra ise NO düzeyi giderek azalmakta ve en düşük düzeyin 28. günde olduğu görülmektedir. NO'nun NEK ve iskemik reperfüzyon hasarı etiyopatogenezinde rolü olduğu bilinmektedir. Yenidoğanların NEK tanısını aldıkları ortalama zamanlara bakıldığında sıklıkla ikinci hafta olduğu görülmektedir. Prematür yenidoğanların NEK tanısı aldıkları zamanın, anne sütündeki NO düzeylerinin düşüş gösterdiği döneme denk gelmesi, NEK gelişiminde NO'nun alım azlığının payının olabileceğini düşündürmektedir. Ratlar üzerinde yapılan iki deneyde nitrit ve nitrattan fakir diyet ile beslenenlerin, plazma nitrit ve nitrat konsantrasyonlarında yaklaşık %50'lik bir düşüş olduğu görülmüştür (128, 129). Anne sütündeki nitrit ve nitrat miktarlarının analiz edildiği bir çalışmada, yenidoğan yoğun bakımda yatan bebekler ile erişkinler kıyaslanmıştır. Bir yenidoğan ortalama 150 ml/kg/gün anne sütü ile beslendiğinde 0,0007 mg/kg/gün nitrit ve 0,12 mg/kg/gün nitrat tüketmektedir. Bu değerler bir erişkin ile karşılaştırıldığında; bir yenidoğan, günlük olarak erişkinlerin %0,6'sı kadar nitrit ve %5'i kadar ise nitrat tüketmektedir. Bu fark parenteral yolla beslenen yenidoğanlarda daha da artmaktadır (130).

Yenidoğanların düşük miktarda nitrit ve nitrat tüketmeleri yanında bazı dezavantajları vardır. Yetişkinlerde nitrat ağızdaki flora elemanı bakteriler

tarafından nitrite çevrilmektedir. Ancak yenidoğanlarda bu flora gelişmediğinden nitrite dönüşüm ilk günlerde gerçekleşmemekte sonraki günlerde ise kısıtlı bir dönüşüm olmaktadır. Kısıtlı oral alım ve yetersiz nitrite dönüşüm nedenlerinden ötürü yenidoğanların midesine yetişkinlere oranla çok düşük miktarda nitrit ulaşmaktadır. Mideye ulaşan nitrit ise düşük pH'nın etkisi ile NO'ya dönüşmektedir. Ancak bu basamakta da yenidoğanların bir dezavantajı daha ortaya çıkmaktadır. Bunun nedeni ise yapılan çalışmalarda yenidoğan mide pH'sının yetişkinlere oranla daha yüksek saptanmış olmasıdır (131). Ayrıca düşük pH bakteriyel translokasyonu azaltmaktadır. Midedeki nitrit NO'ya dönüşerek, mukus sekresyonunu ve mukozal kan akımını arttırmakta, bakterileri öldürerek antimikrobiyal etkinlik göstermekte ve iskemik reperfüzyon hasarına karşı koruyucu rol üstlenmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı NO'nun midede yeterli miktarda olması durumunda NEK'e karşı koruyucu olduğunu söylemek mümkündür.

NO biyoaktivitesi dokuları iskemik strese karşı korumaktadır. Plazmadaki nitrit, NO biyoaktivitesi için rezervuar görevi görmektedir. Yapılan hayvan çalışmalarında plazma nitrit seviyesinin artmasının, dokuları hipoksik iskemik strese karşı 2-3 kata kadar koruduğu gösterilmiştir (132). 138 prematür yenidoğanın dahil edildiği bir çalışmada 70 hastaya inhale NO ve 68 hastaya plasebo verilmiş ve bu gruplar 2 yıllık izlemde Bayley Testi'ne göre değerlendirilmiştir. Sonuç olarak inhale NO alan grupta bilişsel fonksiyonlarda kötüleşme riskinin %47 azaldığı gösterilmiştir (133).

Ulaştığımız sonuçlara benzer olarak Jones ve arkadaşları, Çekmen ve arkadaşları, Hones ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda da kolostrumdaki nitrit düzeyi olgun süte göre, istatistiksel olarak anlamlı şekilde, yüksek bulunmuştur (130, 134, 135).

Yenidoğanlarda gestasyonel yaş azaldıkça NEK sıklığı artmaktadır. Bu durumun nedenlerinden biri gestasyonel yaş azaldıkça anne sütündeki NO düzeyinin azalması olabileceği düşünülmüştür. Ancak anne sütündeki NO düzeylerini gestasyonel yaşa göre karşılaştırdığımızda preterm, geç preterm ve term gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,429$). Literatürde anne sütündeki NO düzeyleri ile ilgili preterm ve term grupların karşılaştırıldığı tek çalışma vardır (130). Bu çalışmada, bizim çalışmamızın aksine pretermilerin anne sütündeki NO düzeyi termlere göre daha düşük saptanmıştır. Çalışmamızdaki gibi sınırda preterm olarak bilinen 34-37 hafta arası doğan yenidoğanları ayrı bir grup olarak kabul edildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

ADMA, L-arjininden NO sentezini gerçekleştiren NOS'un yarışmalı inhibitörüdür. Vasküler disfonksiyona neden olan durumlarda plazma ADMA düzeyi artarak NO sentezini azaltmaktadır. Kardiyovasküler hastalığı, kronik böbrek hastalığı, kronik karaciğer hastalığı olanlarda, yoğun bakımda izlenen kritik hastalarda ADMA düzeyinin yüksekliği bağımsız risk faktörü olarak görülmektedir. Bu nedenle plazma ADMA düzeyi birçok hastalıkta hastalığın seyri ve mortalite açısından yeni bir belirteç olarak kullanılmaya başlanmıştır. 153 hastanın dahil edildiği bir çalışmada anjina şikayeti ile başvuran ve perkütan

koroner anjiyografi işlemi yapılan hastaların ortalama 16 ay boyunca plazma ADMA düzeyleri takip edilmiş ve yüksek plazma ADMA düzeyleri ile mortalite, myokard iskemisi ve restenoz arasında ciddi bir ilişki saptanmıştır (136). Yapılan bir başka çalışmada ise kronik böbrek hastalığı olan hastalarda yüksek plazma ADMA düzeyleri ile son dönem böbrek yetmezliğine ilerleme ve mortalite arasında ilişki olduğu, ADMA'nın bağımsız ve güçlü bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir (137). Tüm bu veriler ışığında anne sütünde ADMA'nın NO inhibisyonu yaparak NEK gelişiminde rolü olabileceği ve ADMA'nın belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda anne sütünde NO düzeyleri yanında ADMA düzeyleri de çalışılmıştır. Anne sütleri gestasyonel yaşa göre preterm, geç preterm ve term gruplara ayrıldığında ADMA düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,865$). Anne sütünde ADMA düzeyi ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma bulunmamakla beraber bir editöre mektup şeklinde yazı vardır. Bu yazıda 15 term doğum yapan anneden anne sütü alınarak ADMA düzeyleri çalışılmış ve ADMA düzeyleri ile gestasyonel yaş arasında pozitif korelasyon olduğu görülmüştür (138). Ancak çalışmamızda gestasyonel yaş ile ADMA düzeyleri arasında bir ilişki bulunamamıştır. Anne sütündeki ADMA düzeyleri postnatal güne göre karşılaştırıldığında 3.gün, 7.gün ve 28.gün düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.115$). Yapılan bir çalışmada NEK gelişen hastalarda plazma ADMA düzeylerine bakılmış ve bu hastalarda ADMA düzeylerinin artarak NO sentezini inhibe etmesi beklenirken tam tersine, NEK tanısı alan hastalarda kontrol grubuna göre ADMA düzeylerinin daha düşük

olduğu görülmüştür (139). Çalışmamızda ADMA düzeyleri ile gastasyonel yaş ve sütün olgunluğu arasında bir ilişki olmaması, sanılanın aksine ADMA'nın anne sütünde NOS'u inhibe ederek NO düzeyini azaltmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızla ilgili kısıtlayıcı faktör, çalışmaya katılan anne sayısının azlığıdır. Bir diğer kısıtlayıcı faktör ise tüm anne sütlerinin dondurularak -80°C'de muhafaza edilmesi olabilir. Çünkü literatürdeki bir çalışmada taze anne sütlerinde ve donmuş anne sütlerinde nitrit ve nitrat düzeyleri karşılaştırılmıştır. Donmuş anne sütlerinde nitrit düzeyleri azalırken nitrat düzeyleri artış göstermiştir. Anne sütündeki nitriti nitrata çeviren laktoperoksidaz enzimi bu duruma neden olarak gösterilebilir. Ancak çalışmamızda kullandığımız teknik gereği nitrat redüktaz aracılığıyla nitrat öncelikle nitrite çevrilerek total nitrit/nitrat düzeyi ölçülmüştür. Uygulanan teknik nedeniyle sonuçların dondurma işleminden fazla etkilenmediği düşünülmektedir. Bunun dışında annelerin diyet alışkanlıkları, plazma nitrit ve nitrat düzeylerinde farklılığa neden olabilmektedir. Ancak yapılan bir çalışmada annelerin diyetlerindeki nitrat ve nitrit miktarının değişmesi, plazma nitrit ve nitrat düzeylerinde değişime neden olurken anne sütündeki düzeylere etkisi olmadığı saptanmıştır (140). Bu nedenle annelere nitrit ve nitrattan zengin ya da fakir herhangi bir diyet uygulanmamıştır.

NEK'in etiyopatogenezinde NO'nun payı olduğu düşünüldüğünden NEK tanısı alan hastaların plazma arjinin, ADMA düzeyleri ile ilgili yayınlar vardır. Yapılan bir çalışmada NEK tanısı alan hastalar sağlıklı kontrol grubu ile arjinin ve ADMA düzeyleri yönünden karşılaştırılmış ve NEK tanısı alan grupta plazma arjinin düzeyi ve arjinin/ADMA oranı kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur

(139). Bu verilerden yola çıkarak NEK'ten korumak amacıyla yenidoğanlara NO öncülü olan L-arjinin verilmesi gündeme gelmiştir. Literatürde randomize, plasebo kontrollü, çift kör olan iki çalışma vardır. Bu çalışmalarda toplamda 115 preterm yenidoğana 1,5 mmol/kg/günden intravenöz ya da enteral yolla L-arjinin ve 120 preterm yenidoğana ise plasebo verilmiştir (141, 142). Bu iki çalışmanın dahil edildiği bir meta-analizde yenidoğanlara profilaktik L-arjinin verilmesinin yenidoğanlarda evre 2-3 NEK insidansını %59 azalttığı bulunmuştur (143). Ayrıca L-arjininin çalışmalar esnasında yan etkisi görülmemiştir. L-arjinin yanında yenidoğanların beslenmesine nitrat ve nitrit katılması da bir seçenek olabilir. Ancak yenidoğanların oral florasında nitratı nitrite çeviren bakterilerin olmaması, beslenmeye nitrat katılmasının midede NO konsantrasyonunu arttırmayabileceğini düşündürmektedir. Bunun yerine beslenmeye nitrit katılması daha etkili olabilir. Fakat nitrit katılmasının da dezavantajı, nitritin NO'ya dönüşmesi için asidik ortam gerekmesidir. Yenidoğanların mide pH'larının yüksek olması bu dezavantaja neden olabilmektedir. Ancak midede C vitamini veya polifenol indergeyici ajanların olması nitritin NO'ya dönüşümünü arttırmaktadır (144). Yenidoğanların beslenmesine nitrat ve nitrit eklenmesi ile ilgili bir diğer konu ise yan etkileridir. Nitrat ve nitritin bilinen en önemli yan etkileri methemoglobinemide ve gastrointestinal kanser riskini arttırmalarıdır. Ancak yenidoğanlar üzerinde yapılan bir çalışmada günlük 21mg/kg'a kadar verilen nitratı tolere ettikleri gösterilmiştir (49). NEK profilaksisinde L-arjininin rutin kullanıma girmesi ile ilgili tartışmalar sürmektedir. Bu nedenle daha fazla hasta katılımıyla bu tür çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

- 1) Anne sütündeki NO düzeyleri gestasyonel yaştan bağımsız olarak sütün postnatal gününe göre karşılaştırıldığında; kolostrum, geçiş sütü ve olgun sütteki NO düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p=0,001$).
- 2) Kolostrumdaki NO düzeyi geçiş sütüne göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0,035$).
- 3) Kolostrumdaki NO düzeyi olgun süte göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0,001$).
- 4) Geçiş sütündeki NO düzeyi, olgun süte göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,110$).
- 5) Gestasyonel yaşa göre anne sütündeki NO düzeyleri karşılaştırıldığında preterm, geç preterm ve term gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,429$).
- 6) Anne sütündeki ADMA düzeyleri postnatal günlere göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,115$).
- 7) Anne sütündeki ADMA düzeyleri gestasyonel yaşa göre karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,865$).

7. KAYNAKLAR

1. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2010;50 (1):85-91.
2. Breastfeeding and the Use of Human Milk WHO. The optimal duration of exclusive breastfeeding: report of an expert consultation 2002 [February 28, 2015]. Available from: www.who.int/nutrition/publications/optimal_duration_of_exc_bfeeding_report_eng.pdf.
3. American Academy of Pediatrics Committee on Environmental H. Breastfeeding and the Use of Human Milk. Pediatrics. 2012;129 (3):827-41.
4. Samur G. Anne Sütü. 2008, Klasmat Matbaacılık, s. 7.
5. Yurdakök M. Doğa ve İnsan Tarihinde Anne Sütü. 1996.
6. UNICEF. Çocuk Haklarına Dair Sözleşme 1989 [Şubat 28, 2015]. Available from: http://www.unicef.org/turkey/pdf/_cr23.pdf.
7. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 2008 2008 [06.03.2015]. Available from: http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/TNSA-2008_tr.pdf.
8. U.S. Department of Health and Human Services. Maternal, infant, and child health. Healthy People 2020 2010 [06.03.2015]. Available from: <http://healthypeople.gov/2020/topicsobjectives2020/overview.aspx?topicid=26>.

9. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion DoN, Physical Activity and Obesity. Breastfeeding Report Card 2014 [06.03.2015]. Available from: <http://www.cdc.gov/breastfeeding/pdf/2014breastfeedingreportcard.pdf>.
10. Fiona McAndrew JT, Lydia Fellows, Alice Large, Mark Speed, Mary J. Renfrew. Infant Feeding Survey 2010 2010 [06.03.2015]. Available from: <http://www.hscic.gov.uk/catalogue/PUB08694/Infant-Feeding-Survey-2010-Consolidated-Report.pdf>.
11. Studies AIOF. Growing Up in Australia: the Longitudinal Study of Australian Children: 2006–07 Annual Report 2008 [06.03.2015]. Available from: <http://www.growingupinaustralia.gov.au/pubs/ar/ar200607/annualreport2006-07.pdf>.
12. Wojcik KY, Rechtman DJ, Lee ML, Montoya A, Medo ET. Macronutrient analysis of a nationwide sample of donor breast milk. *Journal of the American Dietetic Association*. 2009;109 (1):137-40.
13. Qian J, Chen T, Lu W, Wu S, Zhu J. Breast milk macro- and micronutrient composition in lactating mothers from suburban and urban Shanghai. *Journal of paediatrics and child health*. 2010;46 (3):115-20.
14. Saarela T, Kokkonen J, Koivisto M. Macronutrient and energy contents of human milk fractions during the first six months of lactation. *Acta paediatrica*. 2005;94 (9):1176-81.
15. Mitoulas LR, Kent JC, Cox DB, Owens RA, Sherriff JL, Hartmann PE. Variation in fat, lactose and protein in human milk over 24 h and throughout the first year of lactation. *The British journal of nutrition*. 2002;88 (1):29-37.

16. Gross SJ, Geller J, Tomarelli RM. Composition of breast milk from mothers of preterm infants. *Pediatrics*. 1981;68 (4):490-3.
17. Gabrielli O, Zampini L, Galeazzi T, Padella L, Santoro L, Peila C, et al. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation. *Pediatrics*. 2011;128 (6):e1520-31.
18. Maas YG, Gerritsen J, Hart AA, Hadders-Algra M, Ruijter JM, Tamminga P, et al. Development of macronutrient composition of very preterm human milk. *The British journal of nutrition*. 1998;80 (1):35-40.
19. Harzer G, Haug M, Bindels JG. Biochemistry of maternal milk in early lactation. *Human nutrition Applied nutrition*. 1986;40 Suppl 1:11-8.
20. Butte NF, Garza C, Smith EO, Nichols BL. Human milk intake and growth in exclusively breast-fed infants. *The Journal of pediatrics*. 1984;104 (2):187-95.
21. Allen JC, Keller RP, Archer P, Neville MC. Studies in human lactation: milk composition and daily secretion rates of macronutrients in the first year of lactation. *The American journal of clinical nutrition*. 1991;54 (1):69-80.
22. Bouwens M, van de Rest O, Dellschaft N, Bromhaar MG, de Groot LC, Geleijnse JM, et al. Fish-oil supplementation induces antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *The American journal of clinical nutrition*. 2009;90 (2):415-24.
23. Stam J, Sauer PJ, Boehm G. Can we define an infant's need from the composition of human milk? *The American journal of clinical nutrition*. 2013;98 (2):521S-8S.
24. Hester SN, Hustead DS, Mackey AD, Singhal A, Marriage BJ. Is the macronutrient intake of formula-fed infants greater than breast-fed infants in early infancy? *Journal of nutrition and metabolism*. 2012;2012:891201.

25. Yamawaki N, Yamada M, Kan-no T, Kojima T, Kaneko T, Yonekubo A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. *Journal of trace elements in medicine and biology: organ of the Society for Minerals and Trace Elements*. 2005;19 (2-3):171-81.
26. Özalp İ. Anne sütü ve anne sütü ile beslenme. *Katkı Pediatri Dergisi*. 1996;1:37-52.
27. Karen Wambach JR. *Breastfeeding and Human Lactation*. 5, Revised ed: Jones and Bartlett Publishers, Inc; 2015 9 January 2015.
28. Castellote C, Casillas R, Ramirez-Santana C, Perez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG, et al. Premature delivery influences the immunological composition of colostrum and transitional and mature human milk. *The Journal of nutrition*. 2011;141 (6):1181-7.
29. Kulski JK, Hartmann PE. Changes in human milk composition during the initiation of lactation. *The Australian journal of experimental biology and medical science*. 1981;59 (1):101-14.
30. Henderson JJ, Hartmann PE, Newnham JP, Simmer K. Effect of preterm birth and antenatal corticosteroid treatment on lactogenesis II in women. *Pediatrics*. 2008;121 (1):e92-100.
31. Cregan MD, De Mello TR, Kershaw D, McDougall K, Hartmann PE. Initiation of lactation in women after preterm delivery. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2002;81 (9):870-7.
32. Ballard O, Morrow AL. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric clinics of North America*. 2013;60 (1):49-74.
33. Gidrewicz DA, Fenton TR. A systematic review and meta-analysis of the nutrient content of preterm and term breast milk. *BMC pediatrics*. 2014;14:216.

34. Marsh N, Marsh A. A short history of nitroglycerine and nitric oxide in pharmacology and physiology. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2000;27 (4):313-9.
35. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*. 1988; 333 (6174):664-6.
36. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit; Biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri: Palme Yayıncılık; 2003. 120-9 p.
37. Bian K, Murad F. Nitric oxide (NO)--biogenesis, regulation, and relevance to human diseases. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*. 2003;8:d264-78.
38. Loukides S, Kharitonov S, Wodehouse T, Cole PJ, Barnes PJ. Effect of arginine on mucociliary function in primary ciliary dyskinesia. *Lancet*. 1998;352 (9125):371-2.
39. Ueda S, Matsuoka H, Miyazaki H, Usui M, Okuda S, Imaizumi T. Tetrahydrobiopterin restores endothelial function in long-term smokers. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;35 (1):71-5.
40. Weitzberg E, Lundberg JO. Novel aspects of dietary nitrate and human health. *Annual review of nutrition*. 2013;33:129-59.
41. Bredt DS. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. *Free radical research*. 1999;31 (6):577-96.
42. Blackwell S. The biochemistry, measurement and current clinical significance of asymmetric dimethylarginine. *Annals of clinical biochemistry*. 2010;47 (Pt 1):17-28.

43. Clark RH, Kueser TJ, Walker MW, Southgate WM, Huckaby JL, Perez JA, et al. Low-dose nitric oxide therapy for persistent pulmonary hypertension of the newborn. Clinical Inhaled Nitric Oxide Research Group. The New England journal of medicine. 2000;342 (7):469-74.
44. Eich RF, Li T, Lemon DD, Doherty DH, Curry SR, Aitken JF, et al. Mechanism of NO-induced oxidation of myoglobin and hemoglobin. Biochemistry. 1996;35 (22):6976-83.
45. Ibrahim YI, Ninnis JR, Hopper AO, Deming DD, Zhang AX, Herring JL, et al. Inhaled nitric oxide therapy increases blood nitrite, nitrate, and s-nitrosohemoglobin concentrations in infants with pulmonary hypertension. The Journal of pediatrics. 2012;160 (2):245-51.
46. Greer FR, Shannon M, American Academy of Pediatrics Committee on N, American Academy of Pediatrics Committee on Environmental H. Infant methemoglobinemia: the role of dietary nitrate in food and water. Pediatrics. 2005;116 (3):784-6.
47. Cross AJ, Ferrucci LM, Risch A, Graubard BI, Ward MH, Park Y, et al. A large prospective study of meat consumption and colorectal cancer risk: an investigation of potential mechanisms underlying this association. Cancer research. 2010;70 (6):2406-14.
48. Authority European Food Safety. Nitrate in vegetables: Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. EFSA J. 2008;689:1–79.
49. Phillips WE. Naturally occurring nitrate and nitrite in foods in relation to infant methaemoglobinaemia. Food and cosmetics toxicology. 1971;9 (2):219-28.
50. Hord NG, Tang Y, Bryan NS. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. The American journal of clinical nutrition. 2009;90 (1):1-10.

51. Petersson J, Phillipson M, Jansson EA, Patzak A, Lundberg JO, Holm L. Dietary nitrate increases gastric mucosal blood flow and mucosal defense. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2007;292 (3):G718-24.
52. Bryan NS, Calvert JW, Elrod JW, Gundewar S, Ji SY, Lefer DJ. Dietary nitrite supplementation protects against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104 (48):19144-9.
53. Pluta RM, Dejam A, Grimes G, Gladwin MT, Oldfield EH. Nitrite infusions to prevent delayed cerebral vasospasm in a primate model of subarachnoid hemorrhage. *Jama*. 2005;293 (12):1477-84.
54. Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weitzberg E. Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. *The New England journal of medicine*. 2006;355 (26):2792-3.
55. Zand J, Lanza F, Garg HK, Bryan NS. All-natural nitrite and nitrate containing dietary supplement promotes nitric oxide production and reduces triglycerides in humans. *Nutrition research*. 2011;31 (4):262-9.
56. Bahra M, Kapil V, Pearl V, Ghosh S, Ahluwalia A. Inorganic nitrate ingestion improves vascular compliance but does not alter flow-mediated dilatation in healthy volunteers. *Nitric oxide: biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society*. 2012;26 (4):197-202.
57. Jansson EA, Petersson J, Reinders C, Sobko T, Bjorne H, Phillipson M, et al. Protection from nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers by dietary nitrate. *Free radical biology & medicine*. 2007;42 (4):510-8.

58. Qin L, Liu X, Sun Q, Fan Z, Xia D, Ding G, et al. Sialin (SLC17A5) functions as a nitrate transporter in the plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109 (33):13434-9.
59. Kononen E, Kanervo A, Takala A, Asikainen S, Jousimies-Somer H. Establishment of oral anaerobes during the first year of life. *Journal of dental research*. 1999;78 (10):1634-9.
60. Kanady JA, Aruni AW, Ninnis JR, Hopper AO, Blood JD, Byrd BL, et al. Nitrate reductase activity of bacteria in saliva of term and preterm infants. *Nitric oxide: biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society*. 2012;27 (4):193-200.
61. Petersson J, Carlstrom M, Schreiber O, Phillipson M, Christoffersson G, Jagare A, et al. Gastroprotective and blood pressure lowering effects of dietary nitrate are abolished by an antiseptic mouthwash. *Free radical biology & medicine*. 2009;46 (8):1068-75.
62. Benjamin N, O'Driscoll F, Dougall H, Duncan C, Smith L, Golden M, et al. Stomach NO synthesis. *Nature*. 1994;368 (6471):502.
63. Dykhuizen RS, Frazer R, Duncan C, Smith CC, Golden M, Benjamin N, et al. Antimicrobial effect of acidified nitrite on gut pathogens: importance of dietary nitrate in host defense. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 1996;40 (6):1422-5.
64. Cunningham R, Mustoe E, Spiller L, Lewis S, Benjamin N. Acidified nitrite: a host defence against colonization with *C. difficile* spores? *The Journal of hospital infection*. 2014;86 (2):155-7.

65. Liu X, Huang Y, Pokreisz P, Vermeersch P, Marsboom G, Swinnen M, et al. Nitric oxide inhalation improves microvascular flow and decreases infarction size after myocardial ischemia and reperfusion. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50 (8):808-17.
66. Hataishi R, Rodrigues AC, Neilan TG, Morgan JG, Buys E, Shiva S, et al. Inhaled nitric oxide decreases infarction size and improves left ventricular function in a murine model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2006;291 (1):H379-84.
67. Lang JD, Jr., Teng X, Chumley P, Crawford JH, Isbell TS, Chacko BK, et al. Inhaled NO accelerates restoration of liver function in adults following orthotopic liver transplantation. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117 (9):2583-91.
68. Schmidt RJ, Baylis C. Total nitric oxide production is low in patients with chronic renal disease. *Kidney international*. 2000;58 (3):1261-6.
69. Kakimoto Y, Akazawa S. Isolation and identification of N-G,N-G- and N-G,N'-G-dimethyl-arginine, N-epsilon-mono-, di-, and trimethyllysine, and glucosylgalactosyl- and galactosyl-delta-hydroxylysine from human urine. *The Journal of biological chemistry*. 1970;245 (21):5751-8.
70. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet*. 1992;339 (8793):572-5.
71. Clarke S. Protein methylation. *Current opinion in cell biology*. 1993;5 (6):977-83.
72. McBride AE, Silver PA. State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*. 2001;106 (1):5-8.

73. Holven KB, Haugstad TS, Holm T, Aukrust P, Ose L, Nenseter MS. Folic acid treatment reduces elevated plasma levels of asymmetric dimethylarginine in hyperhomocysteinaemic subjects. *The British journal of nutrition*. 2003;89 (3):359-63.
74. McDonald KK, Zharikov S, Block ER, Kilberg MS. A caveolar complex between the cationic amino acid transporter 1 and endothelial nitric-oxide synthase may explain the "arginine paradox". *The Journal of biological chemistry*. 1997;272 (50):31213-6.
75. Teerlink T. ADMA metabolism and clearance. *Vascular medicine*. 2005;10 Suppl 1:S73-81.
76. Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, et al. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *The Biochemical journal*. 1999;343 Pt 1:209-14.
77. Kang ES, Cates TB, Harper DN, Chiang TM, Myers LK, Acchiardo SR, et al. An enzyme hydrolyzing methylated inhibitors of nitric oxide synthase is present in circulating human red blood cells. *Free radical research*. 2001;35 (6):693-707.
78. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Boger SM, Tsikas D, Frolich JC, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation*. 2004;109 (2):172-7.
79. Mignini LE, Villar J, Khan KS. Mapping the theories of preeclampsia: the need for systematic reviews of mechanisms of the disease. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006;194 (2):317-21.
80. Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease. *Vascular medicine*. 2005;10 Suppl 1:S11-7.

81. Brooks ER, Langman CB, Wang S, Price HE, Hodges AL, Darling L, et al. Methylated arginine derivatives in children and adolescents with chronic kidney disease. *Pediatric nephrology*. 2009;24 (1):129-34.
82. Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Ozgurtas T, Sonmez A, et al. Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation. *Transplantation*. 2005;80 (12):1660-6.
83. Hori T, Matsubara T, Ishibashi T, Ozaki K, Tsuchida K, Mezaki T, et al. Significance of asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentrations during coronary circulation in patients with vasospastic angina. *Circulation journal: official journal of the Japanese Circulation Society*. 2003;67 (4):305-11.
84. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2003;23 (8):1455-9.
85. Boger RH, Ron ES. L-Arginine improves vascular function by overcoming deleterious effects of ADMA, a novel cardiovascular risk factor. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic*. 2005;10 (1):14-23.
86. Siroen MP, van der Sijp JR, Teerlink T, van Schaik C, Nijveldt RJ, van Leeuwen PA. The human liver clears both asymmetric and symmetric dimethylarginine. *Hepatology*. 2005;41 (3):559-65.

87. Pierce CM, Krywawych S, Petros AJ. Asymmetric dimethyl arginine and symmetric dimethyl arginine levels in infants with persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatric critical care medicine: a journal of the Society of Critical Care Medicine and the World Federation of Pediatric Intensive and Critical Care Societies*. 2004;5 (6):517-20.
88. Asagami T, Abbasi F, Stuelinger M, Lamendola C, McLaughlin T, Cooke JP, et al. Metformin treatment lowers asymmetric dimethylarginine concentrations in patients with type 2 diabetes. *Metabolism: clinical and experimental*. 2002;51 (7):843-6.
89. Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ, Rauwerda JA, et al. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clinical nutrition*. 2003;22 (1):23-30.
90. Holden DP, Fickling SA, Whitley GS, Nussey SS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998;178 (3):551-6.
91. Wang Y, Gu Y, Zhang Y, Lewis DF. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia: decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004;190 (3):817-24.
92. Pettersson A, Hedner T, Milsom I. Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica*. 1998;77 (8):808-13.

93. Tsukahara H, Ohta N, Tokuriki S, Nishijima K, Kotsuji F, Kawakami H, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine, an endogenous nitric oxide synthase inhibitor, in umbilical blood. *Metabolism: clinical and experimental*. 2008;57 (2):215-20.
94. Obladen M. Necrotizing enterocolitis--150 years of fruitless search for the cause. *Neonatology*. 2009;96 (4):203-10.
95. Stoll BJ. Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Clinics in perinatology*. 1994;21 (2):205-18.
96. Erdem G, Bakar Erdoğan E, Yiğit Ş, Turanlı G. Hacettepe Üniveristesi Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde izlenen prematüre bebeklerin nöro gelişimsel izlemi. *Çocuk Sağlığı Hastalıkları Dergisi*. 2006;46:85-192.
97. Kavuncuoğlu S, Yıldız Aldemir E, Çelek N, Çetindağ F, Sander S, Payaslı M, Özbek S. Prematüre Bebeklerde Önemli Bir Morbidite Nedeni; Nekrotizan Enterokolit: Dokuz Yıllık Çalışmanın Sonuçları. *JOPP Derg*. 2013;5:13-20.
98. Kliegman RM, Fanaroff AA. Neonatal necrotizing enterocolitis: a nine-year experience. *American journal of diseases of children*. 1981;135 (7):603-7.
99. Holman RC, Stoll BJ, Clarke MJ, Glass RI. The epidemiology of necrotizing enterocolitis infant mortality in the United States. *American journal of public health*. 1997;87 (12):2026-31.
100. Morgan JA, Young L, McGuire W. Pathogenesis and prevention of necrotizing enterocolitis. *Current opinion in infectious diseases*. 2011;24 (3):183-9.

101. Chan KL, Ng SP, Chan KW, Wo YH, Tam PK. Pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis: a study of the role of intraluminal pressure, age and bacterial concentration. *Pediatric surgery international*. 2003;19 (8):573-7.
102. Kosloske AM. Breast milk decreases the risk of neonatal necrotizing enterocolitis. *Advances in nutritional research*. 2001;10:123-37.
103. Mawji IA, Marsden PA. Perturbations in paracrine control of the circulation: role of the endothelial-derived vasomediators, endothelin-1 and nitric oxide. *Microscopy research and technique*. 2003;60 (1):46-58.
104. Neu J. Necrotizing enterocolitis: the search for a unifying pathogenic theory leading to prevention. *Pediatric clinics of North America*. 1996;43 (2):409-32.
105. Ford HR, Sorrells DL, Knisely AS. Inflammatory cytokines, nitric oxide, and necrotizing enterocolitis. *Seminars in pediatric surgery*. 1996;5 (3):155-9.
106. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2006;368 (9543):1271-83.
107. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, Goldberg RN, Hansen NI, Sanchez PJ, et al. Prolonged duration of initial empirical antibiotic treatment is associated with increased rates of necrotizing enterocolitis and death for extremely low birth weight infants. *Pediatrics*. 2009;123 (1):58-66.
108. Huda S, Chaudhery S, Ibrahim H, Pramanik A. Neonatal necrotizing enterocolitis: Clinical challenges, pathophysiology and management. *Pathophysiology: the official journal of the International Society for Pathophysiology / ISP*. 2014;21 (1):3-12.

109. Musemeche C, Caplan M, Hsueh W, Sun X, Kelly A. Experimental necrotizing enterocolitis: the role of polymorphonuclear neutrophils. *Journal of pediatric surgery*. 1991;26 (9):1047-9; discussion 9-50.
110. Lee JS, Polin RA. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Seminars in neonatology*: SN. 2003;8 (6):449-59.
111. Hormann M, Pumberger W, Puig S, Kreuzer S, Metz VM. [Necrotizing enterocolitis (NEC) in the newborn]. *Der Radiologe*. 2000;40 (1):58-62.
112. Daneman A, Woodward S, de Silva M. The radiology of neonatal necrotizing enterocolitis (NEC). A review of 47 cases and the literature. *Pediatric radiology*. 1978;7 (2):70-7.
113. Walsh MC, Kliegman RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatric clinics of North America*. 1986;33 (1):179-201.
114. Kosloske AM, Musemeche CA. Necrotizing enterocolitis of the neonate. *Clinics in perinatology*. 1989;16 (1):97-111.
115. Ricketts RR. Surgical therapy for necrotizing enterocolitis. *Annals of surgery*. 1984;200 (5):653-7.
116. Butter A, Flageole H, Laberge JM. The changing face of surgical indications for necrotizing enterocolitis. *Journal of pediatric surgery*. 2002;37 (3):496-9.
117. Çakmak Ö, Baskın D, Pektaş O. Nekrotizan enterokolit: 3 yıllık deneyim. *Pediatric Cerrahi Dergisi*. 1992;6:19-24.
118. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of neurology*. 1992;32 Suppl:S33-42.

119. Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;939:200-15.
120. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *The Surgical clinics of North America*. 1992;72 (1):65-83.
121. Zhang W, Smith C, Shapiro A, Monette R, Hutchison J, Stanimirovic D. Increased expression of bioactive chemokines in human cerebromicrovascular endothelial cells and astrocytes subjected to simulated ischemia in vitro. *Journal of neuroimmunology*. 1999;101 (2):148-60.
122. Garcia-Villalon AL, Amezcua YM, Monge L, Fernandez N, Salcedo A, Dieguez G. Endothelin-1 potentiation of coronary artery contraction after ischemia-reperfusion. *Vascular pharmacology*. 2008;48 (2-3):109-14.
123. Brown GC, Borutaite V. Nitric oxide inhibition of mitochondrial respiration and its role in cell death. *Free radical biology & medicine*. 2002;33 (11):1440-50.
124. Rodriguez-Pena A, Garcia-Criado FJ, Eleno N, Arevalo M, Lopez-Novoa JM. Intrarenal administration of molsidomine, a molecule releasing nitric oxide, reduces renal ischemia-reperfusion injury in rats. *American journal of transplantation: official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2004;4 (10):1605-13.
125. Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra LH, Bussell S, Gauvin J, Vercruysse G, Arab A, et al. Nitric oxide diminishes apoptosis and p53 gene expression after renal ischemia and reperfusion injury. *Transplantation*. 2000;70 (10):1431-7.

126. Boyd CS, Cadenas E. Nitric oxide and cell signaling pathways in mitochondrial-dependent apoptosis. *Biological chemistry*. 2002;383 (3-4):411-23.
127. Shen YH, Wang XL, Wilcken DE. Nitric oxide induces and inhibits apoptosis through different pathways. *FEBS letters*. 1998;433 (1-2):125-31.
128. Raat NJ, Noguchi AC, Liu VB, Raghavachari N, Liu D, Xu X, et al. Dietary nitrate and nitrite modulate blood and organ nitrite and the cellular ischemic stress response. *Free radical biology & medicine*. 2009;47 (5):510-7.
129. Milkowski A, Garg HK, Coughlin JR, Bryan NS. Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: a risk-benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. *Nitric oxide: biology and chemistry / official journal of the Nitric Oxide Society*. 2010;22 (2):110-9.
130. Jones JA, Ninnis JR, Hopper AO, Ibrahim Y, Merritt TA, Wan KW, et al. Nitrite and nitrate concentrations and metabolism in breast milk, infant formula, and parenteral nutrition. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2014;38 (7):856-66.
131. Miclat NN, Hodgkinson R, Marx GF. Neonatal gastric pH. *Anesthesia and analgesia*. 1978;57 (1):98-101.
132. Dezfulian C, Raat N, Shiva S, Gladwin MT. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and therapeutics. *Cardiovascular research*. 2007;75 (2):327-38.
133. Mestan KK, Marks JD, Hecox K, Huo D, Schreiber MD. Neurodevelopmental outcomes of premature infants treated with inhaled nitric oxide. *The New England journal of medicine*. 2005;353 (1):23-32.

134. Cekmen MB, Balat A, Balat O, Aksoy F, Yurekli M, Erbagci AB, et al. Decreased adrenomedullin and total nitrite levels in breast milk of preeclamptic women. *Clinical biochemistry*. 2004;37 (2):146-8.
135. Hord NG, Ghannam JS, Garg HK, Berens PD, Bryan NS. Nitrate and nitrite content of human, formula, bovine, and soy milks: implications for dietary nitrite and nitrate recommendations. *Breastfeeding medicine: the official journal of the Academy of Breastfeeding Medicine*. 2011;6 (6):393-9.
136. Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *European heart journal*. 2003;24 (21):1912-9.
137. Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2005;16 (8):2449-55.
138. Tsukahara H, Nagasaka H. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous NO synthase inhibitor, in human breast milk. *Early human development*. 2010;86 (2):69-70.
139. Richir MC, Siroen MP, van Elburg RM, Fetter WP, Quik F, Nijveldt RJ, et al. Low plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine in premature infants with necrotizing enterocolitis. *The British journal of nutrition*. 2007;97 (5):906-11.
140. Dusdieker LB, Stumbo PJ, Kross BC, Dungy CI. Does increased nitrate ingestion elevate nitrate levels in human milk? *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 1996;150 (3):311-4.

141. Amin HJ, Zamora SA, McMillan DD, Fick GH, Butzner JD, Parsons HG, et al. Arginine supplementation prevents necrotizing enterocolitis in the premature infant. *The Journal of pediatrics*. 2002;140 (4):425-31.
142. Polycarpou E, Zachaki S, Tsolia M, Papaevangelou V, Polycarpou N, Briana DD, et al. Enteral L-arginine supplementation for prevention of necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: a double-blind randomized pilot study of efficacy and safety. *JPEN Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2013;37 (5):617-22.
143. Mitchell K, Lyttle A, Amin H, Shaireen H, Robertson HL, Lodha AK. Arginine supplementation in prevention of necrotizing enterocolitis in the premature infant: an updated systematic review. *BMC pediatrics*. 2014;14:226.
144. Gago B, Lundberg JO, Barbosa RM, Laranjinha J. Red wine-dependent reduction of nitrite to nitric oxide in the stomach. *Free radical biology & medicine*. 2007;43 (9):1233-42.

8. ÖZET

Anne Sütünde Nitrik Oksit Yıkım Ürünleri ve Asimetrik Dimetilarjinin Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Nitrik oksit (NO), mukozal kan akımı ve mukus salgısında artışı sağlayarak, antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkinlik göstererek nekrotizan enterokolit (NEK) gelişimini önleyici rol oynamaktadır. NO'nun L-arjininden sentezi dışında nitritin, asidik ortamda NO'ya dönüşmesinin keşfi ile oral nitrit ve nitrat alımı önem kazanmıştır. Bu çalışmada NO ve NO'nun yarışmalı inhibitörü olan asimetrik dimetilarjinin (ADMA)'nin anne sütünde hangi düzeyde olduğu ve bu düzeylerinin gestasyonel yaş ve anne sütünün olgunluğuna göre karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla planlanan çalışmamıza kronik hastalığı olmayan 26 anne alınmıştır. Term, geç preterm ve preterm olmak üzere 3 gruba ayrılan bebeklerin annelerinden 3, 7 ve 28. günlerde pompa yardımı ile anne sütü sağlanmıştır. Anne sütünde Griess yöntemi ile nitrit/nitrat, HLPC yöntemi ile ADMA çalışılmıştır. Anne sütündeki NO düzeyleri gestasyonel yaştan bağımsız olarak sütün postnatal gününe göre karşılaştırıldığında; kolostrumdaki NO düzeyi, geçiş sütü ve olgun süte göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0,035$; $p=0,001$). Geçiş sütündeki NO düzeyi, olgun süte göre yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,110$). Yine bu grup ve günlerdeki anne sütü ADMA düzeyleri karşılaştırıldığında gestasyonel yaş ve sütün olgunluğuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.865$, $p=0.115$). Anne sütündeki NO düzeyleri incelendiğinde en yüksek düzeyin kolostrumda olması kolostrumun yenidoğanlar

için çok değerli bir besin olduğunu göstermektedir. NO'nun NEK patogenezindeki rolü ve yenidoğanların NEK tanısını sıklıkla yaşamlarının ilk haftasından sonra almaları göz önünde bulundurulduğunda, NO'nun alım azlığının, NEK gelişiminde tek neden olmasa da payı olabileceğini düşündürmektedir. ADMA'nın plazma düzeyi ile ilgili çalışmalarda NO ile negatif korelasyon gösterip anne sütünde göstermemesi, ADMA'nın anne sütünde NO inhibisyonu yapmadığını düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: anne st, nitrik oksit, asimetrik dimetilarjinin

9. SUMMARY

Evaluation of Nitric Oxide Metabolites and Asymmetric Dimethylarginine Concentration in Breast Milk

Nitric oxide (NO) plays a preventive role in the development of necrotizing enterocolitis (NEC) by providing an increase in mucosal blood flow, mucus secretion and showing antioxidant, antiinflammatory and antimicrobial activity. Oral nitrite and nitrate intake has gained importance with the discovery of the conversion of nitrite to NO in acidic medium out of the synthesis of NO from L-arginine. Objective of this study was to examine in breast milk the concentrations of NO and asymmetric dimethylarginine (ADMA) which is a competitive inhibitor of NO and to compare these concentrations in terms of gestational age and maturity of breast milk. Twenty-six women having no chronic disease were included in the study. Breasts of the mothers of newborns who were divided into 3 groups as term, late preterm and preterm were milked with a pump on the days 3, 7 and 28. Griess method was used for the measurement of nitrite/nitrate and HPLC was used for the measurement of ADMA. When breast milk concentrations of NO were compared according to the postnatal day of the milk independently from gestational age; NO concentration was higher in the colostrum than in the transition milk and mature milk ($p=0,035$; $p=0,001$; respectively). NO concentration in the transition milk was higher compared to the mature milk, although the difference was not statistically significant ($p=0,110$). Again on comparison of ADMA concentrations among these group and days; no statistically significant difference was observed in terms of gestational age and

maturity of the milk ($p=0.865$, $p=0.115$; respectively). When NO concentrations in breast milks were examined; the highest level was found in the colostrum, suggesting that colostrum is a valuable food for newborns. Given the role which NO plays in the pathogenesis of NEC and newborns often diagnosed with NEC after the first week of life, suggests that although insufficient NO intake is not the only reason, it may contribute to the development of NEC. In previous studies, plasma levels of ADMA were negatively correlated with NO and did not show a correlation with breast milk, suggesting that ADMA doesn't make NO inhibition in breast milk.

Key words: breast milk, nitric oxide, asymmetric dimethylarginine

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı : Hakan ÖZTÜRK

Doğum Tarihi : 13.11.1985

Doğum Yeri : Antakya/HATAY

Eğitimi:

2011-2015 : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Eğitimi, Ankara

2003-2010 : Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

1996-2003 : Osman Ötken Anadolu Lisesi, Hatay

1991-1996 : Vali Teoman İlköğretim Okulu, Hatay

Yabancı Dili : İngilizce