



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ



ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

PROF. DR. SAVAŞ KANSOY

**NEKROTİZAN ENTEROKOLİT PATOGENEZİNDE
DEĞİŞİK MEDİYATÖRLERİN GEN POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

UZ. DR. SEMA TANRIVERDİ

TEZ YÖNETİCİSİ

PROF. DR. MEHMET YALAZ

İZMİR 2014

ÖNSÖZ

Neonataoloji yan dal eğitimi sırasında bilgi ve deneyimlerini aktararak yetişmemde büyük emekleri olan, daima yardım ve desteklerini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Nilgün Kültürsay'a, bu çalışmanın fikrinin ortaya konması ve tüm aşamalarında bana yardımcı ve destek olan tez danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Yalaz'a, Prof. Dr. Mete Akisu'ya, Doç. Dr. Özge Altun Köroğlu'na, tezimin genetik çalışmasında yardım ve desteklerinden dolayı Doç. Dr. Hüseyin Onay'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yan dal uzmanlık eğitimim boyunca bugünlere gelmemede büyük emeği olan başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Savaş Kansoy olmak üzere tüm hocalarıma, bu süreçte beraber çalıştığım tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma, Yenidoğan Yoğun Bakım Hemşirelerine, benden desteğini hiç esirgemeyen sevgili eşim Halil İbrahim Tanrıverdi, kızım Zeynep Tanrıverdi ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şubat 2014, İzmir

Uz. Dr. Sema Tanrıverdi

İÇİNDEKİLER

A. GİRİŞ ve AMAÇ	1
B. GENEL BİLGİLER.....	4
1. Tarihçe.....	4
2. Epidemiyoloji	4
3. Embriyoloji	7
4. Anatomi	7
5. Histoloji ve Fizyoloji	8
6. Patoloji.....	14
7. Patogenez (Patofizyoloji)	15
8. Nekrotizan Enterokolit ve Gen Polimorfizmi.....	44
9. Endotelin-1 Gen Polimorfizmi	48
10. Nitrik Oksit Sentez Gen Polimorfizmi.....	49
11. Klinik Bulgular	55
12. Laboratuvar Bulguları	55
13. Radyolojik Bulgular	56
14. Tanı	58
15. Tedavi.....	60
16. Komplikasyonlar	62
C. GEREÇ ve YÖNTEM	63
D. BULGULAR	69
E. TARTIŞMA.....	89
F. SONUÇLAR	107
G. KAYNAKLAR	112
H. TÜRKÇE ÖZET	160
I. İNGİLİZCE ÖZET	162

GİRİŞ ve AMAÇ

Nekrotizan Enterokolit (NEK), barsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterize, prematüre bebeklerin en acil gastrointestinal sistem hastalığıdır (1-4). Günümüzde premature ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin yaşama şanslarındaki artışa paralel olarak NEK görülme sıklığı da artmaktadır. İnsidansı ülkeden ülkeye ve hastaneden hastaneye değişmektedir. 1000 canlı doğumda 1 ile 3 arasında değişen oranlarda görülmektedir. Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde izlenen bebeklerin %1-10' unda gelişmekte olup, olguların %90' ı prematüre, %10' nu ise term bebeklerdir (1,5). NEK sıklığı azalan doğum ağırlığı ve gestasyonel yaşla ters orantılı olarak artmaktadır. Wilson ve arkadaşları 148 NEK' li bebeği değerlendirmişler ve en yüksek oranın 1000 gramın altındaki bebeklerde olduğunu görmüşlerdir (%42). Doğum ağırlığı 1000-1500 gram arasındaki bebeklerde %39, 1500-2000 gram arasındaki bebeklerde % 3,8; 2500 gramın üstündeki bebeklerde ise %0,11 oranında NEK saptamışlardır (6). Cinsiyet ile NEK arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (1).

NEK ilk olarak 1965 yılında tanımlanmıştır (7-9). Net patogenezi net olarak bilinmemektedir. Birçok faktörün etkilediği ve mukozal hasarlanma ile sonuçlanan heterojen bir hastalıktır. Prematürite, barsakta aşırı bakteri çoğalması, formula ile beslenme, bozulmuş mukozal defans mekanizması, barsak dolaşımının instabilitesi, barsak mukozası hasarına veya barsakta aşırı bakteri çoğalmasına neden olan medikal tedaviler gibi faktörler NEK patogenezisinden sorumlu tutulmaktadırlar. En önemli risk faktörü prematüritedir (9-11). Tutulum bölgesi sıklıkla terminal ileumdur (2).

NEK özellikle premature bebeklerde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Bunda da NEK' in patogenezisinin tam olarak ortaya konulamaması etkilidir. NEK' in patofizyolojisinin ortaya konulabilmesi için pek çok çalışma yapılmış; ancak kesin bir sonuca ulaşılammıştır. NEK gelişen bebeklerin barsağında mukozal inflamasyon, ödem, hemoraji ve nekroz görülmektedir (9-11).

Yenidoğan barsak kan dolaşımının en ayırtedici özelliği, çok düşük damar direncine ve yüksek kan akım hızına sahip olmasıdır. Yenidoğan barsak damar direncinin kontrolünde vazokonstrüktör ve vazodilatatör mekanizmalar rol

oynamaktadır (12). Yenidoğan barsak kan dolaşımında ana vazokonstrüktör, Endotelin 1 (ET-1)'dir. ET-1, endotel hücrelerinde üretilir. ET-1'deki artış vazodilatatör ile dengelenmezse doku hipoksisi gelişmektedir. ET-1 üretimi, aynı zamanda hipoksi, kan akımında azalma ve inflamatuvar sitokinlerle de artabilmektedir (13,14). Yapılan patolojik çalışmalarda NEK şüphesi olan olguların barsak örneklerinde histolojik olarak NEK bulguları olan bölgelerde, histolojik olarak NEK bulguları olmayan bölgelere göre ET-1 seviyesinde artış görülmüştür. Ek olarak histolojik olarak NEK bulguları olan bölgelerde, histolojik olarak NEK bulguları olmayan bölgelere göre arteriollerde vazokonstrüksiyonun arttığı görülmüş; ET reseptör antagonisti verildiğinde ise tam tersi etki olarak vazokonstrüksiyonun gerilediği görülmüştür (15).

Yenidoğan barsak kan dolaşımında ana vazodilatatör ise Nitrik oksit (NO)'tir. NO, L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenmektedir (16,17). Son yıllarda barsak inflamasyonunda NO' nun rolü ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. NO' nun yararlı ve zararlı etkileri bulunmaktadır. NOS' un genetik olarak farklı 3 izoformu tespit edilmiştir. Endotelyal NOS (eNOS) enzimi, düşük miktarlarda NO üreten damar tonusunu ayarlayan konstitutif endotelyal izoformdur. Nöronal NOS (nNOS), düşük miktarda üretilen sinaptik şekillenme ve nörotransmisyonu düzenleyen konstitutif nöronal izoformdur. İndüklenebilir NOS (iNOS) ise, yüksek miktarda üretilerek immun ve inflamatuvar olaylarda rol alan ve hücre aracılı immun cevapta etkili bir komponent olan uyarılabilir izoformdur (18-21). Bir çalışmada NEK nedeniyle cerrahi yapılan hastalarda intestinal atrezi gibi inflamatuvar olmayan barsak hastalığı olan hastalara göre barsağın apikal enterositlerinde iNOS gen ve protein ekspresyonunun daha sık olduğu saptanmış ve bunun sonucunda artmış NO' nun, direkt barsak hasarına, bakteriyel translokasyonuna ve barsak bariyer fonksiyon bozukluğuna neden olabileceği ortaya çıkmıştır (17,18). Qu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada nNOS'un, barsak NOS' unda predominat olduğu ve doku hasarı düzeyi ile NOS aktivitesi arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (22). Başka bir çalışmada eNOS, hem intestinal atrezili kontrol grubu hastaların barsak örneklerinde, hem de NEK nedeniyle opere olan hasta grubunun barsak örneklerinde bulunmuştur; ancak NEK'li grupta kontrol grubuna göre eNOS fonksiyonunun bozuk olduğu ve bunun sonucunda da arteriollerde NO üretiminin azaldığı saptanmıştır (23). Yapılan başka bir çalışmada

bakteriyel lipopolisakkarid (LPS) enjeksiyonundan sonra iNOS ekspresyonunun arttığı ve bununla barsak mukozal bariyer mekanizmasında NO' nun endojen koruyucu özelliğinin kaybolmasına neden olduğu bulunmuş ve bu durumun da NEK oluşmasında önemli mekanizmalardan biri olabileceği gösterilmiştir (24). nNOS tarafından fazla miktarda üretilen NO ise diğer oksijen metabolitleri ile etkileşime girerek peroksinitrit gibi yüksek reaktif metabolitlerin oluşmasına ve bu güçlü oksidan ürünlerde lipid peroksidasyonunu başlatarak barsak mukozasında hasara neden olmaktadır (25-27).

Son çalışmalarda çeşitli sitokinlerin genetik polimorfizmleri ile NEK'i de içine alan perinatal morbidite arasında ilişkinin olabileceği gösterilmiştir (28). NEK ile interlökin 1 (IL1), IL4 reseptör, IL6, IL8, IL10, IL18 gibi sitokinler, Tümör nekroz faktör (TNF) alfa, Toll-like reseptör (TLR) ve Mannoza bağlayan lektin (MBL) gibi mediyatörlerin gen polimorfizmleri araştırılmıştır (28,29). Ancak literatürde NEK patogenezinde önemli rolleri olan NOS ve ET-1 gen polimorfizmleri ile NEK arasındaki ilişkiyi araştırarak çalışma bulunmamaktadır. Buna karşın, NEK dışında prematüre bebeklerin diğer sorunlarından prematüre retinopatisi, respiratuar distress sendromu ve intraventriküler kanama ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırarak çalışmalar bulunmaktadır (30-33). Prematüre retinopatisinde prematüre bebeklerde eNOS genindeki tek nükleotid polimorfizmi olan T-786C ve G894T allelleri çalışılmış ve bu iki mutant alleli taşıyan bebeklerde retinopati riskinin yüksek olduğu bulunmuştur (33). Başka bir çalışmada eNOS 27-BP tekrarlayan polimorfizmini ile prematüre retinopati arasında anlamlı ilişki saptanmışken eNOST-786C gen polimorfizmi ile prematüre retinopatisi arasında ilişki bulunmamıştır (30). Başka bir çalışmada da eNOS Glu298Asp ve T-786C gen polimorfizmi ile respiratuar distress sendromu gelişme riski arasında fark bulunmamıştır (31). Oysa başka bir çalışmada eNOS T-786C gen polimorfizmi olan bebeklerde respiratuar problemler ve intraventriküler kanama riskinin 2 kat daha fazla olabileceği saptanmıştır (32).

Bu çalışmanın amacı; iNOS genindeki ekzon 22 G>A polimorfizminin, nNOS genindeki ekzon 29 C>T polimorfizminin, eNOS genindeki G894T polimorfizminin ve endotelin 1 genindeki C8002T polimorfizminin prematüre bebeklerde sık görülen ve mortalitesi yüksek gastrointestinal bir hastalık olan NEK için bir risk faktörü oluşturabileceğini ortaya koymaktır.

GENEL BİLGİLER

Tarihçe

1960 yılı öncesi NEK ile ilgili literatür yok denecek kadar azdır. 1800'lü yılların başlarından itibaren literatürde NEK'e benzer olgular tanımlanmış olmasına rağmen bunların önemli bir kısmının NEK olup olmadığı kuşkuludur. Mide, ince barsak ve kolon perforasyonları, peritonit olarak yayınlanmış serilerdeki olguların önemli bir bölümünün NEK'e bağlı perforasyonlar olması yüksek bir olasılıktır. NEK olduğundan emin olunabilecek ilk yayınlar 1888 ve 1891 yıllarında Paltauf ve Generisch'e aittir. (34). Bu hastalıkla ilgi yayınlar ve bilgiler yenidoğan yoğun bakım ünitelerinin devreye girmesiyle artmıştır. Tanımlanmasına rağmen enfeksiyöz enterit olarak bilinen bu hastalığa nekrotizan enterokolit adı ilk kez 1953' de Schmid ve Quasier tarafından verilmiştir (34). 1959'da Rossier ve arkadaşları 15 prematüre bebekte ülseratif nekrotik enterokolit olarak adlandırdıkları bir seri yayınlamışlardır (35). NEK' in bugünkü bilgilerimizin temelini oluşturan ilk tanımı, cerrahi tedavisi ve sınıflaması 1960'lı yıllarda yapılmıştır (36-38). Santulli ve arkadaşları büyük bölümünü Apgar skorları düşük ve respiratuar distress sendromu tanılı bebekler ile umbilikal arter kateterizasyonu uygulanmış bebeklerin oluşturduğu ilk NEK'li preterm serisini yayınlamışlardır (8). Bell ve arkadaşları ise NEK' li hastaların klinik evrelemesi için bir sistem oluşturmuşlardır (39). Daha sonra Walsh ve Kliegman tarafından radyolojik bulgular eklenerek bu evrelendirme sistemi modifiye edilmiştir (40).

NEK, ince barsak ve kolonun sınırlı mukozal harabiyetten total nekroza kadar değişen bir spektrum içindeki iskemisidir. Son 30 yıl içindeki bilgi birikimine rağmen NEK mortalitesi hala diğer konjenital gastrointestinal anomalilerin toplamından çok daha yüksektir (41).

Epidemiyoloji

NEK, klasik olarak prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hastalığı olarak bilinir (42,43). Amerika'da NEK insidansı her 1000 canlı doğumda 1-3; yenidoğan yoğun bakım ünitelerine yatan yenidoğanlarda %0,8-8; ortalama %2-4

arasındadır (41,44-46). Ancak gerçek insidansın bunun çok daha üzerinde olduğu sanılmaktadır. Çünkü literatürdeki yüzdeler genellikle yenidoğan yoğun bakım ünitelerine yatırılan toplam yenidoğan sayısının NEK olgularına bölünmesiyle elde edilmektedir. Dolayısıyla dolaşım ve solunum sistemi hastalıkları nedeniyle yaşamının ilk üç günü içerisindeki bebeklerde örneklem içine katılmış olmakta ve NEK sıklığı olduğundan daha düşükmüş gibi görünmektedir. Çünkü NEK genellikle postnatal 10. günden ve özellikle de enteral beslenme başladıktan sonra ortaya çıkmaktadır. Bu nedenlerle popülasyon ilk günlerde ölen bebekler dışarıda tutularak sadece enteral beslenen bebeklerden oluşturulduğunda NEK sıklığı %15'e çıkmaktadır (47-49). Bunun yanında prematüre insidansının düşük olduğu ülkelerde NEK daha az görülmektedir. Japonya' da yapılan çok merkezli bir çalışmada NEK sıklığı % 0.3 bulunmuştur (50). Çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK insidansı Arjantin' de %14, Avustralya'da ise 2000 gramın altındaki bebeklerde %7 oranında saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda Afrika kökenli Amerika'lı erkek bebeklerde NEK'in daha sık olduğu görülmüştür (51). Türkiye' de NEK insidansı; Erdem ve arkadaşlarının çalışmasında %6 (52), Gülcan ve arkadaşlarının çalışmasında % 3 olarak saptanmıştır (53). Kavuncuoğlu ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı çalışmasında ise %3,8 olarak bulunmuştur (54).

NEK'li bebeklerin %90' ından fazlası 2000 gram, %48-58' i 1500 gramın altındadır (42,55). Vücut ağırlığı 1500 gramın altında olan bebeklerde NEK sıklığı daha yüksektir (%10-15) (56). NEK' li bebeklerin ortalama gestasyonel yaşları 30-32 hafta arasında değişir (42,55). NEK olgularının %7-13' ü de miadında doğmuş bebeklerdir. (42). Birçok epidemiyolojik çalışmada NEK insidansı her 1000 canlı doğumda 0,7-1,1 olgu ve NEK gelişme oranları ise %3-7 olarak bildirilmektedir (54).

Amerika'da New York'ta 8 yıllık epidemiyolojik çalışmada NEK insidansı 1000 canlı doğumda 0,72 olgu olup bu olgular içinde en yüksek insidansı doğum ağırlığı 750-1000 gram arasında olan bebekler oluşturmaktadır (57). Doğum ağırlığı arttıkça NEK insidansı azalmaktadır. Amerika'da 24 eyaletteki 98 üçüncü basamak yenidoğan yoğun bakım ünitesinde gestasyonel yaşı 23-34 hafta olan bebeklerde NEK oranı %3 saptanmıştır. Bu grup içinde NEK için en anlamlı risk faktörünün düşük doğum ağırlığı olduğu bulunmuştur (58). Kanada'da 17 yenidoğan yoğun

bakım ünitesinin katıldığı çalışmada evre 2 NEK insidansı 1500 gr altında doğan düşük doğum ağırlıklı bebeklerde %6,6 iken; 1500 gr üstünde doğan bebeklerde ise %0,7 bulunmuştur. Bu da göstermektedir ki NEK, düşük doğum ağırlığı ve gestasyonel yaş ile ilişkilidir; özellikle de 1000 gramın altında doğan bebekler en yüksek insidansa sahiptir (59).

National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) 1999-2001 yılları arasında çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin %7' sinde NEK şüphesi geliştiğini ve bunların yarısının da cerrahi olarak tedavi edildiğini bildirmiştir (60) . 2000 yılında yenidoğan kliniklerinin verilerinde NEK oranı 1000 canlı doğumda 1,1 olarak bulunmuştur (61). Bu çalışmalar da göstermektedir ki NEK sıklığı ve buna bağlı mortalite oranı düşük doğum haftası ve düşük doğum ağırlığı ile artmaktadır (57,59-62).

NEK' in mortalite oranı yüksektir (%15-30) (11,57-62). Yüksek mortalite oranı, düşük doğum ağırlığı ve düşük gestasyonel yaş ile ilişkilidir (11,62). Amerika'da 1979-1992 yılları arasında NEK' ten dolayı ölen bebek sayısı 6692; ortalama yıllık 472' dir (11). Bu da her 100000 canlı doğumda 12,4 ölüm anlamına gelmektedir. En yüksek mortalitenin olduğu grup çok düşük doğum ağırlıklı siyah erkek bebeklerdir (11,57,61).

NEK, primer prematüre bebeklerin hastalığıdır. Olguların %90' ından fazlası prematüre bebektir. Nadiren term bebeklerde de görülebilmektedir. Term ve prematüre bebeklerde klinik ve patolojik bulgular benzerdir. NEK gelişen term bebeklerde, genellikle konjenital kalp hastakları, solunum sistemi hastalıkları ya da hipoksik durumlar gibi predispozan faktörler vardır (63-66). Birçok hastanenin katıldığı bir çalışmada, 2001-2006 yılları arasında term bebeklerin %0,5' inde evre 2 ve üzerinde NEK geliştiği bildirilmiştir (64).

NEK' li vakaların çoğunun tedavisi medikaldir; %20-40 oranında cerrahi tedavi gerekir (58,59,62,67). Cerrahi tedavi gerektirenlerde mortalite artmakta ve mortalite oranı %50' ye yükselmektedir. En yüksek mortalite oranları, düşük doğum ağırlığı ve düşük gestasyonel yaşı olan bebeklerdedir (68).

2. segment: Mezenterik arteriyel arkın terminal dalından başlar. Küçük arterler olarak iki muskuler tabakayı deler ve submukozaya kadar iner. Her küçük arter birçok 1A olarak tanımlanabilecek arteriollerini vermekte ve bunlarda daha ince yapıdaki 2A arteriollerine ayrılmaktadır. 2A arteriollerini de birçok 1A arterollerini ile ilişki içindedir ve arteriole-arteriole şant oluştururlar. 2. segment makro ve mikrodolaşım arasında köprü görevi görür. 1A-2A pleksusu, mikrodolaşım için bir basınç manifoldu olarak hizmet verir (72).

3. segment: 1A-2A arteriol pleksusundan doğan 3A arteriolünden başlar ve mukozaya doğru aşağı iner. Her 3A arteriol, bir villusun perfüzyonunu sağlar. Her 3A arteriolde 4A arteriolünü verir; bu da muskuler tabakaya geri döner. Barsak duvarının musküler ve mukozal tabakalarının mikrodolaşımları 3A-4A arteriol dallarına paralel olarak çalışır. 3. segment, kapiller dallarını vererek barsak arteriyel dolaşımın terminal bölümünü oluşturur ve buradan su ve solüt değişimi olur (72).

Histoloji ve Fizyoloji

A. Barsak Epitel Bariyeri: Barsak epiteli, insan vücudunda en sık proliferen olan hücredir. Barsak epitel tabakası, tek polarize tabakadır ve sistemik dolaşıma antijen ve patojen bakterilerin geçişi için selektif bir bariyer oluşturur (73). Barsak epitelinin selektif geçirgenliği, iç ve dış bariyerler arasındaki dinamik denge sonucunda oluşmaktadır ve bu iç ve dış bariyerler, değişik mikroorganizmalara karşı koruyucudur. Gastrik asidite, barsak peristaltizmi, mukus tabakası, sekretuar immunglobulin A (sIgA) gibi bazı dış bariyerler, barsak kolonizasyonunu sınırlamakta ve bakterilerin epitele saldırısını kısıtlamaktadır (74-76). Epitel hücrelerinin plazma membranlarının yarıgeçirgenliği ve tight junctionlar gibi iç bariyerler, büyük makromoleküllerin difüzyonunu kısıtlar ve bakterilerin parasellüler geçişini engeller. Bu da hücresel defans mekanizmasını oluşturur (77).

a. Dış Bariyer

Defensin ve IgA: Barsak bariyer bütünlüğünü korumak için doğuştan bazı mekanizmalar vardır. Bunlar goblet hücrelerinden salınan musin ve paneth hücrelerinden salınan defensindir (78,79). Barsak humoral immunitesinde barsak lümeninde bulunan slgA görev yapar. Mukozal dokularda günde yaklaşık 40 mg/kg slgA üretilir. slgA, lokal plazma hücrelerinde üretildikten sonra enterositlerin bazolateral yüzeyindeki reseptörlere bağlanır ve epitelyal hücreyi geçerek lümene sekrete edilir (76). slgA, diğer Ig'ler gibi inflamatuvar yanıtı katılmazlar ve komplemanlara bağlanmazlar. Antijen alınımını inhibe ederek immunolojik bariyer olarak görev yaparlar. Böylece antijenlerin mukozaya bağlanması ve absorbe olmasını engellerler. Barsak lümeninde bulunan slgA, barsak bütünlüğünün sağlanmasında önemlidir (80).

Koruyucu mukus tabakası ve komponentleri: Gastrointestinal sistemin apikal yüzeyinde bulunan mukus tabakası, su, musin ve lipitten oluşmaktadır (81). Bu tabaka gastrointestinal yolu döşeyen epitel hücrelerine yararlıdır ve birçok önemli fonksiyonu vardır. Bu viskoelastik mukus jel tabakası, koruyucu bariyer olarak görev yapar, doğal bir yağ gibi sert bir lüminal çevre oluşturarak mekanik koruma sağlar. Duedonum ve mideden gelen asidik sekresyonlara karşı epitel hasarını önler. Musinin en önemli fonksiyonlarından biri de, bakterileri bağlayarak bunların barsak epitelden geçişini önler. Matur musinin karbonhidrat zincirindeki fazla sayıda siyalik asit ve sülfat varlığı, yüksek viskosite ve asidite sağlamaktadır. Böylece mukusta bulunan asidik müsin, bakteriyel enzimler tarafından oluşacak saldırılara karşı temel koruma sağlamaktadır (82-84). Müsin, patojenik bakterilere karşı koruyucu etkisi nedeniyle barsak bariyerinde önemli role sahiptir (82).

Normal barsak florası: Gastrointestinal sistemin bakterilerle kolonize olması doğumdan hemen sonra başlar. Yenidoğanın barsak florası, erişkinlere göre farklıdır ve bu da NEK gelişimde etkili olabilir. Yenidoğanlarda barsaktaki endojen bakteriler

mukozal yüzeye kolonize olur ve barsak lümeninde desen adı verilen bir patern oluşturur (85,86). Bu desenin 4 fazı vardır: Faz 1, doğumdan 2 haftaya kadar sürer ve bu faz boyunca barsakta streptokoklar, koliform bakteriler baskındır. Gram pozitifler, spor oluşturmeyen anaeroplarda görünür. Anne sütü alan bebeklerin barsağında bifidobakteriler, formül alan bebeklerin bağırsağında laktobasiller baskın olur. Clostridya ve bakteroides gibi bakteriler de bulunabilir ancak diğer zamanlara göre daha düşük seviyededir. Faz 2, emzirme dönemidir ve faz 1'in son döneminden ek gıdaya geçişe kadarki süredir. Bu fazda bakteroides artar, emzirmenin tamamen kesildiği döneme kadar geçen süreçtir ve bu faz erişkin barsak florası oluşuncaya kadar devam eder. Faz 4'te erişkin barsak florası oluşur (87).

Endojen barsak florası az sayıdaki anaeroplara ve düşük konsantrasyonda bulunan koliform bakterilerle kısıtlıdır (88). Faz 1 boyunca anaeroplara yetersizliğinden dolayı, patojen bakteriler bu dönemde yenidoğan barsağında kolonize olabilir ve bu da ilk 2 haftada oluşan NEK patogeneziye katkıda bulunabilir. Bu teori ile uyumlu olarak, erken postnatal dönem boyunca kazanılmış kommensal bakteriler ve barsak lümenindeki antijenler, barsak toleransının gelişimi için gereklidir (89). Gerçekten de çalışmalarda gösterilmiştir ki kommensal bakteriler, sindirimi ve anjiogenezisi içeren genler gibi koruyucu bariyer genlerinin ekspresyonunu düzenleyebilir (90). Kommensal bakteriler, patojen bakterilerin epitel yüzeyine adezyonunu azaltarak bebeği koruyabilir. Sonuç olarak normal barsak florası, barsak bariyerinin yapısı için önemli bir rolü sahiptir (91,92).

b. İç Bariyer

İç bariyer, yarıgeçirgen epitel hücrelerinin plazma membranı ve hücreler arasındaki tigh junctionlarla oluşur. Tigh junction, makromoleküllerin, bakterilerin hücreye geçişini engeller ve sonuçta hücresel defans mekanizmasını oluşturur (93).

Tigh Junction ve intestinal permeabilite: Gastrointestinal sistem, çevresel patojenlere maruz kalan en geniş yüzey alanını temsil eder. Barsak epitel bariyer fonksiyonu,

enterositlerin apikal yüzeyine yerleşmiş tigh junctionların varlığına bağlıdır (94). Tight junctionlar, gestasyonun 10. haftasında oluşur (95). Tight junctionlar ile aktin gibi iskelet proteinleri arasındaki etkileşim, tight junction yapısının korunmasında etkilidir (96). Birçok hücre kültürü çalışmasında tigh junctionların yoğunluğu ile epitel bariyerinin direnci arasındaki ilişki gösterilmiştir. Okludin, klaudin gibi integral proteinler, parasellüler bölgeye yerleşmiştir, sitozolik proteinlerle ilişkili olup tight junctionları, intrasellüler aktinomyosin kompleksine birleştirirler (97).

İnflamatuvar sitokinlere maruziyette tigh junctionlarda bozulma olur. Son çalışmalarda tigh junctionların statik yapıda olmadığı, patojenik bakteriler gibi patolojik durumlarda değişebildiği gösterilmiştir (98). Enterik patojenler değişik mekanizmalarla tigh junctionları bozabilir. Örneğin *Escherichia coli*, okludini değiştirebilir veya *Clostridium difficile*'nin A ve B toksinleri, apikal ve bazal bölgedeki aktin düzenini bozabilir, bu da okludin ile ilişkisini bozabilir (99).

Hücrel immunité:İç mukozal bariyerin ana komponentlerinden biri lamina propria ve epiteldeki lenfosit hücreleridir. Bunlar barsakla ilişkili lenfoid doku (GALT) olarak adlandırılır. GALT, postnatal antijen maruziyeti oluncaya kadar aktive değildir. İntraepitelyal lenfositler sıklıkla CD8 T hücreleridir, lamina propriadakiler ise CD 4 T hücreleridir (100).

B. Barsak Kan Akımının Düzenlenmesi: Kan akımı, damar direnci ile ters orantılıdır; düşük damar direncinde kan akımı daha fazladır (101). Direnç, damar yarıçapı ile de ters orantılıdır. Direnç, damar yarıçapının 4 katı kadar ters orantılıdır. Yenidoğan barsak dolaşımı, daha büyük çocuklarla karşılaştırıldığında daha düşük damar direncine sahiptir ve bu da yüksek oranda kan akımı ve oksijen sunumu ile sonuçlanır (102,103).

Barsak damar direncinin kontrolü karışıktır. İntrensek ve ekstrensek kontrol mekanizmaları arasındaki ilişki ile ayarlanır (104). Ekstrensek olarak damar direncinin düzenlenmesi barsak distalinde yer alan vasküler efektör mekanizmalarla

olur (otonomik sinir sistemi). İntrensek olarak damar direncinin düzenlenmesi, barsak içinde veya barsak dolaşımında olan vasküler efektör mekanizmalarla olur. Bu mekanizmalar, barsaklara oksijen ve besin sunumunu sağlar ve de barsak mikrodolaşımında hemodinamik dengeyi korumak için görev yaparlar (104). Deneysel kanıtlar, iki intrensek uyarının yenidoğan damar direncinin kontrolünde predominant olduğunu ve bunlardan birinin vazokonstrüksiyon, diğerinin ise vazodilatasyon olduğunu göstermektedir (12,72,101).

a. Barsak Damar Direncinde Endotelin-1 (ET-1)' in Rolü: ET-1, yenidoğan barsak dolaşımında primer vazokonstrüktör uyarandır (105). ET-1, endotelyumdan üretilen vasoaktif ve mitojenik bir peptiddir (13). ET-1, preproET-1'den oluşur. PreproET-1, 212 aminoasitli bir peptiddir ve nonspesifik proteaz enzimleri ile 38 aminoasitli büyük ET-1'e dönüşebilir (106) . Büyük ET-1 de endotelin konverting enzim ile biyolojik olarak aktif 21 aminoasitli ET-1' e dönüşür (107). ET-1; ETA ve ETB reseptörleri ile etkisini gösterir. ETA reseptör aktivasyonu, damar düz kas hücreleri üzerinde bulunur ve vazokonstrüksiyona neden olur (108). Endotelin hücresi üzerindeki ETB reseptörünün aktivasyonu, nitrik oksit (NO) ile ilişkili vazodilatasyona neden olurken, düz kas hücresi üzerinde bulunan ETB reseptörünün aktivasyonu vazokonstrüksiyona neden olur (109,110). ET-1 üretimi, birçok uyararla olmaktadır: Kan akımının azalması, hipoksi ve inflamatuvar sitokinler (14,111,112). Barsak damar direncinde ET-1'in rolü yaşa spesifiktir; gençlerde daha fazladır (105). Gençlerde yaşlılara göre endotelyumdan ET-1 üretimi daha fazladır (113). Aynı zamanda gençlerde barsak dolaşımındaki ETA ve ETB reseptörün ekspresyonu da daha fazladır. Gençlerde hem ET-1 yapımının hem de reseptör ekspresyonun daha fazla olması ET-1'in anjiogenezisteki rolünü yansıtmaktadır. Selektif ETA reseptör blokajı ile genç hayvanlarda, yaşlı hayvanlara göre barsak damar direncindeki azalmanın anlamlı olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir (12,105). ETB reseptör uyarımı, NO bağımlı vazodilatasyona neden olmaktadır. ETA' nın neden olduğu vazokonstrüksiyon, ETB' nin neden olduğu vazodilatasyonu aştığında ET-1' in yenidoğan barsağındaki etkisi vazokonstrüksiyondur (12,105).

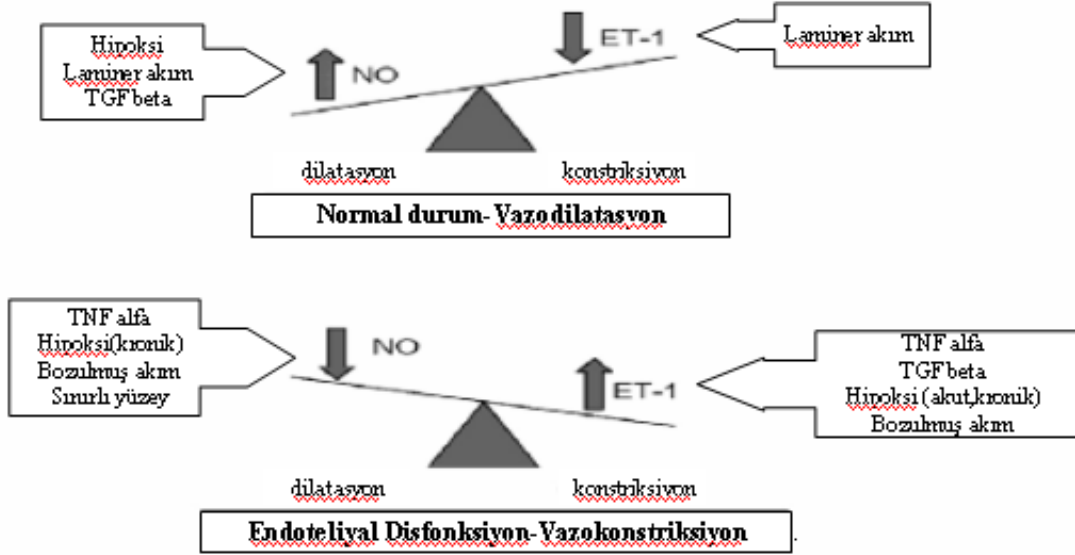
b. Barsak Damar Direncinde Nitrik Oksit (NO)' nun Rolü: Yenidoğan barsak dolaşımında primer vazodilatasyon uyararı NO' dur (102,103). NO, L-arjininden L-sitrülin yapımı sırasında nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile üretilir (114). Endotelyal NOS (eNOS), NOS' un endotelyal formudur. NO, komşu vasküler düz kas hücrelerine diffüze olmakta ve soluble guanilat siklazın (sGS) hem parçasına bağlanarak sGC'yi aktive eder ve bu da siklik guanozin mono fosfat (cGMP) yapımını uyarır (115). Damar düz kas hücrelerindeki cGMP seviyesinin artışı, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu azaltır; bu da vazodilatasyona ve böylece damar direncinde azalmaya neden olur (116). eNOS, konstriktif bir enzimdir. ET-1 gibi NO' yu sürekli üretir. Kimyasal ve mekanik uyarılara yanıt olarak NO üretimini arttırabilir (101).

NO' nun damar direncindeki rolü ET-1 gibi yaşa spesifiktir. Gençlerde anlamlı olarak daha fazladır. Endojen NO üretiminin inhibisyonu, gençlerde yaşlılara göre barsak damar direncinde anlamlı olarak daha fazla artışa sebep olur. Bazal barsak damar direncinde NO' nun üretimi gençlerde daha fazladır. Mezenterik arterde NO konsantrasyonu ve NO ile ilişkili vazodilatörlerin mezenterik arterdeki yanıtı yenidoğanlarda daha fazladır (101,102). Yenidoğan barsağında eNOS aktivitesinin en önemli uyararı, endotelyal yüzeyden geçen kan akımıdır ve intestinal arterde fazla kan akımı, eNOS aracılığıyla üretilen NO' yu artırır. Kan akıma bağlı vazodilatasyonun büyüklüğü, yenidoğan barsağında erişkin barsağına göre anlamlı olarak daha fazladır (12,117).

ET-1 ve NO üretimini düzenleyen genler arasında anlamlı derecede bir düzen vardır (110,118,119). ET-1, endotelyal ETB reseptörü aracılığıyla eNOS aktivasyonunu ve NO üretimini uyarır (109,110). ET-1 aynı zamanda endotelyal hücrelerdeki eNOS mRNA ve protein ekspresyonunu arttırır (120). Ters durumda ise NO' nun ET-1' i suprese ettiği gösterilmiştir (121). Oysa NOS inhibisyonu, bazal ve uyarılan ET-1 üretimini arttırır ve ET-1 ekspresyonunun baskılanmasını azaltır (111). Ek olarak NO' nun ET-1'e ETA reseptör affinitesini azalttığı gösterilmiştir (122).

Damar düz kas hücrelerindeki vazokonstrüksiyon ve vazodilasyon arasındaki denge, bazal barsak damar direncini oluşturur. Yenidoğanda bu denge NO üretiminden dolayı vazodilatasyon lehinedir ve normal durumlarda yenidoğan barsağı düşük damar direnci ile karakterizedir. Patolojik durumlarda endotelinin disfonksiyonu

dengeyi ET-1 ilişkili vazokonstriksiyon lehine değiştirir ve doku hasarı ve barsak iskemisine neden olan kan akımında azalmaya neden olur (123) (Şekil 2).



Şekil 2. Yenidoğanda barsak damar direncinin oluşmasında
NO ve ET-1 arasındaki dinamik denge

Patoloji

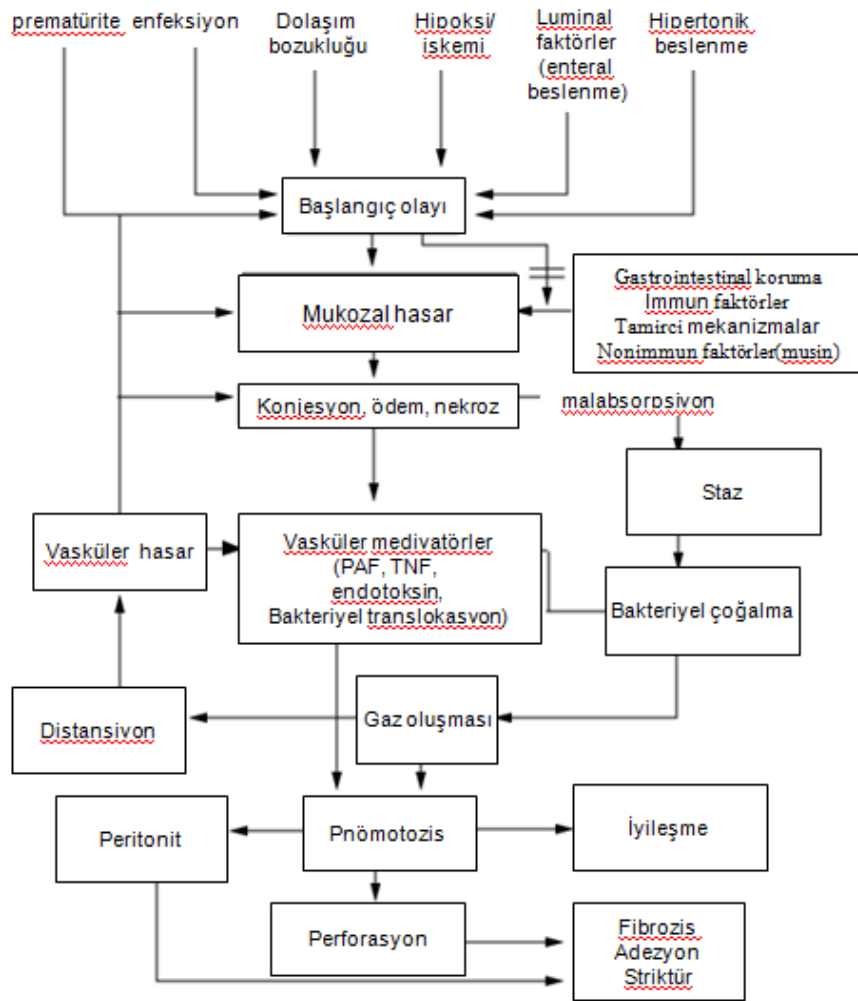
NEK patolojisi, barsakta infarkt bulgularından başlayarak çok değişik bulguları verir. Hastalığın progresyonuna ve altta yatan patolojik faktörlere bağlı olarak bulgular değişir. Olguların çoğunda terminal ileum ve kolon etkilenirken bir kısmında ise tüm gastrointestinal sistem etkilenir (10)

NEK'in ana bulgusu, barsaklarda distansiyon ve hemorajidir. Genellikle mezenterik hat boyunca subserozal gaz toplanır. Gangrenöz nekroz ise antimezenterik hat boyunca vardır ve perforasyon buradan olur (10).

NEK'in ana histolojik bulguları; mukozal ödem, hemoraji ve transmural nekrozdur. Akut inflamasyon, sekonder bakteriyel infiltrasyon ve gaz toplanması diğer bulgularıdır. Vasküler tromboz, nadir görülür. İyileşme sırasında, barsak duvarında kalınlaşma, fibrinöz adezyon ve stenoz alanları görülebilir (10).

Patogenez (Patofizyoloji)

NEK' in patogenezi tam olarak bilinmemektedir. Birçok faktörün etkilediği ve mukozal hasar ile sonuçlanan heterojen bir hastalık olarak kabul edilir. NEK patogenezinden sorumlu faktörler; prematürite, barsakta aşırı bakteri çoğalması, beslenme, bozulmuş mukozal defans, barsak dolaşımının instabilitesi, barsak mukoza hasarına ya da barsak bakterilerinin aşırı çoğalmasına neden olan tıbbi tedavilerdir (9,11) (Şekil 3).



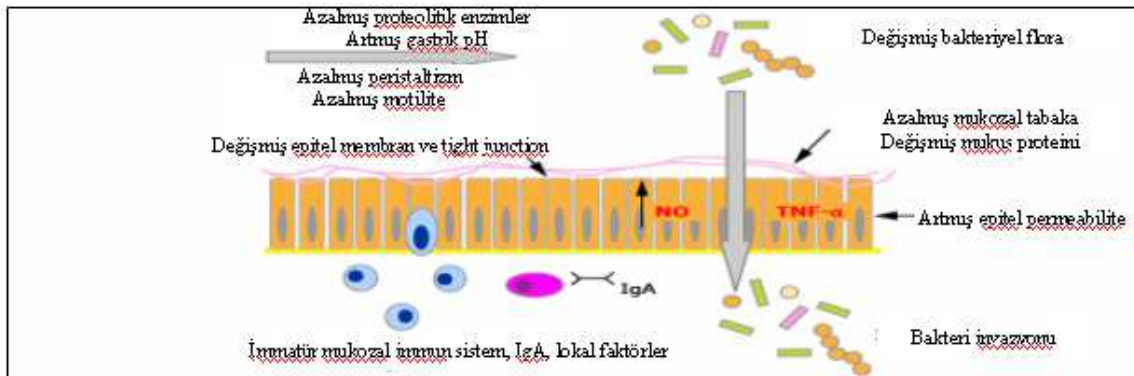
Şekil 3. Nekrotizan enterokolit patogenezindeki mekanizmalar

A. Prematürite: Prematürelerin immün sistemi immatürdür. Bu immatürite, lokal antibakteriyel ürünlerin (slgA, defensin) eksikliği, immün hücre yapımındaki değişiklikler ve koruyucu kommensal bakterilerin barsak kolonizasyonundaki

gecikmesi ile karakterizedir. Gastrointestinal yolun maturasyonu, prematüre bebeklerde gecikir ve bu da NEK gelişiminde anahtar rol oynar. Prematüre bebeklerde, term bebeklere göre, gastrik asit ve mukus az miktarda üretilir, mukozal geçirgenlikte artış vardır ve peristaltik aktivite azdır. Gastrointestinal yol boyunca uzun süre bakteri stazı, bakterilerin mukus tabakasına geçmesine ve barsak epiteline saldırımlarına neden olur. Bu da barsak bariyerinden bakteri geçişi ve bakteri invazyon için gerekli bir basamaktır (93). Yapılan hayvan ve insan çalışmalarında, gastrointestinal motilite, gelişim süresince gelişmektedir (124). İkinci trimesterde motilitenin olması rağmen, üçüncü trimestere kadar fetüs barsağı matür değildir. Barsaktaki migratuar motor kompleks, gestasyonun 3-4. haftasına kadar görülmez (125). Migratuar motor kompleks, barsak içeriğinin distale ilerlemesini kontrol eder.

Hipoksik durumlarda, gastrointestinal sistem motilitesi etkilenir ve barsak içeriğinin ilerlemesi azalır (126). Prematüre bebeklerde zaten rölatif olarak bozuk olan gastrointestinal sistem motilitesinin üzerine hipoksi-iskemi olayların eklenmesi motilitenin daha da bozulmasına ve bakterilerin aşırı çoğalıp staz yapmalarına neden olur ve bu da bakteri invazyonunu kolaylaştırır (93).

NEK'li olguların yaklaşık %90'ı enteral beslenen prematüre bebeklerdir. NEK'in prematüre bebeklerde görülmesi gastrointestinal sistemin ve immun sistemin immatüritesine bağlıdır (127,128) (Şekil 4).



Şekil 4. NEK' de prematüre bebeklerin duyarlılığı

B. İmmatür mukozal bariyer: Term bebeklere göre immatür olan mukozal bariyer, barsak geçirgenliğini ve penetrasyonunu artırır (129).

C. İmmatür lokal defans: İmmatür lokal defans, sIgA konsantrasyonunu, mukozal enzimleri (pepsin,proteaz), diğer koruyucu ajanları (laktoferrin gibi) azaltır, bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olan artmış gastrik pH' a neden olur (129).

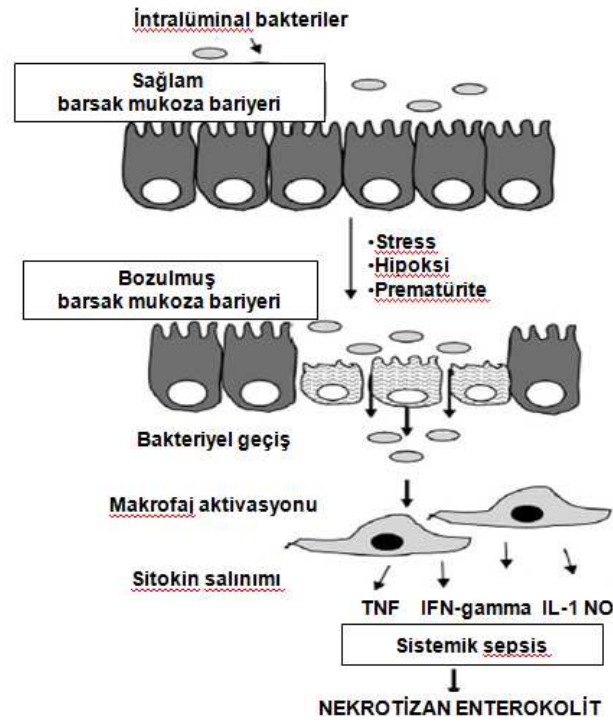
D. İmmatür barsak motilitesi ve fonksiyonu: Prematüre bebeklerde ince barsak motilitesi azalmıştır ve bu da barsak geçiş zamanında uzamaya ve bakterilerin aşırı çoğalmasına neden olur (129).

Bakterilerin aşırı çoğalması ve barsak geçirgenliğinin artması, barsak lümeninden barsak dokularına bakteri geçişinin artmasına katkıda bulunur ve bu da sitokin aktivasyonu ve inflamatuvar yanıt ile sonuçlanır (129).

Glukokortikosteorid kullanmımı, barsak bariyer fonksiyonunu matür hala getirir ve antenatal steroid tedavisinin NEK sıklığını azalttığı görülmüştür (130,131).

Term bebeklerde NEK genellikle konjenital kalp hastalığı, perinatal asfiksi, polisitemi, sepsis ve solunumsal hastalıklar gibi altta yatan bir hastalığa veya predispozan nedenlere bağlıdır (129).

E. Bozulmuş mukozal defans: Prematüre bebekler, immunolojik ve gastrointestinal immatürite ve bunun sonucunda oluşan direnç değişikliği nedeniyle NEK' e daha eğilimlidirler. Bozulmuş mukozal bariyer, bakterilerin barsak lümeninden daha derin dokulara yerleşmesine ve bunun sonucunda da inflamasyonun gelişmesine neden olur (132,133) (Şekil 5).



Şekil 5. NEK'in patogenezinde bozulmuş barsak mukoza bariyerinin rolü

Barsağın mukozal defansı, birçok faktör ile ilişkilidir. Bunlar; fiziksel, kimyasal ve immunolojik bariyerlerdir. Doğal bağışıklığa katkıda bulunan diğer faktörler; luminal pH, enzimler, musin, mukozal bariyer, barsak motilitesi, laktoferrin ve lizozim gibi diğer nonspesifik antimikrobiyal faktörlerdir. Prematüre bebeklerin, term bebekler ve erişkinlere göre mukozal defans faktörlere katkıda bulunan fonksiyonlar daha immatür ve daha az konsantrasyondadır (9).

- Barsak musin tabakası, bakterilerin epitele bağlanmasını engeller ve bakterilerin barsak lümeninde hareketini arttırırlar ve bu prematüre bebeklerde tam olarak gelişmemiştir (134,135).
- sIgA, gastrointestinal sistemin ana immunprotektif antikorudur ve doğumda insan barsak mukozasında yoktur (134).
- Paneth hücreleri, sekretuar enterositlerdir ve ince barsak kriplerinin bazaline yerleşmiştir. Lizozim, fosfolipaz A2, antimikrobiyal peptidler (defensin, katelisidin)

salgılamaktadır. Bunlarda barsak bakteri popülasyonunun düzenlenmesinde yardımcı olurlar (135,136).

- Tight junction' lar, barsak lümeninde epitelyal hücrelerin arasında bulunan yarıgeçirgen özellikteki yapılardır. Prematüre bebeklerde tight junction' lar, fonksiyonu ve kompozisyonundaki immatürite nedeniyle daha geçirgendirler. Tight junctionların bozulması, bakteri etkileşimininde değişikliğe neden olur ve bu da inflamasyonu tetikler (136).
- Büyüme faktörleri (GF), barsak bariyer fonksiyonunun gelişmesi ve korunmasında önemli role sahiptir (137). Hayvan çalışmaları, NEK'in patogenezinde epidermal growth faktör (EGF)'nin protektif ve tanımlayıcı rolünün olduğunu desteklenmektedir (138). Başka hayvan çalışmalarında da EGF uygulanması ile tavşan modelinde NEK'in sıklığının azaldığı gösterilmiştir (139-142).

Bir çalışmada NEK gelişen 32 hafta ve altındaki bebeklerde yaşamının ilk haftasında NEK gelişmeyen bebeklere göre tükrüklerinde EGF düzeyinin daha düşük olduğu gösterilmiştir. NEK'li olgularda, olmayanlara göre yaşamının 1. haftasından 2. haftasına kadar tükrüklerinde EGF seviyesinin daha fazla arttığı görülmüştür (143).

F. Bakteri kolonizasyon: Bakteriyel kolonizasyonun NEK gelişmesinde esas rol oynadığına inanılmaktadır. Çünkü NEK, barsakların steril olduğu intrauterin dönemde gelişmemektedir. Doğumdan sonra, annenin rektovajinal florasından kommensal bakteriler, barsak kanalında hızlıca kolonize olmaktadır. Bu bakteriler, barsak fizyolojisi, postnatal maturasyon, barsak fonksiyonunu (mukozal bariyer, sindirim, angiogenezis, IgA üretimi) içeren genlerin ekspresyonunu düzeleyen toll like reseptörleri ile aynı ortamda yaşamaktadırlar ve patojen bakterilere karşı koruyucudurlar (128,135,144,145). Patojen bakteriler, barsak hücrelerdeki proinflamatuvar ve proapoptotik yanıtları (nükleer faktör kappa B yolu gibi sinyal yolağı) uyarırlar (128,135,146). Prenatal ve postnatal barsak gelişiminde bu bakterilerin rolüne bakıldığında barsak nonkommensal bakterilerin aşırı çoğalması ve özellikle de koagulaz negatif stafilokokların NEK ile ilişkili olduğu görülmektedir (147).

Nonkommensal bakterilerin çoğalması, mukozal hasara neden olur. Bu da barsak maturasyonunu etkiler, inflamasyon ve apoptozisin artmasına ve endoksin salınımına neden olur. Bunlar primer enfeksiyon olmadığında meydana gelir. NEK'li vakaların çoğunda enfeksiyöz ajanlar, hastalığın ileleminde sekonder rol oynarlar (128).

Birçok prematüre bebek (gestasyonel yaşı 28 haftanın altında), stafilokoklar ve çok az bifidobakteriler ve kommensal barsak bakterileri ile kolonizedir (148). NEK'li olguların %20-30'u bakteriyemi ile ilişkilidir ve etken sıklıkla da koagulaz negatif stafilokoktur. Bu bakterilerin kana karışması hasarlanmış barsak mukozasından olmaktadır (9,128).

Bakteriyel kolonizasyon, NEK gelişmesinde öncüdür. NEK gelişmiş hastaların dışkı, kan ve periton sıvısından *Escherichia coli*, *Enterobakter*, *Klebsiella*, koagulaz negatif stafilokok gibi birçok bakteri izole edilmiştir (149-151). Diğer mikroorganizmalar streptokok ve laktobasillustur. Formula ile beslenenlerde ise enterokok, koliform bakteriler ve klostridyum gibi anaeroplarda saptanmaktadır (152) (Tablo 1).

Tablo 1. NEK'de üreyen patojenik bakteriler

Gram negatif bakteriler	Gram pozitif bakteriler
<i>Clostridia</i> <i>Clostridium butyricum</i> <i>Clostridium difficile</i> <i>Clostridium perfringes</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Enterobacter sakazakii</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella species</i>	<i>Staphylococci</i> <i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i> <i>Staphylococcus epidermis</i>

NEK'ten korunmada probiotik profilaksisinin etkili olduğuna dair birçok çalışma yapılmıştır. Akisu ve arkadaşlarının yaptıkları deneysel çalışmada yavru farelere oral olarak probiyotik bir ajan olan *Saccharomyces boulardii* vermişler, kontrol grubuna göre bu farelerde bağırsak hasarının daha az oluştuğunu, bağırsak hasarında major rol oynayan PAF düzeylerinin daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ancak optimal kombinasyon ve doz belli değildir (153).

Probiyotik kullanımı, invaziv bakterilerin bakteriyel çoğalmasını azalttığı ve kommensal bakterileri arttırdığı için önerilmektedir; bu da inflamatuvar yolağı inhibe eder ve böylece NEK riski azalır. Probiyotik tedavisinin etkisi ve güvenilirliği klinik çalışmalarla kanıtlanıncaya kadar probiyotik kullanımı sınırlandırılmıştır (128,135).

Beş günden fazla kullanılan ampirik antibiyotik tedavisi, NEK riskini ve ölüm riskini artırmaktadır. Ampirik antibiyotik tedavisinin uzun süre kullanılması, gastrointestinal kanalda bakteriyel kolonizasyonunda değişikliğe neden olur (128,154).

G. Primer enfeksiyon: NEK, patojen barsak bakterilerinin primer invazyonundan dolayı oluşabilir. NEK'li hastaların periton boşluğu ve kanından üreyen bakteriler, distal gastrointestinal kanalda da bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* ve *Clostridium difficile*'dir (49,155,156). Bunlar içinde *Clostridium* tipleri, toksin üreten bakterilerdir ve yalancı membran tabakası, submukozal ve subserosal gaz birikimi ve barsak nekrozu ile ilişkili olup bir çok ciddi NEK'de gösterilmiştir (157,158). Bazı sporadik NEK'li vakaların bir kısmında diğer bakteriyel ajanlar, viral ve fungal patojenler izole edilmektedir. NEK'li bebeklerin ve bu bebeklere bakan anne, hemşire ve bakıcıların dışkılarında viral partiküller izole edilmiştir. Bakteriyel ajanların neden olduğu hasar, inflamatuvar mediyatörlerin salınımını arttırabilir (159,160).

NEK'in patogenezinde enfeksiyonun rolünün belirlenmesinde moleküler teknoloji bir araç olarak kullanılabilir. Bir prospektif çalışmada 34 haftanın altında 12 bebekten yaşamının ilk 2 haftası boyunca alınan dışkı örneği, PCR ve jel elektroforez ile analiz edilmiş ve *Clostridium perfringens* saptanan 12 bebeğin 3'ünde sonradan NEK gelişmiş, 9'unda ise NEK gelişmemiştir (161).

H. Beslenme: Prematüre bebeklerin barsakları doğumda sterildir, vajinal kanaldan geçinceye kadar veya enteral beslenme başlayıncaya kadar prematüre barsağı kolonize olmaz. Anne sütü, barsak maturasyonunu ve lokal koruyucu mekanizmaları artırır. Aynı zamanda anne sütü, immunglobulinlerin ana kaynağıdır. Anne sütündeki lizozimler, bebeğin immatur immun sistemini geliştirir (162). Anne sütü, EGF gibi trofik faktörler ve IL10 gibi inflamatuvar sitokinleri de içermektedir. IL10' un, NEK gelişime karşı koruyucu rolü vardır (163,164). Anne sütünde aynı zamanda artmış düzeyde bifidobakter gibi yararlı probiyotik mikroorganizmalar ve azalmış seviyede gram negatif patojen bakteriler de vardır (165). Ne yazık ki birçok prematüre bebek, anne sütü yerine formula ile beslenmektedir ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinin nazokomiyal florasına maruz kalmaktadır. Formula ile beslenme immatür barsağın patojen bakterilerle kolonize olmasına neden olur. Kontamine formula ile NEK arasında ilişkinin olduğu gösterilmiştir. 125 NEK olgusunun olduğu bir çalışmada en sık izole edilen bakteri, enterobakterdir ve iyileşen hastaların %29'unda izole edilmiştir (151). Enterobakter sakazakii' nin, NEK'e sebep olan ajanlar içinde en virulan olanlardan biri olduğu gösterilmiştir. Diğer bakteri, virus ve mantarlar da izole edilmektedir. Anne sütü ile beslenme arttıkça NEK sıklığında azalır (166,167). Son çalışmalarda düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK sıklığının azalması, anne sütünün koruyucu etkisininin doza bağlı olduğunu desteklemektedir (168). Antijen transportu da yenidoğan döneminde daha fazladır. Gelişim boyunca enterositlerde değişiklikler olur ve hücre membranının lipid içeriği değişir. Aynı zamanda musin üretimi ve kompozisyonu da değişir. slgA, doğumdan sonraki birkaç hafta içinde oluşur. Tüm bunlar, bakterilerin epitele saldırısını ve translokasyonunu kolaylaştırır ve inflamatuvar kaskadı başlatarak NEK'e ilerler (169).

NEK gelişen bebeklerin %90' nından fazlası beslenmiş olması rağmen hiç beslenmemiş bebeklerde de NEK görülebilir (170). Enteral beslenme, NEK patogeneze katkıda bulunabilir; çünkü anne sütü ve formulalar barsakta bakteriyel proliferasyon için bir substrat oluşturur. Yenidoğanlarda özellikle de prematüre bebeklerde, tam bir sindirim ve emilim olamamaktadır. Tam sindirilmemiş karbonhidrat, lipid (organik asit, kısa zincirli yağ asitleri, karbondioksit, hidrojen gazı) bakteriler tarafından fermente edilir ve bu da mukozal hasara neden olur (171). Yetersiz motilite ve buna bağlı uzun geçiş zamanı, bu durumu artırır. Hayvan

alışmalarında kazein, organik asitler ve düşük pH' ın, vazoaaktif bileşenlerin infiltrasyonu ile mukozal hasara neden olduğu gösterilmiştir. NEK, enteral beslenme ile ilişkili olmasına rağmen bu kesin değildir; ancak beslenme ile ilişkili faktörler, NEK gelişmesinde önemlidir. Bunlar:

-Beslenmenin artış hızı: 2011 derlemesinde beslenmenin yavaş arttırılması ile azalmış NEK riski arasında ilişki bulunmamıştır. Beslenmenin yavaş arttırılması, total enteral beslenmeye geçişte geçikme ile ilişkili bulunmuştur (172)

-Beslenmeye başlanma zamanı: Enteral beslenmeye başlamada geçikme (4 günden sonra), azalmış NEK riski ile ilişkili bulunmamıştır.Total enteral beslenmeye başlamada daha uzun bir süre ile ilişkili olduğu bulunmuştur (173).

-Minimal enteral beslenme veya trofik beslenme: NEK insidansında artışı neden olmaz (174-176).

Anne sütü: Anne sütü, formula ile karşılaştırıldığında prematüre bebeklerde NEK'e karşı koruyuculuğu daha fazladır. Anne sütündeki bazı faktörler, gastrointestinal kanala yabancı antijenlerin girişini ve inflamasyonunu azaltarak bu koruyuculukta rol oynar. Anne sütü, düşük barsak pH' ı ile ilişkilidir ve bu da nonpatojen bakterilerin büyümesini kolaylaştırır. Bu nonpatojen bakteriler, patojen bakteriler ile yarışmakta ve onların çoğalmasını engellemektedir. Barsak mukus tabakası, anne sütünden daha az etkilenir ve anne sütündeki büyüme faktörleri (epidermal büyüme faktörü) bu bariyerdeki bozulmaları tamir eder. Anne sütü, barsak motilitesini arttırır ve bu da süt stazını ve barsak geçirgenliğini azaltır. Anne sütü aynı zamanda mukozal koruma sistemini uyarır ve böylece lokal immün aktivasyonu engeller. Anne sütündeki koruyucu faktörler platelet aktivator faktör, asetilhidrolaz, sekretuar IgA, sitokinler (IL10,11), epidermal büyüme faktörü, nükleotidler, glutamin ve antioksidanlardır (vitamin E, karoten, glutatyon). Anne sütündeki bu yararlı faktörler, formula ile karşılaştırıldığında anne sütü prematüre bebeklerde NEK riskini azaltmaktadır ve bu hala tartışılmaktadır (143).

I. İnflamasyon: İskemi, enfeksiyöz ajanlar ve mukazal iritanlar ile ilişkili inflamatuvar mediyatörler mukozal hasarı arttırabilirler (135) TNF, IL1, IL6, IL8, IL10, IL12, IL 18 gibi interlökinler, PAF gibi soluble inflamatuvar sitokinler, damar geçirgenliğini artırır, inflamatuvar hücreleri uyarırlar. NEK'li prematüre bebeklerde bu sitokinlerin değerleri yüksektir ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olarak artarlar (135,177-180).

PAF, hücrel kaskatta en az ilişkisi olan sitokindir. PAF, makrofaj, nötrofil, eozinofil ve endotelial hücrelerden sentezlenir. Hayvanlara PAF uygulandığında, barsak nekrozu, sistemik hipotansiyon, kapiller kaçak sendromu, pulmoner hipertansiyon, nötropeni ve trombositopeni gelişmektedir (181). Formula ile beslenen bebeklerde plazma PAF konsantrasyonu daha yüksektir; oysa anne sütünde PAF'ı yıkan asetilhidrolaz vardır. NEK grubunda, kontrol grubuna göre plazma asetilhidrolaz aktivitesi düşüktür ve bu da NEK gelişmesine katkıda bulunmaktadır (181).

Sitokinler, serbest oksijen radikallerini arttıran medikal tedaviler ve durumlar, NEK'in gelişmesine katkıda bulunabilirler (181). Magnezyum ve bakır eksikliği, sitokin aktivitesi ve sentezini arttırarak barsak hasarını arttırır (182). Prematüre retinopatisini önlemek için vitamin E uygulaması ile ilgili çalışmalarda vitamin E ile tedavi edilip serum tokoferol düzeyi yüksek (>3,5 mg/dl) olanlarda NEK'in daha sık görüldüğü saptanmıştır (183). Bu durum, gereksiz fazla oksijen serbest radikallerinin antimikrobiyal defansı azaltmasıyla açıklanmaktadır. Başka bir yönden bakıldığında vitamin E ile tedavi edilen ve serum tokoferol düzeyi düşük olan bebeklerin NEK ile ilişkisi olmadığı görülmektedir (183).

J. Eritrosit transfüzyonu: Yaşamının ilk haftasından sonra yapılan kan transfüzyonunun, artmış NEK riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (184). NEK' in gelişmesinde kan transfüzyonunun patojenik rolü tam olarak açık değildir; ancak kan transfüzyonu NEK için tehlike oluşturabilecek bir durum olarak görülmektedir (184-187). Birçok retrospektif çalışma ve derlemede eritrosit (ERT) transfüzyonu ile NEK arasındaki ilişki göstermiştir. 11 vaka-kontrol çalışması ve bir kohort çalışmasından oluşan derlemede aşağıdaki bulgular saptanmıştır (187):

- NEK ve ERT transfüzyonu arasında geçici bir ilişki vardır.
- Transfüzyonla ilişkili NEK gelişen bebekler, transfüzyonla ilişkili olmayan NEK olgularına göre daha prematüre, daha düşük doğum ağırlığında, PDA'sı olan ve daha fazla mekanik ventilatör desteği almış bebeklerdir.
- Transfüzyonla ilişkili NEK gelişen bebeklerde mortalite daha yüksektir.
- 6 çalışmada transfüzyonla ilişkili NEK olgularında, transfüzyonla ilişkili olmayan NEK olgularına göre NEK, daha geç yaşta ortaya çıkmaktadır.

Bu sonuçlar ERT transfüzyonu ve NEK sebep-sonuç ilişkisini açıklamaz. Bu çalışmalarda risk faktörleri (prematürite, doğum ağırlığı, ventilatör durumu, PDA varlığı) hesaba katılmamıştır (187).Kanada' da yapılan, NEK gelişen 927 prematüre bebek ve NEK olmayan 2781 bebeği içeren geniş vaka-kontrollü çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada kontrol grubuna göre NEK'li olgularda 2 gün öncesinde ERT transfüzyonu daha fazla bulunmuştur. NEK'li olgular daha düşük gestasyonel haftada ve daha hasta gruptur. Transfüzyon ile ilişkili NEK'li olguların doğum ağırlığı, doğum haftası daha düşük ve hastalıkları daha ciddidir (188).

NEK ile ERT transfüzyonu arasındaki ilişkinin patolojik mekanizması (184):

- ERT transfüzyonu ile ilişkili akut akciğer hastalığında olduğu gibi ERT transfüzyonu benzer şekilde ince barsakta immunolojik hasara neden olur.
- Tromboz ve vazokonstrüksiyondan dolayı kan dolaşımında bozulma olmakta ve kan ürünlerinin içeriği barsak hasarına neden olmaktadır.

Tam tersi çalışmalarda da NEK'in başlangıcında anlamlı derecede anemi olup klinik olarak bebekler stabil değildir. Transfüzyon gerektirecek anemi de oksijen sunumunu bozması nedeniyle barsak hasarına neden olur. NEK ve ERT transfüzyonu arasındaki ilişkili için prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır. NEK'in patogeneze anemi veya ERT tansfüzyonu ile ilgili çalışmalar yardımcı olacaktır. Kesin bir veri tabanı olmadıkça ERT transfüzyonu pratiğimiz değişmeyecektir.

K. Medikal tedaviler: Hiperosmolar uygulamalar ve/veya formulalar mukozal hasara neden olup NEK' in gelişmesine katkıda bulunurlar (189). Teofilin, multivitamin, fenobarbital gibi oral uygulamalar, hipertonic olup barsak mukozasını irrite edebilirler. Hiperosmolar kontrast madde uygulamaları, mukozal hasara neden olabilmektedirler. Barsaklara sıvı geçişine, barsak distansiyonuna ve barsakta iskemiye neden oldukları için mukoza hasarına neden olabilmektedirler. Doğumdan sonraki ilk bir hafta içinde hiperosmolar uygulamalardan kaçınılmalıdır. Simetidin, ranitidin, famotidin gibi histamin-2 reseptör antagonistleri, NEK açısından yüksek risklidir. Bu, NICHHD'da bir yayın ile belirtilmiştir (60). Bu çalışmaya 1998-2001 yılları arasında 11072 prematüre (401-1500 g) bebek alınmış ve NEK sıklığı 7,1 kat fazla bulunmuştur. NEK olan bebeklerin daha fazla histamin-2 reseptör antagonisti aldığı saptanmıştır. Mide asiditesi, NEK'i başlatan bakterilerin büyümesini azaltabilmektedir. Bu çalışmada NEK sıklığındaki artış, histamin-2 reseptör antagonisti ile mide asiditesinin azaltılması ile açıklanmıştır (190).

L. Dolaşım instabilitesi: İskemi, NEK'e major katkıda bulunan neden olması rağmen NEK'li hastaların çoğu perinatal hipoksik iskemik olay yaşamamaktadırlar (104,155,191). NEK' in gelişmesine neden olan dolaşımsal durumlar; perinatal asfiksi (104,155,191), tekrarlayan apne, ciddi RDS nedeni ile oluşan hipoksi, hipotansiyon, konjenital kalp hastalığı, PDA, konjenital kalp hastalığı (192), umbilikal arter kateterizasyonu, anemi, polisitemi (192-194), ERT transfüzyonu (185,186,195), exchange transfüzyon (196) ve kokaine maruz kalmadır. Bu bebeklerde oluşan barsak kan akımının azalması NEK patogeneze katkıda bulunur (196). Term bebeklerde dolaşım instabilitesine bağlı NEK daha sıktır. NEK'li prematüre bebeklerde, dolaşım instabilitesinin predispozan rolü kanıtlanamamıştır. Olgu-kontrol çalışmalarında hipoksi ve/veya hipotansiyon epizotları NEK'li ve NEK olmayan prematüre bebeklerde aynı sıklıkta görülmektedir (43). Hipoksik iskemik ensefalopatinin diğer bulguları (akut tubuler nekroz, intraventriküler hemoraji) NEK gelişmesi ile korele değildir.

Azalmış barsak kan akımı ve hipoksiye yanıt olarak reperfüzyon barsak hasarına katkıda bulunur. Yenidoğanda mezenterik kan akımının regülasyonunun

anlaşılması güçtür. Küçük bir çalışmada yaşamının ilk günü doppler akım hızı ölçülerek tanımlanmış süperior mezenterik arterde artmış damar direnci, NEK gelişme riski ile ilişkili bulunmuştur (197). Başka prospektif vaka kontrollü bir çalışmada konjenital kalp hastalığı olan term bebeklerde abdominal aortada persistan diastolik akımın tersine dönmesi, artmış NEK riski ile ilişkili bulunmuştur (192).

M. Barsak damar direnci: Barsak mukoza hasarı ve inflamasyon, NEK' in gelişmesinde katkıda bulunan endojen vazoaaktif ajanlarda değişikliğe neden olur. NEK'in patogeneğinde güçlü vazokonstrüktör endotelin-1 ile primer vazodilatör olan nitrik oksit rolü ile ilgili veriler sınırlıdır (177).

- Endotelin-1 (ET-1): Patolojik çalışmalarda NEK şüphesi olan olguların barsak örneklerinde histolojik olarak NEK bulguları olan bölgelerde, histolojik olarak NEK bulguları olmayan bölgelere göre ET-1 seviyesinde artış görülmüştür. Ayrıca histolojik olarak NEK bulguları olan bölgelerde, histolojik olarak NEK bulguları olmayan bölgelere göre arteriollerde vazokonstrüksiyonun arttığı saptanmıştır, endotelin reseptör antagonisti verildiğinde ise tam tersi etki görülmektedir (17).
- Nitrik oksit (NO): NEK'te NO' nun rolü çelişkilidir, bununla ilgili veriler yetersizdir. Bir çalışmada NEK nedeniyle cerrahi yapılan hastalarda, intestinal atrezi ve diğer inflamatuvar olmayan durumlarda cerrahi yapılan hastalara göre iNOS gen ve protein ekspresyonunun apikal enterositlerde daha sık saptandığı görülmüştür. Bu sonuçlar göstermektedir ki artmış NO, direkt barsak hasarı, bakteriyel translokasyon ve barsak bariyer fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunabilmektedir (198).

Tam tersi, başka çalışmalarda eNOS, hem intestinal atrezili hastaların barsak örneklerinde hem de NEK nedeniyle opere olan hastaların barsak örneklerinde azalmadığı bulunmuştur; ancak NEK'li grupta intestinal atrezili gruba göre eNOS fonksiyonu bozulmuştur ve bu da arteriollerde NO üretiminin azalması ile sonuçlanmıştır. NEK'li olgularda asetilkolin stimülasyonuna normal dilatasyon yanıtı da bozulmuştur (23).

NEK Patogenezindeki Anatomik Değişiklikler

NEK ile ilişkili iskemi, terminal mezenterik arter ve 1A-2A submukozal pleksusun kısmi ve tam olarak damar direncinin regülasyonundaki bozukluktan dolaydır. Ne yazık ki bu varsayım sağlam bir fizyolojik temele dayalı iken henüz deneysel bir kanıtı yoktur. Yenidoğan barsak dolaşımının hayvan çalışmalarında tüm barsak kan akımı üzerindeki odak sınırlıdır ve domuzlarda terminal mezenterik arter ile ilgili yapılan bir çalışma vardır (199). Bu çalışmada barsak arteriyel dolaşımındaki direnç regülasyonunun önemi ortaya çıkarılmıştır. NEK patogenezini başlatan inflamasyon olmasına rağmen NEK'teki vaskülitopatinin inflamasyona neden olduğu iki durum vardır:

1. İnflamatuar mediyatörler submukozadaki 1A-2A arterioller pleksusa, venüller ve lenfatikler ile çıkmaktadır. Veno-arterioller ve lenfatiko-arterioller submukozada bulunmaktadır (200). Bu anatomiden dolayı vazoaaktif ajanların veno-arteriole ve lenfatiko-arteriole diffüzyonu kolaylaşmaktadır. Bu diffüzyon vazodilasyonun oluşmasında önemli bir rol oynar ve besin absorpsiyonu boyunca barsak perfüzyonu artmaktadır. NO, mukozaya dökülen venül (201) ve lenfatiklerde (202) oluşmaktadır. 1A ve 2A arteriollerin vazodilasyonuna neden olur ve yukarıya terminal mezenterik artere doğru bu vazodilatasyon çıkmakta, damar direncini düzenlemektedir ve bunun sonucunda postprandiyal hiperemi oluşmaktadır.

Proinflamatuar mediyatörler, villus ve mukoza içinde üretilir. Bu ajanlar, PAF ve sitokinlerdir. Bu iki ajanda NEK'te identifiye edilmiştir ve damar disfonksiyonuna neden olurlar. Bunlar, direkt veya indirekt olarak vazokonstrüksiyon ve iskemiye neden olmaktadır (17,177). Hızlıca 1A-2A submukozal pleksus içine diffüze olmakta ve vaskülopati kaynaklı inflamasyona ilerlemektedir.

2. 3A arteriol her villusta vardır ve bunlar barsak lümenindeki zararlı ajanlara direkt maruz kalmaktadırlar. Toksinlere karşı inflammatuar yanıt bu arteriollerde olmaktadır. 3A arteriollerde vazokonstrüksiyonun başlaması, villus bütünlüğünün kaybını hızlandırır ve bu da NEK'in erken histopatolojik bulgusudur. Başlangıçta nonvasküler mekanizmalar (inflamasyon) tarafından oluşturulan mukozal hasar, villusun fiziksel bütünlüğünü ve 3A'nın kasılabilir durumunu doğrudan etkileyebilir ve

arteriolere kan akımını azaltabilir (203). Villüs kan akımının azalması veya oksijen sunumunun azalması, daha fazla villus kaybına ve lokalize villus dökülmesine neden olur. Bu mukozal hasarın boyutu önemlidir. Birden fazla 3A arterioller tehlikeye girer. Bu durumda submukoza içindeki 1A-2A pleksusus kan akım hızı azalır. Azalmış kan akımı, mekanostimulasyon ile vazodilatatör ajanlar veya endoteliumdan üretilen vazokonstrüktör ajanların üretiminin değişmesinde tetikleyici olarak görev yapabilir. Bu durumda vazokonstrüksiyonun ilerlemesine ve iskemiye neden olur. NEK'in en önemli klinik damgası, hızlı yayılabilme kapasitesidir (72).

NEK patogenezinde barsak iskemisinin önemli rolü vardır. Bunun histopatolojik bulgusu koagulasyon nekrozudur. Barsak iskemisinin NEK patogenezindeki primer veya sekonder rolü ve hangi mekanizmalarla barsak iskemine ilerlemektedir tam olarak açık değildir (204).İskemi, barsak hasarına neden olabilir. İskemi dışında perfüzyonun ve barsak kan akımının azalması, diğer iskemi nedelerindendir (72).

NEK ile ilgili yapılan erken açıklamalarda, hastalığın patogenezinde primer ve erken rol oynayan mekanizmanın iskemi olduğu desteklenmiştir. Touloukian ve arkadaşlarının çalışmasındaki NEK' li 25 bebeğin 18'i 2500 gramın altındaydı ve bunların anlamlı doğum asfiksisi vardı (37,205). Alward ve arkadaşların çalışmasında da yenidoğan domuzlarda yoğun postnatal asfiksisinin mukozal destrüksiyona neden olduğu, bunda asfiksi-iskemi hipotezini doğruladığı gösterilmiştir (206,207). NEK ile ilgili epidemiyolojik çalışmalarda ise NEK ile doğum asfiksisi veya postnatal hipoksi arasındaki korelasyonun bulunamadığı görülmüştür. Ayrıca yenidoğan barsağının dışsal sempatik sinirlerinin sürekli stimülasyonunun (Touloukian tarafından belirtilen barsak iskemi mekanizması) sadece kan akış hızında geçici azalmaya ya da doku oksijen alımında geçici azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (46,49,208,209).

Son yapılan birçok insan çalışmasında doğum sonrası ve geç fetal dönem boyunca superior mezenterik arter (SMA) kan akım hızı ölçülmüştür. Rhee ve arkadaşlarının çalışmasında büyüme geriliği olan fetuslarda antenatal SMA kan akımını değerlendirilmiş ve bu grubun NEK sıklığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (210). SMA kan akım hızının ölçümünde Doppler USG kullanılmış ve pulsatile

indeksi hesaplanmıştır. Böylece indirekt olarak damar direnci hesaplanmıştır. Bu fetusların %40' ında tehlikeli sınırlarda SMA akış hızı ve artan barsak damar direncini düşündüren pulsatile indeksi gösterilmiştir. Ne yazık ki bu bebeklerdeki NEK sıklığı ile %60' ında normal fetal SMA hemodinamik profili olan bebeklerdeki NEK sıklığı arasında fark bulunamamıştır. Kempley ve arkadaşlarının çalışmasında da Bell 2 NEK gelişen bebeklerde, kontrol grubuna göre SMA kan akış hızında azalmadan çok artış olduğu gösterilmiştir. NEK sıklığı ve hastalığın semptomları ile SMA kan akış hızı arasında ilişki bulunmamıştır (211). SMA hemodinamik ölçümleri, aşağıdaki intramural mikrovasküler olaylar ile ilgili bilgi vermektedir. SMA akış hızı etkilenmeden önce aşağı kan akışı düzenlenir. Bu bilgiler kabul edilmekle birlikte Rhee ve Kempley, NEK gelişimi öncesinde barsak kan akımında azalma olmadığını göstermiş ve bu da en basit anlamda ilk aşamada iskeminin görülmediği anlamına gelmektedir (210,211).

NEK hayvan modelleri, doku hasarında direkt ve indirekt olarak iskemiye desteklenmektedir; fakat burada zamanı ile ilgili sorular vardır. NEK' te sıçan yavru modeli, bugüne kadar belki de en iyi kabul edilen NEK modelidir, formula ile beslenen bebeklerin tekrarlayan hipoksi ve hipotermiye maruziyetinden oluşmaktadır (212,213). Daha geniş hayvan çalışmalarında da hipoksi ve hipotermi, barsak perfüzyonunu etkilemektedir; bununla birlikte NEK gelişimi için yavruların yapay beslenmesi gerekmektedir; bu modelde doku hasarının oluşması için iskemi tek başına yeterli olmamaktadır (214). Ayrıca, sıçan yavrularında barsak perfüzyon miktarındaki teknik sorunlar, şimdiye kadar barsak perfüzyonunun doğrudan ölçümünü engellenmiştir. Son zamanlarda mezenterik arterin serklağı ile barsak perfüzyonunun doğrudan azaltıldığı NEK yavru domuz modeli geliştirilmiştir. Fakat anlamlı doku hasarı yaratmak için barsak lümeni içine lipopolisakkarit infüzyonu gerekmektedir. İskemiden sonra lipopolisakkarid veya lipopolisakkarid sonrası iskemi, doku hasarının son derecesini etkilememektedir; ancak ikisi de gereklidir. Bu modelde doku hasarı için mezenterik arter kan akışının % 60 oranında ve 6 saat azaltılması gerekmektedir; ancak luminal içine verilen LPS'nin iskemideki rolü tam olarak bilinmemektedir (72). NEK doku hasarının birincil nedeni olarak iskemi kavramı varsayılmaktadır, bu hasar parankimal oksijen salınımı ile ilişkilidir. Kan akımı ve oksijen salınımı, mitokondriyal oksijen basıncı için gerekli değerin altına

düşmekte ve hücre hasarına ilerlemektedir. İlk olarak iskemi epizotlarını reperfüzyon takip eder ve iskemi-reperfüzyon döngüsü reperfüzyonda reaktif oksijen ürünlerinin oluşması ile parankimal ve vasküler bölümde doku hasarı yaratılır (215). İskemi-reperfüzyon döngüsü, NEK patogenezinde en önemli mekanizma olarak öne sürülmüştür (216). İkinci olarak, akışın %50 azalması, yenidoğan barsağında damar direncini düzenleyen iç vasküler efektör sistemleri anlamlı ölçüde bozmaktadır ve bu da vazokonstriksiyonun giderek artmasına neden olur. Aksi belirtilmedikçe akış hızının %50 azaltılması doku hasarına yol açmak için yeterli değildir; ancak aşağı damar regulasyon mekanizmasını değiştirebilecek yeterli büyüklüktedir ve bu da iskemiye daha da bozmakta ve kötüleştirmektedir (217,218).

Yenidoğan Barsağında Endotelial Fonksiyonun Bozulması

Endotel kaynaklı vazodilatator olan NO, yüksek bazal kan akış hızı oluşturmak için vasküler kontrolde önemlidir ve endotel bütünlüğü bozulduğunda ise bu kesintiye uğrayabilir. eNOS aktivitesinin bozulması ve ET-1 ekspresyon yoğunluğu, doku oksijenizasyonunda ve vasküler hemostazda dekompanzasyonunun hızlı ilerlemesine neden olabilir. Endotel fonksiyon ve bütünlüğünde bozulma 3 nedenle olur (72):

1.İskemi-reperfüzyon (72): İskemi-reperfüzyon (İ/R) (60 dakika total iskemiye takiben 2 saat reperfüzyon), 3. günde barsak damar direncini artırır (219). İ/R, yaşa özgü olarak NO'nun endotel hücre üretimini tehliye sokar. NO üretiminin bir göstergesi olan cGMP iki durumda azalır: Bazal koşullar altında ve İ/R'ye maruz kalan yenidoğan arter segmentlerindeki P maddesi ile eNOS uyarımından sonra. İ/R' nin etkileri, yenidoğanda oldukça büyüktür. Çünkü yenidoğan barsak dolaşımı içindeki eNOS'un gelişimsel düzenlenmesinde, erken perinatal yaşam boyunca daha büyük eNOS ekspresyonu yerleşmektedir (220).

2.Düşük akım perfüzyonu (72): eNOS ekspresyonu ve aktivitesi için en önemli fizyolojik uyarı, kan akım hızının mekanostimulasyondur, daha doğrusu statik endotel yüzeyine karşı kan akışı tarafından oluşturulan duvarı kesme stresidir (221). Kesme

stresi, eNOS'u aktive eder ve yapımını artırır; bu da NO üretiminin artması ile sonuçlanır. Damar direncinde düşme olduğunda kan akış hızında artış olur ve bu da akış kaynaklı dilatasyon olarak adlandırılır. Akış kaynaklı dilatasyon, yenidoğan barsağında meydana gelir ve yaşamının ilk 3 gününe kadar akış kaynaklı dilatasyon, kan akım hızı, NO üretimi ve mezenterik damarlardaki damar direnci ile koreledir. 3. günden sonra korele değildir (117,222). Artmış kan akım hızı, kesme stresini ve dolayısı ile eNOS aktivitesi ve ekspresyonunu artırır, bunun tam tersinde de akış hızında azalmadır. Bu durum, yenidoğan domuz barsağında gösterilmiştir (217). 3 günlük domuzların ince barsaklarının bir kısmına 6 saat boyunca kan akım hızında % 50 oranında azalma yapıldığında damar direncinde ilerleyici bir artış olduğu görülmüştür. Benzer durum daha ileri yaşlardaki domuzlara yapıldığında damar direncinde anlamlı bir etki görülmemiştir (72). Yenidoğan barsağındaki bu durum, önceden eNOS aktivitesinin blokajı ile anlamlı olarak azaltılabilir (72).

Yapılan çalışmalarda düşük kan akım perfüzyonuna maruz kalan yenidoğan barsağındaki vazokonstrüktör ajanların (anjiyotensin 2, norepinefrin, ET-1) kasılma yanıtını önemli ölçüde geliştirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle bu ajanların doz-yanıt eğrileri anlamlı olarak sola doğru kaymıştır; bunların fizyolojik olarak uygun konsantrasyonlarda vazokonstrüksiyon yanıtı daha fazladır (218).

3. İnflamatuar mediyatörler: Barsağın intrensek bariyerinin sellüler komponentinin aktivasyonu, proinflammatuar sitokinlerin ve mediyatörlerin salınımı ile sonuçlanır. NEK patogeneğinde birçok inflammatuar faktör olduğu gösterilmiştir. PAF, IFN gamma, TNF alfa, IL-1, IL-6, IL12 ve NO. Bir çalışmada NEK boyunca barsak epitelinde NO' nun arttığı, TNF alfa, IL1 beta, IFN gamma'nın üretiminin arttığı gösterilmiştir (93).

Yapılan son bir çalışmada IFN gamma eksikliği olan farelerin NEK'e karşı koruyucu olabileceği gösterilmiştir. Bu da IFN gamma'nın NEK patogeneğindeki rolünü desteklemektedir (223). Nadler ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada NEK olan hayvan modellerinde barsak epitelinde hem IL6, hem de IL12'nin arttığı gösterilmiştir (224).

Hsueh ve arkadaşları da TNF alfa ve lipopolisakkarid enjeksiyonu ile yenidoğan sıçanlarda anlamlı barsak nekrozu olduğu ve bunun da NEK'te görülen

morfolojik bulgularla uyumlu olduğu gösterilmiştir (225). Oral veya intravenöz LPS verilen yenidoğan sıçan ve domuzlar hipoksiye maruz bırakıldığında NEK bulgularının olduğu görölmüştür. Tüm bunlar, bakterin ve onların ürünlerinin inflamatuvar aktivasyonu ile NEK' in geliştiğini desteklemektedir (216,226).

NEK patogenezinde inflamatuvar mediyatörler önemli role sahiptir. İnflamasyon, mikrovasküler permeabiliteyi değiştirir, sitokinlere yanıt olarak ETA reseptör ve ET-1 yapımı artar (14,227). Bir günlük domuzların barsak lümenine LPS'in verilmesi, damar direncinde geçici artışa neden olur, bunun nedeni de ETA reseptörlerin blokajı ile açıklanmıştır. İmmunohistokimyasal çalışmalar göstermiştir ki submukozal damarlarda ve villuslar bulunan 3A arteriollerinde eNOS ekspresyon kaybı, terminal mezenterik arterlerde ETA reseptörlerinde artışa neden olmaktadır. Başka bir çalışmada bir günlük domuzların terminal mezenterik arterlerine IL1 beta uygulandığında anlamlı olarak akım kaynaklı dilatasyon oluşmuştur. Kan akımının 2 kat artması, damar çapında $\% 26 \pm 5$ kat artışa neden olurken sadece IL1 beta uygulanan damarların çapında $\% 4 \pm 5$ kat artış olmuştur. IL1 beta'ya bağlı akım kaynaklı dilatasyon, NO/ET-1 dengesindeki bozulma ile olmaktadır. IL1 beta uygulanan yenidoğan endotelial hücrelerinde eNOS ekspresyonu azalmakta ve ETA ekspresyonu artmaktadır (72).

NEK Patogenezinde İntestinal Dolaşımın Rolü

NEK patogenezi ile ilgili hayvan çalışmaları ve klinik deneyimlerde prematüre bebeklerde NEK oluşmasında 3 faktör gereklidir: Mukozal hasar, beslenme ve bakteri varlığı (228,229). NEK patogenezinin başlatan olay, mukozal hasardır. Beslenme ve intestinal bakteri proliferasyonu ile hasarlı mukozadan bakteri invazyonu olur. TNF, PAF ve bakteriyel ürünler, inflamasyon olaylarının kaskadını tetikler. Bu inflamasyon olayları, lökosit adezyonu ve aktivasyonu, kompleman aktivasyonu, damar permeabilitesinde artış, sitokinlerin salınımı, reaktif oksijen ve nitrojen ürünlerinden oluşur ve iskemi-reperfüzyon hasarını takiben vazokonstriksiyona ilerler (230-232). Prematüre bebeklerin barsaklarındaki vaskülarizasyon, endotelial NO salınımı ve üretimine bağlı olarak oluşan yüksek kan akımı ile karakterizedir. Endotel hücre

fonksiyon bozukluğu, kan akımında dramatik değişikliğe neden olur. Bu da NO üretiminin azalmasına ve ET-1 üretiminin artmasına ve böylece vazokonstriksiyon ve onun sebep olduğu doku iskemisine neden olur (123).

NEK Patogenezinde ET-1' in Rolü

Birçok araştırmacı tarafından barsaktaki doku hasarının, güçlü vazokonstriktör olan ET-1'e bağlı olduğuna inanılır. Gençlerin barsağında iskemi-reperfüzyon epizodunu takiben vazokonstriksiyon olurken yaşlıların barsağında bu durum olmaz. Bu etki yaşa spesifiktir (233). ET-1'in intraarteriyel enjeksiyonu, barsak perfüzyonunun azalmasına ve doku hasarına neden olur (234). ET-1'in topikal olarak barsak mukozasına uygulanması, submukozal mikrovasküler disfonksiyonu ve mikrovasküler permeabilitede artışı tetikler (235). Sıçan ince barsaklarında ET-1 infüzyonu yapıldığında polimorf nüveli lökosit (PNL) infiltrasyonu ve mukozal disfonksiyon meydana gelir. Bunu ETB reseptör blokajını azaltmadan ETA reseptör blokajını azaltarak yapar (236,237). Sıçanlarda iskemi-reperfüzyonu takiben SMA kan akımı iyileşirken, ETA ve ETB reseptör blokajının mukozal hasarı ve PNL infiltrasyonunu azalttığı saptanmıştır (238). Sıçanlarda ETA reseptör blokajına ek olarak endotelin converting enzim aktivitesinin inhibisyonunun, iskemi-reperfüzyonu takiben oluşan barsak hasarını azalttığı saptanmıştır (239). ET-1 infüzyonunun, submukozal terminal mikrodamar akımını azalttığı (ETA reseptör stimülasyonu ile mikrovasküler permeabilite artışı ile ilişkili) gösterilmiştir (240). ET-1, barsak mikrodolaşımının disfonksiyonunda önemli bir role sahiptir. Yenidoğan sıçan modellerinde bu barsak mikrodolaşım fonksiyonu, NEK gelişiminde santral role sahiptir. Yenidoğan sıçan yavrularının beslenme, hipoksi ve hipotermi maruziyeti barsak kan akımında ilerleyici bir bozulma meydana getirir. NEK gelişen sıçan yavrularının ileumunda ET-1 mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. NEK'li yenidoğan sıçanların barsaklarında ET-1'e mikrovasküler konstriktör yanıtı oluşur (235).

İnflamatuar yanıt, NEK patogenezinde önemli bir role sahiptir. İnflamatuar sitokinlere yanıt olarak ETA ve ETB reseptörünün arttığı gösterilmiştir (118,227). Proinflamatuar sitokinlerden IL1 beta uygulanması, ET-1 salınımını arttırmakta ve

endotelial hücrelerdeki ETB reseptör ekspresyonunu azaltır. Ek olarak IL1 beta, vasküler düz kas hücrelerinde ETA ekspresyonunu artırır. IL1 beta maruziyeti, kan akımının azalmasına neden olur. IL-1 beta infüzyonu, ileumda vazokonstriksiyona neden olur ve böylece ileum oksijenizasyonu ve ETA reseptör blokajı azalır (241). Bütün bu veriler, IL1 beta maruziyetinin ET-1 ilişkili barsak dolaşımında vazokonstriksiyona neden olduğunu desteklemektedir (123).

ET-1, NEK patojenezinde rol oynar (15). NEK olan prematüre bebeklerin barsağında, NEK olmayan prematüre bebeklerin barsağına göre ET-1 ekspresyonun arttığı gösterilmiştir. Aynı barsak örneklerinde barsak hasarının derecesi arttıkça ET-1 miktarı da artar (15). Özellikle erken dönemde inflamatuvar sitokinler oluşurken ET-1 arttığında tedavi olarak verilen ET-1 antagonistler, NEK tedavisinde önemli olabilirler (15,237-243).

NEK'li sıçanların ileumunda ET-1 mRNA ekspresyonun anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (15). Barsaktaki ET-1 yapılan yerler; vasküler endotelial hücre, submukozal stroma ve sirküler kas tabakasıdır (244). Azalmış kan akımı, inflamatuvar sitokinler, hipoksi-hiptermi, ET-1 yapımını uyarır (14,245,246). Aynı zamanda glukokortikoidlerin preproendotelin yapımını arttırdığı gösterilmiştir (247). Son yıllarda NEK'li yenidoğan sıçan modellerinde plazma kortikosteroid düzeyinin arttığı gösterilmiştir (141). NEK gelişiminde ET-1 düzeyinin artışı, artmış glukokortikoid üretimine bağlanabilir. Sonuç olarak ET-1 güçlü ve uzun yarılanma ömrü olan vazokonstriktördür. NEK'li hayvanların mikrodolaşımının bozulmasında ET-1'in rolü vardır (235).

Önceki çalışmalarda yenidoğan domuzlarda ekzojen ET-1'in barsak damar direncini arttırdığı gösterilmiştir (105). Bir çalışmada ET-1'in ileuma uygulanması, 1A arteriollerde konstriksiyon yapmış fakat terminal mikrodamarların çapını değiştirmemiştir (235). King-VanVlack ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ET-1 uygulanan erişkin kemirgenlerde proksimal arterioller (1A ve 2A) vazokonstrikte olmuş fakat terminal arteriollerde vazokonstriksiyon olmamıştır. Bu vazokonstriksiyon, ETA reseptör subtipi ile ilişkili bulunmuştur. Geniş arteriollerin güçlü vazokonstriksiyonu, mikrovasküler perfüzyonun bozulması ile sonuçlanır ve bu da lokal hipoksi ve barsak hasarına ilerler. ET-1 seviyesi yaşa bağlıdır. Bir çalışmada

yenidoğan sıçanlarda erişkin sıçanlara göre ET-1 konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur. Yenidoğan ve erişkin sıçanlar arasındaki bu fark, ET-1'e azalmış mikrodamar duyarlılığı, reseptör duyarlılığındaki veya reseptör yoğunluğundaki farklılıktan dolayı olabilir (218,235).

Başka bir çalışmada NEK grubunda ET-1'e vazokonstrüktör yanıt artmıştır. ET-1'e artmış vazokonstrüktör yanıt, ET reseptör sayısının artmasına katkıda bulunur; ancak ETA reseptör ekspresyonu, NEK'li grup ile NEK olmayan grup arasında değişmemiştir. ETB reseptör ekspresyonu ise NEK'li grupta anlamlı şekilde azalmıştır (235). Düz kas hücrelerinde bulunan ETB reseptörü, prostosiklin ve NO salınımı ile vazodilatasyon yapmaktadır. ETB reseptör ekspresyonunun azalması, konstrüktör ve dilatör arasındaki dengenin bozulması neden olup konstrüksiyon meydana gelmektedir. ET-1'in mikrovasküler yanıtındaki artışın, ETB reseptör ekspresyonunun azalması ile ilişkili olduğu görülmektedir. NEK grubunda (217) ETB reseptörü, barsak sirküler ve longitudinal düz kas hücrelerinde bol miktarda bulunur. Önceki çalışmalarda ise endotel üzerindeki ETB reseptörlerin azaldığı gösterilmiştir. ETB reseptörünün 2 subtipi vardır. Endotel üzerindeki ETB1 reseptörü vazodilatasyon ile ilişkili, damar düz kas hücrelerindeki ETB 2 reseptörü vazokonstrüksiyon ile ilişkilidir. Hangi ETB reseptörünün pasif olduğu bilinmemektedir (235). Sonuç olarak NEK gelişiminde ileumun mikrodolaşımı ilerleyici şekilde bozulmaktadır. İleumdaki ET-1 mRNA ekspresyonundaki artış, mikrodolaşımın disfonksiyonu ile ilişkilidir. NEK'li sıçanlarda ET-1'e mikrovasküler yanıt artabilmektedir ve ETB reseptör ekspresyonunun azalması da bununla ilişkilidir. ET-1'in vazokonstrüksiyon yanıtındaki artış nedeniyle oluşan barsak mikrodolaşımındaki disfonksiyon, NEK gelişimine katkıda bulunur (235).

NEK Patogenezinde NO' nun Rolü

NO, kısa yarılanma ömrü olan bir moleküldür. Birçok fizyolojik ve patofizyolojik olayda önemli rolü vardır. İlk olarak EDRF olarak tanımlanmıştır. Güçlü kısa yarılanma ömrü olan bir vazodilatördür. Birçok çalışmada gösterilen kan damar tonusunun düzenlenmesindeki rolüne ek olarak NO, ayrıca doku homeostazında,

nörotransmisyon ve inflamasyon gibi fizyolojik olaylarda da rol oynar (19,20). NO, NO sentaz (NOS) enzimi ile üretilir. NOS enzimi ile arginin ve oksijen, sitrulin ve NO'ya katalize edilir (Şekil 6).



Şekil 6. NO sentezi

NOS' un üç izoformu vardır ve farklı genlerde kodlanır. Bunlardan eNOS ve nNOS düşük seviyelerde eksprese edilir. Bu enzimler pikomolar konsantrasyonda NO üretmektedirler eNOS ve nNOS, kadmolün bağlayıcı bir alan içerir. Kalsiyum bağımlı durumlarda kadmolün ile aktive olur. 3. izoform olan iNOS, kalsiyum bağımlı değildir ve fizyolojik durumlarda yüksek kalsiyum varlığında kalmoduline yüksek afinite ile bağlanır (21). iNOS, normal durumlarda eksprese olmaz; ancak inflamasyon durumlarında yüksek seviyede uyarılır. iNOS eksprese olduğunda NO, nanomolardan mikromolar konsantrasyonuna kadar üretilimi artar (248).

NO, bir azot oksidasyon ara ürünüdür. Bir çiftleşmemiş elektronu vardır ve bu nedenle serbest radikal olarak kabul edilebilir. Diğer serbest radikallerin varlığında NO, serbest radikal ilişkili hasarı artırır. Daha stabil forma dönüşmek için diğer oksidanlar ile kolayca reaksiyona girer. NO, üretildiği yerden hızlıca diffüze olur. Su ve yağda çözünür. NO, reseptör veya kanal ihtiyacı olmadan biyolojik membran ve hücrelerden kolayca diffüze olur (249).

NO sinyali karmaşıktır. Molekülün hızlı hareketi baz alındığında işlevselliği fazladır. NO, serbest geçirgendir. Hızlı bir şekilde, 1 saniye içinde komşu hücrelerin içinde ve dışında hareket edebilir. Bu fizyolojik durumlar içinde en az 1 saniye

yarılanma ömrü vardır ve bu sürede 4 ila 5 hücreye eşit uzaklıkta hareket eder (250). İn vivo koşullarda NO, eritrositlerde hemoglobinle reaksiyona girer (251). NO' nun en iyi anlaşılan fizyolojik etkileri, siklik GMP (cGMP) ile ilişkili olan etkileridir. cGMP, GTP'den solubl guanilil siklaz enzimi ile üretilir. NO' nun bağlanması ile solubl guanilil siklaz aktive olur. cGMP üretimi, cGMP bağımlı protein kinazların aktive olmasına neden olur. Birçok hücre tipinde NO' nun birçok fizyolojik etkisinin cGMP'ye bağlı olduğuna inanılmaktadır (18).

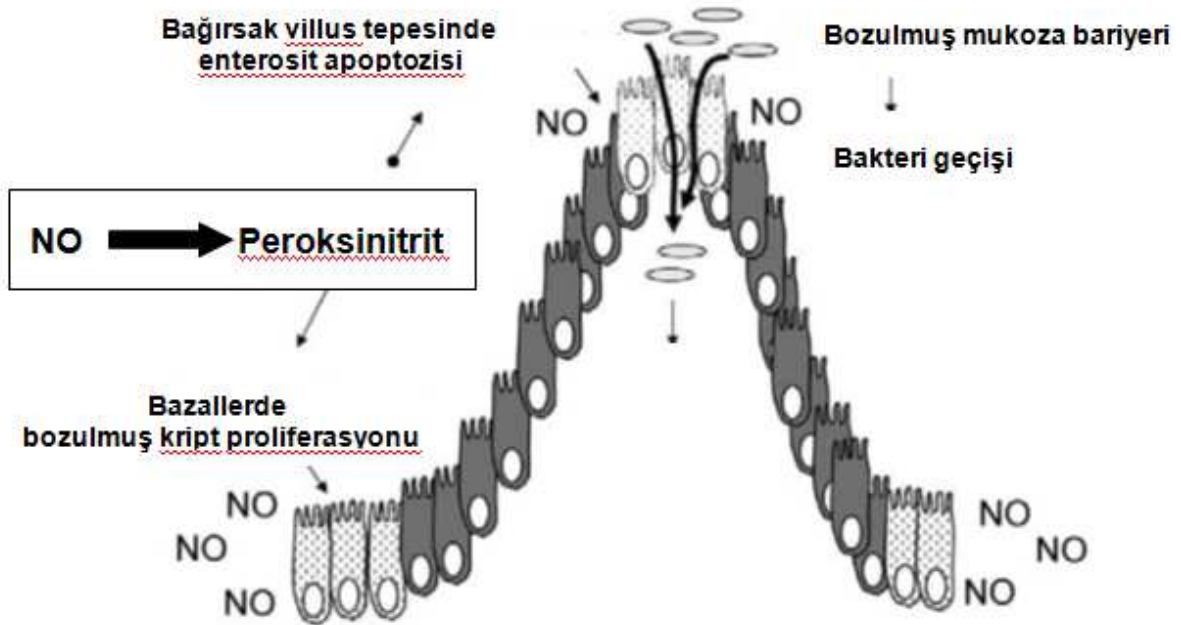
Normal durumlarda eNOS ve nNOS yüksek konsantrasyonda NO üretmediği için NO' nun toksisitesi azdır. eNOS tarafından üretilen NO hızlıca eritrosit hücreleri içine diffüze olur ve burada oksihemoglobin ile reaksiyona girerek nitrata dönüşür. İnflamasyon durumunda üretilen NO toksik olabilir. NO'in toksik olma nedenleri: Birincisi, inflamasyon boyunca iNOS varlığında NO konsantrasyonu normal koşullarda nanomolar konsantrasyonundan mikromolar konsantrasyonuna artar (248). İkincisi, iNOS tarafından üretilen NO, eNOS tarafından üretilen NO gibi olmaz ve iNOS tarafından üretilen NO, eritrositler tarafından hızlı bir şekilde alınamaz. Üçüncüsü, hemoglobin ile reaksiyona girilip nontoksik ürünler üretilmediği için NO superoksit anyonu ile reaksiyona girip yüksek toksik oksidasyon ürünü olan peroksinitrit (ONOO) üretilir (252). İnflamasyon bölgesinde superoksit gibi toksik ürünler, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz gibi oksidatif enzim kompleksi ile üretilir. Superoksit normalde superoksit dismutaz (SOD) ile detoksifiye olur. NO' nun superoksit ile reaksiyonu SOD' a göre daha hızlıdır ve SOD' un protektif etkisi yerine peroksinitrit üretimi olur (253). Peroksinitrit, serbest radikal değildir. NO, oksijene göre daha reaktiftir. Fizyolojik durumlarda yarılanma ömrü 10-20 ms' dir ve bu süre membran diffüzyonu için yeterlidir (253). Peroksinitrit'in proteinler üzerine 2 etkisi vardır. Birincisi, direkt hedef proteini okside edebilmesidir ve bu peroksinitritin en hızlı etkisidir. Bu direkt etkisi yanında bir de indirekt biyomoleküllerin oksidasyonuna neden olur ve hidroksil radikal, nitrogen dioksit gibi yüksek reaktif radikaller oluşur. Peroksinitrit, protein içindeki tirozine nitratlanıp nitrotirozin oluşur ve bu da proteinin enzimatik aktivitesini etkiler (254,255).

İskemiye takiben reperfüzyon, yenidoğan hayvanlarda damar direncini artırır; ancak bu durum erişkin hayvanlarda geçerli değildir (219). Bu artış, hem bazal hem

de uyarı ile endotelial hücrelerden NO üretiminin azalması sonucu oluşur (256). Domuz modellerinde düşük kan akımı, ilerleyici şekilde damar direncini arttırır (217). Bu durum da erişkinlerde değil yenidoğan domuzlarda daha ziyade saptanmıştır. Damar direncindeki bu artış, NO üretiminin azalması sonucu oluşur (218). İskemi-reperfüzyonun etkileri ve düşük kan akımının etkileri yenidoğanlarda daha fazladır; bunun nedeni de yenidoğan barsak dolaşımında barsak damar direncinin düzenlenmesinde santral rol oynayan NO' dur (123).

NEK'li bebeklerin barsak dokusunda eNOS fonksiyonun azaldığı ancak ekspresyonunun azalmadığı gösterilmiştir (23). NEK' li grupta, kontrol grubuna göre benzer seviyede eNOS olmasına rağmen NO üretimi anlamlı olarak daha azdır. NEK' li grubun arteriollerinde eNOS ekspresyonu kontrol grubu ile benzerdir ancak eNOS'un NO üretimi anlamlı olarak daha azdır (23).

Efektif NO üretimi için gerekli olan eNOS' un yetersizliği ile ilgili birçok açıklama vardır. eNOS polimorfizmi, NO üretimi için eNOS'un yeterliliğini tehlikeye sokabilir ve/veya L-arginin substratının eksikliği, NO üretimi için eNOS' un yetersizliğine katkıda bulunabilir (257,258) (Şekil 7).



Şekil 7. NEK patogenezinde NO'nun rolü

NO Substratı: L-Arjinin

Sıçanlarda düşük dereceli endoksemide düşük plazma arjinin seviyesi, ince barsakta kan akımında azalmaya neden olur (259). NEK gelişen prematüre bebeklerde, NEK gelişmeden 7 gün önce ve NEK tanısı aldığı anda plazma arjinin seviyesinin düşük olduğu gösterilmiştir (260,261). L-arjininin üre siklus döngüsündeki üretiminde hız sınırlayıcı enzimi olan karbamoil fosfat sentetaz enzimini kodlayan gende tek nükleotid polimorfizmi (C'den A'ya nükleotid transversiyonu) olan prematüre bebeklerin NEK riski ile ilişkili olduğu saptanmıştır (262).

Arjinine metil transferi ile asimetrik dimetil arjinin oluşur (ADMA) (263). ADMA, NOS'un endojen kompetatif inhibitörüdür. ADMA arttığında veya L-arjinin seviyesi azaldığında, NOS inhibisyonu olur. Prospektif vaka-kontrollü çalışmalarda NEK olan veya olmayan prematüre bebeklerde plazma ADMA ve arjinin düzeyi ölçülmüştür. NEK' li grupta arjinin düzeyi ve arjinin/ADMA oranı daha düşük bulunmuştur. Ayrıca düşük arjinin ve düşük arjinin/ADMA oranı, NEK' li hastalarda artmış mortalite ile ilişkili bulunmuştur. Plazma L-arjinin substrat düzeyinin, NEK' li hastalarda NO üretiminin azalmasında önemli rolü olabilmektedir (264).

NEK hayvan çalışmalarında ve iskemi-reperfüzyon hayvan modellerinde L-arjinin uygulaması değerlendirilmiştir. Sıçan mikrodolaşımında L-arjininin artmış biyoyararlanımı, NO üretiminde ve doku perfüzyonunda anlamlı bir artışa neden olur (265). Barsak iskemi-reperfüzyonu boyunca uygulanan L-arginin infüzyonu serum NO üretimini artırır (266). İskemiden önce L-arjinin uygulanması mukozal hasarı azaltır (267). Oysa reperfüzyon boyunca L-arjinin uygulaması, mukozal hasarı azaltmaz (267). Enteral arjinin, iskemi-reperfüzyon hasarını takiben mukozal kurtarmayı iyileştirir (268). Farelerde barsak iskemisi boyunca L-arjinin infüzyonu barsak kan akımını iyileştirir (269). İskemi-reperfüzyon domuz modelinde L-arjinin infüzyonu, barsak hasarını azaltır (270). Başka bir iskemi-reperfüzyon NEK hayvan modelinde, L-arjinin ve L-karnitin uygulamasının serbest radikal hasarının ve lipid peroksidasyonu azaltarak (271,272), L- glutamin uygulamasının ise sitokin salınımı inhibe ederek barsak hasarını azalttığı gösterilmiştir (273). Akisu ve ark başka bir çalışmada da eritropoetin uygulamasının serbest radikal reaksiyonu ile ilişkili lipid peroksidasyonu azaltarak NEK'ten koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (274).

Prematüre bebeklerde L-arginin uygulaması geliştirilmiştir. Randomize, çift kör, plasebo-kontrollü yapılan bir çalışmada, 28 haftadan küçük bebeklere L-arginin uygulanması, plazma arjinin seviyesini arttırmış ve NEK sıklığını anlamlı olarak azaltmıştır (275).

Birçok olasılık, hayvan modellerindeki NEK' te ve prematüre bebeklerdeki NEK' te arjinin uygulamasının iskemi-reperfüzyon hasarını nasıl azalttığını açıklayabilir. Birincisi, arjinin uygulaması, barsak damarlarında eNOS yolu ile NO üretimini arttırmaya neden olur. İkincisi arjinin, glutamin ve glutamat gibi diğer aminoasitlerin üretiminde öncüdür ve bu iki aminoasit barsak fizyolojisinde önemlidir (276-278). Bu bulgularla, L-arginin uygulanması ile prematüre bebeklerde NEK sıklığının azaltılabilmesi umut verici bir gelişmedir ve çok merkezli randomize kontrollü çalışmalarla desteklenmelidir (279). Omega 3 yağ asitleri de arjinin ve glutamin gibi pro-inflamatuvar aktivasyonu engellemekte ve bağırsak bariyer işlevlerini, çoğalmayı ve iyileşmesini arttırmaktadır ve NEK'in önlenmesi ve tedavisinde umut verici diğer bir besin maddesidir (280).

Son teorilerde, NEK patogenezinin başlamasında perinatal olayların immatur barsağı etkilemesinin rol oynadığı düşünülmektedir. Bu perinatal olaylar, formula ile beslenme, barsağın bakteriyel kolonizasyonu, hipoksi ve hipoperfüzyonu içermektedir. Bu olaylar sonucunda epitel hasarı meydana gelmekte ve bu epitel hasarı da inflamatuvar mediyatörlerin salınımı ile barsak inflamasyona neden olmaktadır. Bu da barsak bariyer fonksiyonunun bozulmasına ilerlemektedir. Lümendeki bakteriler ve onların ürünleri mukozal bariyeri geçmekte, inflamatuvar kaskadın başlamasına ve epitel hasarının daha da artmasına neden olmaktadır. Bariyer yetersizliği ve barsak doku nekrozu, NEK' in önemli bulgularındandır (281,282) (Şekil 8).



Şekil 8. NO'nun barsak bariyeri üzerine etkileri

Yapılan bir çalışmada NEK' de NO' nun barsak epitel hasarında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (18). Ford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ilk olarak iNOS' tan üretilen NO' nun rolü gösterilmiştir. Bu araştırmacıların çalışmasında NEK olanların barsaklarında, NEK olmayan veya farklı nedenlerden dolayı laparotomi yapılan hastaların barsaklarına göre iNOS, mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (17).

Hem konstitif olan eNOS ve nNOS, hem de iNOS, gastrointestinal sistemde ekspresse olurlar. Konstitif kalsiyum bağımlı eNOS izoformu, myenterik pleksus, endotelial hücrelerde, gastrik epitel hücrelerinde ve enterositlerde ekspresse olur (23,283). Barsak epiteli içinde, NO' nun mukozal permeabilitede olduğu gibi su ve elektrolit transportunu module ettiğine inanılır (284,285). NOS inhibe olduğunda transepitelyal pasaj artar. Bu da barsak mukoza bütünlüğünde NO' nun destekleyici bir rolünü göstermektedir (285). NO, aynı zamanda mukozal kan akımı ve ana mikrovasküler tonusu artırır. NO, trombosit agregasyonunu ve lökosit adezyonunu inhibe eder. eNOS tarafından üretilen düşük doz NO, barsak homeostazı için gereklidir (286). Tam tersi olarak iNOS' un artması sonucu NO' nun aşırı yapımı, epitel hücreleri üzerinde sitopatik etkiye ve barsak bariyer yetersizliğine neden olur (18).

Peroksinitrit, NO ile superoksit arasındaki reaksiyonun ürünüdür ve inflamasyon boyunca NO' nun kötü etkileri için oluşur. Oysa bakteri ile kolonize olmuş farelerin ileumunda iNOS ekspresyonu düşük seviyelerdedir (287). Endotoksin uyarısı, iNOS ekspresyonunu artırır. LPS uygulamasından sonra sıçan

barsaklarında iNOS mRNA ve protein ekspresyonu artar ve bu da barsak bariyer fonksiyonunda bozulmaya neden olur (283,288). iNOS inhibitörü olan aminoguanidin, epitel hasarını engeller ve epitelden bakteri translokasyonunu azaltır. Yüksek doz LPS uygulanan farelere aminoguanidin verildiğinde, bakteriyel translokasyon azalır ve epitel hasarı önlenir. NOX, iNOS' un kurtarcısıdır. LPS' nin indüklediği bakteri translokasyonunu ve enterosit apoptozis derecesini azaltır (24). Bütün bunlar göstermektedir ki inflamasyon boyunca iNOS' tan üretilen NO, barsak bariyer fonksiyonunda anahtar rol oynamaktadır (18).

Barsağın bir çok inflamatuvar hastalığında aşırı derecede NO üretimi olduğu bulunmuştur. Aktif ülseratif kolit hastalarının kolon epitelinde yüksek seviyede iNOS ve artmış 3-nitrotirozin immunoreaktivitesi saptanmıştır. Helikobakter pilorinin tetiklediği antral gastrit de yüksek iNOS ile ilişkilidir (27,289).

Akut NEK hastalarının barsak dokusunda, iNOS' un yüksek düzeyde arttığı saptanmıştır. İlginç bir şekilde, iNOS mRNA ve protein ekspresyonu, kript-villus aksı boyuncaki epitel hasarı bölgelerinde kolonize olmaktadır. Enterosit apoptozisinin olduğu epitel ve lamina propriada 3-nitrotirozin immunoreaktifi saptanmıştır. Akut NEK iyileştiğinde ise iNOS mRNA ekspresyonu bazal seviyesine geriler. iNOS ekspresyonu ile üretilen NO ile peroksinitrit üretimi arasında güçlü bir korelasyon vardır (17).

Gastrointestinal traktın mukozal yüzeyi, tek tabakalı epitel bariyerinden oluşur ve intraluminal ajanların ve mikroorganizmaların girişi için fiziksel bariyerdir. Birçok faktör, barsak bariyer bütünlüğünü etkiler. Epitel hasarı sonrasında tek tabaka bütünlüğünü geri döndürmek için intrensek mekanizmalar bulunur. Bunlar; enterosit proliferasyonu, enterosit migrasyonu ile yeniden epitel kurulması ve hücreler arası kontakların tekrar sağlanmasıdır (18).

Barsak epitelinin devamı için villuslardaki enterosit apoptozisi normal fizyolojik bir durumdur. NEK' te apoptozis artar (17,224,290).Enterosit apoptozisindeki artış 3-nitrotirozin gibi iNOS aktivitesinin artışı ile ilişkilidir. Peroksinitritin birçok hücrede apoptozisi indüklediği gösterilmiştir, bunu da barsak epiteldeki sitopatik etkisi ile yapar. Peroksinitritin apoptozisi indüklemesi doza bağlıdır. Enterosit apoptozisi de

kaspaz-3' ü aktive eder (291). İnsülin benzeri growht faktör'ün İskemi-reperfüzyon hasarı ile oluşan apoptozis ve nekroza karşı barsak mukozasını koruduğu gösterilmiştir (290).

NO direkt veya indirekt apoptozisi tetikler. NO, geri dönüşümlü bir şekilde serbest radikal üretimindeki enzimleri inhibe edebilir (Bunlar mitokondriyal elektron transport zincirinde yer alır). NO, sitokrom c oksidazı inhibe ettiğinde, süperoksit geçici olarak elektron transport zincirinden sızabilir ve peroksinitrit oluşumuna yol açar (292). NO' nun enzimlerle reaksiyonu geri dönüşümlü iken, peroksinitritin enzimlerle reaksiyonu geri dönüşümlü değildir. Peroksinitrit maruziyeti hücrede hasarlanma oluşturmaya ve bu da hücre ölümüne ilerler. Bunu da iki yolla yapar; nekroz ve apoptozis (18).

NEK ve Gen Polimorfizmi

NEK, hayatı tehdit eden, yenidoğanın yaygın görülen bir gastrointestinal sistem hastalığıdır. İleri derecedeki prematüre bebeklerin yaklaşık %11' ini etkiler. NEK' in etiyolojisi multifaktöriyeldir. Risk faktörleri 4 kategori içinde sınıflandırılabilir; prematürite, barsakta geçici iskemi, barsak hasarına neden olan lokal veya sistematik inflamasyon ve terapötik önlemler. Son çalışmalarda genetik polimorfizminin, NEK' i içine alan perinatal morbidite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Perinatal hastalıklarda sitokinlerin, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin ve surfaktan proteinindeki genetik değişikliklerin önemi oldukça geniş olarak araştırılmıştır. Prematüre bebeklerde, proinflamatuvar sitokinlerin genetik polimorfizminin etkisi gösterilmektedir. Doğum sonrası adaptasyonda anjiyotensin konverting enzim, PDA kapanmasında anjiyotensin tip 1 reseptörü, RDS' de surfaktan A ve B proteini, sepsiste IL-6 ve NEK'te de IL-4 alfa zinciri ve IL-18' in etkili olduğu bilinmektedir (28).

NEK sıklıkla prematüre bebeklerin hastalığı olmasına rağmen, NEK bu popülasyonun sadece bir kısmını etkiler. Bu da NEK ve onun risk faktörlerinin kişisel duyarlılığını desteklemektedir. Kişisel duyarlılıkta genetik polimorfizm önemli bir

faktör olabilir. Hastalığın patogeneğinde bulunan salgı proteinlerinin (Sitokin, enzim, reseptör) kişisel kapasitesi değişebilir. Bu proteinlerin biyosentezi, genetik kontrol altındadır. Kodlanan genleri klonlanmış ve sıralıdır. Birçok genetik polimorfizm de tanımlanamamıştır. Bunların bir çoğu da bir nükleotitten diğer nükleotide geçiş olarak tanımlanan tek nükleotid polimorfizmidir. Genetik değişikliklerin büyük çoğunluğu kodlanmayan intron bölgesindedir. Buradaki genetik değişiklikler eğer genin bir fonksiyonu varsa o zaman indirekt olarak etkilemektedir. Genetik değişikliklerin sadece %2-3' ü genin promotor bölgesinde veya kodlanan (ekzon) bölgesindedir. Promotor bölgesindeki değişiklikler, gen transkripsiyonun hızını etkileyebilirken ekzondaki gen değişikliği kodlanan proteinin aminoasit sırasını değiştirebilir. Sonuçta da üretilen proteinin miktarı ve kalitesi değişebilir (28).

Vicardi ve arkadaşları, NEK nedeniyle cerrahi olarak çıkarılan barsak materyalinde, konjenital barsak malformasyonu nedeniyle cerrahi olarak çıkarılan barsak materyalini karşılaştırdıklarında, NEK olan grubun barsağında TNF alfa ekspresyonunun ve IL1 beta mRNA düzeyinin daha fazla olduğunu görmüşlerdir (293). Diğer bazı çalışmalarda insan kan örneklerinde TNF alfa üretimindeki değişikliğin önemi gösterilememiştir (294). Week ve arkadaşları, NEK gelişmiş prematüre yenidoğan bebeklerin umbilikal kord kanında IL6 seviyesinin yüksek olduğunu saptamışlardır (295). Haris ve arkadaşları NEK ile komplike olan bakteriyel sepsisli bebeklerde, kontrol veya sadece bakteriyel sepsisi olanlara göre IL6 seviyesini 6-10 kat daha yüksek bulmuşlardır (178). Edelson ve arkadaşlarının çalışmasında NEK grubunda proinflamatuvar sitokinlerden IL1 beta, IL8 ve karşı sitokinlerden IL1 reseptör antagonisti ve IL10 konsantrasyonu daha yüksek bulunmuştur (179). Romagnoli ve arkadaşları da yüksek seviyede bulunan IL10 düzeyinin mortalite ile ilişkili olduğunu saptamışlardır (296). Sitokin kodlayan genlerin fonksiyon polimorfizmi (TNF alfa, IL1 beta, IL 4 alfa reseptör zinciri, IL6, IL10, IL18) düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK riskini ve komplikasyonlarını etkileyebilir (297-303). Başka bir çalışmada ise NEK olan ile olmayanlar arasında TNF alfa, IL1 beta, IL6, IL10 mutant genleri arasında fark bulunamamıştır (304,305). Weitkamp ve arkadaşlarının çalışmasında da, çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde benzer şekilde TNF alfa, IL1 beta, IL6, IL10' da minimal genetik değişiklikler bulunmuştur (306). Başka bir çalışmada TNF alfa promotor bölgesindeki A 308 ve A 238 pozisyonundaki

guaninin adenine dönüşüm polimorfizminin sıklığı, NEK ve kontrol grubunda aynı oranda bulunmuştur (304).

Bir çalışmada IL18 genotipi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır; ancak IL18 607 AA genotipinin sıklığı, evre 3 NEK olanlarda evre 1 ve 2 NEK olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (307). IL18' in, insan immün sistem defansında önemli rolü vardır. A607 polimorfizmi, IL18 mRNA üretimini değiştirebilmektedir (303).

IL4' ün, yenidoğan barsak immunolojisinde santral rolü vardır (308). İnflamasyon olan barsaklarda, kontrol grubuna göre daha düşük seviyededir (309). NEK olan yenidoğanlarda IL-4 reseptör alfa geninin mutant varyantının sıklığı daha azdır; bu da çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK' in gelişmesine karşı koruyucu olabilir (305). IL4 reseptör alfa genindeki değişiklik, IL4 düzeyini etkilemez; fakat bunun varlığı artmış IL4 sinyal transduksiyonu ile ilişkilidir. Artmış IL4 transduksiyonu, TH2 hücre sayısını artırır ve NEK' e karşı koruyucudur. IL4 reseptör alfa vahşi tipi alelli homozigot taşıyanlarda (IL4 reseptör alfa AA 1902), NEK gelişme riski yüksektir (28,310).

Doğal immün sistemde rol oynayan en önemli sitokinler olan IL12 ve INF gamma gen polimorfizmi ile perinatal komplikasyonlar arasında yapılmış bir çalışmada IL12 CTCTAA allelini heterozigot taşıyanlarda NEK riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (311).

Vasküler endotelial growth faktör (VEGF), NEK gibi birçok perinatal komplikasyonda rolü olan güçlü vasküler geçirgenliği olan anjiogenik faktördür. Bir çalışmada VEGF C-2578A alellini taşıyanlarda daha fazla NEK geliştiği bulunmuştur. VEGF G+405 C ve VEGF C-2578A polimorfizmi ile VEGF sentezinin düzenlenmesi arasında ilişki bulunmuştur. VEGF C-2578A mutant allelini taşıyanlarda daha az VEGF sentezlendiği ve bunun da NEK olasılığını arttırabileceği gösterilmiştir (312).

NEK gelişen bebeklerin barsak örneklerinde IL6, TNF alfa gibi birçok proinflamatuvar sitokin bulunur (178). Son çalışmalarda toll like reseptörlerin (TLR), NEK gelişmesinde rol oynayan enterik bakterilere karşı sinyal yolağında görev aldığı

gösterilmiştir. (264,313). Bir çalışmada TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, IRAK1, TIRAP genlerindeki tek gen nükleotid polimorfizmi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır (314).

Bakteriyel LPS ve peptidoglikanlar gibi antijenleri tanıyan reseptörler vardır. Bu reseptörler, CD14, TLR 4 ve Kaspaz zincir 15' dir (315-317). Bu reseptörlerin uyarılması, nükleer kappa yolu ile inflamatuvar sitokinlerin üretimi tetiklenir (318-320). Yapılan bir çalışmada CD14 C-260T, TLR4 A+896G, TLR4 C+41196T ve Kaspaz 15 G+2722C, Kaspaz 15 C+2104T, Kaspaz 15 3020insC tek gen nükleotid polimorfizm sıklığı ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır. Aynı zamanda NEK' in şiddeti ile de ilişki bulunamamıştır (321).

Mannoz bağlayan lektin (MBL), TLR gibi doğal immün sistemde önemli rol oynar (322). MBL gen polimorfizmi (ekzon 1'deki 52, 54, 57 kodonlarda ve -221 promotor bölgesini içeren 4 tek nükleotid gen polimorfizmi) ile NEK arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada ağır NEK olan hastalarda, kontrol grubuna göre MBL-2 geninin promotor -221 Y alellinin sıklığı daha fazla bulunmuştur (29). Ağır NEK olan yenidoğanların MBL-2 YY genotipini taşıma olasılığı daha yüksek bulunmuştur. Tam tersi ekzon 1 polimorfizminin allel sıklığı hem NEK, hem de kontrol grubunda benzer bulunmuştur (29).

NO'nun, NEK patofizyolojisinde önemli rolü vardır; barsak kan akımının düzenlenmesi, mukozal bütünlüğün devamı, barsak bariyer fonksiyonu ve barsak hasarı sonrası barsak tamirinde görev alır (18,101,323,324). NO, L-arjininin, L-sitrüline dönüşümü sağlayan NOS enzimi ile oluşur. Arjininin metilizasyonu ile oluşan ADMA, NOS aktivitesini ve endotelial hücrelere L-arjinin alınımını inhibe eder (264,314). NOS substratı olan L-arjinin, genç memeliler için esansiyel bir aminoasittir (325,326). Metabolik ve moleküler çalışmalar göstermektedir ki prematüre yenidoğanlarda barsak arjinin sentezinin az gelişmiş olması nedeniyle plazma arjinin düzeyi düşüktür (326,327). Birçok çalışmada NEK' li prematüre bebeklerde plazma arjinin düzeyi daha da düşüktür (260,261,264,275,326). Küçük bir randomize kontrollü çalışmada arjinin uygulamasının NEK sıklığını azalttığı gösterilmiştir (275).

Arjinin oluşumu ilk olarak mitokondri içinde karbomoil fosfat sentetaz-1 enzimi ile oluşur. Önceki çalışmalarda karbomoil fosfat (CPS) geninde T1405N olarak

tanımlanan tek nükleotid polimorfizmi ile yenidoğan pulmoner hipertansiyonu, konjenital kalp hastalığının cerrahi tedavisini takiben artmış pulmoner arter basıncı ve kemik iliği transplantasyonu sonrası oluşan hepatovenooklusiv hastalık arasında önemli ilişkisi olduğu bulunmuştur (327-329).

Başka bir çalışmada CPS1 Thr1405 varyantı (CC T1405N genotipi) homozigotu taşıyanlarda artmış NEK riski ile ilişki bulunmuştur. Düşük L-arjinin düzeyi ve T1405N CPS1 polimorfizmi ile NEK gelişimi arasında ilişki bulunmuştur (327). Başka bir çalışmada NEK' li prematüre bebeklerde düşük ADMA düzeyi ve düşük L-arjinin/ADMA düzeyi saptanmıştır ve ancak bu düşüklüğün CPS-1 genotipinden etkilenmediği görülmüştür (330).

NEK ile IL1, IL4 reseptör, IL6, IL8, IL10, IL18, IL12 gibi sitokinler, TNF alfa, TLR ve MBL, VEGF, CPS, CD14 gibi mediyatörlerin gen polimorfizmleri araştırılmıştır (28,29).

Ancak literatürde NEK patogenezinde önemli rolleri olan NOS ve ET-1 gen polimorfizmleri ile NEK arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Endotelin-1 Gen Polimorfizmi

Endotelinler, 21 aminoasitten oluşan endotelden üretilen vasküler hemostazda anahtar rol oynayan vazokonstriktif peptidlerdir. Endotelinler, kalp böbrek, akciğer, beyin, hipofiz ve periferik endokrin dokular ve plasenta gibi değişik dokularda üretilmektedirler. Endotelial hücreler tarafından üretilen ET-1'in en sık kaynağı vasküler endoteliumdur (331). ET-1, kardiyovasküler hastalıklarda artar ve bu da endotelial disfonksiyonun gelişimi ile ilişkilidir. ET-1, kalp yetmezliğinde de artar; hemodinamik bozuklukla ilişkili olarak plazma seviyesi artar ve uzun dönem prognozu belirlemede ve mortalite için önemli bir belirteçdir (332). Patogenezinde ET-1 ekspresyonunda değişikliğinin olduğu diğer hastalıklar; astım, ateroskleroz, kardiomyopati, proteinüri, diyabetik retinopati, kanser, esansiyel hipertansiyondur (333).

ET-1 geni, 5 ekzon ve 6,8 kb genomik DNA içerir ve 6p23-p24 kromozomunda lokalizedir (330). ET-1 geni, tek gen nükleotid polimorfizmlerini yaygın olarak içerir (335-337).

Endotelin gen polimorfizmleri astım, kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyonda araştırılmıştır. Vitiligo (338), psöriazis (339), skleroderma (340), primer reynould hastalığı (341) gibi diğer otoimmün hastalıkla ilgili de yayınlar bulunmaktadır .

Anne ve yenidoğan mortalitesinin önemli nedenlerinden biri olan preeklampsidir. Preklampside anormal ET-1 sentezi ve/veya artmış ET-1 düzeyi vardır. Yapılan bir çalışmada ET-1 G5665T gen polimorfizmini T allel varlığında ET-1 düzeyi artmakta ve preeklampsisi gelişimi için risk oluşturmaktadır (342).

ET-1 Lys198Asn (rs5370) gen polimorfizmi en önemli tek nükleotid polimorfizmlerden biridir ve kan basıncı ile ilişkilidir (335-337). ET-1 198 kodonundaki lizin/asparjin aminoasit yer değişimi (rs5370) polimorfizmi, yüksek kan basıncı ile ilişki bulunmuştur (343). Başka bir çalışmada hipertansiyon ile ET-1 CA/CT dinükleotid tekrarı polymorfizmi, G(8002)A polimorfizmi ve -3A/-4A (-138 insersiyon/delesyon) polimorfizmi arasında da anlamlı bir ilişki saptanmıştır (336). Pare ve arkadaşları, koroner arter hastalığı, hiperkolesterolemi ile ilişkili ET-1 gen polimorfizminde içinde olduğu 103 aday gen saptamışlardır (343). Kronik kalp yetmezliği olan hastaların ET-1 düzeyi yüksektir bundan yola çıkarak yapılan başka bir çalışmada ET-1 G8002A AG genotipi ve ET-1 3A/4A 3A4A21 genotipini birlikte taşıyanlarda kronik kalp yetmezliği riskinin azaldığı bulunmuştur (344). Brugada ve arkadaşlarının çalışmasında ise G8002A gen polimorfizminin A alleli taşıyanların sol ventrikül hipertrofi riski taşıdığı gösterilmiştir (345).

ET-1 G8002A gen polimorfizminin, orak hücreli anemili çocuklarda vazooklusiv kriz riskini arttırabildiği de saptanmıştır. Vazooklusiv kriz geçiren çocuklarda ET-1 G8002A gen polimorfizminin CC genotipinin daha sık oranda görüldüğü saptanmıştır (346).

Başka bir çalışmada da tip 2 diyabetik hastalarda endotel disfonksiyonu nedeniyle gelişen mikrovasküler komplikasyonlardan diyabetik retinopati ile ET-1 Lys198Asp polimorfizmi arasında ilişki olduğu ve bu polimorfizmi taşıyan diyabetik hastalarda daha az diyabetik retinopati görüldüğü saptanmıştır. Aynı zamanda ET-1

G8002T gen polimorfizminde T allelini taşıyan diyabetik hastalarda mikrovasküler komplikasyon gelişme riskinin olduğu gösterilmiştir (347).

ET-1 gen polimorfizmi ile ilgili endotel hasarına neden olan birçok kardiovasküler hastalık ile ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen bulunmaktadır. Barsakta barsak mikrodolaşımında fonksiyon bozukluğuna neden olarak barsak damar endotel hasarına neden olan NEK hastalığı ile ET-1 G8002A gen polimorfizmi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

NOS Gen Polimorfizmi

NOS'un üç isoformu vardır ve farklı genlerde kodlanır. Bunlar eNOS, nNOS ve iNOS'tur.

eNOS gen polimorfizmi

eNOS geninin yapısı ve lokalizasyonu ilk olarak 1993'te Marsden ve arkadaşları tarafından tespit edilmiş olup, bu genin pek çok spesifik allel varyasyonları tanımlanmıştır (348). eNOS geni, 7. kromozomun uzun kolunun 35. ve 36. loküsünde yerleşmiş olup, 21kb'lık 26 ekzon içerir ve 4052 nükleotidlik bir haberci ribonükleik asit (mRNA) tarafından kodlanır (349). Yapılan çalışmalar eNOS genindeki çeşitli genel polimorfizmlerin NO oluşumunu etkileyebildiğini göstermiştir (350-352). Klinik ile ilişkili olarak üç farklı eNOS polimorfizmi geniş bir şekilde çalışılmıştır. Çalışılmış olan eNOS polimorfizmleri; promotor bölgedeki (T786C, rs2070744) tek nükleotid polimorfizmi, ekzon 7'deki (Glu298Asp, rs1799983) bir tek nükleotid polimorfizmi ve intron 4' deki değişik sayıdaki tandem tekrar (Variable Number Tandem Repeats, VNTR) (353) bölgelerine ek olarak eNOS genindeki rs3918226 ve rs743506'i içeren diğer tek nükleotid polimorfizmlerden oluşur. Ekzon 7'deki eNOS geninin tek nükleotid polimorfizmi (G894T, rs1799983), proteinin 298. pozisyonunda glutaminin aspartata dönüşümüne neden olmakta ve eNOS aktivitesi içerisinde yer alan eNOS miktarını etkilemektedir (354).

eNOS gen polimorfizmlerinde normal fonksiyonel bir enzim oluşsa da polimorfizmler transkripsiyon ve işlev hızlarında değişime sebep olabilirler. İntron 13'deki polimorfizm olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4'de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır (355,356).

eNOS geninin promotor bölgesinde Thr786Cys, Ala922Gly ve Thr1468Ala şeklinde 3 tek nükleotid değişimi saptanmıştır. Bu polimorfizmlerin, transkripsiyonu ve dolayısıyla enzim seviyelerini değiştirebildiği gösterilmiştir. Thr786Cys polimorfizmi miyokard enfarktüsü ve diyabet ile ilişkili bulunmuştur (356,357).

Birçok çalışmada oftalmatolojik hastalıklarda eNOS'un rolü araştırılmış ve farklı eNOS polimorfizminin diyabetik retinopati ile ilişkisi gösterilmiştir (30,358,359). Syllós ve arkadaşlarının (358), Awata ve arkadaşlarının (359) yaptığı benzer çalışmalarda diyabetik retinopati ile eNOS T786C, eNOS G894T gen polimorfizmi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Başka bir çalışmada ise eNOS G894T ve intron 4 a/b gen polimorfizminin diyabetik reinopati için risk oluşturduğu saptanmıştır (360).

Ekzon 7'nin Glu298Asp polimorfizmin sonucunda proteinin primer yapısında ve fonksiyonunda değişim olmaktadır. Bazı çalışmalarda, bu polimorfizmin hipertansiyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (361,362). Başka bir çalışmada da eNOS 894 G>T polimorfizmi ile konjenital kalp hastalığı arasında ilişki olduğu bulunmuştur (363).

eNOS ekzon 7'nin G894T gen polimorfizmi ile kardiyovasküler hastalıklar, astım, meme kanseri, erektil disfonksiyon, hipertansiyon, Behçet hastalığı, iskemik serebrovasküler hastalıklar, migren, spina bifida ve preeklampsi ile ilgili yapılmış bir çok çalışma bulunmaktadır (262).

Preeklampsi ile eNOS G894T polimorfizm çalışmalarının birinde eNOS G894T polimorfizmi taşımanın, preeklampsi için risk oluşturmadığı saptanmışken (364) başka bir çalışmada bu polimorfizmin preeklampsi için artmış risk oluşturduğunu saptamıştır (365).

Prematüre bebeklerde, prematüre retinopatisi, respiratuar distres sendromu ve intraventriküler kanama ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar da bulunmaktadır (30-33).

Prematüre retinopatisinde prematüre bebeklerde eNOS genindeki tek nükleotid polimorfizmi olan T-786C ve G894T alleleri çalışılmış ve bu iki mutant alleli taşıyan bebeklerde retinopati riskinin yüksek olduğu bulunmuştur (33). Başka bir çalışmada da eNOS Glu298Asp ve T-786C gen polimorfizmi ile respiratuar distress sendromu gelişme riski arasında fark saptanmamıştır. Prematüre bebeklerde serebral palsy ile eNOS rs1799983(-894 G/T veya Glu298Asp) polimorfizmi arasında ilişki araştıran 2 çalışmanın birincisinde serebral palsy ile eNOS rs1799983(-894 G/T veya Glu298Asp) arasında ilişki bulunmuşken (366), ikincisinde serebral palsy ile eNOS rs1799983(-894 G/T veya Glu298Asp) polimorfizmi arasında ilişki bulunmamıştır (367,368). Prematüre bebeklerin diğer önemli bir komplikasyonu olan NEK ile eNOS G894T gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır.

nNOS gen polimorfizmi

nNOS geni, 12. kromozomda lokalize (12q24) 1434 aminoasit içeren ve 160 kdalton molekül ağırlığındadır. nNOS ilişkili NO, beyin fizyolojinde önemli role sahiptir (369). Beyinde NOS izoformlarından en sık bulunan nNOS'tur ve hafıza, öğrenme ve nöroeneziste önemli rolü vardır. Bu enzim özellikle hipokampus, serebral korteks ve serebellumda bulunmaktadır. Aynı zamanda kan basıncı kontrolünde, ateroskleroz gelişimde de rolü vardır. Bu iki etkisinde dolayı stroke için bir risk faktörü oluşturmaktadır (370,371). İnsan barsağında da NO'nun ana üretimi nNOS ile (372).

Son çalışmalarda nNOS geninde en az 124 yaygın tek nükleotid polimorfizmi ve bunlarında kodlanan bölgede olmadığı gösterilmiştir (373). Promotor bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmleri önemlidir. Örneğin nNOS ekzon 1c'de promotor

bölgesindeki Guaninin Alanin değişimi ve 2676 baz çiftinde sitozin, timin değişimi nNOS ekspresyonunu değiştirebilmektedir (373-375).

nNOS geninin 4 tek nükleotid polimorfizmi (rs2293050, rs2139733, rs7308402, rs1483757) ile stroke gelişimi arasında anlamlı ilişki bulunmuştur (371).

nNOS 29 C/T gen polimorfizminde TT homozigot genotipi veya T allel taşıyanlarda depresyon riski artmaktadır (376). nNOS 29 CT gen polimorfizminin TT homozigot taşıyıcılığı depresyon dışında Parkinson, Alzheimer ve frontotemporal lobun dejenerasyonuna neden olan nörodejeneratif hastalıklar içinde de risk oluşturmaktadır (377-379). C/T heterozigot ile Şizofreni hastalığı arasında da ilişkisi saptanmıştır (380).

Yapılan çalışmalarda infantil hipertrofik plor stenozunda nNOS ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir. Bununla ilgili bir çalışmada nNOS ekzon 1'deki promotor -84 A tek nükleotid polimorfizminin nNOS ekspresyonunu etkileyerek infantil hipertrofik pilor stenozu gelişmesi için risk oluşturabileceği saptanmıştır (374). Başka bir çalışmada nNOS -84 A gen polimorfizmi ile malign melanom arasında anlamlı ilişki varken nNOS 276 C/T gen polimorfizmi ile malign melanom arasında ise anlamlı ilişki bulunmamıştır (373).

nNOS kodlama bölgesindeki ekzon 29'da C/Tyerdeğişimi tek gen nükleotid polimorfizmi, değişim olmayan bölgede lokalizedir ve nNOS mRNA stabilizasyonu ve ekspresyon oranını etkiler (381-384).

nNOS, barsakta en çok bulunan NOS izoform olması rağmen barsak hastalıklarında nNOS gen polimorfizmi araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. NEK ile ilgili ise çalışma yoktur.

iNOS gen polimorfizmi

iNOS geni, 17. kromozomun uzun kolunda yerleşmiş (17q11.2-12) 27 ekzon içerir, 48 kb molekül ağırlığındadır ve 131 Kdalton ağırlığında protein kodlamaktadır (385). En az 83 tek nükleotid gen polimorfizmi saptanmıştır (373). iNOS gen

polimorfizmleri, düzenleyen ve kodlayan bölgelerdedir. Promotor bölgesindeki polimorfizmler, genin üretim sayısını etkilerken kodlayan bölgedeki polimorfizmler genin üretim aktivitesini değiştirebilirler. iNOS geninin promotor bölgesinde 3 farklı polimorfizmin tanımlanmıştır: 954'de tek gen nükleotid (G/C), 2 mikrosatellit tekrarı (biallellik tetranükleotid tekrarlaması sekansı (TAAA)_n, dokuz allellik pentanükleotid tekrarı (CCTTT)_n. Promotor bölgesindeki tandem tekrarlaması değişiklikleri iNOS transkripsiyonunu etkileyebilir ve iNOS ekspresyonunda ve NO üretiminde farklılıklara neden olur (385). iNOS polimorfizminin önemi ilk olarak gastrik kanserde Shen ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (386). Promotor bölgesindeki pentanükleotid tekrarı (CCTTT)_n, -954G/C, -1173C/T, -1659A/T polimorfizmleri iNOS seviyesinin ekspresyonunu etkilerken kodlama bölgesindeki S608L (rs2297518) polimorfizmi iNOS aktivitesini etkiler. iNOS polimorfizmi ile birçok hastalık arasında ilişki bulunmaktadır: İnflamatuvar barsak hastalığı, nazal polip, astım, Parkinson, hepatit C, diyabetik retinopati, malarya, prostat kanseri, HIV, romatoid artrit, mide kanseri, malign melanom, Crohn, ülseratif kolit, tip 1 DM, nonhogkin lenfoma (386). Yapılan bir çalışmada iNOS 974 G/T gen polimorfizmi ile malign melanom arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (373).

İnflamatuvar barsak hastalığı, otoimmün bir hastalık olup kolon mukozasında artmış iNOS ekspresyonu vardır. iNOS ekspresyonunun artışı, NO üretimini artırıp NO'nun zararlı etkilerine neden olur. NO, birçok hastalığın patogeneğinde bulunmaktadır; çünkü endotelial geçirgenliğin fizyolojik yönetiminde rol oynar. Kronik inflamasyonda NO sentezi artar (385). Pentanükleotid (CCTTT)₁₃ alleli ile ülseratif kolit gelişme riski arasında ilişki bulunmaktadır. Ekzon 16'da C/T polimorfizmi, Ser608Leu proteinde değişikliğe neden olur. Bu aynı anlama gelmeyen değişiklikler, hastalığın oluşabilirliği veya ciddiyetinde önemli rol oynayan enzim aktivitesinde dramatik değişikliklere neden olmaktadır (385).

iNOS geninde ekzon 22'de G/A yer değişimi, treoninde aynı anlama gelen yerdeğişikliği ile sonuçlanır (376). iNOS geninin 16 ve 22. ekzonlarındaki biallellik polimorfizmi, NO üretim değerini değiştirebilmektedir. iNOS ekzon 22'de allel Btg'den A'ya G > A gen polimorfizmi ve nNOS ekzon 29 C>T allel N1AIII'den T'ye polimorfizmi ile Parkinson hastalığı gelişme riski arasında ilişki bulunmuştur (377).

İlginç bir şekilde yapılan bir çalışmada Parkinson hastalığı ile akalazya arasında ilişki olduğu saptanmıştır (387). Akalazya etiyolojisinde NO ve NOS fonksiyon bozukluğu vardır. iNOS 22 AA genotipi ile akalazya arasında yüksek sıklık bulunmuştur (388).

iNOS üretiminin artması, depresyon ve nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojinde rol oynar (389). iNOS 22 GA genotipi taşıyanlarında depresyon görülme riskinin arttığı saptanmıştır (376).

Romatoid artrit ve hipertansiyon ile iNOS genindeki varyantlar arasında ilişki vardır . (353,390). (CCTTT)n, -954 G/C ve (TAAA)n gen polimorfizmi ile Romatoid artrit arasında ilişki gösterilmiştir (385). Romatoid artrit, otoimmün hastalıklar, hipertansiyon gibi hastalıklar inflamatuvar reaksiyonlar ve serbest radikallerin aşırı üretimi ile karakterizedirler (391-394). İnflamasyon ve serbest radikaller sonucu oluşan diğer inflamatuvar hastalık NEK'tir. Literatürde NEK ile iNOS gen polimorfizm çalışması da bulunmamaktadır.

Klinik Bulgular

NEK gelişen prematüre bebeklerin çoğu sağlıklı, iyi beslenen ve büyüyen prematüre bebeklerdir (9). NEK'in en erken bulgusu beslenme toleransında değişiklik olması ve gastrik retansiyonun gelişmesidir. Semptomların başlama zamanı gestasyonel yaşa göre değişebilir. Olguların %25' inde semptomlar doğumdan 30 gün sonra başlar. 26 haftadan küçük prematüre bebeklerde semptomların başlangıç yaşı ortalama 23 gün; 31 haftadan büyük prematüre bebeklerde semptomların başlangıç yaşı ise ortalama 11 gündür (49,395).

NEK'te klinik belirti ve bulgular değişkendir ve NEK'in erken bulgularının neonatal sepsisten ayırt edilmesi güç olabilir. Hastalığın bu aşamasındaki belirti ve bulguları; letarji, vücut ısısında düzensizlik, apne, bradikardi ve hipoglisemi atakları şeklindedir. NEK' in klasik klinik bulguları, olguların %70-80' inde karında distansiyon, %70' inde safralı kusma ve %25-63' ünde kanlı dışkılamadır. Radyolojik bulguların ortaya çıkmasından önceki 24 saat genellikle böyle geçer. Karındaki distansiyon, barsaklardaki genişleme ve asite bağlı olarak gelişir (396). Fizik muayenede gerilmiş barsak ansları palpe edilebilir ve bazen palpasyonla hassasiyet alınabilir. Bu

dönemde dışkıda gizli kan pozitifliği tanıyı destekler. Hastalık ilerledikçe karın duvarı gri-mavi renk alır; sonrasında hastalığın ilerlediğini ve peritonit geliştiğini gösteren endurasyon ve eritem ortaya çıkar. Sabit barsak ansları karında kitle olarak palpe edilebilir ve dışkıda taze kan görülebilir. Bazen de perforasyon ve beraberinde şok, koagulopati ve multiorgan yetmezliği gelişebilir (396).

Laboratuvar Bulguları

NEK düşünülen bebeklerde yapılması gereken ilk laboratuvar tetkikleri; hemogram, periferik yayama, CRP, kan gazı, elektrolitler, karın ultrasonografisi ve ayakta direkt karın grafisidir. Kan tablosunda sıklıkla nütropeni, bazen lökositoz, trombositopeni, hiponatremi ve metabolik asidoz görülür. NEK'li olguların %37'inde lökosit sayısı 15000/mm³ altındadır. Bazı çalışmalarda lökopeni gelişen NEK'li hastalarda, gram negatif etkenlerin daha sık olduğu gösterilmiştir (397-399). Trombositopeni; NEK ya da barsaklardaki dolaşım bozukluğuyla ilgili olmaktan çok gram negatif etkenlere ve lipopolisakkarid, PAF, TNF alfa, IL6 ve NO gibi inflamasyona sekonder sitokinlere bağlıdır (400). Koagülasyon bozuklukları, hipo-hiperglisemi, metabolik asidoz ve elektrolit bozuklukları da görülebilir. Metabolik asidoz sıklıkla şokun bir bulgusudur. Bazı hastalarda CRP düzeyinde artma görülür. Tekrarlayan apneler ve karın distansiyonuna bağlı diyafragmanın yukarı doğru itilmesi sonucu hipoksi ve hiperkarbi gelişebilir (2,396).

NEK düşünülen bebeklerden kan, dışkı, idrar ve BOS kültürü alınmalıdır. Bebeklerin %30-35' inde kan kültürü pozitifdir (400). Dışkı kültüründe üretilen mikroorganizma, kan veya periton sıvısı kültürünle üreyenle aynı olduğu zaman anlamlı kabul edilmelidir (2). En sık sorumlu etkenler E. Coli, Klebsiella spp, Enterobakter spp, koagulaz negatif stafilokok, Clostridium spp, Pseudomonas aeroginoza ve Candida Albicanstır (49,401,402).

Radyolojik Bulgular

NEK düşünölen bebeklerde mutlaka radyolojik değeriendirme yapılmalıdır. Karın grafisinde genişlemiş barsak halkaları, barsak serozası altında (pnömotozis intestinalis) ya da bazen portal ven trasesine uyan bölgede gaz kabarcıkları, perforasyon oluştuğunda diyafram altında serbest hava görölebilir. Olguların %55-100' ünde ayakta direkt karın grafisinde ilk bulgu genişlemiş barsak halkalarıdır (403). Bu halkalarda, 24-36 saat içinde hiçbir değışikliğin meydana gelmemesi ilgili segmentin dolaşımının bozulmuş olduğunun, hatta en az yarısında pannekroz oluştuğunun işaretidir (403,404). Sebat eden genişlemiş barsak halkalarına sahip bebeklerin %57' sine cerrahi tedavi gerekir. Ancak geriye kalan bebeklerde genişlemiş barsak halkalarının tıbbi tedaviyle gerileyip kaybolması, her ısrar eden genişlemiş barsak halkasına sahip bebeğin ameliyat edilmesinin gerekliliğini sınırlamaktadır.

NEK'in patognomonik radyolojik bulgusu, barsak duvarı içinde gaz görölmesi; pnömotozis intestinalistir. Barsak duvarını invaze etmiş bakterilerin fermentasyonu sonucu ortaya çıkardıkları hidrojen gazına bağılı gelişir. Pnömotozis intestinalisin iki radyolojik paterni tanımlanmıştır. Kistik patern; submukozadaki hava kabarcıklarından kaynaklanmakta olup, kalın barsaktaki fekal materyali taklit edebilir. Lineer patern ise hava kabarcıkları tarafından oluşturulup, barsak lümenine paralel seyredir. Pnömotozis intestinalis NEK dışında Hirschspung hastalığına bağılı enterokolit, şiddetli diyare ve karbonhidrat intoleransı sırasında da görölebilir (396).

Ultrasonografiyle barsaklardaki nekrozun, intraperitoneal sıvının ve portal ven içindeki gazın görölmesi mümkündür. Portal ven içindeki hava ultrasonografi ile daha erken dönemde görölebilir. Görölme sıklığı %9-20 arasındadır. Pannekrozu olan bebeklerde portal ven içinde gaz görölme sıklığı daha yüksektir (%61). Portal ven içinde gaz görölmesi, hastalığın ilerlemiş olduğunun önemli bir kanıtıdır; %52- 93 mortalitesi vardır (34,405). Bu nedenle portal ven içinde gaz göölmesi kötü prognoz bulgusudur. Bununla birlikte nonspesifik bir gastroenterit sırasında da portal ven içinde gaz göröldüğüne ait raporlar vardır (406).

Olguların %12-40' ında görülen pnömoperitoneum (Diyafragmanın altında serbest hava görülmesi), barsağın perforasyonu en önemli kanıtıdır (34,407). Bunun yanı sıra barsağı perforasyonu olmuş olan bebeklerin %16' sında asit ya da serbest havanın olmayabileceği de hatırlanmalıdır. Hastalık, destekleyici tedavi ile düzelmeye başladığında, karındaki distansiyonun azalmasıyla birlikte karın grafisinde de gaz distansiyonunun azaldığı, hatta barsakların gazsız olduğu görülür. Buna karşılık ayakta direkt karın grafisinde barsaklar içindeki gazların yok olmasına rağmen distansiyonun devam etmesi ya da asit ve barsakların karının ortasında toplanması barsak nekrozunun ve karın boşluğunda enfekte bir sıvının biriktiğinin işareti olabilir. Direkt karın grafisi ve ultrasonografiyle asit saptanan bebeklerin %43' ünde barsak nekrozu vardır (34). Barsak perforasyonunun olup olmadığından emin olunamıyorsa parasentez yapılabilir. 0,5 ml' den daha fazla kahverengi ya da yeşil-kahverengi renkte bir sıvının aspire edilmesi ve bu sıvının gram boyamasında mikroorganizmaların görülmesi barsak nekrozunun önemli işaretlerindendir (407). Bazen lokalize ve barsak halkaları ile sınırlanmış perforasyonlarda parasentez sonucu negatif olabilir (408). Bu durumda periton boşluğu 30 ml/kg serum fizyolojikle yıkanabilir. Karın boşluğunda asit sıvısının varlığı da portal ven içinde gaz görülmesi gibi kötü prognoz işaretlerinden bir başkasıdır. Radyolojik olarak serbest hava varlığı, sadece cerrahi girişim için endikasyondur fakat diğer bulguların varlığında da cerrahi müdahale düşünülebilir.

NEK tanısında direkt karın grafisi ve ultrasonografi dışında kontrastlı grafi ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG), kullanılan diğer tanı yöntemleridir. MRG, aynı zamanda splanik vaskülaritenin değerlendirilmesi, çöliak ve süperior mezenterik arterin artmış kan akımının ve artmış pik akım hızının tanısında da yardımcıdır (409-412).

Tanı

NEK tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak konur. Özgül gastrointestinal semptomların varlığında, direkt karın grafisinde pnömotozis intestinalisin görülmesi NEK tanısını koydurur (413,414). Bazı beslenmemiş NEK olgularında pnömotozis intestinalis görülmeyebilir. Bu olgularda tanı, ancak cerrahi

sonrası patolojik incelemeyle konur. Ultrasonografi, sintigrafi, bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme tetkikleri ek bilgiler sağlamakla birlikte, bunların direkt karın grafisine üstünlüğü yoktur. Bell ve arkadaşları ilk defa 1978 yılında NEK' in klinik bulgularını evrelemişlerdir (39). Daha sonra Walsh ve Kliegman tarafından radyolojik bulgular da eklenerek evreleme modifiye edilmiştir (Tablo 2). Bu evreleme sisteminde klinik bulgu ve semptomları açık olan ancak radyolojik bulguları tanısal olmayan hastalar evre 1 (Şüpheli NEK) olarak tanımlanmıştır. . Tanısal grafi bulguları olan (Pnömotozis intestinalis, vb) hastalar evre 2 (Kesin NEK) (Kanıtlanmış NEK) olarak tanımlanmış ve bu grup hafif hastalık (Evre 2A) veya orta derecede hastalık (Evre 2B; asidoz, trombositopeni veya asidi içeren sistemik toksisite bulguları varlığında) olarak ikiye ayrılır. Evre 3 (İlerlemiş NEK), kritik bir dönemdir ve olması yakın (Evre 3A) veya kanıtlanmış (Evre 3B) intestinal perforasyon olarak iki döneme ayrılır. Bu evreleme sistemi, NEK' in ilerlemesini ve ağırlığını belirlemek, ayrıca tedaviyi yönlendirmek açısından yararlıdır (39,40,46).

Modifiye Bell Kriterleri

a. Evre 1 (Şüpheli NEK): Nonspesifik sistemik bulgular (Isı değişikliği, apne, letarji) vardır. Gastrointestinal sistem bulguları; artmış gastrik reziduel kapasite, karında distansiyon, kusma ve gaitada gizli kan pozitifliği şeklinde olabilir. Karın grafisi bulguları normal olabilir ya da barsakta dilatasyon, bazen de hafif ileus olabilir. Evre 1A ve evre 1B' de tedavi değişmemesine rağmen evre 1, kanlı dışkılama ile evre 1A ve 1B şeklinde ikiye ayrılır.

b. Evre 2 (Kesin NEK) (Kanıtlanmış NEK): Evre 1 bulgularına ek olarak barsak seslerinin yokluğu ve/veya karında hassasiyet vardır. Bazı bebeklerde karın duvarında sellülit ya da sağ alt kadranda kitle olabilir. Evre 2A' da hafif hasta görünümü varken evre 2B' de orta hasta görünümü ve buna ilave olarak hafif metabolik asidoz, trombositopeni bulguları vardır. Karın grafisi bulguları; ileus, barsak dilatasyonu, pnömotozis intestinalis ve asittir.

c. Evre 3 (İlerlemiş NEK): NEK'in en ağır evresidir. Evre 3A' da barsak sağlamken evre 3B' de barsak perforedir. Karın grafisinde pneumoperitonium vardır. İlerlemiş NEK' te hastalar ciddidir. Diğer evrelere ek olarak hipotansiyon, bradikardi, ciddi apne, peritonit bulguları (Karın distansiyonu, belirgin hassasiyet) vardır. Laboratuar bulguları olarak respiratuar ve metabolik asidoz, nötropeni ve DİK görülür.

NEK'li olguların %13'ü evre 1' de olup, bulgular büyük oranda düzelir. Olguların %25-40'ında NEK ilerler ve hızla evre 3'e geçer (39,134).

Tablo 2. Nekrotizan enterokolit için modifiye Bell evrelemesi

Evre	Tanı	Sistemik Bulgular	GİS Bulgular	Radyolojik Bulgular
I-A	Kuşkulu NEK	Isı dengesizliği, apne, bradikardi, letarji	Gastrik rezidü artış, hafif distansiyon, kusma, GGK+	Normal, intestinal distansiyon, hafif ileus
I-B	Kuşkulu NEK	I-A ile aynı	I-A bulguları, taze rektal kanama	I-A ile aynı
II-A	Kanıtlanmış NEK	I-A ile aynı	I-B bulguları, ileus +/- karın duyarlılığı	I-A bulguları, ileus, pnömotozis intestinalis
II-B	Kanıtlanmış NEK	I-A bulguları, hafif metabolik asidoz	II-A bulguları, karın duyarlılığı +/- karında eritem, ödem, kitle	II-A bulguları, portal vende gaz, +/- asit
III-A	Ağır NEK	II-B bulguları, şok, asidoz, DİC, nötropeni	II-B bulguları, peritonit, belirgin distansiyon, eritem, ödem	II-A bulguları, asit
III-B	Perfore NEK	III-A bulguları, elektrolit bozukluğu	III-A ile aynı	III-A bulguları, pnömoperitoneum

Tedavi

Nekrotizan enterokolitte tanının erken dönemde konulması ve tedavinin erken başlanması yaşam şansını etkileyen en önemli faktördür. Bu nedenle NEK' ten şüphelenilir şüphelenilmez enteral beslenme kesilmeli, nazogastrik dekompreseye başlanmalıdır. Trombositopeni ve anemi, NEK' in değişmez bulguları olduğundan trombosit ve eritrosit süspansiyonlarının transfüzyonuna sıklıkla gereksinim duyulur. Gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalardan korunmayı sağlayacak geniş spektrumlu antibiyoterapi başlanmalı, 10-14. güne kadar devam edilmelidir (415). Kullanılan antibiyotik kombinasyonu; bir penisilin türevi, bir aminoglikozid ve anaerobik mikroorganizmalara karşı etkili bir preparattan oluşmalıdır. Bebeğin kalori gereksiniminin karşılanabilmesi için parenteral beslenmeye başlanmalıdır. Kan biyokimyası, koagülasyon testleri, kan gazı ve direkt karın grafileri hastanın durumuna göre sık aralıklarla tekrarlanmalıdır.

Cerrahi Tedavi: NEK' te kesin cerrahi endikasyon barsak perforasyonu ve nekrozudur. Cerrahi tedaviye bebeklerin yaklaşık %25-50' sinde ihtiyaç duyulur (55,416). Aslında en ideal olanı; cerrahi müdahalenin barsak nekrozu oluştuğundan ancak perforasyon ortaya çıkmadan yapılabilmesidir. Perforasyon oluşmadan ameliyata alınan bebeklerde mortalite %30 iken perforasyon meydana geldikten sonra ameliyat edilen bebeklerde ise %64'tür. Ayakta direkt karın grafisinde pnömoperitoniumun olması, pozitif parasentez bulguları ve portal vende gaz görülmesi laparotomi endikasyonlarıdır. Karın duvarında eritem, karında palpe edilen kitle gibi bulgular barsak nekrozunu desteklerse de, en mutlak cerrahi girişim endikasyonu karın içinde serbest havanın görülmesidir (417). Ancak barsak perforasyonu gelişmiş bebeklerin sadece %40' ında ayakta direkt grafisinde intraperitoneal serbest hava saptanabilir (407).

Parasentez, barsak nekrozundan şüphelenilen olgularda yapılır. Karından alınan sıvının hiç aspirasyon yapılmadan enjektöre 0,5 ml' den fazla dolması, sıvının kahverenginde olması ve sıvının gram boyamasında bakteri görülmesi pozitif parasentez bulgularıdır. Evre 1 ve 2' de yer alana bir bebek, tıbbi tedaviye rağmen

giderek kötüleşiyorsa, karın duvarında eritem, karın grafilerinde yeri değişmeyen barsak halkaları varsa, karında kitle palpe ediliyorsa ve tedaviye cevap vermeyen asidoz gibi daha rölatif cerrahi endikasyonlara sahipse parasentez yapılmalıdır (418). Parasentezde pozitif bulguların olması cerrahi girişim endikasyonudur (418). Buna karşılık pozitif parasentez bulgularını laparotomi endikasyonu olarak görmeyelerde vardır. Parasentezde, %40 oranında yanlış negatif sonuç alınması olasıdır (418).

NEK'li bebekler, aynı zamanda sepsis, hipovolemik şok ve solunum desteği ihtiyacı içindedirler. Ameliyat öncesi asidoz, anemi, trombositopeni, hipovolemi ve vücut ısısının düzeltilmesi gerekir.

Laparotomide nekroza olmuş barsak segmentleri rezeke edilir. Rezeksiyon sonrası barsak uçları enterostomi ile cilde ağızlaştırılırlar. NEK' li olguların %18-38' inde barsakların nerdeyse tamamı nekrozedir (Pannekroz). Bu tür olgularda mortalite hemen hemen %100' dür (419). Durumu kötü olup ameliyatı tolere edemeyecek bebeklere periton boşluğuna bir dren yerleştirilmesi, laparotomi öncesinde hayat kurtarıcı olabilir (420).

Komplikasyonlar

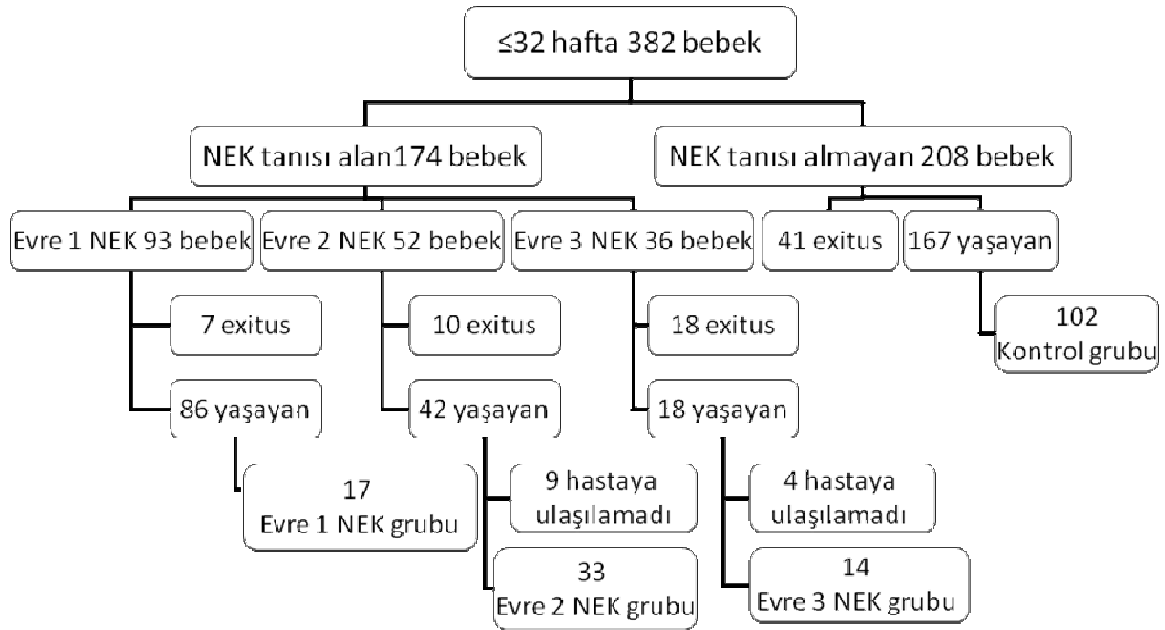
İster tıbbi ister cerrahi tedavi yapılmış olsun, NEK' li hastalar uzun dönemdeki olası komplikasyonlar açısından izlenmelidirler. Doğrudan NEK'in kendisine veya cerrahi işleme bağlı komplikasyonlar görülebilir. Stoma stenozu barsak striktürü, enterik fistüller, TPN' ye bağlı kolestaz veya sepsis, intraabdominal apse, laparotomi kesisi ile ilgili sorunlar (Deri altı apse, evantrasyon), kısa barsak sendromu ve pulmoner komplikasyon görülebilir. Uzun dönemde en sık barsak striktürü görülür. Barsaktaki iskemik nekroz alanlarının fibrozisle iyileşmesi sonucu oluşur. Görülme sıklığı %9-36 arasındadır (421). İlk NEK epizodundan ortalama 37 gün sonra bebeklerin %4-6' sında ikinci bir NEK atağı olabileceği rapor edilmiştir (408). Bu ataklar; beslenmeye, tedavinin tıbbi veya cerrahi olmasına ve tutulan barsağın tipine bağlı değildir ve çoğu (%70) tıbbi tedaviye yanıt verir. Cerrahi geçiren NEK olgularının %23' ünde, geç dönem komplikasyonlarının en önemlisi ve ağırı olan kısa barsak sendromu görülür.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Ocak 2008 ve Aralık 2012 tarihleri arasında Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesine 32 hafta ve altında olup prematüre tanısıyla yatan toplam 382 bebek vardı. İzleminde NEK gelişen toplam 174 bebek vardı. NEK gelişen 174 bebeğin 64'ü çalışmaya alındı (NEK grubu). İzleminde NEK gelişmeyen toplam 208 bebek vardı. NEK gelişmeyen 208 bebeğin 102'si çalışmaya alındı (Kontrol grubu). Çalışmaya toplam 166 bebek alındı (Tablo 3).

NEK grubundaki 64 bebeğin 44'ü Ocak 2012-Aralık 2012 tarihleri arasında Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan bebeklerdi ve prospektif olarak seçildi. 64 bebeğin 20'si Ocak 2008-Aralık 2011 tarihleri arasında Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'sinde yatan ve poliklinik izlemine gelen bebeklerdi ve retrospektif olarak seçildi.

Kontrol grubundaki 102 bebeğin 63'ü Ocak 2012-Aralık 2012 tarihleri arasında Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatan bebeklerdi ve prospektif olarak seçildi. 102 bebeğin 39'u Ocak 2008-Aralık 2011 tarihleri arasında Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'sinde yatan ve poliklinik izlemine gelen bebeklerdi ve retrospektif olarak seçildi.



Tablo 3. NEK ve kontrol grubu

İzleminde nonspesifik klinik bulgulara (Apne, desaturasyon, bradikardi, letarji, vücut ısısı düzensizliği) ek olarak gastrointestinal sistem bulguları (Beslenme intoleransı, kusma, gastrik rezidü, safralı veya kanlı gastrik aspirat, barsak seslerinin azalması veya alınamaması, kanlı dışkı, karın distansiyonu ve duyarlılığı, karın cildinde renk değişikliği) olan premature bebekler NEK açısından değerlendirildiler. Laboratuvar tetkikleri lökopeni, lökositoz, nötropeni, trombositopeni ve metabolik asidoz açısından değerlendirildi. Karın grafileri NEK bulguları (Barsakta dilatasyon, sabit dilate barsak halkaları, barsak duvarın kalınlaşması, asid, pnömosiz intestinalis, portal vende hava görülmesi, pnömoperitoneum) açısından değerlendirildi. Bu bulgularla Çocuk Cerrahları tarafından değerlendirilen bebekler klinik ve radyolojik bulgulara göre NEK tanısı konulduktan sonra Modifiye Bell kriterleri kullanılarak evrelendirildiler. Nonspesifik sistemik bulguların (Isı değişikliği, apne, letarji),ve gastrointestinal sistem bulgularının (Artmış gastrik rezidu, karın distansiyonu, emezis, gaitada gizli kan pozitifliği) olması; karın grafisinin normal veya barsaklarda dilatasyon, hafif ileus olması evre 1 (Kuşkulu) NEK olarak kabul edildi. Kanlı dışkılaması olmayanlar evre 1A, kanlı dışkılaması olanlar evre 1B olarak ikiye ayrıldılar. Evre 1 bulgularına ek olarak barsak seslerinin yokluğu ve/veya karında hassasiyet olması; karın grafisi bulgularında barsak dilatasyonu, ileus ve pnömozis intestinalis olması evre 2A (Kesin NEK - hafif hasta); evre 2A bulgularına ek olarak hafif metabolik asidoz, hafif trombositopeni, karın duvarında sellülit veya sağ alt kadranda kitle, portal vende gaz ve asit olması evre 2B (Kesin NEK - orta derecede hasta) olarak tanımlandı. Evre 2B bulgularına ilaveten hipotansiyon, bradikardi, ciddi apne, kombine metabolik ve respiratuvar asidoz, DİK, nötropeni, peritonit bulguları (Karın distansiyonu ve belirgin hassasiyet) olan olgular evre 3A (Ciddi hasta - barsak perforasyonu yok); evre 3A bulgularına ilave olarak karın grafisinde pnömoperitoneum olan olgular da evre 3B (Ciddi hasta - barsak perforasyonu) olarak tanımlandılar.

NEK grubu ile kontrol grubunda, NEK patogenezinde önemli rolü olan ET-1 ile NOS gen polimorfizmlerine bakılması planlandı.

ET-1, NEK patogenezinde barsak kan akımı ve damar direncini düzenleyerek barsak mukoza hasarına neden olur. NEK'te ET-1 düzeyi artmaktadır. ET-1 geninde

ET-1 sentezini etkileyebilen birçok polimorfizmin bildirilmektedir. ET-1 G8002A gen polimorfizmi özellikle mikrovasküler komplikasyonların neden olduğu vasküler endotel hasarı sonucunda oluşan diyabetik retinopati gibi hastalıklarda çalışılmıştır. Patogenezdaki benzerlik nedeniyle ET-1 gen polimorfizmleri içinden ET-1 G8002A gen polimorfizminin çalışılması planlandı.

NO, NEK patogenezinde barsak kan akımı ve damar direncinde rol alan diğer mediyatördür. NOS ile sentezlenir ve NOS izoformlarına göre NO miktarı değişmektedir. NO'un yararlı etkileri eNOS, zararlı etkileri ise nNOS ve iNOS tarafından oluşturulmaktadır. eNOS genindeki G894T tek nükleotid polimorfizmi birçok vasküler ve inflamatuvar hastalıklarda çalışılmış en yaygın eNOS gen polimorfizmlerinden biridir. Aynı zamanda bu polimorfizm, eNOS aktivitesini ve miktarını değiştirebilmektedir; bununda NEK patogenezinde önemli olduğu gösterilmiştir. Prematüre bebeklerin NEK dışındaki diğer komplikasyonlarından prematüre retinopatisi, respiratuar distress sendromu ve serebral palsi ile eNOS G894T gen polimorfizm çalışmaları bulunmaktadır. Bu nedenlerden dolayı eNOS G894T gen polimorfizminin çalışması planlandı. iNOS ve nNOS genlerinde de birçok polimorfizmin bildirilmesine rağmen iNOS genindeki ekzon 22 G>A gen polimorfizminin NOS fonksiyonunu etkilemesi ve nNOS genindeki 29 C>T gen polimorfizminin NOS ekspresyonunu etkilemesi ve bu polimorfizmler ile ilgili az sayıda çalışma yapılmış olması nedeniyle iNOS için ekzon 22 G>A gen polimorfizmi, nNOS için 29 C>T gen polimorfizmi çalışılması planlandı.

NEK grubu ve kontrol grubundaki toplam 166 prematüre bebekten uygun ve özenli bir şekilde EDTA' lı tüpe 2 ml periferik kan alındı. Alınan bu kan örneklerinden DNA izoasyonu yapıldı. Termal cyler (Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9600) kullanılarak DNA amplikasyonu uygulandı.

1. DNA Primerleri

A. NOS1 (nöronal NOS-nNOS) ekzon 29 C>T polimorfizmi için

5-TTGAGTTTTCTGCTGCGATGT-3 and 5-GCTTGTGCCTAGTTCCTGCA-3 primerleri kullanılarak uygun gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı.

B. NOS2 (indüklenabilir NOS) ekzon 22 G>A polimorfizmi için

5-CTGCTGGCTTCCTGCTTTCC-3 ve 5-CTCGGGTGTGGTAGGTGACC-3 primerleri kullanılarak uygun gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı.

C. NOS3 (endoteliyal NOS) G894T (rs1799983) için

5-CATGAGGCTCAGCCCCAGAAC-3 ve 5-AGTCAATCCCTTTGGTGCTCAC3 primerleri kullanılarak uygun gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı.

D. ET-1 (endotelin 1) C8002T (TaqI variant) için

5-CAAACCGATGTCCTCTGTA-3 ve 5-ACCAAACACATTTCCCTATT-3 primerleri kullanılarak uygun gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı.

2. Primerlerin Sulandırılması

Liyofilize durumdaki primerlere kullanma talimatında belirtilen miktarda ddH₂O eklenerek, 100 pikomol/mikrolitrelik stok çözeltiler hazırlandı. PCR işleminde kullanılmak üzere stoktan 10 pikomol/mikrolitrelik konsantrasyonlu 100 mikrolitrelik sulandırılmış primerler hazırlandı.

3. PCR Reaksiyon Karışımı

Her bir örnek için hazırlanan total PCR reaksiyon karışımı 25 mikrolitre oldu. H₂O, 10X buffer, MgCl₂ (25Mm), dNTP, primerler ve Taq polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi.

4. İzlenen PCR Programı

Denatürasyon	94 °C	5 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	60 °C	30 saniye	35 döngü
Uzama	72 °C	45 saniye	
Final Uzama	72 °C	5 dakika	
Bekleme	4 °C	∞	

Amplifikasyon ürünleri, PCR programı bittikten sonra +4 °C' de saklandı.

5. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürününde amplifikasyon olup olmadığının kontrolü için, %2' lik agaroz jelde PCR ürünleri yürütüldü. 100 ml'lik erlen içine, 2 gr agaroz ve 100 ml 0.5XTBE konulup mikrodalga fırında ısıtılarak eritildi. Berrak görünüm sağlanınca, 16 mikrolitre etidyum bromür eklenip karıştırılıp hazırlanan tabağa döküldü. Jel donması için beklendi. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken, bir parça parafilm üzerine 5 mikrolitre orange G ve 5 mikrolitre PCR ürünü karıştırılıp, jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için, her jele marker yüklendi. 120 volt akımda yürüdükten sonra jel görüntüleme sistemi ile incelendi.

6. RFLP

A. NOS1 (nöronal NOS-nNOS) ekzon 29 C>T polimorfizmi

PCR ürünleri Hin1II restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi ile araştırıldı.

B. NOS2 (indüklenabilir NOS- iNOS) ekzon 22 G>A G>A polimorfizmi

PCR ürünleri BtgI restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi ile araştırıldı.

C. ET-1 (endotelin 1) C8002T (TaqI variant)

PCR ürünleri Taq I restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi ile araştırıldı.

D. NOS3 (endothelial NOS) G894T (rs1799983)

PCR ürünleri Eco24I (BanII) restriksiyon enzimi ile kesilerek RFLP yöntemi ile araştırıldı.

PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak gen polimorfizm çalışması, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16.0 for Windows” programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin değerlendirilmesinde t-test, ki-kare testi, logistic regression, nominal regression, Cohen’s kappa Coefficient yöntemleri kullanıldı. Genotip ve allel farklılıkları ki-kare testi ile karşılaştırılarak odds oranı ve %95 güven aralığı değerleri hesaplandı. NEK grubu ve kontrol grubundaki genotipler arasında anlamlı farklılık olmadığı için allel sıklığı Hardy Weinberg Denkliği testi ile analiz edilmedi. Genotip ve allel gruplarının klinik özellikler ile ilişkisi pearson korelasyon testi ile test edildi. $p < 0.05$ olması istatistiksel anlamlılık olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya 64'ü NEK olan ve 102'si NEK olmayan toplam 166 prematüre bebek alındı. Bebeklerin demografik özellikleri incelendiğinde ortalama gestasyonel yaşı $29,48 \pm 2,32$ (22-32) idi. 81'i (%48,8) kız, 85'i (%51,2) erkekti. Ortalama doğum ağırlığı $1364,84 \pm 478,29$ g (580-2780 g) , ortalama doğum boyu $38,75 \pm 4,30$ cm (28,90-48 cm), ortalama doğum baş çevresi $27,49 \pm 2,97$ (20-34,3) idi. Bebeklerin demografik özellikleri tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Toplam çalışma grubundaki 166 prematüre bebeğin demografik özellikleri

Cinsiyet	
Kız	81 (%48,8)
Erkek	85 (%51,2)
Doğum ağırlığı (g)	$1364,84 \pm 478,29$ (580-2780)
Doğum boyu (cm)	$38,75 \pm 4,30$ (28,90-48)
Doğum baş çevresi (cm)	$27,49 \pm 2,97$ (20-34,3)
Doğum şekli	
NspD	21 (%12,7)
C/S	145 (%87,3)
Gestasyonel yaş (hafta)	$29,48 \pm 2,32$ (22-32)
Ultrasonografiye göre gestasyon yaşı (hafta)	$28,71 \pm 2,82$ (22-36)
İntrauterin büyüme kısıtlılığı	21 (%12,7)
1. dk apgar skoru	6 (0-9)
5. dk apgar skoru	8 (4-10)

NEK grubundaki 64 prematüre bebeğin demografik özellikleri incelendiğinde ortalama gestasyonel yaşı $28,04 \pm 2,38$ hafta (22-32 hafta) idi. 34'ü (%53,1) kız, 30'u (%46,9) erkekti. Ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ g (580-2780 g), ortalama doğum boyu $36,37 \pm 3,95$ cm (28,9-48 cm), ortalama doğum baş çevresi $25,56 \pm 2,48$

cm (20-33 cm) idi. 1. dakika apgar skoru median 5 (1-8), 5. dakika apgar skoru median 7 (4-10) bulundu.

Kontrol grubundaki 102 prematüre bebeğin demografik özellikleri incelendiğinde ortalama gestasyonel yaşı $30,38 \pm 1,78$ hafta (25-32 hafta) idi. 47'si (%46,1) kız, 55'i (%53,9) erkekti. Ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ g (580-2780 g), ortalama doğum boyu $40,24 \pm 3,83$ cm (30-48 cm), ortalama doğum baş çevresi $28,71 \pm 2,59$ cm (22-34,3 cm) idi. 1. dakika apgar skoru median 6 (0-9), 5. dakika apgar skoru median 8 (4-10) bulundu. NEK ve kontrol grubundaki bebeklerin demografik özellikleri karşılaştırıldığında cinsiyet oranları ve doğum şekli her iki grupta benzerdi. Gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, boyu ve baş çevresi, 1. ve 5. dakika apgar skorları arasında anlamlı farklılık saptandı (Tablo 5).

Tablo 5. Kontrol grubu ve NEK grubunun demografik özellikleri

	Kontrol grubu (n=102)	NEK grubu (n=64)	P
Cinsiyet			0,377
Kız	47 (%46,1)	34 (%53,1)	
Erkek	55 (%53,9)	30 (%46,9)	
Doğum ağırlığı (g)	$1547,24 \pm 460,01$ (580-2780)	$1074,16 \pm 346,69$ (596-2250)	0,000
Doğum boyu (cm)	$40,24 \pm 3,83$ (30-48)	$36,37 \pm 3,95$ (28,9-48)	0,000
Doğum baş çevresi (cm)	$28,71 \pm 2,59$ (22-34,3)	$25,56 \pm 2,48$ (20-33)	0,000
Doğum şekli			0,361
NspD	11 (%10,8)	10 (%15,6)	
C/S	91 (%89,2)	54 (%84,4)	
Gestasyonel yaş (hafta)	$30,38 \pm 1,78$ (25-32)	$28,04 \pm 2,38$ (22-32)	0,000
USG'ye göre gestasyonel yaş (hafta)	$29,85 \pm 2,51$ (22-36)	$26,96 \pm 2,34$ (22-34)	0,000
İntrauterin büyüme kısıtlılığı	9 (%8,8)	12 (%18,8)	0,144
1. dk apgar skoru	6 (0-9)	5 (1-8)	0,029
5. dk apgar skoru	8 (4-10)	7 (4-10)	0,004

NEK ve kontrol grubun antenatal öyküsüne bakıldığında anne yaşının iki grupta benzer olduğu görüldü. NEK ve kontrol grubundaki ablasyo plasenta, plasenta previa, koryoamnionit, gestasyonel diyabet, diyabetes mellitus görülme sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Sadece preeklamsinin anlamlı olarak NEK grubunda daha sık görüldüğü bulundu ($p=0,018$). NEK ve kontrol grubunda erken doğum tehditi, tokoliz kullanımı, antenatal steroid uygulaması ve dopler ultrasonografik bulguları arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Amnion volümü açısından NEK grubunda oligohidramniozun anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p=0,033$). Kontrol grubunda infertilite tedavisi %28,4; NEK grubunda %13,1 idi. Yardımcı üreme tekniğinin kontrol grubunda daha sık uygulandığı bulundu ($p=0,003$) (Tablo 6).

Tablo 6. Kontrol grubu ve NEK grubunun antenatal özellikleri

	Kontrol grubu (n=102)	NEK grubu (n=64)	P
Anne yaşı	29,87±5,38(17-43)	28,58±5,69(17-41)	0,142
Preeklampsi	16 (%15,7)	20 (%31,2)	0,018
Ablasyo plasenta	5 (%4,9)	4 (%6,2)	0,709
Plasenta previa	4 (%3,9)	1 (%1,6)	0,387
Gestasyonel diyabet	7 (%6,9)	7 (%10,9)	0,358
Diyabetes mellitus	2 (%2)	2 (%3,1)	0,634
Uteroplasental yetmezlik	2 (%2)	3 (%4,7)	0,317
Gebelikte sigara kullanımı	6 (%5,9)	1 (%1,6)	0,178
Kalp hastalığı	3 (%2,9)	1 (%1,6)	0,573
Koryoamnionit	10 (%9,8)	9 (%14,1)	0,402
Anemi	2 (%2)	2 (%3,1)	0,634
Otoimmün Hastalık	9 (%8,8)	7 (%10,9)	0,653
İdrar yolu enfeksiyonu	7 (%6,9)	3 (%4,7)	0,566

Tablo 6. Kontrol grubu ve NEK grubunun antenatal özellikleri (Devam)

	Kontrol grubu (n=102)	NEK grubu (n=64)	P
Antenatal kanama	17 (%16,7)	17 (%26,6)	0,124
Tokoliz kullanımı	47 (%46,1)	35 (%54,7)	0,280
Tokolitik ajanlar			0,077
MgS04	24 (%23,5)	26 (%40,6)	
Ritodrin	10 (%9,8)	7 (%10,9)	
MgS04,Ritodrin	8 (%8,9)	1 (%1,6)	
Nifedipin	1 (%1)	1 (%1,6)	
MgS04,Ritodrin,Nifedipin	4 (%3,9)	0 (%0)	
Erken membran rüptürü (EMR)	40 (%39,2)	25 (%39,1)	0,984
Amniyon sıvı volume			0,033
Oligohidramnios	21(%20,6)	25 (%39,1)	
Normal	78 (%76,5)	38 (%59,4)	
Polihidramnios	3 (%2,9)	1 (%1,6)	
EMR süresi	71,12±74,62(9-336)	53,80±41,72(24-168)	0,563
Antibiyotik kullanımı	24 (%23,5)	9 (%14,1)	0,137
Antenatal steroid kullanımı,			0,585
Yok	33 (%32,4)	18 (%28,1)	
Eksik kür	12 (%11,8)	11 (%17,2)	
Tam kür	57 (%55,9)	35 (%54,7)	
Doppler USG			0,602
Yok	56 (%54,9)	32 (%50)	
Normal	34 (%33,3)	21 (%32,8)	
Anormal	12 (%11,8)	11 (%17,2)	
İnfertilite tedavisi			0,003
Yok	73 (%71,6)	60 (%93,8)	
İCSI	23 (%22,5)	3 (%11,5)	
İVF	5 (%4,9)	0 (%0)	
Over stimülasyonu	1 (%1)	1 (%1,6)	

NEK grubunda RDS'si olan 47 (%73,4) bebek, Kontrol grubunda RDS'si olan 39 (%38,2) bebek vardı (p <0,0001). Surfaktan uygulaması, mekanik ventilasyon süresi, NCPAP süresi, oksijen desteği süresi anlamlı olarak NEK grubunda daha

fazlaydı. NEK grubunda PDA'sı olan 38 (%59,4) bebek, Kontrol grubunda PDA'sı olan 23 (%22,5) bebek vardı. NEK grubunda PDA anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,0001$). BPD, ROP, İVK, PVL, hidrosefali, konvülsiyon sıklığı açısından NEK grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu. Sepsis NEK grubunda 63 (%98,5) bebekte, Kontrol grubunda 61 (% 59,9) bebekte saptandı ve gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,0001$). NEK grubunda BPD'sı olan bebek 29 (%50), Kontrol grubunda BPD'sı olan bebek 13 (%22,7) idi ($p < 0,0001$). NEK grubunda BPD'sı olanların % 31,2'si (20), Kontrol grubundaki BPD'sı olanların %12,7'si (13) steroid tedavisi almıştı. NEK grubunda BPD nedeniyle steroid kullanımı anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,004$). Kümülatif steroid dozu NEK grubunda daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,052$) (Tablo 7).

NEK grubundaki bebeklerin minimal enteral beslenme zamanı ortalama $21,94 \pm 12,93$ gün (2-70 gün), Kontrol grubundaki bebeklerin minimal enteral beslenme zamanı ortalama $4,45 \pm 5,59$ gün (1-37 gün) idi. NEK grubundaki bebeklerin minimal enteral beslenme zamanının anlamlı olarak daha geç olduğu görüldü ($p < 0,001$). NEK grubundaki bebeklerin total enteral beslenmeye ulaşma zamanı ortalama $48,57 \pm 23,42$ gün (13-122 gün), Kontrol grubundaki bebeklerin total enteral beslenmeye ulaşma zamanı ortalama $17,56 \pm 12,26$ gün (2-66 gün) idi. NEK grubundaki bebeklerin total enteral beslenmeye ulaşma zamanının da anlamlı olarak daha geç olduğu görüldü ($p < 0,001$). Anne sütü veya formula ile beslenme açısından NEK ve kontrol grupları anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,203$) (Tablo 7).

NEK grubundaki 63 bebeğin (%98,4), Kontrol grubundaki 62 bebeğin (%60,8) ERT transfüzyon aldığı görüldü. ERT transfüzyon sayısı NEK grubunda ortalama $8,7 \pm 6,03$ (0-29), Kontrol grubunda ortalama $1,96 \pm 2,46$ (0-11) idi. Hem ERT transfüzyon uygulaması hem de ERT transfüzyon sayısı NEK grubunda anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 7).

Göbek ven ve arter kateter uygulamasının NEK grubunda anlamlı olarak daha fazla olduğu bulundu ($p < 0,001$) (Tablo 7).

NEK grubundaki bebeklerin yatış süresi ortalama $71,86 \pm 48,56$ gün (3-288 gün), Kontrol grubundaki bebeklerin yatış süresi ortalama $31,90 \pm 21,03$ gün (5-86

gün) idi. NEK grubundaki bebeklerin yatış süresi daha uzun olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol ve NEK grubundaki bebeklerin yenidoğan dönemindeki komplikasyon ve hastalıkların özellikleri

	Kontrol grubu (n=102)	NEK grubu (n=64)	P
Perinatal asfiksi	3 (%2,9)	1 (%1,6)	0,573
Respiratuar distress sendromu (RDS)	39 (%38,2)	47 (%73,4)	0,000
Konjenital pnömoni	21 (%20,6)	22 (%34,4)	0,048
Surfaktan kullanımı	39 (%38,2)	45 (%70,3)	0,000
Mekanik ventilatör tedavisi	47 (%46,1)	51 (%79,7)	0,000
Mekanik ventilatör (gün)	9,63±11,13 (1-53)	28±36,43 (1-180)	0,006
NCPAP uygulaması	59 (%57,8)	52 (%81,2)	0,002
NCPAP (gün)	5,83±7,46 (1-37)	11,65±14,33(1-81)	0,005
Oksijen tedavisi	68 (%66,7)	62 (%96,9)	0,000
Oksijen desteği (gün)	17,76±19,00 (1-86)	44,24±49,14 (1-221)	0,001
BPD Yok Hafif Orta Ağır	89 (%87,3) 9 (%8,8) 3 (%2,9) 1 (%1)	29 (%50) 13 (%22,4) 3 (%5,2) 13 (%22,4)	0,000
Steroid kullanımı	13 (%12,7)	20 (%31,2)	0,004
Steroid kümülatif doz (mg)	1,41±0,60 (0,60-3,10)	2,12±1,19 (1,15-5,80)	0,052
PDA	23 (%22,5)	38 (%59,4)	0,000
Pulmoner hipertansiyon	2 (%2)	5 (%7,8)	0,068
Sepsis Yok Klinik Kanıtlanmış	41 (%40,2) 33 (%32,4) 28 (%27,5)	1 (%1,6) 28 (%43,8) 35 (%54,7)	0,000
Menenjit	2 (%2)	6 (%9,4)	0,030

Tablo 7. Kontrol ve NEK grubundaki bebeklerin yenidoğan dönemindeki komplikasyon ve hastalıkların özellikleri (Devam)

	Kontrol grubu (n=102)	NEK grubu (n=64)	P
İntraventriküler kanama			0,000
Yok	84 (%82,4)	38 (%59,4)	
Grade1	16 (%15,7)	11 (%17,2)	
Grade2	1 (%1)	1 (%1,6)	
Grade3	1 (%1)	6 (%9,4)	
Grade4	0 (%0)	6 (%9,4)	
SAK	0 (%0)	2 (%3,1)	
Hidrosefali	4 (%3,9)	11 (%17,2)	0,004
PVL	6 (%5,9)	11 (%18,6)	0,011
Konvülsiyon	6 (%5,9)	22 (%34,4)	0,000
ROP	15 (%14,7)	37 (%63,7)	0,000
Minimal enteral beslenme (gün)	4,45±5,59 (1-37)	21,94±12,93 (2-70)	0,000
Total enteral beslenme (gün)	17,56±12,26 (2-66)	48,57±23,42 (13-122)	0,000
Beslenme			0,203
Anne sütü	57 (%55,9)	38 (%64,4)	
Formula	13 (%12,7)	10 (%16,9)	
Anne sütü+Formula	32 (%31,4)	11 (%18,6)	
Hiperbilirubinemi	63 (%61,8)	57 (%89,1)	0,000
Göbek ven kateteri	53 (%52)	55 (%85,9)	0,000
Göbek arter kateteri	29 (%28,4)	44 (%68,8)	0,000
ERT transfüzyon uygulaması	62 (%60,8)	63 (%98,4)	0,000
ERT transfüzyon sayısı	1,96±2,46 (0-11)	8,7±6,03 (0-29)	0,000
GCSF kullanımı	5 (%4,9)	5 (%7,8)	0,443
Ölüm	1 (%1)	7 (%10,9)	0,004
Yatış süresi (gün)	31,90±21,03 (5-86)	71,86±48,56 (3-288)	0,081
NEK tanı aldığı gün		9,76±7,38 (2-38)	

NEK grubundaki bebeklerin NEK tanısı aldığı zaman ortalama $9,76 \pm 7,38$ gün (2-38 gün) idi. Klinik ve radyolojik bulgulara göre NEK tanısı konulduktan sonra Modifiye Bell kriterleri kullanılarak evrelendirildiğinde 64 bebeğin 6'sı (%9,4) evre 1A, 11'i (%17,2) evre 1B, 2'si (%3,1) evre 2A, 31'i (%48,4) evre 2B, 7'si (%10,9) evre 3A, 7'si (%10,9) evre 3B olarak değerlendirildi (Tablo 8).

Tablo 8. NEK grubunun Modifiye Bell kriterlerine göre evrelemesi

NEK evre	NEK grubu (n=64)
Evre 1A	6 (%9,4)
Evre 1B	11 (%17,2)
Evre 2A	2 (%3,1)
Evre 2B	31 (%48,4)
Evre 3A	7 (%10,9)
Evre 3B	7 (%10,9)

NEK grubundaki 64 bebeğin NEK klinik semptom ve bulgularına bakıldığında 46'sında (%71,9) abdominal distansiyon, 37'sinde (%57,8) safralı gastrik rezidü, 14'ünde (%21,9) apne, 11'inde (%17,2) mide içerikli rezidü, 11'inde (%17,2) barsak seslerinde azalma vardı (Tablo 9).

Tablo 9. NEK grubundaki NEK semptomları

NEK semptomları	NEK grubu (n=64)
Hipo-hipertermi	1 (%1,6)
Letarji	10 (%15,6)
Apne	14 (%21,9)
Bardikardi	3 (%4,7)
Gastrik rezidü	
Mide içerikli	11 (%17,2)
Safralı	37 (%57,8)
Kanamalı	6 (%9,4)
Kusma	6 (%9,4)
Abdominal distansiyon	46 (%71,9)
Septik şok	3 (%4,7)
Karın cildinde renk değişikliği	10 (%15,6)
Hipotansiyon	9 (%14,1)
Batında hassasiyet	0 (%0)
Barsak seslerinin azalması	11 (%17,2)
Sağ alt kadranda kitle	0 (%0)

NEK grubundaki 64 bebeğin NEK laboratuvar bulgularına bakıldığında 41'inde (%64,1) gaitada gizli kan pozitifliği (GGK), 37'sinde (%57,8) trombositopeni, 26'sında (%40,6) lökopeni-lökositoz, 11'inde (%17,2) metabolik asidoz, 7'sinde nötropeni vardı (Tablo 10).

Tablo 10. NEK grubundaki NEK laboratuvar bulguları

NEK laboratuvar bulguları	NEK grubu (n=64)
GGK pozitifliği	41 (%64,1)
Metabolik asidoz	11 (%17,2)
Lökositoz-lökopeni	26 (%40,6)
Trombositopeni	37 (%57,8)
Nötropeni	7 (%10,9)

NEK grubundaki 64 bebeğin NEK radyolojik bulgularına bakıldığında 19'unda (%29,8) dilate barsak ansları, 6'sında (%9,4) batında serbest hava, 5'inde (%7,8) pnömotozis intestinalis, 4'ünde (%6,3) gazsız abdomen, 2'sinde (%3,1) portal vende hava vardı (Tablo 11).

Tablo 11. NEK grubundaki NEK radyolojik bulguları

NEK radyolojik bulgular	NEK grubu (n=64)
Dilate barsak ansları	19 (%29,8)
Pnömotozis intestinalis	5 (%7,8)
Portal vende gaz	2 (%3,1)
Gazsız abdomen	4 (%6,3)
Batında serbest hava	6 (%9,4)

NEK nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan 9 hastanın barsak patoloji bulgularına bakıldığında 5'inde barsakta nekroz bulgularının 3'ünde barsak iskemi bulgularının ve 3'ünde barsak mukozasında hemorajik değişikliklerin olduğu görüldü (Tablo 12).

Tablo 12. NEK grubunda cerrahi tedavi uygulanların barsak patoloji bulguları

NEK barsak patoloji bulguları	NEK cerrahisi uygulanlar (n=9)
Nekroz	5
İskemi	3
Hemorajik değişiklikler	3
Konjesyon- ödem	1
Ülser	1
Perforasyon	2

Kontrol grubunda eNOS G894T genotipleri 50'sinde (%49) GG, 19'unda (%18,6) GT, 33'ünde (%32,4) TT idi. NEK grubunda eNOS G894T genotipleri 33'ünde (%51,6) GG, 13'ünde (%20,3) GT, 18'inde (%28,1) TT idi. Hem NEK hem de kontrol grubunda GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında eNOS G894T genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. eNOS'un gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 119 (%59,5), NEK grubunda 79 (%59,8) saptandı (OR, 0,994; %95 CI, 0,832-1,188) (p=0,949). T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 81 (%40,5), NEK grubunda 53 (%40,2) saptandı (OR, 1,009; %95 CI, 0,770-1,322) (p=0,950) (Tablo 13).

Tablo 13. eNOS G894T'nin genotipi ve alel dağılımı

eNOS G894T polimorfizmi	Kontrol grup (n=102) (%)	NEK grubu (n=64) (%)	Odds ratio, %95 CI	P
GG genotipi (vahşi tip)	50 (%49)	33 (%51,6)		0,845
GT genotipi (heterozigot tip)	19 (%18,6)	13 (%20,3)	1,037(0,451-2,380)	0,789
TT genotipi (variant tip)	33 (%32,4)	18 (%28,1)	0,826(0,401-1,703)	0,565
G aleli	119 (%59,5)	79 (%59,8)	0,994 (0,832-1,188)	0,949
T aleli	81 (%40,5)	53 (%40,2)	1,009 (0,770-1,322)	0,950

NEK grubunda NEK evresi ile eNOS G894T genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,716) (Tablo 14).

Tablo 14. eNOS G894T genotipi ve NEK evrelemesi

eNOS G894T polimorfizmi	Kontrol grup (n=102)	Evre 1 NEK (n=17)	Evre 2 NEK (n=33)	Evre 3 NEK (n=14)	P
GG genotipi (vahşi tip)	50 (%49)	8 (%47,1)	17 (%51,5)	8 (%57,1)	0,716
GT genotipi (heterozigot tip)	19 (%18,6)	3 (%17,6)	9 (%27,3)	1 (%7,1)	
TT genotipi (variant tip)	33 (%32,4)	6 (%35,3)	7 (%21,2)	5 (%35,7)	

NEK grubunda NEK tanısı aldığı gün ortalama 9,76 gündü. NEK tanısı aldığı gün ≤ 15 gün ve > 15 gün şeklinde ayrıldığında eNOS G894T genotip sıklığı ile NEK tanısı aldığı gün arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,925) (Tablo 15).

Tablo 15 . eNOS G894T genotipi ve NEK tanı zamanı

eNOS polimorfizmi	G894T	NEK tanı zamanı ≤ 15 gün (n=53)	NEK tanı zamanı >15 gün (n=13)	P
GG genotipi (vahşi tip)		28 (%52,8)	5 (%38,5)	0,925
GT genotipi (heterozigot tip)		10 (%18,9)	3 (%23,1)	0,892
TT genotipi (variant tip)		15 (n%28,3)	5 (%38,5)	0,710

Cinsiyet ile eNOS G894T genotipi arasında ilişkiye bakıldığında toplam grubun 81'i kız 85'i erkekti. Cinsiyet ile eNOS G894T genotipi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,560) (Tablo 16).

Tablo 16. eNOS G894T genotipi ve cinsiyet

eNOS polimorfizmi	G894T	Kontrol grup		NEK grup		P
		Kız (n=47)	Erkek (n=55)	Kız (n=34)	Erkek (n=30)	
GG genotipi (vahşi tip)		29 (%61,7)	23 (%43,9)	20 (%58,8)	11 (%34,7)	0,560
GT genotipi (heterozigot tip)		6 (%12,8)	13 (24,5)	6 (%17,6)	7 (%21,9)	
TT genotipi (variant tip)		12 (%25,5)	19 (%35,8)	8 (%23,5)	12 (%37,5)	

Kontrol grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 61'inde (%59,8) GG, 35'inde (%34,3) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. NEK grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 42'sinde (%65,6) GG, 18'inde (%28,1) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. Hem NEK hem de kontrol grubunda GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında iNOS 22 ekzon G/A genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. iNOS'un gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 154 (%77), NEK grubunda

105 (%79,5) saptandı (OR, 0,944; %95 CI, 0,771-1,155 (p=0,584). A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 46 (%23), NEK grubunda 27 (%20,5) saptandı (OR, 1,096; %95 CI, 0,785-1,530) (p=0,680) (Tablo 17).

Tablo 17. iNOS 22 ekzon G/A genotipi ve alel dağılımı

iNOS 22 ekzon G/A polimorfizmi	Kontrol grup (n=102) (%)	NEK grup (n=64) (%)	Odds ratio, %95 CI	P
GG genotipi (vahşi tip)	61 (%59,8)	42 (%65,6)		0,706
GA genotipi (heterozigot tip)	35 (%34,3)	18 (%28,1)	0,747 (0,374-1,491)	0,405
AA genotipi (variant tip)	6 (%5,9)	4 (%6,3)	0,968 (0,257-3,642)	0,923
G aleli	154 (%77)	105 (%79,5)	0,944 (0,771-1,155)	0,584
A aleli	46 (%23)	27 (%20,5)	1,096 (0,785-1,530)	0,680

NEK grubunda NEK evresi ile iNOS 22 ekzon G/A genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,290) (Tablo 18).

Tablo 18. iNOS 22 ekzon G/A SNP genotipi ve NEK evrelemesi

iNOS 22 ekzon G/A polimorfizmi	Kontrol grup (n=102)	Evre 1 NEK (n=17)	Evre 2 NEK (n=33)	Evre 3 NEK (n=14)	P
GG genotipi (vahşi tip)	61 (%59,8)	15 (%88,3)	20 (%60,6)	7 (%50)	0,290
GA genotipi (heterozigot tip)	35 (%34,3)	2 (%11,8)	11 (%33,3)	5 (%35,7)	
AA genotipi (variant tip)	6 (%5,9)	0 (%0)	2 (%6,1)	2 (%14,3)	

NEK tanısı aldığı gün ≤ 15 gün ve > 15 gün şeklinde ayrıldığında iNOS 22 ekzon G/A genotip sıklığı ile NEK tanısı aldığı gün arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,959$) (Tablo 19).

Tablo 19. iNOS 22 ekzon G/A genotipi ve NEK tanı zamanı

iNOS 22 ekzon G/A polimorfizmi	NEK tanı zamanı ≤ 15 gün (n=53)	NEK tanı zamanı >15 gün (n=13)	P
GG genotipi (vahşi tip)	35 (%66)	8 (%61,5)	0,959
GA genotipi (heterozigot tip)	15 (%28,3)	4 (%30,8)	0,457
AA genotipi (variant tip)	3 (%5,7)	1 (%7,7)	0,835

Cinsiyet ile iNOS 22 ekzon G/A genotipi arasında ilişkiye bakıldığında toplam grubun 81'i kız 85'i erkekti. Cinsiyet ile iNOS 22 ekzon G/A genotipi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,582$) (Tablo 20).

Tablo 20. iNOS 22 ekzon G/A genotipi ve cinsiyet

iNOS 22 ekzon G/A polimorfizmi	Kontrol grup		NEK grup		P
	Kız (n=47)	Erkek (n=55)	Kız (n=34)	Erkek (n=30)	
GG genotipi (vahşi tip)	29 (%61,7)	33 (%62,3)	23 (%67,9)	18 (%56,6)	0,582
GA genotipi (heterozigot tip)	15 (%31,9)	19 (35,8)	10 (%29,4)	9 (%28,1)	
AA genotipi (variant tip)	3 (%6,4)	3 (%5,7)	1 (%2,9)	3 (%9,4)	

Kontrol grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 42'sinde (%41,2) CC, 55'inde (%53,9) CT, 5'inde (%4,9) TT idi. NEK grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 27'sinde (%42,2) CC, 31'inde (%48,4) CT, 6'sında (%9,4) TT idi. Hem NEK hem de kontrol grubunda CT genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında nNOS 29 ekzon C/T genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. nNOS'un gruplara göre allel dağılımları; C allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 136 (%68), NEK grubunda 88 (%66,7) saptandı (OR, 1,025; %95 CI, 0,848-1,237) (p=0,800) . T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 64 (%32), NEK grubunda 44 (%33,3) saptandı (OR, 0,964; %95 CI, 0,729-1,276) (p=0,893) (Tablo 21).

Tablo 21. nNOS 29 ekzon C/T SNP genotipi ve alel dağılımı

nNOS 29 ekzon C/T polimorfizmi	Kontrol grup (n=102)	NEK grubu (n=64)	Odds ratio, %95 CI	P
CC genotipi (vahşi tip)	42 (%41,2)	27 (%42,2)		0,490
CT genotipi (heterozigot tip)	55 (%53,9)	31 (%48,4)	0,877 (0,456-1,686)	0,491
TT genotipi (variant tip)	5 (%4,9)	6 (%9,4)	1,867 (0,518-6,724)	0,259
C aleli	136 (%68)	88 (%66,7)	1,025 (0,848-1,237)	0,800
T aleli	64 (%32)	44 (%33,3)	0,964 (0,729-1,276)	0,893

NEK grubunda NEK evresi ile nNOS 29 ekzon C/T genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,107) (Tablo). nNOS 29 ekzon C/T'nin TT genotipi ile evre 1NEK arasında anlamlı ilişki bulundu (p=0,046) (Tablo 22).

Tablo 22. nNOS 29 ekzon C/T SNP genotipi ve NEK evrelemesi

nNOS 29 ekzon C/T polimorfizmi	Kontrol grup (n=102)	Evre 1 NEK (n=17)	Evre 2 NEK (n=33)	Evre 3 NEK (n=14)	P
CC genotipi (vahşi tip)	42 (%41,2)	7 (%41,2)	15 (%45,5)	5 (%35,7)	0,107
CT genotipi (heterozigot tip)	55 (%53,9)	6 (%35,3)	16 (%48,5)	9 (%64,3)	
TT genotipi (variant tip)	5 (%4,9)	4 (%23,5)	2 (%6,1)	0 (%0)	

NEK tanısı aldığı gün ≤ 15 gün ve > 15 gün şeklinde ayrıldığında nNOS 29 ekzon C/T SNP genotip sıklığı ile NEK tanısı aldığı gün arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,840$) (Tablo 23).

Tablo 23. nNOS 29 ekzon C/T genotipi ve NEK tanı zamanı

nNOS 29 ekzon C/T polimorfizmi	NEK tanı zamanı ≤ 15 gün (n=53)	NEK tanı zamanı >15 gün (n=13)	P
CC genotipi (vahşi tip)	23 (%43,4)	5 (%38,5)	0,840
CT genotipi (heterozigot tip)	25 (%47,2)	7 (%53,8)	0,589
TT genotipi (variant tip)	5 (%9,4)	1 (%7,7)	0,398

Cinsiyet ile nNOS 29 ekzon C/T genotipi arasında ilişkiye bakıldığında toplam grubun 81'i kız 85'i erkekti. Cinsiyet ile nNOS 29 ekzon C/T genotipi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,526$) (Tablo 24).

Tablo 24. nNOS 29 ekzon C/T genotipi ve cinsiyet

nNOS 29 ekzon C/T polimorfizmi	Kontrol grup		NEK grup		P
	Kız (n=47)	Erkek (n=55)	Kız (n=34)	Erkek (n=30)	
CC genotipi (vahşi tip)	21 (%42)	22 (%44,7)	14 (%41,2)	12 (%37,9)	0,526
CT genotipi (heterozigot tip)	24 (%51,1)	30 (56,6)	18 (%52,9)	14 (%43,8)	
TT genotipi (variant tip)	2 (%4,3)	3 (%5,7)	2 (%5,9)	4 (%12,5)	

Kontrol grubunda ET-1 G8002A genotipleri 67'sinde (%65,7) GG, 29'unda (%28,4) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. NEK grubunda ET-1 G8002A genotipleri 41'inde (%64,1) GG, 19'unda (%29,7) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. Hem NEK hem de kontrol grubunda GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında ET-1 G8002A genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. ET-1'in gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 160 (%80), NEK grubunda 104 (%78,8) saptandı (OR, 1,030; %95 CI, 0,826-1,286) ($p=0,789$) . A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 40 (%20), NEK grubunda 28 (%21,2) saptandı (OR, 0,957, %95 CI, 0,694-1,319) ($p=0,897$) (Tablo 25).

Tablo 25. ET-1 G8002A genotipi ve alel dağılımı

ET-1 G8002A polimorfizmi	Kontrol grup (n=102) (%)	NEK grubu (n=64) (%)	Odds ratio, %95 CI	P
GG genotipi (vahşi tip)	67 (%65,7)	41 (%64,1)		0,977
GA genotipi (heterozigot tip)	29 (%28,4)	19 (%29,7)	1,071 (0,533-2,149)	0,862
AA genotipi (variant tip)	6 (%5,9)	4 (%6,3)	1,089 (0,290-4,092)	0,923
G aleli	160 (%80)	104 (%78,8)	1,030 (0,826-1,286)	0,789
A aleli	40 (%20)	28 (%21,2)	0,957 (0,694-1,319)	0,897

NEK grubunda NEK evresi ile ET-1 G8002A genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,384) (Tablo 26).

Tablo 26. ET-1 G8002A genotipi ve NEK evrelemesi

ET-1 G8002A polimorfizmi	Kontrol grup (n=102)	Evre 1 NEK (n=17)	Evre 2 NEK (n=33)	Evre 3 NEK (n=14)	P
GG genotipi (vahşi tip)	67 (%65,7)	10 (%58,8)	22 (%66,7)	9 (%64,3)	0,384
GA genotipi (heterozigot tip)	29 (%28,4)	4 (%23,5)	11 (%33,3)	4 (%28,6)	
AA genotipi (variant tip)	6 (%5,9)	3 (%17,6)	0 (%0)	1 (%7,1)	

NEK tanısı aldığı gün ≤ 15 gün ve > 15 gün şeklinde ayrıldığında ET-1 G8002A genotip sıklığı ile NEK tanısı aldığı gün arasında anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,747$) (Tablo 27).

Tablo 27. ET-1 G8002A genotipi ve NEK tanı zamanı

ET-1 polimorfizmi	G8002A	NEK tanı zamanı ≤ 15 gün (n=53)	NEK tanı zamanı >15 gün (n=13)	P
GG genotipi (vahşi tip)		33 (%62,3)	9 (%69,2)	0,747
GA genotipi (heterozigot tip)		16 (%30,2)	4 (%30,8)	0,725
AA genotipi (variant tip)		4 (%7,5)	0 (%0)	0,672

Cinsiyet ile ET-1 G8002A genotipi arasında ilişkiye bakıldığında toplam grubun 81'i kız 85'i erkekti. Cinsiyet ile ET-1 G8002A genotipi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,540$) (Tablo 28).

Tablo 28. ET-1 G8002A genotipi ve cinsiyet

ET-1 polimorfizmi	G8002A	Kontrol grup		NEK grup		P
		Kız (n=47)	Erkek (n=55)	Kız (n=34)	Erkek (n=30)	
GG genotipi (vahşi tip)		35 (%74,5)	33 (%62,3)	22 (%64,7)	18 (%56,6)	0,540
GA genotipi (heterozigot tip)		9 (%19,1)	19 (35,8)	10 (%29,4)	10 (%31,3)	
AA genotipi (variant tip)		3 (%6,4)	3 (%5,7)	2 (%5,9)	2 (%6,3)	

TARTIŞMA

Nekrotizan Enterokolit (NEK), barsakların kısmi veya tam iskemisi ile karakterize, prematüre bebeklerin en acil gastrointestinal sistem hastalığıdır (1-4). NEK, klasik olarak prematüre ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin hastalığı olarak bilinir (42,43). NEK'li bebeklerin %90' ından fazlası 2000 gram, %48-58' i 1500 gramın altındadır (42,55). Vücut ağırlığı 1500 gramın altında olan bebeklerde NEK sıklığı daha yüksektir (%10-15) (56). NEK' li bebeklerin ortalama gestasyonel yaşları 30-32 hafta arasında değişir (42,55).Cinsiyet ile NEK arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (1). Çalışmamızda 64'ü NEK olan ve 102' si NEK olmayan 166 prematüre bebek alınmıştır. NEK'li olgular değerlendirildiğinde ortalama gestasyonel yaşı $28,04 \pm 2,38$ (22-32) hafta, ortalama doğum ağırlığının ise $1074,16 \pm 346,69$ (596-2250 gram) gram olduğu görülmektedir. NEK olmayan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında NEK'li gruptaki bebeklerin cinsiyet oranları benzerken gestasyonel yaş ve doğum ağırlığının NEK'li grupta anlamlı olarak daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). Gestasyonel yaş ve doğum ağırlığı büyüdükçe NEK görülme sıklığı azaldığından bu anlamlı fark da beklenen bir sonuçtu.

Anneye ait bazı risk faktörlerinin NEK gelişimini etkilediği gösterilmiştir. İdrar yolu enfeksiyonu, plasental anomaliler, kronik hipertansiyon veya eklampsi, preeklampsi varlığı prematüre doğumlarının artmasına ve buna bağlı NEK oranının da artmasına neden olmaktadır. Son çalışmalarda da annede preeklampsi varlığının preterm bebeklerde NEK gelişmesi için bir risk faktörü olabileceği de gösterilmiştir (421,423). Çalışmamızda anne yaşı her iki grupta da benzerdi. Ablasyo plasenta, plasenta previa, koryoamnionit, gestasyonel diyabet, diyabetes mellitus görülme sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Sadece preeklampsinin anlamlı olarak NEK olan grupta daha sık görüldüğü bulundu ($p=0,018$).

Antenatal doppler USG'nin anormal olması, özellikle intrauterin büyüme kısıtlılığı olan bebeklerde doğumdan sonra komplikasyonlara neden olmaktadır. Fetal hipoksi beyni korumak için artmış mezenterik vasküler direnç, doğum öncesinde intestinal hasara neden olmaktadır. Prenatal dönemde doppler akımı anormal olan bebeklerde doğumdan sonra superior mezenterik arter kan akımında anormallikler

devam eder ve bu durum erken dönemde NEK gelişimi için risk taşımaktadır (424). Bizim çalışmamızda NEK olan ve NEK olmayan grubun doppler ultrasonografik bulguları arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,602$).

Antenatal dönemde prematüre doğum riski olan annelerin bebeklerinde mortalite ve morbiditeyi azaltmak için uygulanan koruyucu önlemlerden en önemlisi antenatal steroid uygulamasıdır. Antenatal steroid kullanımının NEK gelişiminde koruyucu etkinliği kanıtlanmıştır (228,229). Çalışmamızda NEK olan hasta grubu ile NEK olmayan kontrol grubunda antenatal steroid kullanımının farklı olmadığı bulundu ($p=0,585$).

NEK gelişen term bebeklerde, genellikle konjenital kalp hastakları, solunum sistemi hastalıkları ya da hipoksik durumlar gibi predispozan faktörler vardır (63-66). NEK'in gelişmesine neden olan dolaşımsal durumlar; perinatal asfiksi (104,155,191), tekrarlayan apne, ciddi RDS nedeni ile oluşan hipoksi, hipotansiyon, konjenital kalp hastalığı, PDA, konjenital kalp hastalığı (192), umbilikal arter kateterizasyonu, anemi, polisitemi (192-194), ERT transfüzyonu (185,186,195) ve exchange transfüzyondur (196). Çalışmamızda her iki grupta da RDS ($p<0,001$), surfaktan uygulaması ($p<0,001$) ve mekanik ventilasyon süresi ($p=0,006$) anlamlı olarak NEK'li grupta daha fazla saptandı. Gestasyonel yaş ve doğum ağırlığı ortalaması daha düşük olan NEK'li grupta surfaktan uygulaması ve mekanik ventilasyon süresinin fazla olması beklenen bir sonuçtur. Ayrıca NEK'li grupta PDA ($p<0,001$), BPD ($p<0,001$), ROP ($p<0,001$), İVK ($p<0,001$), PVL ($p=0,011$), hidrosefali ($p=0,004$) ve konvülsiyon ($p<0,001$) anlamlı olarak daha sıktır. Dolaşım bozukluğu ve hipoksiye neden olan bu durumlarda NEK'in sık görülmesi de beklenen bir sonuçtur.

NEK'te hipoksi reperfüzyon sonucu gelişen gastrointestinal doku hasarı bakteri invazyonuna zemin hazırlamaktadır. Bu nedenle NEK'li hastaların % 10-30'unda kan kültüründe üreme rapor edilmiştir (1,2). Çalışmamızda NEK grubunda sepsis 35 olguda (%54,7) saptandı, sepsis, NEK'li grupta anlamlı olarak daha fazlaydı ($p<0,001$).

Yaşamının ilk haftasından sonra yapılan kan transfüzyonunun, artmış NEK riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (184). Çalışmamızda eritrosit transfüzyonu sayısı

da NEK olan grupta anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0,001$). Ayrıca umblikal arter ($p<0,001$) ve ven ($p<0,001$) kateterizasyonu da NEK'li grupta anlamlı olarak daha fazla saptanmıştır.

Enteral beslenme, NEK patogenezine katkıda bulunabilir; çünkü anne sütü ve formülalar barsakta bakteriyel proliferasyon için bir substrat oluşturur. Yenidoğanlarda özellikle de prematüre bebeklerde, tam bir sindirim ve emilim olamamaktadır. Tam sindirilmemiş karbonhidrat, lipid bakteriler tarafından fermente edilir ve bu da mukozal hasara neden olur (171). Anne sütü, formula ile karşılaştırıldığında prematüre bebeklerde NEK'e karşı koruyuculuğu daha fazladır. Anne sütü, prematüre bebeklerde NEK riskini azaltmaktadır ve bu hala tartışılmaktadır (143). Çalışmamızda NEK olan hasta grup ile NEK olmayan hasta grup arasında anne sütü veya formula ile beslenme arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,203$).

NEK, enteral beslenme ile ilişkili olmasına rağmen bu kesin değildir; ancak beslenme ile ilişkili faktörler, NEK gelişmesinde önemlidir. 2011 derlemesinde beslenmenin yavaş arttırılması ile azalmış NEK riski arasında ilişki bulunmamıştır. Beslenmenin yavaş arttırılması, total enteral beslenmeye geçişte geçikme ile ilişkili bulunmuştur (172). Enteral beslenmeye başlamada geçikme, azalmış NEK riski ile ilişkili bulunmamıştır. Total enteral beslenmeye başlamada daha uzun bir süre ile ilişkili olduğu bulunmuştur (173). Minimal enteral beslenmenin NEK insidansında artışı neden olmadığı gösterilmiştir(174-176). Bizim çalışmamızda da hem minimal enteral beslenmeye başlanma zamanı hem de total enteral beslenmeye ulaşma zamanı NEK'li grupta anlamlı olarak daha geç olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$).

NEK'in başlangıç zamanı bir gün ile 3 aya arasında değişmekte olup, sıklıkla ikinci haftada gözlenmektedir. Stool ve arkadaşlarının çalışmasında başlangıç zamanı 30 hafta ve daha küçük bebeklerde ortalama 20,2 gün, 31-33 haftada 13,8 gün olarak saptanmıştır (1,425). Bizim olgularımızda da NEK tanısı ortalama 9,7. günde konmuştur. NEK tanısı, klinik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak konur. Özgül gastrointestinal semptomların varlığında, direkt karın grafisinde pnömotozis intestinalisin görülmesi NEK tanısını koydurur (413,414). Bell ve arkadaşları ilk defa

1978 yılında NEK' in klinik bulgularını evrelemişlerdir (39). Daha sonra Walsh ve Kliegman tarafından radyolojik bulgular da eklenerek evreleme modifiye edilmiştir. Bu evreleme sistemi, NEK' in ilerlemesini ve ağırlığını belirlemek, ayrıca tedaviyi yönlendirmek açısından yararlıdır (39,40,46). NEK'li olguların %13'ü evre 1' de olup, bulgular büyük oranda düzelir. Olguların %25-40'ında NEK ilerler ve hızla evre 3'e geçer (39,134). Karındaki distansiyon, barsaklardaki genişleme ve asite bağlı olarak gelişir (396). Çalışmamızda olgular Bell kriterlerine göre tanı konularak evrelendirilmişlerdir. Olguların 17'si evre 1,33'ü evre 2 ve 14'ünde evre 3 NEK olarak değerlendirildi. Olgulardaki en sık semptom karında distansiyon (%71,9) olurken bunu safralı gastrik rezidü (%57,8) ve apne (%21,9) takip etmiştir. Laboratuvar bulguları değerlendirildiğinde en sık gaitada gizli kan pozitifliği (%64,1), trombositopeni (%57,8) ve lökopeni-lökositoz (%40,6) saptandı. Radyolojik olarak değerlendirildiklerinde en sık dilate barsak ansı görüldü (%29,8). Olguların sadece %7.8'inde pnömosiz intestinalis görüldü.

NEK' te kesin cerrahi endikasyon barsak perforasyonu ve nekrozudur. Cerrahi tedaviye bebeklerin yaklaşık %25-50' sinde ihtiyaç duyulur (55,416). Bizim olgularımızdan %14'ünde cerrahi tedaviye ihtiyaç duyuldu. Bariyer yetersizliği ve barsak doku nekrozu, NEK' in önemli bulgularındandır (281,282). NEK nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan 9 hastanın barsak patoloji bulgularına bakıldığında 5'inde barsakta nekroz bulgularının 3'ünde barsak iskemi bulgularının ve 3'ünde barsak mukozasında hemorajik değişikliklerin olduğu görüldü.

NEK özellikle premature bebeklerde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Bunda da NEK' in patogenezesinin tam olarak ortaya konulamaması etkilidir. NEK' in patofizyolojisinin ortaya konulabilmesi için pek çok çalışma yapılmış; ancak kesin bir sonuca ulaşılamamıştır (9-11). Son çalışmalarda genetik polimorfizmin, NEK ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

NEK sıklıkla prematüre bebeklerin hastalığı olmasına rağmen, bu hastalık bu popülasyonun sadece bir kısmını etkilemektedir. Bunda da genetik polimorfizmin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Genetik polimorfizm sonucunda üretilen proteinin miktarı ve kalitesi değişebilir (28).

Sitokin kodlayan genlerin fonksiyon polimorfizmi (TNF alfa, IL1 beta, IL4 alfa reseptör zinciri, IL6, IL10, IL18) düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK riskini ve komplikasyonlarını etkileyebilir (297-303). Başka bir çalışmada ise NEK olan ile olmayanlar arasında TNF alfa, IL1 beta, IL6, IL10 mutant genleri arasında fark bulunamamıştır (304,305). Weitkamp ve arkadaşlarının çalışmasında da çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde benzer şekilde TNF alfa, IL1 beta, IL6, IL10'da minimal genetik değişiklikler bulunmuştur (306). Başka bir çalışmada TNF alfa promotor bölgesindeki A 308 ve A 238 pozisyonundaki guaninin adenine dönüşüm polimorfizminin sıklığı, NEK ve kontrol grubunda aynı oranda bulunmuştur (304).

Yapılan bir çalışmada IL18 genotipi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır; ancak IL18 607 AA genotipinin sıklığı, evre 3 NEK olanlarda evre 1 ve 2 NEK olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (307). IL18, insan immün sistem defansında önemli rolü vardır. A607 polimorfizmi, IL18 mRNA üretimini değiştirebilmektedir (303).

IL4' ün, yenidoğan barsak immunolojisinde santral rolü vardır (308). NEK olan yenidoğanlarda IL4 reseptör alfa genin mutant varyantının sıklığı daha azdır; bu da çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerde NEK gelişmesine karşı koruyucu olabilir (305). IL4 reseptör alfa genindeki değişiklik, IL4 düzeyini etkilemez; fakat bunun varlığı artmış IL4 sinyal transduksiyonu ile ilişkilidir. Artmış IL4 transdüksiyonu, TH2 hücre sayısını artırır ve NEK'e karşı koruyucudur. IL4 reseptör alfa vahşi tipi alelli homozigot taşıyanlarda (IL4 reseptör alfa AA 1902), NEK gelişme riski yüksektir (28,310).

Doğal immün sistemde rol oynayan en önemli sitokinler olan IL12 ve INF gamma gen polimorfizmi ile perinatal komplikasyonlar arasında yapılmış bir çalışmada IL12 CTCTAA alleli heterozigot taşıyanlarda NEK riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (311).

TNF alfa parenteral olarak sıçanlara uygulandığında, TNF alfa gastrointestinal sistemde nekroza neden olmaktadır (426). TNF alfa'nın enfeksiyon boyunca değeri yüksektir (427). TNF alfanın genetik polimorfizmi, TNF alfa üretimini etkiler. TNF alfanın birçok tek nükleotid gen polimorfizmi tanımlanmıştır. TNF alfanın promotor bölgesinin 308 pozisyonundaki guaninin adenine dönüşümü, artmış TNF alfa üretimi

ile ilişkilidir (297). Bu çalışmada hem 238, hem de 308 pozisyonundaki guaninin adenine dönüşümünün varlığının, NEK gelişiminde etkili olmadığı bulunmuştur. Aynı zamanda bu allelerin varlığı NEK komplikasyonunlarını da etkilememektedir. Bu çalışmada da TNF alfa promotor bölgesindeki A 308 ve A238 pozisyonundaki guaninin adenine dönüşümü sıklığı, NEK ve kontrol grubunda aynı bulunmuştur (304).

Henderson ve arkadaşlarının çalışmada 50 kontrol ve 50 hasta-NEK grubunda 10 tek gen nükleotid polimorfizmi çalışılmıştır. Bu gen polimorfizmleri: TNF -238 (G/A), TNF-308 (G/A), IL1 beta-31 (T/C), IL1beta-511 (C/T), IL4 reseptör alfa +1902 (G/A), IL6 -174 (G/C), IL8-251 (T/A), IL10-1082 (G/A), IL18-137 (G/C), IL18-607 (C/A)'dir. Kontrol ve hasta grubu arasında varyant sıklığı açısından fark bulunmamıştır. Evre 2 ve evre 3 NEK olguları arasında da fark saptanmamıştır (428).

Bir metanaliz çalışmasında TNF(-308A), TNF(-238A), IL6(-174C), IL10(-1082A) heterojenitesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (304,429-432). Başka bir çalışmada da, IL4 reseptörü (+1902G), NEK grubunda anlamlı olarak daha az bulunmuştur (305). Başka bir çalışmada ise IL18 (-607A), evre 3 NEK olgularında anlamlı yüksek bulunmuştur (307).

Kordon kanında yüksek IL6 seviyesi olan bebeklerde sepsis, konjenital pnömoni, BPD ve NEK gelişme riski yüksektir. IL6 promotor bölgesinde -174 GG ve -572 GC polimorfizminin IL6 ekspresyonunda rol oynadığı bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada IL6-174 GG genotipi ve IL6-572 GC genotipi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır (433).

Vasküler endotelial growth faktör (VEGF), NEK gibi birçok perinatal komplikasyonda rolü olan güçlü vasküler geçirgenliği olan anjiogenik bir faktördür. Apoptozis, prostosiklin-NO sentezi gibi birçok endotelial hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rolü vardır. Bir çalışmada VEGF C-2578A alellini taşıyanlarda daha fazla NEK geliştiği bulunmuştur. VEGF G+405 C ve VEGF C-2578A polimorfizm ile VEGF sentezinin düzenlenmesi arasında ilişki bulunmuştur. VEGF C-2578A mutant alellini taşıyanlarda daha az VEGF sentezlendiği ve bu da NEK olasılığını arttırabileceği gösterilmiştir (312).

Son alışmalarda TLR'lerin, NEK gelişmesinde rol oynayan enterik bakterilere karşı sinyal yolağında görev aldığı gösterilmiştir (268,313). TLR yolundaki genetik varyantları prematüre bebeklerde NEK'e duyarlılığı değıştirebilmektedir. NFKB1 (G.-24519DEL1ATTG) ve NFKB1A (g.-1004A>G) varyantları, NEK ile ilişkili bulunmuştur (314). NFKB1(g.-24519delATTG), NEK gelişimi için gereklidir. NFKB1A (g.-1004A>G) NEK'e karşı koruyucudur. Nükleer faktör kappa B, ana transkripsiyon faktörüdür ve inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu, hücre farklılaşması ve yaşamını düzenleyen genlerin ekspresyonunu düzenler (434).

Platelet aktivite edici faktör (PAF),NEK patogeneğinde önemli rol oynayan inflamatuvar mediyatördür. PAF'ın metabolizmasında anahtar enzim PAF-asetilhidrolaz (PAFAH)'dır. Yenidoğın bebeklerde, erişkinlere göre PAFAH aktivitesi düşüktür. NEK'te PAF'ın arttığı ve PAFAH ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. PAFAH Ile198Thr ve Ala379Val gen polimorfizmi ile NEK arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (177,231,435).

Yapılan bir çalışmada TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, IRAK1, TIRAP genlerindeki tek gen nükleotid polimorfizmi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır (314). Szebeni ve arkadaşları da, TLR4 ve Kaspaz zincir 15 tek gen nükleotid gen polimorfizmi ile NEK arasında ilişki bulamamışlardır (321).

Heninger ve arkadaşlarının çalışmasında IL8 promotor varyantı (g.-607C>A) ile evre 3 NEK arasında ilişkili olduğu saptanmıştır (307). Treszl ve arkadaşları ise IL4 reseptör alfa zincir varyantının, NEK gelişmeyen bebeklerde daha sık olduğunu bulmuşlardır (2). Henderson ve arkadaşlarının çalışmasında TNF alfa, IL10, IL18, IL4 reseptör, IL6, IL8 gen polimorfizmi ile NEK arasında ilişki bulunmamıştır (428).Hayvan çalışmalarında bakteriyel LPS'lerin NEK gelişimindeki önemi gösterilmiştir. Ewer ve arkadaşları, yenidoğın domuzlara parenteral LPS uygulamasından sonra NEK'de görülen hemorajik barsak lezyonlarının oluştuğunu göstermişlerdir (436). Caplan ve arkadaşları sıçanlarda LPS ve hipoksinin sinerjistik etkisi ile barsak hipoperfüzyonu ve nekrozu gibi değışiklikler olduğunu saptamışlardır (437). Bakteriyel LPS, peptidoglikanlar gibi antijenleri tanıyan reseptörler vardır. Bu reseptörler, CD14, TLR 4, Kaspaz zincir 15'dir (315-317). Bu reseptörlerin aktivasyonu ile nükleer kapa yolu ile inflamatuvar sitokinlerin üretimini tetiklenir (318-

320). Yapılan bir çalışmada CD14 C-260T, TLR4 A+896G, TLR4 C+41196T ve Kaspaz 15 G+2722C, Kaspaz 15 C+2104T, Kaspaz 15 3020ins C tek gen nükleotid polimorfizm sıklığı ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır. Aynı zamanda NEK'in şiddeti ile de ilişki bulunmamıştır (321).

MBL, TLR gibi doğal immün sistemde önemli rol oynar. Doğal immün sistemde bir reseptördür, patojenlere bağlanır, opsonize eder ve komplemanın leptin yolunu aktive eder. Böylece mikrobiyal invazyona karşı hızlı bir koruma sağlar (438). TLR ve MBL, doğal immün sistemde rol oynayan tanımlayıcı reseptörlerdir (438). MBL, MBL ilişkili serin proteazlarla birlikte kompleman sisteminin lektin yolağını başlatır. MBL, tanımlayıcı reseptör yolağının düzenlenmesi, inflamatuvar sitokin üretimi, TLR 2/6 koreseptör rolünde santral rolü vardır (439,440).

MBL-2 genin 3 tek nükleotid gen polimorfizmi (ekzon 1'de kodon 52, 54 ve 57), fonksiyonel MBL seviyesinin azalmasına neden olur. Promotor bölgesindeki -221X/Y, MBL-2 protein ekspresyonunu azaltır, -221 Y varyantı ise yüksek MBL seviyesi ile ilişkilidir (441). Mannoza bağlayan lektin (MBL) gen polimorfizmi (ekzon 1'deki 52, 54, 57 kodonlarda ve -221 promotor bölgesini içeren 4 tek nükleotid gen polimorfizmi) ile NEK arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çalışmada ciddi NEK olan hastalarda, kontrol grubuna göre MBL-2 genin promotor -221 Y alellinin sıklığı daha fazla bulunmuştur (29). Ciddi NEK olan yenidoğanların MBL-2 YY genotipini taşıma olasılığı daha yüksek bulunmuştur. Tam tersi ekzon 1 polimorfizminin allel sıklığı hem NEK hem de kontrol grubunda benzer bulunmuştur (29). Başka bir çalışmada da MBL-2 geninde kodon 54 ve 57 polimorfizmi ile NEK arasında ilişki bulunamamıştır (442).

NO, L-arjininin, L-sitrüline dönüşümü sağlayan NOS enzimi ile oluşur. NOS substratı olan, L-arjinin, genç memeliler için esansiyel bir aminoasittir (325,326). Metabolik ve moleküler çalışmalar göstermektedir ki prematüre yenidoğanlarda barsak arjinin sentezinin az gelişmiş olması nedeniyle plazma arjinin düzeyi düşüktür (325,326). Birçok çalışmada NEK'li prematüre bebeklerde plazma arjinin düzeyi daha da düşüktür (260,261,264,275,326). Randomize kontrollü bir çalışmada arjinin uygulamasının NEK sıklığını azalttığı gösterilmiştir (275). Arjinin oluşumu ilk olarak mitokondri içinde karbomoil fosfat sentetaz 1 enzimi ile oluşur. Önceki çalışmalarda CPS geninde T1405N olarak tanımlanan tek nükleotid polimorfizmi ile yenidoğan

pulmoner hipertansiyonu, konjenital kalp hastalığının cerrahi tedavisini takiben artmış pulmoner arter basıncı ve kemik iliği transplantasyonu sonrası oluşan hepatovenooklusiv hastalık arasında önemli bir ilişkisinin olduğu bulunmuştur (327-329). Başka bir çalışmada CPS1 Thr1405 varyantını (CC T1405N genotipi) homozigot taşıyanlarla artmış NEK riski arasında ilişki bulunmuştur. Düşük L-arjinin düzeyi ve T1405N CPS1 polimorfizmi ile NEK gelişimi arasında ilişki bulunmaktadır (327). Başka bir çalışmada NEK'li prematüre bebeklerde düşük ADMA düzeyi ve L-arjinin/ADMA düzeyi saptanmıştır ve bu da CPS-1 genotipi ile ilişkili bulunmamıştır (330). Başka bir çalışmada da CPS1 T1405N polimorfizminin C allelin sıklığı NEK'lilerde %82,4, preterm kontrol grubunda %58,8 ($p=0,018$) olarak bulunmuştur. Bu da CPS1 T1405N polimorfizmi ile NEK gelişme riski arasında ilişki olabileceğini göstermektedir (262).

NEK ile IL1, IL4 reseptör, IL6, IL8, IL10, IL18, IL12 gibi sitokinler, TNF alfa, TLR ve MBL, VEGF, CPS-1, CD14 gibi mediyatörlerin gen polimorfizmleri araştırılmıştır (28,29); ancak literatürde NEK patogenezinde önemli rolleri olan NOS ve ET-1 gen polimorfizmleri ile NEK arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Endotelin gen polimorfizmleri kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyonda araştırılmıştır. Aynı zamanda vitiligo (338), psöriazis (339), skleroderma (340), primer reynould hastalığı (341) gibi diğer otoimmün hastalıkla ilgili de yayınlar bulunmaktadır. Yenidoğanın önemli gastrointestinal hastalığı olan NEK'in patogenezinde ET-1'in rolü bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada NEK'li olgularda anlamlı olarak ET-1 düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Ne yazık ki ET-1 gen polimorfizmi ile NEK arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. ET-1 gen polimorfizmi ve buna bağlı endotelin yapısındaki değişiklikler ve anormalliklerin NEK patogenezinin başlangıcında önemli olabileceği düşüncesiyle çalışmamızda ET-1 gen polimorfizmi çalışılmıştır.

ET-1 geni, tek gen nükleotid polimorfizmlerini yaygın olarak içerir. ET-1 rs5370 polimorfizmi en önemli tek nükleotid polimorfimlerden biridir ve kan basıncı ile ilişkilidir. (335-337). ET-1 198 kodonundaki lizin/asparjin aminoasit yer değişimi (rs5370) polimorfizmi, yüksek kan basıncı ile ilişki bulunmuştur. Pare ve arkadaşları,

koroner arter hastalığı ile ilişkili ET-1 gen polimorfizmini de içine alan 103 aday gen saptamışlardır (343). Başka bir çalışmada da tip 2 diyabetik hastalarda endotel disfonksiyonu nedeniyle gelişen mikrovasküler komplikasyonlardan diyabetik retinopati ile ET-1 Lys198Asp polimorfizmi arasında ilişki olduğu ve bu polimorfizmi taşıyan diyabetik hastalarda daha az diyabetik retinopati görüldüğü saptanmıştır. Aynı zamanda ET-1 8002 T allelini taşıyan diyabetik hastalarda mikrovasküler komplikasyon gelişme riskinin olduğu gösterilmiştir (347). Birçok çalışmada preeklampside plazmadaki ET-1 seviyesinin arttığı gösterilmiştir (443-446). Yapılan bir çalışmada ET-1'in 5665 pozisyonundaki T alleli varlığı, preeklamsi için risk faktörü olduğu ve bununla ET-1'in aşırı yapımı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (342).

Hipertansiyon ile EndothelinCA/CT dinükleotid tekrarı polimorfizmi, G(8002)A polimorfizmi ve -3A/-4A (-138 insersiyon/delesyon) polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda da anlamlı ilişki saptanmıştır (336).

ET-1 G8002A gen polimorfizmi özellikle mikrovasküler komplikasyonlar nedeniyle oluşan vasküler endotel hasarı sonucunda oluşan diyabetik retinopati gibi hastalıklarda çalışılmıştır. NEK'in patogenezinde barsak mikrodolaşımındaki bozukluk ve bunun sonucunda oluşan mukozal hasar yer almaktadır. NEK ve diyabetik retinopati patogenezindeki ET-1'in benzer rolü nedeniyle ET-1 gen G8002A polimorfizminin çalışılmıştır.

Bizim çalışmamızda ET-1 G8002A geni GG genotipi (vahşi tip), NEK grubunda %64,1, kontrol grubunda %65,7, GA genotipi (heterozigot tip) NEK grubunda %29,7, kontrol grubunda %28,4, AA genotipi (variant tip) NEK grubunda %6,3, kontrol grubunda %5,9 oranında bulundu. NEK grubu ile kontrol grubu arasında ET-1 G8002A gen polimorfizminin GG, GA, AA genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla $p=0,977$, $0,862$, $0,923$). Her iki grupta ET-1 G8002A gen polimorfizminin GG genotipi en fazla oranda bulundu. ET-1 G8002A gen polimorfizmi, NEK gelişimi için risk oluşturmamaktadır.

ET-1'in gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 160 (%80), NEK grubunda 104 (%78,8) saptandı (OR, 1,030; %95 CI, 0,826-1,286) ($p=0,789$). A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 40 (%20), NEK grubunda 28 (%21,2)

saptandı (OR, 0,957, %95 CI, 0,694-1,319). ET-1 G8002A gen polimorfizminde A veya T alel taşıyıcılığının NEK için risk oluşturmadiğı saptandı (p=0,897).

NEK evresi, NEK başlangıç zamanı ile ET-1 G8002A genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla p=0,384, p=0,747). Cinsiyet ile ET-1 G8002A genotip sıklığı ile de anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,540).

Türkiye'de erişkin hastalarda yapılan bir çalışmada sağlıklı Türk toplumunda ET-1 G8002A gen polimorfizmi genotip sıklığının (GG genotipi %56,3, GA genotipi %40,6, AA genotipi %3,1, G alel taşıyıcılığı %76,5, A alel taşıyıcılığı %23,4) çalışmamızdaki kontrol grubu ile benzer oranlarda olduğu görüldü (447).

NEK patogenezinde önemli rolü olan diğer mediyatör NO'dur. NO, NOS enzimi ile sentezlenmektedir. NOS'un üç izoformu vardır: eNOS, iNOS ve nNOS'tur. Bu enzimler farklı genlerde kodlanır. Bunlardan eNOS düşük seviyelerde eksprese edilir (248). Normal durumlarda eNOS yüksek konsantrasyonda NO üretmediğı için NO'nun toksisitesi azdır (17). eNOS tarafından üretilen düşük doz NO ise barsak homestazı için gereklidir (283). Düşük eNOS yoğunluğu, barsağın hipoksiye duyarlılığını arttırarak, NEK gelişme riskini arttırır (448). NEK'li hastalarda eNOS fonksiyonunun bozuk olduğu ve bunun sonucunda da arteriollerde NO üretiminin azaldığı saptanmıştır (23). Efektif NO üretimi için gerekli olan eNOS yetersizliği, eNOS polimorfizmi ile oluşabilmektedir (257,258).

Değişik inflamatuvar hastalıklarda eNOS'un rolü araştırılmıştır. Wegener glomerulonefriti, kresentik glomerulonefrit gibi ciddi glomerulonefritlerde eNOS ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (449,450). Tam tersi bazı çalışmalarda ise inflamatuvar barsak hastalığı olan hastaların damarlarında eNOS ekspresyon düzeyi normal bulunmuştur (451).

Yapılan çalışmalar eNOS genindeki çeşitli polimorfizmlerin NO oluşumunu etkileyebildiğini göstermiştir (350-352). Klinik ile ilişkili olarak üç farklı eNOS polimorfizmi geniş bir şekilde çalışılmıştır. Çalışılmış olan en sık eNOS polimorfizmleri; promotor bölgedeki (T786C, rs2070744) tek nükleotid polimorfizmi, ekzon 7'deki (Glu298Asp, rs1799983) bir tek nükleotid polimorfizmi ve intron 4' deki

değişik sayıdaki tandem tekrar (Variable Number Tandem Repeats, VNTR) (353) bölgeleri, rs3918226 ve rs743506' gibi tek nükleotid polimorfizmlerdir. eNOS gen polimorfizmlerinde normal fonksiyonel bir enzim oluşsa da polimorfizmler transkripsiyon ve işlev hızlarında değişime sebep olabilirler (355,356). İntron 13'deki polimorfizm olan bireylerde artmış koroner arter hastalığı riski olduğu, intron 4'de polimorfizmi olan bireylerde ise artmış diyabetik nefropati riski olduğu saptanmıştır (355,356). eNOS geninin promotor bölgesinde Thr786Cys, Ala922Gly ve Thr1468Ala şeklinde 3 tek nükleotid değişimi saptanmıştır. Bu polimorfizmlerin, transkripsiyonu ve dolayısıyla enzim seviyelerini değiştirebildiği gösterilmiştir. Thr786Cys polimorfizmi miyokard enfarktüsü ve diyabet ile ilişkili bulunmuştur (356,357). eNOS promotor bölgesindeki rs1799983 (-894 G/T) ve intron 4'deki 27 –bp tandem tekrarı, 4a4b polimorfizmleri değişik seviyedeki plazma NO'su ile ilişkilidir. -786 T>C (rs2070744) C allelinin polimorfizmi, NOS aktivitesinde anlamlı azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (452-454). Özellikle eNOS 894T allelinin proteolitik bölünmeye (cleavage), eNOS 894G allelinden daha hassas olduğu ve bununda eNOS geninin transkripsiyon aktivitesinin azalması ile ilişkili olduğu ve sonucunda da daha az NO üretimi olduğu bulunmuştur (454,455). Bunun sonucunda bölünmüş parçalar, NOS aktivitesinin eksikliğine neden olabilir ve 894T varyant alleli taşıyan hastalarda eNOS enzim düzeyi daha düşük olabilir (454-456). Bununla ilgili bir çalışmada astım ve sağlıklı çocuklarda eNOS G894T genotip sıklığı benzer bulunmuştur (456).

Ekzon 7'deki eNOS geninin G894T, rs1799983 tek gen polimorfizmi, proteinin 298. pozisyonunda glutaminin aspartata dönüşümüne neden olmakta ve eNOS miktarını etkilemektedir (354). Bazı çalışmalarda, bu polimorfizmin hipertansiyon, koroner arter hastalığı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (361,362). Başka bir çalışmada da eNOS 894 G>T polimorfizmi ile konjenital kalp hastalığı arasında ilişki olduğu bulunmuştur (363). eNOS ekzon 7'nin G894T gen polimorfizmi ile kardiyovasküler hastalıklar, meme kanseri, erektil disfonksiyon, hipertansiyon, Behçet hastalığı, iskemik serebrovasküler hastalıklar ve preeklamsi ile ilgili yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (258).

eNOS genindeki G894T tek nükleotid polimorfizmi, birçok kardiyovasküler ve inflamatuvar hastalıklarda çalışılmış en yaygın eNOS gen polimorfizmlerinden biridir.

eNOS G894T gen polimorfizmi eNOS aktivitesini ve miktarını ve buna bağlı NO düzeyini değiştirebilmektedir. NEK'in gelişiminde eNOS fonksiyon bozukluğu veya yetersizliğinin rol oynadığının bilinmesi nedeniyle çalışmamızda eNOS G894T gen polimorfizmi çalışılmıştır.

Prematüre bebeklerde, prematüre retinopatisi, respiratuar distres sendromu ve intraventriküler kanama ile eNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar bulunmaktadır (30-33). Prematüre retinopatisinde prematüre bebeklerde eNOS genindeki tek nükleotid polimorfizmi olan T-786C ve G894T alleleri çalışılmış ve bu iki mutant alleli taşıyan bebeklerde retinopati riskinin yüksek olduğu bulunmuştur (33). Başka bir çalışmada eNOS 27-BP tekrarlayan polimorfizmini ile prematüre retinopati arasında anlamlı ilişki saptanmışken eNOST-786C gen polimorfizmi ile prematüre retinopatisi arasında ilişki bulunmamıştır (30). Başka bir çalışmada da eNOS Glu298Asp ve T-786C gen polimorfizmi ile respiratuar distress sendromu gelişme riski arasında fark saptanmamıştır (31). Oysa başka bir çalışmada eNOS T-786C gen polimorfizmi olan bebeklerde respiratuar problemler ve intraventriküler kanama riskinin iki kat daha fazla olabileceği saptanmıştır (32). Prematüre ve term hipoksik iskemik ensefalopati (HİE) olan bebeklerde eNOS gen ilişkisini araştıran çalışmada eNOS tek gen nükleotidi rs1808593 genotipi, rs1800783 (-1474T/A) genotipi ve rs1800779 (-922 G>A)TG haplotipi ile HİE arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. rs1800783 ve rs1800779, eNOS genin promotor bölgesinin üst kısmında lokalizedir ve mRNA transkripsiyonunu etkilemekte ve gen ekspresyonunu azaltabilmektedir ve bu da NO'nin bozulmuş üretimine ve azalmış biyoyararlanımına neden olmaktadır (457,458). Prematüre bebeklerde serebral palsy ile eNOS-922A(rs1800779) polimorfizmi arasındaki ilişkiyi gösteren iki çalışma vardır (366,367). İlk çalışmada eNOS A-922G heterozigot AG ve homozigot GG genotipinin, serebral palsili çocuklarda daha sık olduğu bulunmuştur. Aynı zamanda eNOS rs1799983(-894 G/T veya Glu298Asp) polimorfizmi ile serebral palsy arasında ilişki gösterilmiştir (366). İkinci çalışmada eNOS A-922G(rs1800779) polimorfizmi ile serebral palsili preterm bebekler arasında ilişki bulunmuşken, rs1799983(-894 G/T veya Glu298Asp) polimorfizmi ile ilişki bulunmamıştır (367,368).

Prematüre bebeklerde eNOS G894T gen polimorfizmi ile prematüre retinopatisi, respiratuar distress sendromu ve serebral palsy ile ilgili çalışmalar olmakla birlikte prematüre bebeklerin en acil gastrointestinal hastalığı olan NEK ile ilişkisini araştıran çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmamızda eNOS geninin en yaygın gen varyantı olan eNOS G894T gen polimorfizmi ile NEK arasındaki ilişki araştırıldı. NEK olan hasta grubu ile NEK olmayan kontrol grubu arasında eNOS G894T gen polimorfizmi sıklığı arasında anlamlı farklılık saptanmadı.

Bizim çalışmamızda da eNOS G894T gen polimorfizminin genotip dağılımında NEK grubunda GG genotipi (vahşi tip) %51,6, GT genotipi (heterozigot tip) %20,3, TT genotipi (variant tip) %28,1, kontrol grubunda GG genotipi (vahşi tip) %49, GT genotipi (heterozigot tip) %18,6, TT genotipi %32,4 sıklığında bulundu. NEK grubu ile kontrol grubu arasında eNOS G894T gen polimorfizminin GG, GA, TT genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla $p=0,845$, $0,789$, $0,565$). Her iki grupta eNOS G894T gen polimorfizminin GG genotipi en fazla oranda bulundu. eNOS G894T gen polimorfizmi, NEK gelişimi için risk oluşturmamaktadır.

eNOS'un gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 119 (%59,5), NEK grubunda 79 (%59,8) saptandı (OR, 0,994; %95 CI, 0,832-1,188) ($p=0,949$). T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 81 (%40,5), NEK grubunda 53 (%40,2) saptandı (OR, 1,009; %95 CI, 0,770-1,322). eNOS G894T gen polimorfizminde G ve T allel varlığı ile NEK arasında ilişki bulunmadı ($p=0,950$).

NEK evresi ve NEK başlama zamanı ile eNOS G894T genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,716$, $p=0,924$). Cinsiyet ile eNOS G894T gen polimorfizmi arasında da ilişki bulunamadı ($p=0,560$).

Türkiye yapılan eNOS G894T gen polimorfizm çalışmalarında Türk toplumunda sağlıklı kişilerde genotip sıklığı eNOS G894T GG genotipi %47-%56,7, GT genotipi %20-%41,2, TT genotipi %8,2-%23,3 şeklinde bildirilmiştir (459-463). Çalışmamızdaki kontrol grubunun genotip sıklığı ile benzer oranlardadır.

NOS izoformlarından ikinci iNOS'tur. iNOS, normal durumlarda eksprese olmaz; fakat inflamasyon durumlarında yüksek seviyede uyarılır (248). İnflamasyon durumunda iNOS tarafından üretilen NO toksik olabilir (248). Ford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise ilk olarak iNOS'tan üretilen NO'nun rolü gösterilmiştir. Bu araştırmacıların çalışmasında NEK olanların barsaklarında, NEK olmayan veya farklı nedenden dolayı laparotomi yapılan hastaların barsaklarına göre iNOS mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (17). iNOS, normal enterosit üretim dizilimini bozmakta ve apoptozisi arttırmaktadır (293). iNOS'un artması sonucu NO'nun aşırı yapımı, epitel hücreler üzerinde sitopatik etkiye sahiptir ve barsak bariyer yetersizliğine neden olur (18).

Birçok barsak inflamatuvar hastalığında aşırı derecede NO üretimi olduğu bulunmuştur. Aktif ülseratif kolit hastalarının kolon epitelinde yüksek seviyede iNOS saptanmıştır. Helikobakter pilorinin tetiklediği antral gastrit de yüksek iNOS ile ilişkilidir (27,293).

iNOS polimorfizminin önemi ilk olarak gastrik kanserde Shen ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (386). iNOS polimorfizmi ile birçok hastalık arasında ilişki bulunmaktadır: İnflamatuvar barsak hastalığı, nazal polip, astım, Parkinson, hepatit C, diyabetik retinopati, malarya, prostat kanseri, HIV, romatoid artrit, mide kanseri, Crohn, ülseratif kolit, tip 1 DM, nonhogkin lenfoma (382). Promotor bölgesindeki pentanükleotid tekrarı (CCTTT)_n, -954G/C, -1173C/T, -1659A/T polimorfizmleri iNOS seviyesinin ekspresyonunu etkilerken kodlama bölgesindeki S608L (rs2297518) polimorfizmi iNOS aktivitesini etkiler (386).

Pentanükleotid (CCTTT)₁₃ alleli ile ülseratif kolit gelişme riski arasında ilişki bulunmaktadır. Ekzon 16'da C/T polimorfizmi, Ser608Leu proteinde değişikliğe neden olur. Bu aynı anlama gelmeyen değişiklikler, hastalığın oluşabilirliği veya ciddiyetinde önemli rol oynayan enzim aktivitesinde dramatik değişikliklere neden olmaktadır (385).

iNOS geninde ekzon 22'de G/A yer değişimi, treoninde aynı anlama gelen yerdeğişikliği ile sonuçlanır (376). iNOS geninin 16 ve 22. ekzonlarındaki biallelik polimorfizmi, NO üretim değerini değiştirebilmektedir. iNOS ekzon 22'de G>A

polimorfizmi ile Parkinson hastalığı gelişme riski arasında ilişki bulunmuştur (377). İlginç bir şekilde yapılan bir çalışmada Parkinson hastalığı ile akalazya arasında ilişki olduğu saptanmıştır (387). Akalazya etiyolojisinde NO ve NOS fonksiyon bozukluğu vardır. iNOS 22 AA genotipi ile akalazya arasında yüksek sıklık bulunmuştur (388).

iNOS üretiminin artması, depresyon ve nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojinde rol oynar (389). Romatoid atrit ve hipertansiyon ile iNOS genindeki varyantlar arasında ilişki vardır (353,390). Bu hastalıklar inflamatuvar reaksiyonlar ve serbest radikallerin aşırı üretimi ile karakterizedirler (391-394).

iNOS genindeki ekzon 22 G>A gen polimorfizminin NOS fonksiyonunu etkilemesi ve bu polimorfizmler ile ilgili az sayıda çalışma yapılmış olması nedeniyle iNOS için ekzon 22 G>A gen polimorfizmi çalışılmıştır.

Bizim çalışmamızda da iNOS 22 ekzon G/A gen polimorfizminin genotip dağılımında NEK grubunda GG genotipi (vahşi tip) %65,6, GA genotipi (heterozigot tip) %28,1, AA genotipi (variant tip) %6,3, kontrol grubunda GG genotipi (vahşi tip) %59,8, GA genotipi (heterozigot tip) %34,3, AA genotipi (variant) %5,9 sıklığında bulundu. Her iki grupta en sık görülen genotip GG genotipi olarak saptandı.

Çalışmamızda iNOS ekzon 22'deki G>A gen polimorfizminin GG, GA, AA genotip sıklığı ile NEK arasında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,706$, $0,405$, $0,923$). iNOS'un gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 154 (%77), NEK grubunda 105 (%79,5) saptandı (OR, 0,944; %95 CI, 0,771-1,155 ($p=0,584$)). A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 46 (%23), NEK grubunda 27 (%20,5) saptandı (OR, 1,096; %95 CI, 0,785-1,530) A veya G allel varlığı ile NEK arasında ilişki bulunmadı ($p=0,680$).

NEK evresi, NEK başlangıç zamanı ile iNOS 22 ekzon G/A genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (sırasıyla $p=0,290$, $p=0,582$). Cinsiyet ile iNOS 22 ekzon G>A gen polimorfizmi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı ($p=0,582$).

Literatürde Türk toplumunda iNOS 22 G/A gen polimorfizmi ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız Türk toplumunda iNOS 22 G/A gen polimorfizminin genotip sıklığı, allel sıklığını araştıran ilk çalışmadır.

NOS'ün üçüncü izoformu olan nNOS'tur. nNOS düşük seviyelerde eksprese edilir (248). Normal durumlarda nNOS yüksek konsantrasyonda NO üretmediği için NO'nun toksisitesi azdır (248).

Beyine ve barsakta en sık bulunan NOS nNOS'tur (248,283,370). nNOS ilişkili NO, beyin fizyolojinde önemli role sahiptir (369). Hafıza, öğrenme ve nörogeneziste önemli rolü vardır (370).

Son çalışmalarda nNOS geninde en az 124 yaygın tek nükleotid polimorfizmi ve bunlarında kodlanan bölgede olmadığı gösterilmiştir (373). nNOS ekzon 1c'de promotor bölgesindeki Guaninin Alanin değişimi ve 2676 baz çiftinde sitozin, timin değişimi nNOS ekspresyonunu değiştirebilmektedir (373-375). Son çalışmalarda infantil hipertrofik pilor stenozunda nNOS ekspresyonun azaldığı gösterilmiştir (374). nNOS kodlama bölgesindeki ekzon 29'da C/T yerdeğişimi tek gen nükleotid polimorfizmi, değişim olmayan bölgede lokalizedir ve nNOS mRNA stabilizasyonu ve ekspresyon oranını etkiler (381-384).

nNOS, SNP polimorfizmi ile yapılan çalışmalarda mRNA ekspresyonunu ve stabilitesini etkileyebileceği gösterilmiştir (383,384). Parkinson hastalığı ile nNOS gen polimorfizmi arasındaki ilişki gösterilmiştir. Parkinson hastalığı, NO ve peroksinitritin arttığı, dopaminerjik nöronlarda apoptozis ve hücre ölümü ile karakterize bir hastalıktır (463,464).

nNOS genindeki 29 C>T gen polimorfizminin NOS ekspresyonunu etkilemesi ve NEK'te nNOS aktivitesinde azalma olması ve de bu polimorfizm ile ilgili az sayıda çalışma yapılmış olması nedeniyle nNOS için 29 C>T gen polimorfizmleri çalışılmıştır

Bizim çalışmamızda da nNOS 29 ekzon C/T gen polimorfizminin genotip dağılımında NEK grubunda CC genotipi (vahşi tip) %42,2, CT genotipi (heterozigot tip) %48,4, TT genotipi (variant tip) %9,4, kontrol grubunda CC genotipi (vahşi tip) %41,2, CT genotipi (heterozigot tip) %53,9, TT genotipi (variant) %4,9 sıklığında bulundu. Her iki grupta da en sık görülen genotip CT genotipi olarak saptandı. Her iki grubun GG, CT, TT genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı (sırasıyla

p=0,490, 0,491, 0,259). nNOS geninin 29 ekzondaki C/T yerdeğişimi ile NEK arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

nNOS'un gruplara göre allel dağılımları; C allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 136 (%68), NEK grubunda 88 (%66,7) saptandı (OR, 1,025; %95 CI, 0,848-1,237) (p=0,800) . T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 64 (%32), NEK grubunda 44 (%33,3) saptandı (OR, 0,964; %95 CI, 0,729-1,276). C ve T allel varlığı ile NEK arasında ilişki bulunmadı (p=0,893).

NEK grubunda NEK evresi ile nNOS 29 ekzon C/T genotiplerin sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,107). nNOS 29 ekzon C/T'nin TT genotipi ile evre 1 NEK arasında anlamlı ilişki bulundu (p=0,046). TT genotipi taşıyanlarda kontrol grubuna göre 4,8 kat evre 1 NEK görülme riski olduğu saptandı. NEK evresi ve MBL gen polimorfizm çalışmasında evre 2 ve evre 3 NEK olan yenidoğanların MBL-2 YY genotipini taşıma olasılığı daha yüksek olduğu bulunmuştur; ancak bu polimorfizminin allel sıklığı hem NEK, hem de kontrol grubunda benzer bulunmuştur. (29). Başka bir çalışmada da NEK evresi ile IL-4RA polimorfizmin sıklığı arasında da ilişki bulunamadı (301). Heninger ve arkadaşlarının çalışmasında IL8 promotor varyantı (g.-607C>A) ile evre 3 NEK arasında ilişkili olduğu saptanmıştır (307).

NEK başlangıç zamanı ile nNOS 29 ekzon C/T SNP genotip sıklığı arasında anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,840). Cinsiyet ile nNOS 29 ekzon C/T genotipi arasında ilişkiye bakıldığında ise cinsiyet ile nNOS 29 ekzon C/T genotipi arasında da anlamlı ilişki bulunmadı (p=0,526).

Literatürde Türk toplumunda nNOS 29 C/T gen polimorfizmi ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız Türk toplumunda nNOS 29 C/T gen polimorfizminin genotip sıklığı, allel sıklığını araştıran ilk çalışmadır.

Sonuç olarak çalışmamızda, iNOS genindeki ekzon 22 G>A polimorfizminin, nNOS genindeki ekzon 29 C>T polimorfizminin, eNOS genindeki G894T polimorfizminin ve endotelin 1 genindeki C8002T polimorfizminin, prematüre bebeklerde sık görülen ve mortalitesi yüksek gastrointestinal bir hastalık olan NEK gelişiminde rolü olmadığı ve NEK için bir risk faktörü oluşturmadığı saptanmıştır.

SONUÇLAR

1. NEK olan grubun ortalama gestasyonel yaşı $28,04 \pm 2,38$ hafta (22-32 hafta) idi. 34'ü (%53,1) kız, 30'u (%46,9) erkekti. Ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ g (580-2780 g), ortalama doğum boyu $36,37 \pm 3,95$ cm (28,9-48 cm), ortalama doğum baş çevresi $25,56 \pm 2,48$ cm (20-33 cm) idi. 1. dakika apgar skoru $5,61 \pm 1,61$ (1-8), 5. dakika apgar skoru $7,31 \pm 1,40$ (4-10) bulundu. NEK olmayan grubun ortalama gestasyonel yaşı $30,38 \pm 1,78$ hafta (25-32 hafta) idi. 47'si (%46,1) kız, 55'i (%53,9) erkekti. Ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ (580-2780), ortalama doğum boyu $40,24 \pm 3,83$ cm (30-48 cm) , ortalama doğum baş çevresi $28,71 \pm 2,59$ cm (22-34,3 cm) idi. 1. dakika apgar skoru $6,21 \pm 1,74$ (0-9), 5. dakika apgar skoru $7,93 \pm 1,26$ (4-10) bulundu. NEK olan bebekler ve NEK olmayan bebeklerin demografik özellikleri karşılaştırıldığında cinsiyet oranları ve doğum şekli her iki grupta benzerdi. Gestasyonel yaş, doğum ağırlığı, boyu ve baş çevresi, 1. ve 5. dakika apgar skorları arasında anlamlı farklılık saptandı
2. NEK olan ve NEK olmayan grubun antenatal öyküsüne bakıldığında anne yaşının iki grupta benzer olduğu görüldü. NEK olan ve NEK olmayan gruptaki ablasyo plasenta, plasenta previa, koryoamnionit, gestasyonel diyabet, diyabetes mellitus görülme sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Sadece preeklamsinin anlamlı olarak NEK olan grupta daha sık görüldüğü bulundu ($p=0,018$). NEK olan ve NEK olmayan grupta erken doğum tehditi, tokoliz kullanımı, antenatal steroid uygulaması ve dopler ultrasonografik bulguları arasında anlamlı farklılık bulunmadı. Amnion volümü açısından NEK olan grupta oligohidramnionun anlamlı olarak daha fazla olduğu görüldü ($p=0,033$).
3. NEK olan grupta RDS'si olan 47 (%73,4) bebek, NEK olmayan grupta RDS'si olan 39 (%38,2) bebek vardı ($p < 0,0001$). Surfaktan uygulaması, mekanik ventilasyon süresi, NCPAP süresi, oksijen desteği süresi anlamlı olarak NEK olan grupta daha fazlaydı.
4. NEK olan grupta PDA'sı olan 38 (%59,4) bebek, NEK olmayan grupta PDA'sı olan 23 (%22,5) bebek vardı. NEK olan grupta PDA anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,0001$).

5. BPD, ROP, İVK, PVL, hidrosefali, konvülsiyon sıklığı açısından NEK olan grupta anlamlı olarak yüksek bulundu.
6. Sepsis NEK olan grupta 63 (%98,5) bebekte, NEK olmayan grupta 61 (% 59,9) bebekte saptandı ve gruplar arasında anlamlı fark vardı ($p < 0,0001$).
7. NEK olan grupta BPD'si olan bebek 29 (%50), NEK olmayan grupta BPD'si olan bebek 13 (%22,7) idi ($p < 0,0001$). NEK olan grupta BPD'si olanların % 31,2'si (20), NEK olmayan grupta BPD'si olanların %12,7'si (13) steroid tedavisi almıştı. NEK olan grupta BPD nedeniyle steroid kullanımı anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p=0,004$). Kümülatif steroid dozu NEK olan grupta daha yüksek olmakla birlikte gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,052$).
8. NEK olan gruptaki bebeklerin minimal enteral beslenmeye geçiş süresi ortalama $21,94 \pm 12,93$ gün (2-70 gün), NEK olmayan gruptaki bebeklerin minimal enteral beslenmeye geçiş süresi ortalama $4,45 \pm 5,59$ gün (1-37 gün) idi. NEK olan gruptaki bebeklerin minimal enteral beslenmeye geçiş süresinin anlamlı olarak daha geç olduğu görüldü ($p < 0,001$).
9. NEK olan gruptaki bebeklerin total enteral beslenmeye geçiş süresi ortalama $48,57 \pm 23,42$ gün (13-122 gün), NEK olmayan gruptaki bebeklerin total enteral beslenmeye geçiş süresi ortalama $17,56 \pm 12,26$ gün (2-66 gün) idi. NEK olan gruptaki bebeklerin total enteral beslenmeye geçiş süresinin de anlamlı olarak daha geç olduğu görüldü ($p < 0,001$).
10. Anne sütü veya formula ile beslenme açısından NEK olan ve NEK olmayan grupta anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,203$).
11. NEK olan gruptaki 63 bebeğin (%98,4), NEK olmayan gruptaki 62 bebeğin (%60,8) ERT transfüzyon aldığı görüldü. ERT transfüzyon sayısı NEK olan grupta ortalama $8,7 \pm 6,03$ (0-29), NEK olmayan grupta ortalama $1,96 \pm 2,46$ (0-11) idi. Hem ERT transfüzyon uygulaması hem de ERT transfüzyon sayısı NEK olan grupta anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0,001$).

12. Göbek ven ve arter kateter uygulamasının NEK olan grupta anlamlı olarak daha fazla olduğu bulundu ($p<0,001$).
13. NEK olan grupta bebeklerin yatış süresi ortalama $71,86\pm48,56$ gün (3-288 gün), NEK olmayan gruptaki bebeklerin yatış süresi ortalama $31,90\pm21,03$ gün (5-86 gün) idi. NEK olan gruptaki bebeklerin yatış süresi daha uzun olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.
14. NEK olan gruptaki bebeklerin NEK tanısı aldığı zaman ortalama $9,76\pm7,38$ gün (2-38 gün) idi.
15. Klinik ve radyolojik bulgulara göre NEK tanısı konulduktan sonra Modifiye Bell kriterleri kullanılarak evrelendirildiğinde 64 bebeğin 6'sı (%9,4) evre 1A, 11'i (%17,2) evre 1B, 2'si (%3,1) evre 2A, 31'i (%48,4) evre 2B, 7'si (%10,9) evre 3A, 7'si (%10,9) evre 3B olarak değerlendirildi.
16. NEK tanısı alan 64 bebeğin NEK klinik semptom ve bulgularına bakıldığında 46'sında (%71,9) abdominal distansiyon, 37'sinde (%57,8) safralı gastrik rezidü, 14'ünde (%21,9) apne, 11'inde (%17,2) mide içerikli rezidü, 11'inde (%17,2) barsak seslerinde azalma vardı .
17. NEK tanısı alan 64 bebeğin NEK laboratuvar bulgularına bakıldığında 41'inde (%64,1) gaitada gizli kan pozitifliği (GGK), 37'sinde (%57,8) trombositopeni, 26'sında (%40,6) lökopeni-lökositoz, 11'inde (%17,2) metabolik asidoz, 7'sinde nötropeni vardı.
18. NEK tanısı alan 64 bebeğin NEK radyolojik bulgularına bakıldığında 19'unda (%29,8) dilate barsak ansları, 6'sında (%9,4) batında serbest hava, 5'inde (%7,8) pnömotozis intestinalis, 4'ünde (%6,3) gazsız abdomen, 2'sinde (%3,1) portal vende hava vardı.
19. NEK tanısı alan 64 bebeğin NEK tedavisinde 55'ine (%85,9) antibiyotik tedavisi, 9'una (%14,1) cerrahi tedavi uygulandığı görüldü. NEK tedavisinde en sık kullanılan antibiyotik tedavisi %84,4 oranında Metranidazol tedavisiydi (Tablo 9).

20. NEK nedeniyle cerrahi tedavi uygulanan 9 hastanın barsak patoloji bulgularına bakıldığında 5'inde barsakta nekroz bulgularının 3'ünde barsak iskemi bulgularının ve 3'ünde barsak mukozasında hemorajik değişikliklerin olduğu görüldü
21. NEK olan hasta grubunda eNOS G894T genotipleri 33'ünde (%51,6) GG, 13'ünde (%20,3) GT, 18'inde (%28,1) TT idi. NEK olmayan kontrol grubunda eNOS G894T genotipleri 50'sinde (%49) GG, 19'unda (%18,6) GT, 33'ünde (%32,4) TT idi. Hem NEK olan hem de NEK olmayan grupta GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında eNOS G894T genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
22. eNOS G894T gen polimorfizminin GG, GT, TT genotipi NEK gelişme riskini arttırmadığı düşünüldü.
23. eNOS'un allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 119 (%59,5), NEK grubunda 79 (%59,8) saptandı. T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 81 (%40,5), NEK grubunda 53 (%40,2) saptandı. G ve T allel taşıyıcılığı ile NEK arasında ilişki anlamlı bulunmadı.
24. NEK olan hasta grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 42'sinde (%65,6) GG, 18'inde (%28,1) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. NEK olmayan kontrol grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 61'inde (%59,8) GG, 35'inde (%34,3) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. Hem NEK olan hem de NEK olmayan grupta GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında iNOS 22 ekzon G/A genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
25. iNOS 22 ekzon G/A SNP gen polimorfizminin GG, GA, AA genotipi NEK gelişme riskini arttırmadığı düşünüldü.
26. iNOS'un gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 154 (%77), NEK grubunda 105 (%79,5) saptandı. A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 46 (%23), NEK grubunda 27 (%20,5) saptandı

27. NEK olan hasta grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 27'sinde (%42,2) CC, 31'inde (%48,4) CT, 6'sında (%9,4) TT idi. NEK olmayan kontrol grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 42'sinde (%41,2) CC, 55'inde (%53,9) CT, 5'inde (%4,9) TT idi. Hem NEK olan hem de NEK olmayan grupta CT genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında nNOS 29 ekzon C/T genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
28. nNOS 29 ekzon C/T SNP gen polimorfizminin CC, CT, TT genotipinin NEK gelişme riskini arttırmadığı düşünüldü.
29. nNOS'un gruplara göre allel dağılımları; C allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 136 (%68), NEK grubunda 88 (%66,7) saptandı. T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 64 (%32), NEK grubunda 44 (%33,3) saptandı.
30. NEK olan hasta grubunda ET-1 G8002A genotipleri 41'inde (%64,1) GG, 19'unda (%29,7) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. NEK olmayan kontrol grubunda ET-1 G8002A genotipleri 67'sinde (%65,7) GG, 29'unda (%28,4) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. Hem NEK olan hem de NEK olmayan grupta GG genotipi daha sık saptandı. İki grup karşılaştırıldığında ET-1 G8002A genotip sıklığı arasında anlamlı farklılık bulunmadı.
31. ET-1 G8002A gen polimorfizminin GG, GA, AA genotipi NEK gelişme riskini arttırmadığı düşünüldü.
32. ET-1'in gruplara göre allel dağılımları; G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 160 (%80), NEK grubunda 104 (%78,8) saptandı. A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 40 (%20), NEK grubunda 28 (%21,2) saptandı.
33. NEK evresi ile eNOS G894T, iNOS 22 ekzon G/A, nNOS 29 ekzon C/T gen polimorfizmleri arasında ilişki bulunmadı. Sadece nNOS 29 ekzon C/T gen polimorfizminin TT variant genotipi ile evre 1 NEK arasında anlamlı ilişki bulundu.
34. NEK başlangıç zamanı ve cinsiyet ile eNOS G894T, iNOS 22 ekzon G/A, nNOS 29 ekzon C/T gen polimorfizmleri arasında ilişki bulunmadı.

KAYNAKLAR

1. Çetinkaya M, Köksal N. Nekrotizan enterokolit. Güncel Pediatri 2004;2:146-151.
2. Oygür N. Nekrotizan enterokolit. Yurdakök M, Erdem G. Neonatoloji. 2. Baskı. Alp Ofset 1. 2004. p.552-556.
3. Acunaş B, Vatansever Ü, Duran R, Aladağ N. Çok düşük doğum tartılı yenidoğanlarda nekrotizan enterokolit şiddetini öngörecekt etmenlerin incelenmesi. Türk Pediatri Arşivi 2006;41:15-21.
4. Özkan H. Nekrotizan enterokolitli prematüre bebeklerin değerlendirilmesi. Güncel Pediatri 2010;8:56-62.
5. Schnabl K, Aerde J, Thomson A, Clandinin M. Necrotizing enterocolitis: A multifactorial disease with no cure. World Journal of Gastroenterology 2008;14: 2142-2161.
6. Wilson R, Kanto WP Jr, McCarthy BJ, Burton T, Lewin P, Terry J, Feldman RA. Epidemiologic characteristics of necrotizing enterocolitis: a population-based study. Am J Epidemiol 1981;114:880-887.
7. Mizrahi A, Barlow O, Berdon W, et al. Necrotizing enterocolitis in premature infants. J Pediatr 1965; 66:697.
8. Sántulli TV, Schullinger JN, Heird WC, et al. Acute necrotizing enterocolitis in infancy: a review of 64 cases. Pediatrics 1975;55:376-387.
9. Kliegman RM, Walker WA, Yolken RH. Necrotizing enterocolitis: research agenda for a disease of unknown etiology and pathogenesis. Pediatr Res 1993;34:701.
10. Ballance WA, Dahms BB, Shenker N, Kliegman RM. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten-year experience. J Pediatr 1990;117:6.

11. Holman RC, Stoll BJ, Clarke MJ, Glass RI. The epidemiology of necrotizing enterocolitis infant mortality in the United States. *Am J Public Health* 1997;87:2026-2031.
12. Nankervis CA, Dunaway DJ, Nowicki PT. Determinates of terminal mesenteric artery resistance during the first postnatal month. *Am J Physiol*. 2001;280:678-686
13. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1998;332:411-415.
14. Woods M, Mitchell JA, Wood EG, et al. Endothelin-1 is induced by cytokines in human vascular smooth muscle cells: evidence for intracellular endothelin converting enzyme. *Mol Pharmacol* 1999;55:902-909.
15. Nowicki PT, Dunaway DJ, Nankervis CA, Giannone PJ, Reber KM, Hammond SB, Besner GE, Caniano DA. Endothelin-1 in human intestine resected for necrotizing enterocolitis. *J Pediatr*. 2005;146:805-810.
16. Ford H, Reblock K, Teramana C, et al. The role of nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Surg Forum*. 1995;46:642–644.
17. Ford H, Watkins S, Reblock K, Rowe M. The role of inflammatory cytokines and nitric oxide in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1997; 32:275-282.
18. Chokshi NK, Guner YS, Hunter CJ, Upperman JS, Grishin A, et al. The role of nitric oxide in intestinal epithelial injury and restitution in neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2008;32:92–99.
19. Chang K, Lee SJ, Cheong I, et al: Nitric oxide suppresses inducible nitric oxide synthase expression by inhibiting post-translational modification of I κ B. *Exp Mol Med* 2004;36:311-324.

20. Yu Z, Xia X, Kone BC: Expression profile of a human inducible nitric oxide synthase promoter reporter in transgenic mice during endotoxemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;288:214-220.
21. Spratt DE, Taiakina V, Palmer M, et al: Differential binding of calmodulin domains to constitutive and inducible nitric oxide synthase enzymes. *Biochemistry* 2007; 46:8288-8300.
22. Qu XW, Wang H, Rozenfeld RA, Huang W, Hsueh W. Type I nitric oxide synthase (NOS) is the predominant NOS in rat small intestine. Regulation by platelet-activating factor. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1451:211-217.
23. Nowicki PT, Caniano DA, Hammond S, et al: Endothelial nitric oxide synthase in human intestine resected for necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 2007;150:40-45.
24. Sorrells DL, Friend C, Koltuksuz U, et al: Inhibition of nitric oxide with aminoguanidine reduces bacterial translocation after endotoxin challenge in vivo. *Arch Surg* 1996;131:1155-1163.
25. Dickinson E, Tuncer R, Nadler E, et al: NOX: a nitric oxide scavenger reduces bacterial translocation in rats after endotoxemia by decreasing enterocyte apoptosis. *Am J Physiol* 1999;277:1281-1287.
26. Mishima S, Xu D, Lu Q, et al: Bacterial translocation is inhibited in inducible nitric oxide synthase knockout mice after endotoxin challenge but not in a model of bacterial overgrowth. *Arch Surg* 1997;132:1190-1195.
27. Singer II, Kawka DW, Scott S, et al: Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1996;111:871-885.
28. Treszl A, Tulassay T, Vasarhelyi B. Genetic basis for necrotizing enterocolitis - risk factors and their relations to genetic polymorphisms. *Frontiers in Bioscience* 2006;11:570-580.

29. Prencipe G, Azzari C, Moriondo M, Devito R, Inglese R, Pezzullo M, Piersigilli F, Trucchi A, De Benedetti F, Auriti C. Association between mannose-binding lectin gene polymorphisms and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;55:160-165.
30. Rusai K, Vannay A, Szebeni B, Borgulya G, Fekete A, Vásárhelyi A, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene T⁻⁷⁸⁶C and 27-bp repeat gene polymorphisms in retinopathy of prematurity. *Mol Vis.* 2008;14:286–290.
31. Sivasli E, Babaoğlu M, Yaşar U, Yurdakök M, Bozkurt A, Korkmaz A, Yiğit S, Tekinalp G. Association between the Glu298Asp and T(-786)C polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene and respiratory distress in preterm neonates. *Turk J Pediatr.* 2010;52:145-149.
32. Vannemreddy P, Notarianni C, Yanamandra K, Napper D, Bocchini J. Is an endothelial nitric oxide synthase gene mutation a risk factor in the origin of intraventricular hemorrhage? *Neurosurg Focus.* 2010;28:E11.
33. Yanamandra K, Napper D, Pramanik A, Bocchini JA Jr, Dhanireddy R. Endothelial nitric oxide synthase genotypes in the etiology of retinopathy of prematurity in premature infants. *Ophthalmic Genet.* 2010;31:173-177.
34. Albanese CT, Rowe MI: Necrotizing Enterocolitis. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL et al (eds): *Pediatric Surgery*, Mosby, 1998, pp 1297-1320.
35. Rossier A, Sarrot S, Deplanque J: L'entérolite ulcero-nécrotique du prématuré. *Sem Hop Paris* 1959;35:1428-1436.
36. Stevenson JK, Graham CB, Oliver TK, et al: Neonatal necrotizing enterocolitis a report of 21 cases with survivors. *Am J Surg* 1969;118:260-264.
37. Touloukian RJ, Berdon WE, Amoury RA, et al. Surgical experience with necrotizing enterocolitis in the infant. *J Pediatr Surg.* 1967;2:389-401.
38. Waldhausen JA, Herendeen T, King HA: Necrotizing colitis of the newborn common cause of perforation of the colon. *Surgery* 1963;54:365-368.

39. Bell MJ, Teinberg JL, Feigin et al. Necrotizing Enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical satging. *Ann Surg* 1978;187:1-7.
40. Walsh MC, Kliegmann RM. Necrotizing enterocolitis: treatment based on staging criteria. *Pediatr Clin North Am* 1986;33:179-201.
41. Ricketts RR: Necrotizing Enterocolitis. In Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (eds): *Operative Pediatric Surgery*. New York, McGraw-Hill, 2003, pp.661-670.
42. Kliegman RM, Fanaroff AA: Neonatal necrotizing enterocolitis: A nine year experience. *Am J Dis Child*.1981;135:603.
43. Wilson R, del Portillo M, Schimdt E, et al: Risk factors for necrotizing enterocolitis in infants weighing more than 2000 grams at birth: a case-control study. *Pediatrics* 1983;71:19.
44. Holman RC, Stehr-Green JK, Zelasky M: Necrotizing enterocolitis mortality in the United States. *Am J Public Health*1989;79:987.
45. Kosloske AM: Necrotizing Enterocolitis. In Donnellan WL (ed): *Abdominal Surgry of Infancy and Childhood Louxembourg*. Harwood Academic Publishers, 1996, pp 21/1-14.
46. Stoll BJ. Epidemiology of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 1994;21:205-218.
47. Kliegman RM, Pittard WB, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis in neonates fed human milk. *J Pediatr* 1979;95:450.
48. Crowley P, Chalmers I, Keirse M. The effects of corticosteroid administration before preterm delivery: An overview of the evidence from controlled trials. *Br J Obstet Gynecol* 1990;97:11.
49. Uauy RD, Fanaroff AA, Korones SB, et al. Necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants: biodemographic and clinical correlates. *National Institute of*

Child Health and human Development Neonatal Research Network. J Pediatr 1991;119:630-638.

50. Shimura K. Necrotizing enterocolitis: a Japanese Survey. NICU 1990;3:5.
51. Caplan M: Necrotizing enterocolitis and short bowel syndrome. In Gleason CA Devaskar SU (eds): Avery's Diseases of the Newborn. Philadelphia, Elsevier Saunders, 2012, pp. 1022.
52. 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;46:185-192.
53. Gülcan H, Üzüm İ, Aslan S, Yoloğlu S. İnönü Üniveristesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde izlenen çok düşük doğum ağırlıklı preterm olgularımızın değerlendirilmesi. İnönü Üniveristesi Tıp Fakültesi Dergisi 2004;11:19-23.
54. Sultan Kavuncuoğlu, Esin Yıldız Aldemir, Nida Çellik, Ferhan Çetindağ, Serdar Sander, Müge Payaslı, Sibel Özbek. Prematüre Bebeklerde Önemli Bir Morbidite Nedeni; Nekrotizan Enterokolit: Dokuz Yıllık Çalışmanın Sonuçları. JOPP Derg 2013;5:13-20.
55. Caty MG, Azizkhan RG: Necrotizing enterocolitis. In Ashcraft KE (ed): Pediatric Surgery. Philadelphia WB Saunders Company, 2000, pp 443-452.
56. Rangel SJ, Moss RL: Necrotizing enterocolitis. In Oldham KT, Colombani PM, Foglia RP, Skinner MA (eds): Principles and Practice of Pediatric Surgery, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, 2005, pp. 1251-1267.
57. Llanos A.R., Moss M.E., Pinzon M.C., et al: Epidemiology of neonatal necrotising enterocolitis: A population-based study. Paediatr Perinat Epidemiol 2002;16:342-349.
58. Guthrie S.O., Gordon P.V., Thomas V., et al: Necrotizing enterocolitis among neonates in the United States. J Perinatol 2003;23:278-285.

59. Sankaran K., Puckett B., Lee D.S., et al: Variations in incidence of necrotizing enterocolitis in Canadian neonatal intensive care units. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004;39:366-372.
60. Guillet R, Stoll BJ, Cotten CM, et al. Association of H2-blocker therapy and higher incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics* 2006; 117:137-142.
61. Holman R.C., Stoll B.J., Curns A.T., et al: Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006;20:498-506.
62. Luig M., Lui K., NICUS group , et al: Epidemiology of necrotizing: enterocolitis: II. Risks and susceptibility of premature infants during the surfactant era: A regional study. *J Pediatr Child Health* 2005;41:174-179.
63. Ng S. Necrotizing enterocolitis in the full-term neonate. *J Paediatr Child Health* 2001;37:1-4.
64. Lambert D.K., Christensen R.D., Henry E., et al: Necrotizing enterocolitis in term neonates: Data from a multihospital health-care system. *J Perinatol* 2007;27:437-443.
65. Ostlie D.J., Spilde T.L., St Peter S.D., et al: Necrotizing enterocolitis in full-term infants. *J Pediatr Surg* 2003;38:1039-1042.
66. Bolisetty S., Lui K.: Necrotizing enterocolitis in full-term neonates. *J Pediatr Child Health* 2001;37:413-414.
67. Sharma R., Hudak M.L., Tepas 3rd J.J., et al: Impact of gestational age on the clinical presentation and surgical outcome of necrotizing enterocolitis. *J Perinatol* 2006;26:342-347.
68. Blakely M.L., Lally K.P., McDonald S., et al: Postoperative outcomes of extremely low birth-weight infants with necrotizing enterocolitis or isolated

intestinal perforation: A prospective cohort study by the NICHHD Neonatal Research Network. *Ann Surg* 2005;241:984-994.

69. Clark DA, Munshi UK: Development of the gastrointestinal circulation in the fetus and newborn, in Polin RA, FoxWW, Abman SH (eds): *Fetal and Neonatal Physiology* (ed 3). Philadelphia, PA, WB Saunders, 2004, pp 701-705
70. Moore KL, Persaud TVN: *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology* (ed 7). Philadelphia, PA, WB Saunders, 2003
71. Sadler TW: *Langman's Medical Embryology* (ed 9). Philadelphia, PA, Lippincott Williams & Wilkins, 2004
72. Nowicki PT. Ischemia and necrotizing enterocolitis: where, when, and how. *Seminars in Pediatric Surgery* 2005;14:152-158.
73. Upperman JS. Glutathione (GSH) levels in necrotizing enterocolitis (NEC). *J Pediatr Surg* 2005;40:1813.
74. Corfield AP, Myerscough NY, Longman R, et al. Mucin and mucosal protection in the gastrointestinal tract: New prospect for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. *Gut* 2000;47:589-594.
75. Muller CA, Autenrieth IB, Peschel A. Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci* 2005;62:1297-1307.
76. Fagarason S, Tasuku H. Intestinal IgA synthesis: Regulation of front-line body defenses. *Nat Rev* 2003;3:63-72.
77. Artis D. Epithelial cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol* 2008;8:411-420.
78. Otte JM, Kiehne K, Herzig KH. Antimicrobial peptides in innate immunity of the human intestine. *J Gastroenterol* 2003;38:717-726.

79. Bevins CH. Events at the host-microbial interface of the gastrointestinal tract V. Paneth cell alpha-defensins in intestinal host defense. *Am J Physiol Gastroenterol Liver Physiol* 2005;289:173-176.
80. Neu J, Chen M, Beierle E. Intestinal innate immunity: How does it relate to the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:137-144.
81. Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev* 2006;86:245-278.
82. Allen A, Bell A, Mantle M, Pearson JP. The structure and physiology of gastrointestinal mucus. *Adv Exp Med Biol* 1982;144:115-133.
83. Montagne L, Piel C, Lalles JP. Effect of diet on mucin kinetics and composition: Nutrition and health implications. *Nutr Rev* 2004;62:105-114.
84. Rhodes JM. Colonic mucus and mucosal glycoproteins: The key to colitis and cancer? *Gut* 1989;30:1660-1666.
85. Uhlig HH, Powrie F. The role of mucosal T lymphocytes in regulating intestinal inflammation. *Springer Semin Immunopathol* 2005;27:167-180.
86. Chen Y, Chou K, Fuchs E, et al. Protection of the intestinal mucosa by intraepithelial gamma delta T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:14338-14343.
87. Mackie R, Sghir A, Gaskins R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1035-1045.
88. Hoffmann JC, Peters K, Henschke S, et al. Role of T lymphocytes in rat 2,4,6-trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) 414 EMAMI ET AL. induced colitis: Increased mortality after gammadelta T cell depletion and no effect of alphabeta T cell depletion. *Gut* 2001;48:489-495.
89. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science* 2001;292:1115-1118.

90. Hooper LV. Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends Microbiol* 2004;12:129-134.
91. Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: Approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1052-1057.
92. Bernt MF, Brassart D, Neeser JR, et al. *Lactobacillus acidophilus* LA 1 binds to culture of human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut* 1994;35:483-489.
93. Emami CN, Petrosyan M, Giuliani S, Williams M, Hunter C, Prasadaraao NV, Ford HR. Role of the host defense system and intestinal microbial flora in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Surg Infect (Larchmt)*. 2009;10:407-417.
94. Turner JR. Molecular basis of epithelial barrier regulation: From basic mechanisms to clinical application. *Am J Pathol* 2006;169:1901-1909.
95. Nusrat A, Turner JR, Madara JL. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions IV. Regulation of tightjunctions by extracellular stimuli: Nutrients, cytokines and immune cells. *Am J Physiol Gastroenterol Liver Physiol* 2000;279:851-857.
96. Yu QH, Yang Q. Diversity of tight junctions (TJs) between gastrointestinal epithelial cells and their function in maintaining the mucosal barrier. *Cell Biol Int* 2009;33:78-82.
97. Kamm KE, Stull JT. Dedicated myosin light chain kinases with diverse cellular functions. *J Biol Chem* 2001;276:4527-4530.
98. Han X, Fink MP, Delude RL. Proinflammatory cytokines cause NO*-dependent and -independent changes in expression and localization of tight junction proteins in intestinal epithelial cells. *Shock* 2003;19:229-237.

99. Simonovic I, Rosenberg J, Koutsouris A, Hecht G. Enteropathogenic *Escherichia coli* dephosphorylates and dissociates occludin from intestinal epithelial tight junctions. *Cell Microbiol* 2000;2:305-315.
100. Forcielli M, Walker A. The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence. *Br J Nutr* 2005;93:41-48.
101. Reber KM, Nankervis CA, Nowicki PT. Newborn intestinal circulation. Physiology and pathophysiology. *Clin Perinatol* 2002;29:23–39.
102. Nankervis CA, Nowicki PT: Role of nitric oxide in regulation of vascular resistance in postnatal intestine. *Am J Physiol* 1995;268:949-958.
103. Reber KM, Mager GM, Miller CE, et al: Relationship between flow rate and NO production in postnatal mesenteric arteries. *Am J Physiol* 2000;280:43-50.
104. Nowicki P: Intestinal ischemia and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;117:14-99.
105. Nankervis CA, Nowicki PT: Role of endothelin-1 in regulation of the postnatal intestinal circulation. *Am J Physiol* 2000;278:367-375.
106. Bloch KD, Friedrich SP, Lee M-N, et al: Structural organization and chromosomal assignment of the gene encoding endothelin. *J Biol Chem* 1989;264:10851-10857.
107. Turner AJ, Murphy LJ: Molecular pharmacology of endothelin converting enzymes. *Biochem Pharmacol* 1996;51:91-102.
108. Davenport AP, O'Reilly G, Kuc RE: Endothelin ETA and ETB Mrna and receptors expressed by smooth muscle in the human vasculature: majority of the ETA sub-type. *Br J Pharmacol* 1995;114:1110-1116.
109. Clozel M, Fischli W, Guilly C: Specific binding of endothelin on human vascular smooth muscle cells in culture. *J Clin Invest* 1989;83:1758-1761.

110. Rossi GP, Seccia TM, Nussdorfer GG: Reciprocal regulation of endothelin-1 and nitric oxide: relevance in the physiology and pathology of the cardiovascular system. *Int Rev Cytol* 2001;209:241-272.
111. Kuchan MJ, Frangos JA: Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1993;264:150-156.
112. Kourembanas S, Marsden PA, McQuillan LP, et al: Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest* 1991;88:1054-1057.
113. Su BY, Reber KM, Nankervis CA: Developmental expression of endothelin receptors in postnatal swine mesenteric artery. *Pediatr Res* 2004;56:359-365.
114. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *The J. Biol. Chem* 1993;268:12231-12234.
115. Denninger JW, Marletta MA: Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* 1999;1411:334-350.
116. Russwurm M, Koesling D: Guanylyl cyclase: NO hits its target. *Biochem Soc Symp* 2004;71:51-63.
117. Nowicki PT, Miller CE: Flow-induced dilation in newborn intestine. *Pediatr Res* 1995;38:783-791.
118. Warner TD: Relationships between the endothelin and nitric oxide pathways. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999;26:247-252.
119. Mawji IA, Marsden PA: Perturbations in paracrine control of the circulation: role of the endothelial-derived vasomediators, endothelin-1 and nitric oxide. *Microsc Res Tech* 2003;60:46-58.

120. Marsen TA, Egink G, Suckau G, et al: Tyrosine-kinase-dependent regulation of the nitric oxide synthase gene by endothelin-1 in human endothelial cells. *Pflugers Arch* 1999;438:538-544.
121. Boulanger C, Lüscher TF: Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990;85:587-590.
122. Goligorsky MS, Tsukahara H, Magazine H, et al: Termination of endothelin signaling: role of nitric oxide. *J Cell Physiol* 1994;158:485-494.
123. Nankervis CA, Giannone PJ, Reber KM. The neonatal intestinal vasculature: contributing factors to necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2008;32:83-91.
124. Sase M, Miwa I, Sumie M, et al. Ontogeny of gastric emptying patterns in human fetus. *Am J Matern Fetal Med* 2005;17:213-217.
125. Sanderson IR. The physiochemical environment of the neonatal intestine. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1028-1034.
126. Berseth CL, McCoy HH. Birth asphyxia alters neonatal intestine motility in term neonates. *Pediatrics* 1992;90:669-673.
127. Neu J, Weiss MD. Necrotizing enterocolitis: pathophysiology and prevention. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1999;23:13.
128. Hunter CJ, Upperman JS, Ford HR, Camerini V. Understanding the susceptibility of the premature infant to necrotizing enterocolitis (NEC). *Pediatr Res* 2008;63:117-123.
129. Morriss FH Jr, Moore M, Gibson T, West MS. Motility of the small intestine in preterm infants who later have necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;117:20.
130. Bauer CR, Morrison JC, Poole WK, et al. A decreased incidence of necrotizing enterocolitis after prenatal glucocorticoid therapy. *Pediatrics* 1984;73:682.

131. Halac E, Halac J, Bégué EF, et al. Prenatal and postnatal corticosteroid therapy to prevent neonatal necrotizing enterocolitis: a controlled trial. *J Pediatr* 1990;117:132.
132. de la Cochetiere MF, Piloquet H, des Robert C, et al. Early intestinal bacterial colonization and necrotizing enterocolitis in premature infants: the putative role of *Clostridium*. *Pediatr Res* 2004;56:366.
133. Udall JN Jr. Gastrointestinal host defense and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;117:33.
134. Neu J. Necrotizing enterocolitis: the search for a unifying pathogenic theory leading to prevention. *Pediatr Clin North Am* 1996;43:409.
135. Lin PW, Stoll BJ. Necrotising enterocolitis. *Lancet* 2006;368:1271.
136. Ford HR. Mechanism of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure: insight into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2006;41:294.
137. Warner BW, Warner BB. Role of epidermal growth factor in the pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:175-180.
138. Miettinen PJ, Berger JE, Meneses J, et al. Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature* 1995;376:337.
139. Dvorak B, Fituch CC, Williams CS, et al. Increased epidermal growth factor levels in human milk of mothers with extremely premature infants. *Pediatr Res* 2003;54:15.
140. Dvorak B, Halpern MD, Holubec H, et al. Epidermal growth factor reduces the development of necrotizing enterocolitis in a neonatal rat model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:156-164.
141. Clark JA, Lane RH, MacLennan NK, et al. Epidermal growth factor reduces intestinal apoptosis in an experimental model of necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;288:755-762.

142. Clark JA, Doelle SM, Halpern MD, et al. Intestinal barrier failure during experimental necrotizing enterocolitis: protective effect of EGF treatment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;291:938.
143. Caplan M. Is EGF the Holy Grail for NEC? *J Pediatr* 2007;150:329.
144. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001;291:881.
145. Morowitz MJ, Poroyko V, Caplan M, et al. Redefining the role of intestinal microbes in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 2010;125:777.
146. Okogbule-Wonodi AC, Gross GW, Sun CC, et al. Necrotizing enterocolitis is associated with ureaplasma colonization in preterm infants. *Pediatr Res* 2011;69:442.
147. Stewart CJ, Marrs EC, Magorrian S, et al. The preterm gut microbiota: changes associated with necrotizing enterocolitis and infection. *Acta Paediatr* 2012;101:1121.
148. Jacquot A, Neveu D, Aujoulat F, et al. Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. *J Pediatr* 2011;158:390.
149. Fast C, Rosegger H. Necrotizing enterocolitis prophylaxis: Oral antibiotics and lyophilized enterobacteria vs oral immunoglobulins [see comments]. *Acta Paediatr Suppl* 1994;396:86-90.
150. Peter CS, Feuerhahn M, Bohnhorst B, et al. Necrotising enterocolitis: Is there a relationship to specific pathogens? *Eur J Pediatr* 1999;158:67-70.
151. Chan KL, Saing H, Yung RW, et al. A study of pre-antibiotic bacteriology in 125 patients with necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr Suppl* 1994;396:45-48.

152. Martin CR, Walker WA. Probiotics: Role in pathophysiology and prevention in necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2008;32:127-137.
153. Akisu M, Baka M, Yalaz M, Huseyinov A, Kultursay N. Supplementation with *Saccharomyces boulardii* ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced necrotizing enterocolitis in young mice. *European Journal of Pediatric Surgery* 2003; 13: 319-323.
154. Alexander VN, Northrup V, Bizzarro MJ. Antibiotic exposure in the newborn intensive care unit and the risk of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 2011;159:392.
155. Cotten CM, Taylor S, Stoll B, 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;123:58.
156. Walsh MC, Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis: a practitioner's perspective. *Pediatr Rev* 1988;9:219.
157. Brook I. Microbiology and management of neonatal necrotizing enterocolitis. *Am J Perinatol* 2008;25:111.
158. Scheifele DW. Role of bacterial toxins in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;117:44.
159. Dittmar E, Beyer P, Fischer D, et al. Necrotizing enterocolitis of the neonate with *Clostridium perfringens*: diagnosis, clinical course, and role of alpha toxin. *Eur J Pediatr* 2008;167:891.
160. Stuart RL, Tan K, Mahar JE, et al. An outbreak of necrotizing enterocolitis associated with norovirus genotype GII.3. *Pediatr Infect Dis J* 2010;29:644.
161. Turcios-Ruiz RM, Axelrod P, St John K, et al. Outbreak of necrotizing enterocolitis caused by norovirus in a neonatal intensive care unit. *J Pediatr* 2008;153:339.

162. Goldman AS, Ogra PL. Anti-infectious and infectious agents in human milk. In: Mestecky J, Lamm M, Strober W, et al., eds. *Mucosal Immunology* (Vol. 1). San Diego CA: Academic Press, 1999:72-85.
163. Ozturk H, Dokucu AI, Ogun C, et al. Protective effects of recombinant human interleukin-10 on intestines of hypoxia induced necrotizing enterocolitis in immature rats. *J Pediatr Surg* 2002;37:1330-1333.
164. Fituch CC, Palkowetz KH, Goldman AS, et al. Concentration of IL-10 in preterm human milk and in milk from mothers of infants with necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr* 2004;93:1496-1500.
165. Favier CF, Vaughan EE, De Vos WM, Akkermans AD. Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:219-226.
166. McGuire W, Anthony MY. Donor milk versus formula for preventing necrotizing enterocolitis in preterm infants: Systemic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003;88:11-14.
167. Henderson G, Craig S, Brockhurst P, et al. Enteral feeding regimens and necrotizing enterocolitis in preterm infants: A multicenter case control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009;94:120-123.
168. Meinen-Derr J, Poindexter B, Wrage L, et al. Role of human milk in extremely low birth weight infants' risk of necrotizing enterocolitis or death. *J Perinatol* 2009;29:57-62.
169. Lyscom N, Brueton MJ. The impact of post-weaning protein malnutrition on intraepithelial and Peyer's patch lymphocyte sub-types in rat small bowel. *Immunology* 1983;50:511-514.
170. Berseth CL. Feeding strategies and necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr* 2005;17:170.

171. Clark DA, Miller MJ. Intraluminal pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;117:64.
172. Morgan J, Young L, McGuire W. Slow advancement of enteral feed volumes to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD001241.
173. Morgan J, Young L, McGuire W. Delayed introduction of progressive enteral feeds to prevent necrotising enterocolitis in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD001970.
174. La Gamma EF, Browne LE. Feeding practices for infants weighing less than 1500 G at birth and the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 1994;21:271.
175. Schanler RJ, Shulman RJ, Lau C, et al. Feeding strategies for premature infants: randomized trial of gastrointestinal priming and tube-feeding method. *Pediatrics* 1999;103:434.
176. Bombell S, McGuire W. Early trophic feeding for very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD000504.
177. Caplan MS, Sun XM, Hseuh W, Hageman JR. Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1990;116:960-964.
178. Harris M. C, A. T. Costarino Jr, J. S. Sullivan, S. Dulkerian, L. McCawley, L. Corcoran, S. Butler & L. Kilpatrick: Cytokine elevations in critically ill infants with sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1994;124:105-111.
179. Edelson M. B, C. E. Bagwell & H. J. Rozycki: Circulating pro- and counterinflammatory cytokine levels and severity in necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 1999;103:766-771.

180. Sharma R, Tepas JJ 3rd, Hudak ML, et al. Neonatal gut barrier and multiple organ failure: role of endotoxin and proinflammatory cytokines in sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2007;42:454.
181. Caplan MS, MacKendrick W. Inflammatory mediators and intestinal injury. *Clin Perinatol* 1994;21:235.
182. Caddell JL. A review of evidence for a role of magnesium and possibly copper deficiency in necrotizing enterocolitis. *Magnes Res* 1996;9:55.
183. Johnson L, Quinn GE, Abbasi S, et al. Effect of sustained pharmacologic vitamin E levels on incidence and severity of retinopathy of prematurity: a controlled clinical trial. *J Pediatr* 1989;114:827.
184. Christensen RD. Association between red blood cell transfusions and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 2011;158:349.
185. Christensen RD, Lambert DK, Henry E, et al. Is "transfusion-associated necrotizing enterocolitis" an authentic pathogenic entity? *Transfusion* 2010;50:1106.
186. Blau J, Calo JM, Dozor D, et al. Transfusion-related acute gut injury: necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates after packed red blood cell transfusion. *J Pediatr* 2011;158:403.
187. Mohamed A, Shah PS. Transfusion associated necrotizing enterocolitis: a meta-analysis of observational data. *Pediatrics* 2012;129:529.
188. Stritzke AI, Smyth J, Synnes A, et al. Transfusion-associated necrotising enterocolitis in neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013;98:10.
189. Book LS, Herbst JJ, Atherton SO, Jung AL. Necrotizing enterocolitis in low-birth-weight infants fed an elemental formula. *J Pediatr* 1975;87:602.
190. Carrion V, Egan EA. Prevention of neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 11:317.

191. Davey AM, Wagner CL, Cox C, Kendig JW. Feeding premature infants while low umbilical artery catheters are in place: a prospective, randomized trial. *J Pediatr* 1994;124:795.
192. Carlo WF, Kimball TR, Michelfelder EC, Border WL. Persistent diastolic flow reversal in abdominal aortic Doppler-flow profiles is associated with an increased risk of necrotizing enterocolitis in term infants with congenital heart disease. *Pediatrics* 2007;119:330.
193. Hakanson DO, Oh W. Necrotizing enterocolitis and hyperviscosity in the newborn infant. *J Pediatr* 1977;90:458.
194. Nowicki PT, Oh W, Yao A, et al. Effect of polycythemia on gastrointestinal blood flow and oxygenation in piglets. *Am J Physiol* 1984;247:220.
195. Josephson CD, Wesolowski A, Bao G, et al. Do red cell transfusions increase the risk of necrotizing enterocolitis in premature infants? *J Pediatr* 2010;157:972.
196. Farrar HC, Kearns GL. Cocaine: clinical pharmacology and toxicology. *J Pediatr* 1989;115:665.
197. Murdoch EM, Sinha AK, Shanmugalingam ST, et al. Doppler flow velocimetry in the superior mesenteric artery on the first day of life in preterm infants and the risk of neonatal necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 2006;118:1999.
198. MacKendrick W, Caplan M, Hsueh W. Endogenous nitric oxide protects against platelet-activating factor-induced bowel injury in the rat. *Pediatr Res* 1993;34:222.
199. Reber KM, Nowicki PT. Pressure and flow characteristics of terminal mesenteric arteries in postnatal intestine. *Am J Physiol* 1998;274:290-298.
200. Unthank JL, Bohlen HG. Lymphatic pathways and role of valves in lymph propulsion from small intestine. *Am J Physiol* 1988;254:389-398.

201. Bohlen HG. Mechanism of increased vessel wall nitric oxide concentrations during intestinal absorption. *Am J Physiol* 1998;275:542-550.
202. Bohlen HG, Lash JM. Intestinal lymphatic vessels release endothelialdependent vasodilators. *Am J Physiol* 1992;262:813-818.
203. Balance WA, Dahms BB, Shenker N, et al. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten-year experience. *J Pediatr* 1990;117:6-13.
204. Balance WA, Dahms BB, Shenker N, et al. Pathology of neonatal necrotizing enterocolitis: a ten-year experience. *J Pediatr* 1990;117:6-13.
205. Scholander PF. The master switch of life. *Sci Am* 1963;209:92-106.
206. Touloukian RJ, Posch JN, Spencer R. The pathogenesis of ischemic gastroenterocolitis of the neonate: selective gut mucosal ischemia in asphyxiated neonatal piglets. *J Pediatr Surg* 1972;7:194-205.
207. Alward CT, Hook JB, Helmrath TA, et al. Effects of asphyxia on cardiac output and organ blood flow in the newborn piglet. *Pediatr Res* 1978;12:824-827.
208. Yu VY, Joseph R, Bajuk B, et al. Perinatal risk factors for necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child* 1984;59:430-434.
209. Nowicki PT, Miller CE, Hayes JR. Effect of sustained mesenteric nerve stimulation on intestinal oxygenation in developing swine. *Am J Physiol* 1991;260:333-339.
210. Rhee E, Detti L, Mari G. Superior mesenteric artery flow velocity waveforms in small for gestational age fetuses. *J Matern Fetal Med* 1998;7:120-123.
211. Kempley ST, Gamsu HR. Superior mesenteric artery blood flow velocity in necrotizing enterocolitis. *Arch Dis Child* 1992;67:793-796.
212. Barlow B, Santulli TV. Importance of multiple episodes of hypoxia or cold stress on the development of enterocolitis in an animal model. *Surgery* 1975;77:687-690.

213. Caplan MS, Hedlund E, Adler L, et al. Role of asphyxia and feeding in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis. *Pediatr Pathol* 1994;14:1017-1028.
214. Nowicki PT, Miller CE, Edwards RC. Effects of hypoxia and ischemia on autoregulation in postnatal intestine. *Am J Physiol* 1991;261:162-167.
215. Boros M, Takaichi S, Hatanaka K. Ischemic time-dependent microvascular changes and reperfusion injury in the rat small intestine. *J Surg Res* 1995;59:311-320.
216. Chan KL, Hui CW, Chan KW, et al. Revisiting ischemia and reperfusion injury as a possible cause of necrotizing enterocolitis: role of nitric oxide and superoxide dismutase. *J Pediatr Surg* 2002;37:828-834.
217. Nowicki PT. Effects of sustained flow reduction on postnatal intestinal circulation. *Am J Physiol* 1998;275:758-768.
218. Nowicki PT. Effects of sustained low-flow perfusion on the response to vasoconstrictor agents in postnatal intestine. *Am J Physiol* 1999;276:1408-1416.
219. Nowicki PT, Nankervis CA, Miller CE. Effects of ischemia and reperfusion on intrinsic vascular regulation in the postnatal intestinal circulation. *Pediatr Res* 1993;33:400-404.
220. Nowicki PT. Postnatal changes in gut hemodynamics: a possible role for substance P. *Am J Physiol* 1998;274:1142-1150.
221. Koller A, Kaley G. Endothelial regulation of wall shear stress and blood flow in skeletal muscle microcirculation. *Am J Physiol* 1991;260:862-868.
222. Reber KM, Mager GM, Miller CE, et al. Relationship between flow rate and NO production in postnatal mesenteric arteries. *Am J Physiol* 2001;280:43-50.

223. Leapheart CL, Qureshi F, Cetin S, et al. Interferon-gamma inhibits intestinal restitution by preventing gap junction communication between enterocytes. *Gastroenterology* 2007;132:2395-2411.
224. Nadler EP, Dickinson E, Knisely A, et al: Expression of inducible nitric oxide synthase and interleukin-12 in experimental necrotizing enterocolitis. *J Surg Res* 2000;92:71-77.
225. Hsueh W, Caplan M, Qu X, et al. Neonatal necrotising enterocolitis: Clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol* 2002;6:6-23.
226. Chan KL, Ho JC, Chan KW, et al. A study of gut immunity to enteral endotoxin in rats of different ages: A possible cause of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2002;37:1435-1440.
227. Yoshizumi M, Kurihara H, Morita T, et al. Interleukin 1 increases the production of endothelin-1 by cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;166:324-329.
228. Lee JS, Polin RA: Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Semin Neonatol* 2003;8:449-454.
229. Patole S: Prevention and treatment of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Early Hum Dev* 2007;83:635-642.
230. Halpern MD, Clark JA, Saunders TA, et al: Reduction of experimental necrotizing enterocolitis with anti-TNF-alpha. *Am J Physiol* 2006;290:757-764.
231. Caplan MS, Simon D, Jilling T: The role of PAF, TLR, and the inflammatory response in neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:145-151.
232. Hsueh W, Caplan MS, Qu XW, et al: Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatr Dev Pathol* 2003;6:6-23.

233. Nankervis CA, Schauer GM, Miller CE: Endothelin-mediated vasoconstriction in postischemic newborn intestine. *Am J Physiol* 2000;279:683-691.
234. Miura S, Fukumura D, Kurose I, et al: Roles of ET-1 in endotoxin-induced microcirculatory disturbance in rat small intestine. *Am J Physiol* 1996;271:461-469.
235. Ito Y, Doelle SM, Clark JA, et al: Intestinal microcirculatory dysfunction during the development of experimental necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 2007;61:180-184.
236. Oktar BK, Coçskun T, Bozkurt A, et al: Endothelin-1-induced PMN infiltration and mucosal dysfunction in the rat small intestine. *Am J Physiol* 2000;279:483-491.
237. Massberg S, Boros M, Leiderer R, et al: Endothelin (ET)-1 induced mucosal damage in the rat small intestine: role of ET(A) receptors. *Shock* 1998;9:177-183.
238. Oktar BK, Gülpinar MA, Bozkurt A, et al: Endothelin receptor blockers reduce I/R-induced intestinal mucosal injury: role of blood flow. *Am J Physiol* 2002;282:647-655.
239. Anadol AZ, Bayram O, Dursun A, et al: Role of endogenous endothelin peptides in intestinal ischemia-reperfusion injury in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1998;59:279-283.
240. King-VanVlack CE, Mewburn JD, Chapler CK, et al: Hemodynamic and proinflammatory actions of endothelin-1 in guinea pig small intestine submucosal microcirculation. *Am J Physiol* 2003;284:940-948.
241. Nowicki PT: IL-1 β alters hemodynamics in newborn intestine: role of endothelin. *Am J Physiol* 2006;291:404-413.
242. Markel TA, Crisostomo PR, Wairiuko GE, et al: Cytokines in necrotizing enterocolitis. *Shock* 2006;4:329-337.

243. Grave GD, Nelson SA, Walker WA, et al: New therapies and preventive approaches for necrotizing enterocolitis: report of a research planning workshop. *Pediatr Res* 2007;62:51-54.
244. Menon RK, Shaufli A, Yu JH, Stephan DA, Friday RP. Identification and characterization of a novel transcript of the murine growth hormone receptor gene exhibiting development- and tissue-specific expression. *Mol Cell Endocrinol* 2001;172:135-146.
245. Halpern MD, Holubec H, Dominguez JA, Meza YG, Williams CS, Ruth MC, McCuskey RS, Dvorak B. Hepatic inflammatory mediators contribute to intestinal damage in necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:695-702.
246. Halpern MD, Holubec H, Dominguez JA, Williams CS, Meza YG, McWilliam DL, Payne CM, McCuskey RS, Besselsen DG, Dvorak B. Up-regulation of IL-18 and IL-12 in the ileum of neonatal rats with necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 2002;51:733-739.
247. Thakali K, Fink GD, Watts SW. Arteries and veins desensitize differently to endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;43:387-393.
248. Nathan C, Xie Q: Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994;78:915-918.
249. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L: Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007;87:315-424.
250. Lancaster JR Jr: Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:8137-8141.
251. Tsoukias NM, Kavdia M, Popel AS: A theoretical model of nitric oxide transport in arterioles: frequency- vs. amplitude-dependent control of cGMP formation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:1043-1056.
252. Beckman JS: Ischaemic injury mediator. *Nature* 1990;345:27-28.

253. Denicola A, Souza JM, Radi R: Diffusion of peroxynitrite across erythrocyte membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3566-3571.
254. Alvarez B, Radi R: Peroxynitrite reactivity with amino acids and proteins. *Amino Acids* 2003;25:295-311.
255. Schopfer FJ, Baker PR, Freeman BA: NO-dependent protein nitration: a cell signaling event or an oxidative inflammatory response? *Trends Biochem Sci* 2003;28:646-654.
256. Nowicki PT: The effects of ischemia-reperfusion on endothelial cell function in postnatal intestine. *Pediatr Res* 1996;39:267-274.
257. Shaul PW: Regulation of endothelial nitric oxide synthase: location, location, location. *Annu Rev Physiol* 2002;64:749-774.
258. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, et al: Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:361-368.
259. Prins HA, Houdijk AP, Wiezer MJ, et al: The effect of mild endotoxemia during low arginine plasma levels on organ blood flow in rats. *Crit Care Med* 2000;28:1991-1997.
260. Becker RM, Wu G, Galanko JA, Chen W, Maynor AR, et al. Reduced serum amino acid concentrations in infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 2000;137:785-793.
261. Zamora SA, Amin HJ, McMillan DD, Kubes P, Fick GH, et al. Plasma L-arginine concentrations in premature infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1997;131:226-232.
262. Moonen RM, Paulussen AD, Souren NY, et al: Carbamoyl phosphate synthetase polymorphisms as a risk factor for necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* 2007;62:188-190.

263. Leiper J, Vallance P: Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res* 1999;43:542-548.
264. Richir MC, Siroen MP, van Elburg RM, Fetter WP, Quik F, et al. Low plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine in premature infants with necrotizing enterocolitis. *Br J Nutr* 2007;97:906-11.
265. Vukosavljevic N, Jaron D, Barbee KA, et al: Quantifying the L-arginine paradox in vivo. *Microvasc Res* 2006;71:48-54.
266. Fu TL, Zhang WT, Zhang L, et al: L-arginine administration ameliorates serum and pulmonary cytokine response after gut ischemiareperfusion in immature rats. *World J Gastroenterol* 2005;11:1070-1072.
267. Ward DT, Lawson SA, Gallagher CM, et al: Sustained nitric oxide production via L-arginine administration ameliorates effects of intestinal ischemia-reperfusion. *J Surg Res* 2000;89:13-19.
268. Sukhotnik I, Helou H, Mogilner J, et al: Oral arginine improves intestinal recovery following ischemia-reperfusion injury in rat. *Pediatr Surg Int* 2005;21:191-196.
269. Fukatsu K, Ueno C, Maeshima Y, et al: Effects of L-arginine infusion during ischemia on gut blood perfusion, oxygen tension, and circulating myeloid cell activation in a murine gut ischemia/reperfusion model. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2004;28:224-230.
270. Spanos CP, Papaconstantinou P, Spanos P, et al: The effect of L-arginine and aprotinin on intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Gastrointest Surg* 2007;11:247-255.
271. Kabaroglu C, Akisu M, Habif S, Mutaf I, Turgan N, Parildar Z, Ozmen D, Bayindir O. Effects of L-arginine and L-carnitine in hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *Pediatr Int.* 2005;47:10-14.

272. Akisu M, Ozmen D, Baka M, Habif S, Yalaz M, Arslanoglu S, Kultursay N, Bayindir O. Protective effect of dietary supplementation with L-arginine and L-carnitine on hypoxia/reoxygenation-induced necrotizing enterocolitis in young mice. *Biol Neonate*. 2002;81:260-265.
273. Akisu M, Baka M, Huseyinov A, Kultursay N The role of dietary supplementation with L-glutamine in inflammatory mediator release and intestinal injury in hypoxia/reoxygenation-induced experimental necrotizing enterocolitis. *Ann Nutr Metab*. 2003;47:262-266.
274. Akisu M, Girgin FK, Baka M, Hüseyinov A, Kültürsay N. The role of recombinant human erythropoietin in lipid peroxidation and platelet-activating factor generation in a rat model of necrotizing enterocolitis. *European Journal of Pediatric Surgery* 2001;11:167-172.
275. Amin HJ, Zamora SA, McMillan DD, Fick GH, Butzner JD, et al. Arginine supplementation prevents necrotizing enterocolitis in the premature infant. *J Pediatr* 2002;140:425–31.
276. Neu J, Li N: Pathophysiology of glutamine and glutamate metabolism in premature infants. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007;10:75-79.
277. Ziegler TR, Bazargan N, Leader LM, et al: Glutamine and the gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000;3:355-362.
278. Riedijk MA, de Gast-Bakker DA, Wattimena JL, et al: Splanchnic oxidation is the major metabolic fate of dietary glutamate in enterally fed preterm infants. *Pediatr Res* 2007;62:468-473.
279. Shah P, Shah V: Arginine supplementation for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;18:4339.
280. Akisu M, Baka M, Çoker I, Kültürsay N, Hüseyinov A. Effect of dietary n- 3 fatty acids on hypoxia-induced necrotizing enterocolitis in young mice: n-3 fatty acids alter platelet-activating factor and leukotriene B4 production in the intestine. *Biology of the Neonate* 1998; 74:31-38.

281. Hackam DJ, Upperman JS, Grishin A, et al: Disordered enterocyte signaling and intestinal barrier dysfunction in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:49-57.
282. Upperman JS, Potoka D, Grishin A, Hackam D, Zamora R, et al. Mechanisms of nitric oxide-mediated intestinal barrier failure in necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2005;14:159-66.
283. Tepperman BL, Brown JF, Whittle BJ: Nitric oxide synthase induction and intestinal epithelial cell viability in rats. *Am J Physiol* 1993;265:214-218.
284. Barry M, Aloisi J, Pickering S, et al: Nitric oxide modulates water and electrolyte transport in the ileum. *Ann Surg* 1994;219:382-388.
285. Kubes P: Nitric oxide modulates epithelial permeability in the feline small intestine. *Am J Physiol* 1992;262:1138-1142.
286. Hutcheson IR, Whittle BJ, Boughton-Smith NK: Role of nitric oxide in maintaining vascular integrity in endotoxin-induced acute intestinal damage in the rat. *Br J Pharmacol* 1990;101:815-820.
288. Hoffman RA, Zhang G, Nussler NC, et al: Constitutive expression of inducible nitric oxide synthase in the mouse ileal mucosa. *Am J Physiol* 1997;272:383-392.
288. Chen K, Inoue M, Okada A: Expression of inducible nitric oxide synthase mRNA in rat digestive tissues after endotoxin and its role in intestinal mucosal injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;224:703-708.
289. Mannick EE, Bravo LE, Zarama G, et al: Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Res* 1996;56:3238-3243.
290. Ozen S, Akisu M, Baka M, Yalaz M, Sozmen EY, Berdeli A, Kultursay N: Insulin-like growth factor attenuates apoptosis and mucosal damage in hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *Biol Neonate*. 2005;87:91-96.

291. Potoka DA, Nadler EP, Zhou X, et al: Inhibition of NF-kappaB by IkappaB prevents cytokine-induced NO production and promotes enterocyte apoptosis in vitro. *Shock* 2000;14:366-373.
292. Shiva S, Brookes PS, Patel RP, et al: Nitric oxide partitioning into mitochondrial membranes and the control of respiration at cytochrome c oxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:7212-7217.
293. Viscardi R. M, N. H. Lyon, C. C. Sun, J. R. Hebel & J. D. Hasday: Inflammatory cytokine mRNAs in surgical specimens of necrotizing enterocolitis and normal newborn intestine. *Pediatr Pathol Lab Med* 1997;17:547-559.
294. Harris M. C, L. Kilpatrick, J. Sullivan, S. Dulkerian, L. McCavley & L. Corcoran: Elevations of interleukin-6 in neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis (NEC) *Pediatr Res* 1992;31:204.
295. Weeks J. W, L. Reynolds, D. Taylor, J. Lewis, T. Wan & S. A. Gall: Umbilical cord blood interleukin-6 levels and neonatal morbidity. *Obstet Gynecol* 1997;90:815-818.
296. Romagnoli C, S. Frezza, A. Cingolani, A. De Luca, M. Puopolo, M. P. De Carolis, G. Vento, A. Antinori & G. Tortorolo: Plasma levels of interleukin-6 and interleukin-10 in preterm neonates evaluated for sepsis. *Eur J Pediatr* 2001;160:345-350.
297. Wilson A. G, J. A. Symons, T. L. McDowell, H. O. McDevitt & G. W. Duff: Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:3195-3199.
298. Kaluza W, E. Reuss, S. Grossmann, R. Hug, R. E. Schopf, P. R. Galle, E. Maerker-Hermann & T. Hoehler: Different transcriptional activity and in vitro TNF-alpha production in psoriasis patients carrying TNF-alpha 238A promoter polymorphism. *J Invest Dermatol* 2000;114:1180-1183.

299. Moos V, M. Rudwaleit, V. Herzog, K. Hohlig, J. Sieper & B. Muller: Association of genotypes affecting the expression of interleukin-1beta or interleukin-1 receptor antagonist with osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:2417-2422.
300. Sandford A. J, T. Chagani, S. Zhu, T. D. Weir, T. R. Bai, J. J. Spinelli, J. M. Fitzgerald, N. A. Behbehani, W. C. Tan & P. D. Pare: Polymorphisms in the IL4, IL4RA, and FCER1B genes and asthma severity. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:135-140.
301. Olomolaiye O, N. A. Wood & J. L. Bidwell: A novel NlaIII polymorphism in the human IL-6 promoter. *Eur J Immunogenet* 1998;25:267.
302. Bazrafshani M. R, W. E. Ollier & A. H. Hajeer: A novel PCR-RFLP assay for the detection of the single nucleotide polymorphism at position -1082 in the human IL-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 2000;27:119-120.
303. Giedraitis V, B. He, W. X. Huang & J. Hillert: Cloning and mutation analysis of the human IL-18 promoter: a possible role of polymorphisms in expression regulation. *J Neuroimmunol* 2001;112:146-152 .
304. Treszl A, I. Kocsis, M. Szathmari, A. Schuler, T. Tulassay & B. Vasarhelyi: Genetic variants of the tumour necrosis factor-alpha promoter gene do not influence the development of necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatr* 2001;90:1182-1185.
305. Treszl A, E. Heninger, A. Kalman, A. Schuler, T. Tulassay & B. Vasarhelyi: Lower prevalence of IL-4 receptor alpha-chain gene G variant in very-low-birth-weight infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2003;38:1374-1378.
306. Weitkamp J. H, F. Stuber & P. Bartmann: Pilot study assessing TNF gene polymorphism as a prognostic marker for disease progression in neonates with sepsis. *Infection* 2000;28:92-96.
307. Heninger E, A. Treszl, I. Kocsis, B. Derfalvi, T. Tulassay & B. Vasarhelyi: Genetic variants of the interleukin-18 promoter region (-607) influence the

course of necrotising enterocolitis in very low birth weight neonates. Eur J Pediatr 2002;161:410-411.

308. Niessner M & B. A. Volk: Phenotypic and immunoregulatory analysis of intestinal T-cells in patients with inflammatory bowel disease: evaluation of an in vitro model. Eur J Clin Invest 1995;25:155-164.
309. West G. A, T. Matsuura, A. D. Levine, J. S. Klein & C. Fiocchi: Interleukin 4 in inflammatory bowel disease and mucosal immune reactivity. Gastroenterology 1996;110:1683-1695.
310. Rocken M, M. Racke & E. M. Shevach: IL-4-induced immune deviation as antigen-specific therapy for inflammatory autoimmune disease. Immunol Today 1996;17:225-231.
311. Bokodi G, Derzbach L, Bányász I, Tulassay T, Vásárhelyi B. Association of interferon gamma T+874A and interleukin 12 p40 promoter CTCTAA/GC polymorphism with the need for respiratory support and perinatal complications in low birthweight neonates. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2007;92:25-29.
312. Bányász I, Bokodi G, Vásárhelyi B, Treszl A, Derzbach L, Szabó A, Tulassay T, Vannay A. Genetic polymorphisms for vascular endothelial growth factor in perinatal complications. Eur Cytokine Netw 2006;17:266-270.
313. Vida G, Sulyok E, Ertl T, Martens-Lobenhoffer J, Bode-Boger SM. Plasma asymmetric dimethylarginine concentration during the perinatal period. Neonatology 2007;92:8–13.
314. Sampath V, Le M, Lane L, Patel AL, Cohen JD, Simpson PM, Garland JS, Hines RN. The NFKB1 (g.-24519delATTG) variant is associated with necrotizing enterocolitis (NEC) in premature infants. J Surg Res 2011;169:51-57.
315. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, et al. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. Science 1990;249:1431-1433.

316. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001;1:135-144.
317. Inohara N, Ogura Y, Chen FF, et al. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides. *J Biol Chem* 2001;276:2551-2554.
318. Inohara N, Ogura Y, Nunez G. Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Curr Opin Microbiol* 2002;5:76-80.
319. Takeda K, Kaisho T, Akira S. Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol* 2003;21:335-376.
320. Ogura Y, Inohara N, Benito A, et al. Nod2, a Nod1/Apaf-1 family member that is restricted to monocytes and activates NF-kappaB. *J Biol Chem* 2001;276:4812-4818.
321. Szebeni B, Szekeres R, Rusai K, Vannay A, Veres G, Treszl A, Arató A, Tulassay T, Vársárhelyi B. Genetic polymorphisms of CD14, toll-like receptor 4, and caspase-recruitment domain 15 are not associated with necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;42:27-31.
322. Obladen M. Necrotizing Enterocolitis - 150 Years of Fruitless Search for the Cause. *Neonatology* 2009;96:203-210.
323. Nowicki PT, Reber KM, Giannone PJ, Nankervis CA, Hammond S, et al. Intestinal O₂ consumption in necrotizing enterocolitis: role of nitric oxide. *Pediatr Res* 2006;59:500-555.
324. Anand RJ, Leaphart CL, Mollen KP, Hackam DJ. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Shock* 2007;27:124-133.
325. Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids* 2009;37:1-17.

326. Wu G, Jaeger LA, Bazer FW, Rhoads JM. Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanisms and nutritional implications. *J Nutr Biochem* 2004;15:442-451.
327. Pearson DL, Dawling S, Walsh WF, Haines JL, Christman BW, et al. Neonatal pulmonary hypertension—urea-cycle intermediates, nitric oxide production, and carbamoyl-phosphate synthetase function. *N Engl J Med* 2001;344:1832-1838.
328. Summar ML, Gainer JV, Pretorius M, Malave H, Harris S, et al. Relationship between carbamoyl-phosphate synthetase genotype and systemic vascular function. *Hypertension* 2004;43:186-191.
329. Kallianpur AR, Hall LD, Yadav M, Byrne DW, Speroff T, et al. The hemochromatosis C282Y allele: a risk factor for hepatic veno-occlusive disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:1155-1164.
330. Moonen RM, Reyes I, Cavallaro G, González-Luis G, Bakker JA, Villamor E. The T1405N carbamoyl phosphate synthetase polymorphism does not affect plasma arginine concentrations in preterm infants. *PLoS One*. 2010;5:10792.
331. Watson, S., and Arkinstall, S. Endothelin. In “The G-Protein Linked Receptor Facts Book,” 1994. p. 111, Academic Press, London.
332. Clozel, M. Endothelin receptor antagonist. *Heart Failure Rev.* 2001;4: 249–251.
333. Stow LR, Jacobs ME, Wingo CS, Cain BD. Endothelin-1 gene regulation. *FASEB J* 2011;25:16-28.
334. Kouroumalis E, Notas G. Pathogenesis of primary biliary cirrhosis: a unifying model. *World J Gastroenterol* 2006;12:2320-2327.
335. Tiret L, Poirier O, Hallet V, McDonagh TA, Morrison C, McMurray JJ, Dargie HJ, Arveiler D, Ruidavets JB, Luc G, Evans A, Cambien F. The Lys198Asn polymorphism in the endothelin-1 gene is associated with blood pressure in overweight people. *Hypertension* 1999;33:1169-1174.

336. Asai T, Ohkubo T, Katsuya T, Higaki J, Fu Y, Fukuda M, Hozawa A, Matsubara M, Kitaoka H, Tsuji I, Araki T, Satoh H, Hisamichi S, Imai Y, Ogihara T. Endothelin-1 gene variant associates with blood pressure in obese Japanese subjects: the Ohasama Study. *Hypertension* 2001;38:1321-1324.
337. Jin JJ, Nakura J, Wu Z, Yamamoto M, Abe M, Tabara Y, Yamamoto Y, Igase M, Kohara K, Miki T. Association of endothelin-1 gene variant with hypertension. *Hypertension*. 2003;41:163-167.
338. Kim HJ, Choi CP, Uhm YK, Kim YI, Lee JW, Yoon SH, et al. The association between endothelin-1 gene polymorphisms and susceptibility to vitiligo in a Korean population. *Exp Dermatol* 2007;16:561-566.
339. Vasku° V, Vasku° A, Tschoplova S, Izakovicova Holla L, Semradova V, Vacha J. Genotype association of C(-735)T polymorphism in matrix metalloproteinase 2 gene with G(8002)A endothelin 1 gene with plaque psoriasis. *Dermatology* 2002;204:262-265.
340. Fonseca C, Renzoni E, Sestini P, Pantelidis P, Lagan A, Bunn C, et al. Endothelin axis polymorphisms in patients with scleroderma. *Arthritis Rheum* 2006;54:3034-3042.
341. Smyth AE, Hughes AE, Bruce IN, Bell AL. A case-control study of candidate vasoactive mediator genes in primary Raynaud's phenomenon. *Rheumatology* 1999;38:1094-1098.
342. Aggarwal PK, Jain V, Srinivasan R, Jha V. J Hypertens. Maternal EDN1 G5665T polymorphism influences circulating endothelin-1 levels and plays a role in determination of preeclampsia phenotype. 2009;27:2044-2050.
343. Pare G, Serre D, Brisson D, Anand SS, Montpetit A, Tremblay G, Engert JC, Hudson TJ, Gaudet D. Genetic analysis of 103 candidate genes for coronary artery disease and associated phenotypes in a founder population reveals a new association between endothelin-1 and high-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet* 2007;80:673–682.

344. Vasků A, Spinarová L, Goldbergová M, Muzik J, Spinar J, Vítovec J, Toman J, Vácha J. The double heterozygote of two endothelin-1 gene polymorphisms (G8002A and -3A/-4A) is related to big endothelin levels in chronic heart failure. *Exp Mol Pathol* 2002;73:230-233.
345. Brugada R, Kelsey W, Lechin M, Zhao G, Yu QT, Zoghbi W, Quinones M, Elstein E, Omran A, Rakowski H, Wigle D, Liew CC, Sole M, Roberts R, Marian AJ. Role of candidate modifier genes on the phenotypic expression of hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Investig Med* 1997;45:542-551.
346. Chaar V, Tarer V, Etienne-Julan M, Diara JP, Elion J, Romana M. ET-1 and ecNOS gene polymorphisms and susceptibility to acute chest syndrome and painful vaso-occlusive crises in children with sickle cell anemia. *Haematologica* 2006;91:1277-1278.
347. Manea SA, Robciuc A, Guja C, Heltianu C. Identification of gene variants in NOS3, ET- 1 and RAS that confer risk and protection against microangiopathy in type 2 diabetic obese subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;407:486-490.
348. Marsden PA, Heng HH, Scherer SW, et al. Structure and chromosomal localization of the human constitutive endothelial nitric oxide synthase gene. *J Biol Chem* 1993;268:17478-17488.
349. Khurana VG, Sohni YR, Mangrum WI, et al. Endothelial nitric oxide synthase T-786C single nucleotide polymorphism: a putative genetic marker differentiating small versus large ruptured intracranial aneurysms. *Stroke* 2003;34:2555-2559.
350. Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, Smeeth L, Humphries SE, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2006;164:921-935.

351. Metzger IF, Ishizawa MH, Rios Santos F, Carvalho WA, Tanus Santos JE. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes affect nitrite levels in black subjects. *Pharmacogenomics J* 2010;10:1038.
352. Sandrim VC, Palei AC, Sertorio JT, Cavalli RC, Duarte G, Tanus Santos JE. Effects of eNOS polymorphisms on nitric oxide formation in healthy pregnancy and in pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2010;16:506-510.
353. Gonzalez-Gay, M.A., Llorca, J., Sanchez, E., Lopez-Nevot, M.A., Amoli, M.M., Garcia-Porrua, C., Ollier, W.E., Martin, J. Inducible but not endothelial nitric oxide synthase polymorphism is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in northwest Spain. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43:1182-1185.
354. Joshi MS, Mineo C, Shaul PW, Bauer JA. Biochemical consequences of the NOS3 Glu298Asp variation in human endothelium: altered caveolar localization and impaired response to shear. *FASEB J* 2007;21:2655-2663.
355. Stangl K, Cascorbo I, Laule M: High CA repeat numbers in intron 13 of endothelial nitric oxide synthase gene and increased risk of coronary artery disease. *Pharmacogenetics* 2000;10:133-140.
356. Zanchi A, Moczulski DK, Hana LS, Wantman L: Risk of advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes is associated with endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Kidney Int* 2000;57:405-413.
357. Nakayama M, Yasue H, Yoshimura M: T(-786) C mutation in the 52 flanking region of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with myocardial infarction, especially without coronary artery stenosis. *Am J Cardiol* 2002;86:628-634.
358. de Syllos RW, Sandrim VC, Lisboa HR, Tres GS, Tanus-Santos JE. Endothelial nitric oxide synthase genotype and haplotype are not associated with diabetic retinopathy in diabetes type 2 patients. *Nitric Oxide* 2006;15:417-22.
359. Awata T, Neda T, Iizuka H, Kurihara S, Ohkubo T, Takata N, Osaki M, Watanabe M, Nakashima Y, Sawa T, Inukai K, Inoue I, Shibuya M, Mori K,

- Yoneya S, Katayama S. Endothelial nitric oxide synthase gene is associated with diabetic macular edema in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:2184-9.
360. Ezzidi I, Mtiraoui N, Mohamed MB, Mahjoub T, Kacem M, Almawi WY. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and T-786C polymorphisms in type 2 diabetic retinopathy. *Clin Endocrinol.* 2008; 68: 542-6.
361. Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998;32:3-8.
362. Nassar BA, Bevin LD, Johnstone DE: Relationship of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and early-onset coronary artery disease. *Am Heart J* 2001;142:586-589.
363. van Beynum IM, Mooij C, Kapusta L, Heil S, den Heijer M, Blom HJ. Common 894G>T single nucleotide polymorphism in the gene coding for endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and risk of congenital heart defects. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:1369-1375.
364. Singh A, Sharma D, Raghunandan C, Bhattacharjee J. Role of inflammatory cytokines and eNOS gene polymorphism in pathophysiology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 2010;63:244-251.
365. Yu CK, Casas JP, Savvidou MD, Sahemey MK, Nicolaides KH, Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and development of pre-eclampsia: a case-control study and a meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* 2006;16:6-7.
366. Nelson KB, Dambrosia JM, Iovannisci DM, Cheng S, Grether JK, Lammer E. Genetic polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants. *Pediatr Res* 2005;57:494-499.
367. Gibson CS, MacLennan AH, Dekker GA, Goldwater PN, Dambrosia JM, Munroe DJ, et al. Genetic polymorphisms and spontaneous preterm birth. *Obstet Gynecol* 2007;109:384-391.

368. Miller SP, Wu YW, Lee J, Lammer EJ, Iovannisci DM, Glidden DV, et al. Candidate gene polymorphisms do not differ between newborns with stroke and normal controls. *Stroke* 2006;37:2678-2683.
369. Zhou, L., Zhu, D.Y. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric Oxide*. 2009;20:223-230.
370. Bon, C.L., Garthwaite, J. On the role of nitric oxide in hippocampal longterm potentiation. *J. Neurosci* 2003;23:1941-1948.
371. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, Oliveira SA, Vicente AM. Variants within the nitric oxide synthase 1 gene are associated with stroke susceptibility. *Atherosclerosis* 2012;220:443-448.
372. Saur, D., Paehge, H., Schusdziarra, V. & Allescher, H. D. *Gastroenterology* 2000;118:849-858.
373. Li C, Hu Z, Liu Z, Wang LE, Gershenwald JE, Lee JE, Prieto VG, Duvic M, Grimm EA, Wei Q. Polymorphisms of the neuronal and inducible nitric oxide synthase genes and the risk of cutaneous melanoma: a case-control study. *Cancer* 2007;109:1570-1578.
374. Saur D, Vanderwinden JM, Seidler B, Schmid RM, De Laet MH, Allescher HD. Single-nucleotide promoter polymorphism alters transcription of neuronal nitric oxide synthase exon 1c in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:1662-1667.
375. Yu YW, Chen TJ, Wang YC, Liou YJ, Hong CJ, Tsai SJ. Association analysis for neuronal nitric oxide synthase gene polymorphism with major depression and fluoxetine response. *Neuropsychobiology* 2003;47:137-140.
376. Gałęcki P, Maes M, Florkowski A, Lewiński A, Gałęcka E, Bieńkiewicz M, Szemraj J. Association between inducible and neuronal nitric oxide synthase polymorphisms and recurrent depressive disorder. *J Affect Disord* 2011;129:175-182.

377. Levecque C, Elbaz A, Clavel J, et al. Association between Parkinson's disease and polymorphisms in the nNOS and iNOS genes in a community-based case-control study. *Hum Mol Genet* 2003;12:79-86.
378. Galimberti D, Venturelli E, Gatti A, Lovati C, Fenoglio C, Mariani C, Forloni G, Bresolin N, Scarpini E. Association of neuronal nitric oxide synthase C276T polymorphism with Alzheimer's disease. *J Neurol* 2005;252:985-986.
379. Venturelli E, Villa C, Scarpini E, Fenoglio C, Guidi I, Lovati C, Marcone A, Cortini F, Scalabrini D, Clerici F, Bresolin N, Mariani C, Cappa S, Galimberti D. Neuronal nitric oxide synthase C276T polymorphism increases the risk for frontotemporal lobar degeneration. *Eur J Neurol* 2008;15:77-81.
380. Shinkai T, Ohmori O, Hori H, Nakamura J. Allelic association of the neuronal nitric oxide synthase (NOS1) gene with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 2002;7:560-563.
381. Kishimoto, J., Spurr, N., Liao, M., Lizhi, L., Emson, P., Xu, W. Localization of brain nitric oxide synthase (NOS) to human chromosome 12. *Genomics* 1992;14:802-804.
382. Grasemann, H., Yandava, C.N., Drazen, J.M. Neuronal NO synthase (NOS1) is a major candidate gene for asthma. *Clin. Exp. Allergy Suppl* 1999;4:39-41.
383. Hall, A.V., Antoniou, H., Wang, Y., Cheung, A.H., Arbus, A.M., Olson, S.L., Lu, W.C., Kau, C.L., Marsden, P.A. Structural organization of the human neuronal nitric oxide synthase gene (NOS1). *J. Biol. Chem* 1994;26:33082-33090.
384. Wang, Y., Newton, D.C., Marsden, P.A. Neuronal NOS: gene structure, mRNA diversity, and functional relevance. *Crit. Rev. Neurobiol* 1999;13:21-43.
385. Qidwai T, Jamal F. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene polymorphism and disease prevalence. *Scand J Immunol* 2010;72:375-387.

386. Shen J, Wang RT, Wand LW et al. Ser/Leu polymorphism of iNOS gene was found and identified in Chinese by denaturing high performance liquid chromatography. *Peking Daxue Xuebao* 2001;33:486-492.
387. Johnston BT, Colcher A, Li Q, et al. Repetitive proximal esophageal contractions: A new manometric finding and a possible further link between Parkinson's disease and achalasia. *Dysphagia* 2001;16:186-189.
388. Mearin F, García-González MA, Strunk M, Zárate N, Malagelada JR, Lanas A. Association between achalasia and nitric oxide synthase gene polymorphisms. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1979-1984.
389. Maes, M., Gałeczki, P., Chang, Y.S., Berk, M. A review on the antioxidant status and oxidative and nitrosative pathways in major depression and their possible contribution to the neurodegenerative processes in that illness. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 2011;35:676-692.
390. Fu, L., Zhao, Y., Lu, J., Shi, J., Li, C., Liu, H., Li, Y. Functional single nucleotide polymorphism-1026C/A of inducible nitric oxide synthase gene with increased YY1-binding affinity is associated with hypertension in a Chinese Han population. *J. Hypertens* 2009;27:991-1000.
391. Altindag, O., Karakoc, M., Kocyigit, A., Celik, H., Soran, N. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Biochem* 2007;40:167-171.
392. Tincani, A., Andreoli, L., Bazzani, C., Bosiso, D., Sozzani, S. Inflammatory molecules: a target for treatment of systemic autoimmune diseases. *Autoimmun. Rev* 2007;7:1-7.
393. Kuklinska, A.M., Mroczko, B., Musial, W.J., Sawicki, R., Kozieradzka, A., Waszkiewicz, E., Szmitkowski, M. High-sensitivity C-reactive protein and total antioxidant status in patients with essential arterial hypertension and dyslipidemia. *Adv. Med. Sci* 2009;54:225-232.

394. Subash, P., Premagurumurthy, K., Sarasabharathi, A., Cherian, K.M. Total antioxidant status and oxidative DNA damage in a South Indian population of essential hypertensives. *J. Hum. Hypertens* 2010;24:475-482.
395. Yee WH, Soraisham AS, Shah VS, et al. Incidence and timing of presentation of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Pediatrics* 2012;129:298.
396. Dimmit RA, Lawrance R. Clinical management of necrotizing enterocolitis. *American Academy of Pediatrics* 2001;2:110-117.
397. Wang YJ, Shian WJ, Chang WT, Chen HC, Chi CS. Clinical observation of neonatal gastrointestinal perforation. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1994;53:215-219.
398. Musmeche C, Caplan M, Hsueh W, Sun X, Kelly A. Experimental necrotizing enterocolitis: the role of polymorphonuclear neutrophils. *J Pediatr Surg* 1991;26:1047-1050.
399. Hutter JJ Jr, Hathaway WE, Wayne ER. Hematologic abnormalities in severe neonatal necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1976;88:1026-1031.
400. Kliegman RM. Neonatal necrotizing enterocolitis: Implications for an infectious disease. *Pediatr Clin North Am* 1979;26:327.
401. Jane S Lee, Richard A Polin. Treatment and prevention of necrotizing enterocolitis. *Seminars in Neonatology* 2003;8:449-459.
402. Kliegman RM, Fanaroff AA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med* 1984;310:1093-1103.
403. Daneman A, Woodward S, deSilva M. The radiology of neonatal necrotizing enterocolitis. A review of 47 cases and the literature. *Pediatr Radiol* 1986;7:70.
404. Leonard T, Johnson F, Pettett PG. Critical evaluation of the persistent loop sign in necrotizing enterocolitis. *Radiology* 1982;142:385.

405. Rowe MI. Necrotizing enterocolitis in the extremely low birth weight infants. J Pediatr Surg 1994;29:987.
406. Börnelburg T, von Lengerke HJ. Intrahepatic and portal venous gas detected by ultrasonography. Gastrointest Radiol 1992;17:237.
407. Kosloske AM. Indications for operation in necrotizing enterocolitis revisited. J Pediatr Surg 1994;29:663-666.
408. Ricketts RR, Jerles ML. Neonatal necrotizing enterocolitis: Experience with 100 consecutive surgical patients. World J Surg 1990;14:600-605.
409. Morrison SC, Reid JR, Harrison M, Golz S. Systemic arterial pneumatosis in a neonate with necrotizing enterocolitis. Pediatr Radiol 2004;34:337-339.
410. Hormann M, Pumberger W, Puig S, Kreuzer S, Metz VM. Necrotizing enterocolitis NEC in the newborn Radiologe 2000;40:58-62.
411. Pickworth FE, Franklin K. Case report: ultrasound diagnosis of unsuspected necrotizing enterocolitis. Clin Radiol 1994;49:649-651.
412. Barr LL. Sonography in the infant with acute abdominal symptoms. Semin Ultrasound CT MR 1994;15:275-289.
413. Kosloske AM, Musemeche CA. Necrotizing enterocolitis of neonate. Clin Perinatol 1989;16:97-111.
414. Walsh MC, Kliegman RM, Hack M. Severity of necrotizing enterocolitis: Influence on outcome at 2 years of age. Pediatrics 1989;84:808-814.
415. Ricketts RR. Surgical therapy for necrotizing enterocolitis. Ann Surg 1984;200:359.
416. Beasley SW, Auldist AW, Ramanujan TM, et al. The surgical management of neonatal necrotizing enterocolitis 1975-1984. Pediatr Surg Int 1986;1:210-214.

417. Çakmak Ö, Baskın D, Pektaş O ve ark. Nekrotizan enterokolit: 3 yıllık deneyim. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 1992;6:19-24.
418. Ricketts RR. Necrotizing enterocolitis. In Raffensperger JG(eds): *Swenson's Pediatric Surgery, Fifth Edition*, Connecticut, Appleton-Lange 1990, pp 627-636.
419. Cikrit D, Mastandrea J, West KW, et al. Necrotizing enterocolitis: Factors affecting mortality in 101 surgical cases. *Surgey* 1984;96:648-650.
420. Cheu HW, Sukarochana K, Lloyd DA. Peritoneal drainage for necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 1988;23:557-561.
421. Horwitz JR. Complications after surgical intervention for necrotizing enterocolitis: a multicenter review. *J Pediatr Surg* 1995;30:994-999.
422. Cetinkaya M, Ozkan H, Koksall N. Maternal preeclampsia is associated with increased risk of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Early Hum Dev* 2012;88:893-899.
423. Vieira AA, David BB, Lino RR, Duarte Lde B, Bueno AC. Evaluation of perinatal factors that influence the incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Rev Bras Ginecol Obstet* 2013;35:363-367.
424. Dorling J, Kempley S, Leaf A. Feeding growth restricted preterm infants with abnormal antenatal Doppler results. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2005;90:359-363.
425. Karagianni P, Briana DD, Mitsiakos G, Elias A, Theodoridis T, Chatziioannidis E, Kyriakidou M, Nikolaidis N. Early versus delayed minimal enteral feeding and risk for necrotizing enterocolitis in preterm growth-restricted infants with abnormal antenatal Doppler results. *Am J Perinatol* 2010;27:367-373.
426. Sun XM, Hsueh W. Bowel necrosis induced by tumor necrosis factor in rats is mediated by platelet-activating factor. *J Clin Invest* 1988;81:1328-1331.

427. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J, et al. Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secrete d factor cachectin. *Nature* 1985;316:552-554.
428. Henderson G, Craig S, Baier RJ, Helps N, Brocklehurst P, McGuire W. Cytokine gene polymorphisms in preterm infants with necrotising enterocolitis: genetic association study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2009;94:124-128.
429. Kazzi SNJ, Kim O, Quasney MH. Do alleles of tumour necrosis factor gene affect the susceptibility and/or severity of necrotizing enterocolitis? *Pediatr Res* 2004;55:2754.
430. Hedberg CL, Adcock K, Martin J, et al. Tumor necrosis factor alpha-308 polymorphisim associated with increased sepsis mortality in ventilated very low birth weight infants. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:424-428.
431. Baier RJ, Loggins J, Yanamandra K. IL-10, IL-6 and CD 14 polymorphisms and sepsis outcome in ventilated very low birth weight infants. *BMC Med* 2006;4:10.
432. Dordelmann M, Kerk J, Dressler F, et al. Interleukin-10 high producer allele and ultrasound-defined periventricular white matter abnormalities in preterm infants: a preliminary study. *Neuropediatrics* 2006;37:130-136.
433. Reiman M, Kujari H, Ekholm E, Lapinleimu H, Lehtonen L, Haataja L; PIPARI Study Group. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J Pediatr* 2008;153:19-24.
434. Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF- κ B and the immune response. *Oncogene* 2006;25:6758.
435. Sankararaman S, et al. The prevalence of platelet activating factor acetylhydrolase single nucleotide polymorphisms in relationship to necrotizing enterocolitis in Northwest Louisiana infants.. *Springerplus*. 2013;2:294.

436. Ewer AK, Al-Salti W, Coney AM, Marshall JM, Ramani P, Booth IW. The role of platelet activating factor in a neonatal piglet model of necrotising enterocolitis. *Gut* 2004;53:207-213.
437. Caplan MS, Kelly A, Hsueh W. Endotoxin and hypoxia-induced intestinal necrosis in rats: the role of platelet activating factor. *Pediatr Res* 1992;31:428-434.
438. Ip WK, Takahashi K, Ezekowitz RA, et al. Mannose-binding lectin and innate immunity. *Immunol Rev* 2009;230:9-21.
439. Ip WK, Takahashi K, Moore KJ, et al. Mannose-binding lectin enhances toll-like receptors 2 and 6 signaling from the phagosome. *J Exp Med* 2008;205:169-181.
440. Shimizu T, Nishitani C, Mitsuzawa H, et al. Mannose binding lectin and lung collectins interact with Toll-like receptor 4 and MD-2 by different mechanisms. *Biochim Biophys Acta* 2009;1790:1705-1710.
441. Madsen HO, Garred P, Thiel S, et al. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* 1995;155:3013-3020.
442. Koroglu OA, Onay H, Erdemir G, Yalaz M, Cakmak B, Akisu M, Ozkinay F, Kultursay N. Mannose-binding lectin gene polymorphism and early neonatal outcome in preterm infants. *Neonatology* 2010;98:305-312.
443. Khedun SM, Naicker T, Moodley J. Endothelin-1 activity in pregnancy. *J Obstet Gynaecol* 2002;22:590-593.
444. Bussen S, Sutterlin M, Steck T. Plasma endothelin and big endothelin levels in women with severe preeclampsia or HELLP-syndrome. *Arch Gynecol Obstet* 1999;262:113-119.
445. Saijo Y, Maeda K, Nakaya Y, Kamada M, Mitani R, Endo S, et al. Altered sensitivity to a novel vasoconstrictor endothelin-1 (1-31) in myometrium and

umbilical artery of women with severe preeclampsia. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;286:964-967.

446. Nova A, Sibai BM, Barton JR, Mercer BM, Mitchell MD. Maternal plasma level of endothelin is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:724-727.
447. Agachan B., et al. Effects of endothelin (G8002A) gene polymorphism on serum endothelin levels in Turkish coronary artery disease patients. *Adv Mol Med* 2005;1:125-128.
448. van Haver ER, Oste M, Thymann T, Sys SU, Lamers WH, Weyns AL, Sangild PT, van Ginneken CJ. Enteral feeding reduces endothelial nitric oxide synthase in the caudal intestinal microvasculature of preterm piglets. *Pediatr Res* 2008;63:137-142.
449. Heeringa P, Bijl M, Jager-Krikken A, et al. Renal expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase, and formation of peroxynitrite-modified proteins and reactive oxygen species in Wegener's granulomatosis. *J Pathol* 2001;193:224-232.
450. Heeringa P, van Goor H, Kallenberg CG. Expression of iNOS, eNOS and peroxynitrite-modified proteins in experimental antimyeloperoxidase associated crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998;53:382-393.
451. Dijkstra G, Moshage H, van Dullemen HM, et al. Expression of nitric oxide synthases and formation of nitrotyrosine and reactive oxygen species in inflammatory bowel disease. *J Pathol* 1998;186:416-421.
452. Wang XL, Mahaney MC, Sim AS, Wang J, Wang J, Blangero J, et al. Genetic contribution of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3147-3153.
453. Tsukada T, Yokoyama K, Arai T, Takemoto F, Hara S, Yamada A, et al. Evidence of association of the ecNOS gene polymorphism with plasma NO

metabolite levels in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245:190-193.

454. Veldman BA, Spiering W, Doevendans PA, Vervoort G, Kron AA, de Leeuw PW, et al. The Glu298Asp polymorphism of the NOS 3 gene as a determinant of the baseline production of nitric oxide. *J Hypertens* 2002;20:2023-2027.
455. Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2000;97:2832-2835.
456. Iordanidou M, Paraskakis E, Tavridou A, Paschou P, Chatzimichael A, Manolopoulos VG. G894T polymorphism of eNOS gene is a predictor of response to combination of inhaled corticosteroids with long-lasting β 2-agonists in asthmatic children. *Pharmacogenomics* 2012;13:1363-1372.
457. Howard TD, Giles WH, Xu J, Wozniak MA, Malarcher AM, Lange LA, et al. Promoter polymorphisms in the nitric oxide synthase 3 gene are associated with ischemic stroke susceptibility in young black women. *Stroke* 2005;36:1848-1851.
458. Presciuttini S, Curcio M, Chillemi R, Barbuti S, Scatena F, Carli G, et al. Promoter polymorphisms of the NOS3 gene are associated with hypnotizability-dependent vascular response to nociceptive stimulation. *Neurosci Lett* 2009;467:252-255.
459. Özüm Ü et al. eNOS gene G894T polymorphism as a possible risk factor in aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir* 2008;150:57-61.
460. Şener E, Emiroğulları ÖN, Serhatlıoğlu F. The role of eNOS gene G894T and intron 4 VNTR polymorphisms in hemodialysis patients with vascular access thrombosis. *Anadolu Kardiyol Derg* 2013;13:1-6.

461. Corapcıoglu D, Sahin M, Emral R. et al. Association of the G894T polymorphism of ENOS gene with diabetic foot syndrome foot ulcer, diabetic complications, and comormib vascular diseases: a Turkish case-control study. *Gene Test Mol Biomarkers* 2010;14:483-488.
462. Yılmaz E, Mir S, Berdeli A. eNOS gene polymorphism in eraly term chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc* 2009;41:4361-4365.
463. Ebadi, M., Sharma, S.K., Ghafourifar, P., Brown-Borg, H., El Refaey, H. Peroxynitrite in the pathogenesis of Parkinson's disease and the neuroprotective role of metallothioneins. *Methods Enzymol* 2005;396:276-298.
464. Shavali, S., Combs, C.K., Ebadi, M. Reactive macrophages increase oxidative stress and alpha-synuclein nitration during death of dopaminergic neuronal cells in co-culture: relevance to Parkinson's disease. *Neurochem Res* 2006;31:85-94.

ÖZET

Nekrotizan Enterokolit Patogenezinde Değişik Mediyatörlerin Gen Polimorfizminin Rolü

Amaç: Nekrotizan enterokolit (NEK), özellikle premature bebeklerde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Bunda da NEK' in patogenezinin tam olarak ortaya konulamaması etkilidir. Son çalışmalarda genetik polimorfizmi ile NEK' i de içine alan perinatal morbidite arasında ilişkinin olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) genindeki ekzon 22 G>A polimorfizminin, nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) genindeki ekzon 29 C>T polimorfizminin, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) genindeki G894T polimorfizminin ve endotelin 1 (ET-1) genindeki C8002T polimorfizminin prematüre bebeklerde sık görülen ve mortalitesi yüksek gastrointestinal bir hastalık olan NEK için bir risk faktörü oluşturabileceğini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde Ocak 2008 ve Aralık 2012 tarihleri arasında doğum haftası 32 haftanın altında NEK tanısı alan 64 prematüre bebek ve NEK tanısı almayan 102 prematüre alındı. Toplam 166 prematüre bebekte PCR ve RFLP yöntemleri kullanılarak nNOS ekzon 29 C>T polimorfizmi, iNOS ekzon 22 G>A polimorfizmi, ET-1 C8002T polimorfizmi, eNOS G894T polimorfizmi çalışıldı.

Bulgular: NEK grubundaki 64 prematüre bebeğin ortalama gestasyonel yaşı $28,04 \pm 2,38$ hafta (22-32 hafta), ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ g (580-2780 g) idi. Kontrol grubundaki 102 prematüre bebeğin ortalama gestasyonel yaşı $30,38 \pm 1,78$ hafta (25-32 hafta), ortalama doğum ağırlığı $1547,24 \pm 460,01$ (580-2780) idi. NEK grubunda eNOS G894T genotipleri 33'ünde (%51,6) GG, 13'ünde (%20,3) GT, 18'inde (%28,1) TT idi. Kontrol grubunda eNOS G894T genotipleri 50'sinde (%49) GG, 19'unda (%18,6) GT, 33'ünde (%32,4) TT idi. G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 119 (%59,5), NEK grubunda 79 (%59,8) saptandı. T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 81 (%40,5), NEK grubunda 53 (%40,2) saptandı. .

NEK grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 42'sinde (%65,6) GG, 18'inde (%28,1) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. Kontrol grubunda iNOS 22 ekzon G/A genotipleri 61'inde (%59,8) GG, 35'inde (%34,3) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 154 (%77), NEK grubunda 105 (%79,5) saptandı. A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 46 (%23), NEK grubunda 27 (%20,5) saptandı. NEK grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 27'sinde (%42,2) CC, 31'inde (%48,4) CT, 6'sında (%9,4) TT idi. Kontrol grubunda nNOS 29 ekzon C/T genotipleri 42'sinde (%41,2) CC, 55'inde (%53,9) CT, 5'inde (%4,9) TT idi. C allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 136 (%68), NEK grubunda 88 (%66,7) saptandı. T allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 64 (%32), NEK grubunda 44 (%33,3) saptandı. NEK grubunda ET-1 G8002A genotipleri 41'inde (%64,1) GG, 19'unda (%29,7) GA, 4'ünde (%6,3) AA idi. NEK Kontrol grubunda ET-1 G8002A genotipleri 67'sinde (%65,7) GG, 29'unda (%28,4) GA, 6'sında (%5,9) AA idi. G allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 160 (%80), NEK grubunda 104 (%78,8) saptandı. A allel taşıyıcılığı kontrol grubunda 40 (%20), NEK grubunda 28 (%21,2) saptandı. Hem NEK hem de NEK olmayan bebeklerde eNOS G984T, iNOS 22 ekzon G/A, nNOS 29 ekzon C/T ve ET-1 G8002A gen polimorfizmlerinin genotip sıklığı ve allel sıklığı benzer oranlarda bulundu. NEK evresinin derecesi, NEK oluşma zamanı, bebeğin cinsiyeti ile eNOS G984T, iNOS 22 ekzon G/A, nNOS 29 ekzon C/T ve ET-1 G8002A gen polimorfizmleri arasında anlamlı ilişki bulunmadı. Sadece nNOS 29 ekzon C/T genin TT genotipi (variant) ile evre 1 NEK arasında anlamlı ilişki bulundu.

Sonuç: Bu çalışmada eNOS G984T, iNOS 22 ekzon G/A, nNOS 29 ekzon C/T ve ET-1 G8002A gen polimorfizmlerinin NEK gelişme riskini arttırmadığı bulundu.

Anahtar kelimeler: Nitrik oksit sentaz gen polimorfizmi, endotelin-1 gen polimorfizmi, nekrotizan enterokolit, prematürite

ABSTRACT

The Role of Various Inflammatory Mediators Gene Polymorphisms in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis

Objective: Necrotizing enterocolitis (NEC) is an important reason for morbidity and mortality in preterm infants. Pathogenesis of NEC is still unknown and this is effective for these morbidity and mortality. Recent studies have shown that genetic polymorphisms may be associated with perinatal morbidity, including NEC. The aim of this study is to investigate the potential role of exon 22 G>A polymorphism of the inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene, the exon 29 C>A polymorphism of the neuronal nitric oxide synthase (nNOS) gene, the G894T polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and the C8002T polymorphism of the endothelin-1 (ET-1) gene for NEC which is a common, life-threatening neonatal gastrointestinal disease in preterm infants.

Materials and Methods: The study was performed between January 2008 and December 2012, at Children Hospital of Ege University, Department of Neonatology. 64 premature baby with NEC and 102 premature baby without NEC were included to the study. All babies were under 32nd gestational week. nNOS 29 exon C>T, iNOS exon 22 G>A, ET-1 C8002T and eNOS G894T gene polymorphisms were analyzed with PCR and RFLP at 166 premature baby.

Results: The average gestational age was 28.04 ± 2.38 week (22-32 weeks), the average birth weight was 1547.24 ± 460.01 g (580-2780 g) in the NEC group. The average gestational age was 30.38 ± 1.78 week (25-32 weeks), the average birth weight was 1547.24 ± 460.01 (580-2780) in the control group. eNOS G894T gene GG, GT and TT genotype frequencies were 51.6%, 20.3%, and 28.1% in the NEC group. eNOS G894T gene GG, GT and TT genotype frequencies were 49%, 18.6% and 32.4% in the control group. The frequencies of the G allele was 59.5% in the control group, the frequencies of the G allele was 59.8% in the NEC group. The frequencies of the T allele was 40.5% in the control group, the frequencies of the T allele was 40.2% in the NEC group.

iNOS 22 exon G/A gene GG, GA and AA genotype frequencies were 65.6%, 28.1% and 6.3% in the NEC group. iNOS 22 exon G/A gene GG, GA and AA genotype frequencies were 59.8%, 34.3%, and 5.9% in the control group. The frequencies of the G allele was 77% in the control group, the frequencies of the G allele was 79.5% in the NEC group. The frequencies of the A allele was 23% in the control group, the frequencies of the A allele was 20.5% in the NEC group. nNOS 29 exon C/T gene CC, CT and TT genotype frequencies were 42.2%, 48.4% and 9.4% in the NEC group. nNOS 29 exon C/T gene CC, CT and TT genotype frequencies were 41.2%, 53.9% and 4.9% in the control group. The frequencies of the C allele was 68% in the control group, the frequencies of the C allele was 66.7% in the NEC group. The frequencies of the T allele was 32% in the control group, the frequencies of the T allele was 33.3% in the NEC group. ET-1 G8002A gene GG, GA and AA genotype frequencies were 64.1%, 29.7% and 6.3% in the NEC group. ET-1 G8002A gene GG, GA and AA genotype frequencies were 65.7%, 28.4% and 5.9% in the control group. The frequencies of the G allele was 80% in the control group, the frequencies of the G allele was 78.8% in the NEC group. The frequencies of the A allele was 20% in the control group, the frequencies of the A allele was 21.2% in the NEC group.

There were no significant differences between the NEC and control groups for genotype distributions and allele frequencies of eNOS G984T, iNOS 22 exon G/A, nNOS 29 exon C/T and ET-1 G8002A gene polymorphisms. There were no significant differences between NEC stage, sex and diagnosis time with eNOS G984T, iNOS 22 exon G/A, nNOS 29 exon C/T and ET-1 G8002A gene polymorphisms. A significant difference was determined between nNOS 29 exon C/T gene TT genotype and stage 1 NEC only.

Conclusion: These results suggest that eNOS G984T, iNOS 22 exon G/A, nNOS 29 exon C/T and ET-1 G8002A gene polymorphisms are not associated with development of NEC.

Key words: Nitric oxide synthase gene polymorphisms, endothelin-1 gene polymorphism, necrotizing enterocolitis, prematurity