

TAVŞANLARDA ENDOTOKSİN İLE OLUŞTURULAN DİSSEMİNE İNTRAVASKÜLER KOAGULASYON ÜZERİNE VİTAMİN E VE PREDNİSOLON'UN ETKİLERİ*

Ramazan Çöl¹@

Zafer Durgun¹

Effects of Vitamin E and Prednisolone on Endotoxin-induced Disseminated Intravascular Coagulation in Rabbits

Özet: Bu çalışma, tavşanlarda endotoksin ile oluşturulan dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) üzerine E vitamini ve Prednisolon'un etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Hayvanlar üç eşit gruba ayrıldı. Endotoksemi, tüm gruplardaki hayvanlara 6 saat boyunca 100 µg/kg/saat dozunda endotoksin (E. coli 0.111:B4) infüzyonu ile oluşturuldu. Birinci grup kontrol (K) olarak kullanılırken ikinci grubu oluşturan hayvanlara (E) 4 gün 10 mg/kg/gün İP Vitamin E enjeksiyonu yapılarak son enjeksiyonu takiben 10. dakikadan itibaren endotoksin infüzyonuna başlandı. Üçüncü gruptaki (P) hayvanlara ise endotoksin infüzyonundan 30 dakika önce 10mg/kg SK prednisolon verildi. Endotoksin infüzyonundan hemen önce (0.saat) ve infüzyonu izleyen 2., 4. ve 6. saatlerde kan örnekleri alındı. Çalışmada; endotoksin (K) grubunda APTT, PT ve TT' de önemli derecede uzama, fibrinojen konsantrasyonu ve trombosit sayısında düşme, D-dimer seviyesinde yükselme ve lökopeni gözlenirken, akıyuar tipleri yüzdelerinde ise örnekleme zamanlarına göre anlamlı değişimler kaydedildi. Buna karşın; Vitamin E ve Prednisolon uygulamasının hemostatik ve hematolojik birçok parametrede meydana gelen olumsuz değişiklikleri önemli düzeyde baskıladığı belirlendi. Söz konusu etkinin E grubunkine göre P grubunda daha belirgin olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Dissemine intravasküler koagülasyon, Prednisolon, E Vitamini

Summary: This study was conducted to determine the protective effects of prednisolone and vitamin E on the development of endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in rabbits. Experimental DIC was induced in all groups by intravenous infusion of 100 µg/kg/h lipopolysaccharide (E coli 0111:B4, LPS) for 6 h in 60 ml saline (10 ml/h). Vitamin E was injected (10 mg/kg,İP) for 4 successive days, and LPS was infused 10 min after the final vitamin E injection. Prednisolone was injected (10 mg/kg,SC) 30 min before the administration of LPS. Hemostatical and hematological markers at 0, 2,4, and 6 hr were determined. In this study, in the rabbits only receiving endotoxin we observed an important prolongation in APTT, PT and TT, and a decrease in platelet count and fibrinogen level, and an increase in D-dimer concentration, and leukopenia, and also significant changes in the percentage of differential leukocytes at sampling times. However, the administrations of prednisolone and vitamin E significantly caused the suppression on the determined parameters. We have suggested that the treatments of prednisolone and vitamin E may be useful in LPS-induced DIC, and we have concluded that prednisolone has more effective than vitamin E.

Key words: Disseminated intravascular coagulation, Prednisolone, Vitamin E

Giriş

Sepsis prognozu yönüyle modern tıbbın en kompleks hastalıkları arasında gösterilmektedir. Son yıllarda antimikrobiyal tedavide çok önemli gelişmeler olmasına rağmen sepsis hala özellikle şok ve multiple organ yetersizliği durumunda ciddi hayati tehlike oluşturmaktadır (mortalite %60) (Hesseltik ve ark., 1989; Hack, 1993; Munoz ve ark., 1999).

Sepsiste bakteriler tarafından oluşturulan enfeksiyonun morbidite ve mortalitesi üzerinde bakterilerin (özellikle gram-negatif) membranlarındaki

LPS yapısında olan endotoksinin önemli rolü olduğu bildirilmektedir (Levi ve ark., 1997; Hardaway, 2000). Kanda LPS humoral ve sellüler etkiler oluşturmaktadır. Humoral seviyede LPS, kompleman sistemini aktive etmekte ve koagülasyon sisteminin farklı yollarını etkilemektedir. Doku faktörü ve FX'un aktivasyonu ile Antitrombin III'ün (ATIII) tüketimi sonucu fibrin şekillenmesini hızlandırarak ve plazminojen aktivatör inhibitör tip-1'in (PAI-1) plazma seviyesini yükseltmesiyle fibrin taşınmasını azaltarak dissemine intravasküler koagülasyon (DIC) oluşumuna sebep olmaktadır. Hücresel seviyede ise LPS bir çok hücreyi stimüle ederek bazı aktif mo-

leküllerin sekresyonuna yol açmaktadır (Hardaway, 2000). LPS ile etkileşimden sonra B lenfositler poliklonal olarak aktifleşmekte ve immunglobulinleri sekrete etmekte, mast hücreleri ve bazofiller kemotaktik faktör, histamin ve serotonin üretmekte, plateletler ise büyüme ve koagülasyon faktörlerini sekrete etmektedirler. Nötrofiller serbest oksijen radikalleri salarlarken monosit, makrofaj ve endotel hücreleri önemli ölçüde yangısal sitokinler üretmektedirler (Levi ve ark., 1997; Levi ve ark., 2000).

DIC; sepsiste bazı tetikleyicilerle (bakteri, virus, lipopolisakkarit, stafilokokal α hemolizin vb.) intravasküler koagülasyon mekanizmasının aktive edilmesiyle başlayan, özellikle kapiller damarlarda sistemik bir biçimde fibrin şekillenmesiyle sonuçlanan, koagülasyon faktörleri ve trombositlerin kullanılması yanında fibrin yıkılma ürünlerinin de kanda birikmesiyle karakterize olan edinsel bir sendromdur (Levi ve ark., 1997). Bu durumda söz konusu mikropitlar nedeniyle gelişen hemodinamik ve metabolik düzensizlikle bağlantılı olarak organlara yeterince kan desteği sağlanamamakta ve doku işemisi gelişerek multiple organ yetersizliği ile birlikte platelet ve koagülasyon proteinlerinin tüketimi sonucu şiddetli kanama komplikasyonları oluşmaktadır (Hesselvik ve ark., 1989; Hack 1993).

Endotoksinin toksik etkisi başlıca TNF α , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinlerce ayarlanmaktadır (Michie ve ark., 1988; Van Devender ve ark., 1990). Günümüzde sepsiste koagülasyon ve fibrinolizisin patogenezi üzerinde yapılan bir çok çalışmada, sitokinlerin rolü üzerinde durulmakta (Van Devender ve ark., 1990; Jansen ve ark., 1995; Han ve ark., 1999) ve koagülasyon aktivasyonunda (ekstrinsik sistem aktivasyonu) özellikle IL-6 ile IL-1, antikoagülan mekanizma ve fibrinolizisin bozulmasında ise başlıca TNF α 'nın etkin olduğu kaydedilmektedir (Levi ve ark., 1997; Weiss ve Rashid, 1998).

Glukokortikoidler çok güçlü anti-enflamatuvar ve immunosupressif etkiye sahip olup sitokinlerin ve yangısal cevabın oluşması için ihtiyaç duyulan birçok hücre yüzey molekülünün sentezini inhibe etmektedirler (Han ve ark., 1999). Prednisolon gibi glukokortikoidlerin uygulanması DIC'i indükleyen yangısal sitokinlerin plazma seviyesinde azalmaya ve klinik olarak iyileşmeye sebep olmaktadır (Yamazaki ve ark., 1999; Han ve ark., 1999). Ayrıca sözkonusu maddeler hemostazis için büyük önem taşıyan en-

dotelyal bütünlüğü ve doku perfüzyonunu korumaya katkı sağlamakta, koagülasyon aktivasyonunu ve nötrofil agregasyonunu azaltmakta, hücreleri ve özellikle lizozomal enzimleri stabilize etmekte ve bir çok mediyatör salınımını (serbest radikaller gibi) engellemektedir (Latour, 1983).

E vitamini platelet agregasyonunun inhibisyonuna sebep olmaktadır (Yoshikawa ve ark., 1982). Ayrıca E vitamini serbest radikalleri ve aktif oksijenleri bastırarak lipid peroksidasyonu ve mortaliteyi azaltmakta ve endotoksemide gelişen endotel hasara karşı koruyucu bir etkiye sahip olmaktadır (Takeda ve ark., 1986; Basu ve Eriksson, 2000).

Materyal ve Metot

Araştırmada Adana Veteriner Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen sağlıklı ve canlı ağırlıkları 1.5-2.5 kg civarında olan 30 adet erkek Yeni Zelanda ırkı tavşandan yararlanıldı. Hayvanlar deneme süresi boyunca, S.Ü. Veteriner Fakültesi Deneme Hayvanları Ünitesi'ndeki padoklarda barındırıldı. Araştırmaya başlamadan önce hayvanlar bir hafta süre ile çalışma ortamında tutuldu ve araştırma süresi boyunca barınakların ısısı ortalama 20°C dolayındaydı. Hayvanlar standart tavşan yemi ile ad libitum beslenirken önlerinde sürekli temiz su bulunduruldu.

Çalışmaya başlamadan önce hayvanlar gerekli sağlık kontrolünden geçirilerek canlı ağırlıkları belirlendi ve ortalama canlı ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde üç eşit gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol (K) olarak kullanılırken, hayvanlara 6 saat boyunca 100 μ g/kg/saat dozunda endotoksin (*Esherichia Coli* lipopolisakkariti, 0.111:B4 serotip, Sigma SIL4130) infüzyon tarzında uygulandı. İkinci grubu oluşturan hayvanlara ise yine aynı süre ve dozdaki endotoksin infüzyonundan önceki 4 gün 10 mg/kg/gün İP Vitamin E (E) (DL-alpha tocopherol acetat, Evigen® amp, Aksu Farma, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu yapılarak son enjeksiyonu takiben 10. dakikadan itibaren endotoksin infüzyonuna başlandı. Üçüncü gruptaki (prednisolon, P) hayvanlara aynı süre ve dozdaki endotoksin infüzyonundan 30 dakika önce 10mg/kg SK prednisolon (Prednisolon® amp, Fako, İstanbul, Türkiye) verildi. Her üç gruptaki hayvanların arteria femoralislerinden anestezi altında ve sırasıyla kan alındıktan sonra (0.saat) hayvanların marjinal kulak venlerine serum fizyolojikte dilue edilmiş endotoksin infüzyonuna başlandı. İnfüzyonu izleyen

2., 4. ve 6. saatlerde tekrar aynı sırayla kan örnekleri alındı. Alınan örneklerde; plazma APTT, PT, TT, fibrinojen ve D-Dimer düzeyleri ile kan platelet sayısı, lökosit sayısı ve lökosit yüzdeleri belirlendi.

Anestezi: Hayvanlar anestezisyne alınmadan önceki 12 saat boyunca aç bırakıldıktan sonra intramusküler olarak 2×10^{-3} mg/kg ksilazin hidroklorür ve 30 mg/kg ketamin hidroklorür uygulaması ile anestezisyne alındı ve anesteziy, çalışma süresince intramusküler olarak ketamin hidroklorür'ün idame dozu (15 mg/kg) ile sürdürüldü (Hermida ve ark., 1999; Munoz ve ark., 1999).

Deneysel endotokseminin oluşturulması: Bu amaçla her hayvan için 600 µg/kg canlı ağırlık miktarındaki endotoksin (*Escherichia Coli* lipopolisakkarit, 0.111:B4 serotip, Sigma SIL4130) 60 ml serum fizyolojik içerisinde çözündürüldükten sonra infüzyon uygulamasına kadar -20°C'de muhafaza edildi. Uygulanacağında endotoksin 37°C'lik su banyosunda çözündürüldükten sonra; daha önce tavşanların marjinal kulak venine basit dikişlerle sabitlenen steril intraket aracılığıyla saatte 10 ml hızla ve 6 saat süresince infüze edildi. (Hermida ve ark., 1999; Munoz ve ark., 1999; Montes ve ark., 2000).

Kan örneklerinin alınması, işlenmesi ve depolanması: Kan örnekleri endotoksin infüzyonundan hemen önce (0. saat) ve infüzyondan sonraki 2., 4. ve 6. saatlerde femoral artere yerleştirilen intraket yardımıyla alındı. Alınan kanlar, içerisinde %3.8'lik sodyum sitrat bulunan tüplere 1/9 oranında yavaşça boşaltıldıktan sonra kan ile antikoagülantın iyice karışması sağlandı. Kan örnekleri en fazla 2 saat içerisinde santrifüj edilmek şartıyla buz içinde muhafaza edildi. PT, APTT, TT, Fibrinojen ve D-Dimer düzeylerinin belirlenmesi amacıyla 3000 devirde +4°C'de 20 dakika boyunca santrifüj edilen (Hettich zentrifugen, universal 30RF) kan örneklerinden elde edilen plazmalar analiz edilene kadar -70°C'de depo edildi (Warr ve ark., 1990). Ayrıca trombosit ve lökosit sayımı ile lökosit formülünün belirlenmesi amacıyla EDTA'lı tüplere yeterince kan alındı (1.2 mg EDTA/ml kan).

Hemostatik analizler:

Protrombin zamanı (PT), Aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (APTT), Trombin zamanı (TT) ve Fibrinojen düzeyi dijital koagulometrede (Option

2 Plus coagulometer, bioMerieux, 1668, Behnk Electronic, Germany) herbir parametre için özel kitleri yardımıyla (sırasıyla; HEMOLAB Isimat 1 (bioMerieux), HEMOLAB Silimat (bioMerieux), Thromboquik (organon teknika corporation), HEMOSTAT fibrinogen (bioMerieux)) belirlenirken D-Dimer düzeyinin belirlenmesi için Amex-190 otomatik koagulometre ve "AUTO D-Dimer" kitinden (Sigma diagnostics) yararlanılmıştır.

Hematolojik analizler:

Trombosit sayımı: EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri (1.2 mg EDTA/ ml kan), alyuvar sulandırma pipetlerinde Rees-Ecker eriyiği ile 100 kat sulandırıldıktan sonra ışık mikroskopunda (olympus optical co. LTD, Japan) 40'luk objektifle ve Thoma lamı yardımıyla incelenerek hücrelerin sayımı gerçekleştirildi (Konuk, 1981).

Lökosit sayımı: Kan örneklerinin lökosit sulandırma pipetinde Türk eriyiği ile 10 kat sulandırılmasından sonra klasik sayma yöntemiyle ışık mikroskopunda (olympus optical co. LTD, Japan) ve Thoma lamı kullanılarak incelenmesiyle hücrelerin sayısı belirlendi (Konuk, 1981).

Lökosit formülü: Lökosit tiplerinin yüzde oranları May Grünwald-Giemsa boyama yöntemi ile boyanan sürme kan frotilerinde hücrelerin ışık mikroskopunun immersiyon objektifinde identifikasyonu yoluyla belirlendi (Konuk, 1981).

İstatistik Analizler:

Araştırmada incelenen parametrelerin gruplar arası ve grup içi farklılıklarının istatistiksel analizinde SPSS 10.0 programından tukey testi kullanılmıştır (SPSS, 1998).

Bulgular

Çalışmada K (Kontrol, Endotoksin), E (Vit. E+ Endotoksin) ve P (Prednisolon + Endotoksin) gruplarında endotoksin infüzyonu öncesi (0. saat) ile uygulamayı izleyen 2., 4., ve 6. saatlerde belirlenen ortalama aktive edilmiş parsiyel tromboplastin zamanı (APTT), protrombin zamanı (PT), trombin zamanı (TT) ile fibrinojen ve D-Dimer düzeyleri Tablo 1'de, ortalama trombosit ve lökosit sayısı ile lökosit yüzdeleri ise Tablo 2'de sunulmaktadır.

Tablo 1: Endotoksin (K) , Vitamin E + Endotoksin (E) ve Prednisolon + Endotoksin (P) gruplarında belirlenen hemostatik parametreler (n=10, x±SEM)

PARAMETRELER	GRUPLAR	ÖRNEKLEME ZAMANI (saat)			
		0	2	4	6
APTT (Saniye)	K	65,71±2,22 c	73,39±3,56 c	105,67±3,62 b A	129,13±3,95 a A
	E	63,49±3,56 b	65,10±2,51 b	68,35±2,12 b B	77,43±2,05 a B
	P	64,01±2,27 b	65,07±2,28 ab	66,24±1,55 ab B	71,94±1,85 a B
PT (Saniye)	K	13,45±0,34 d	15,53±0,38 c A	20,50±0,48 b A	27,27±0,50 a A
	E	12,91±0,50 c	13,85±0,48 bc B	15,24±0,43 b B	17,10±0,48 a B
	P	13,88±0,39 b	13,31±0,43 b B	14,85±0,45 b B	16,34±0,43 a B
TT (Saniye)	K	15,79±0,43 c	16,64±0,47 c	19,80±0,51 b A	23,75±1,52 a A
	E	15,44±0,25 b	15,74±0,54 b	16,58±0,60 ab B	18,25±0,55 a B
	P	15,06±0,37 b	15,25±0,38 b	15,92±0,69 b B	17,10±0,62 a B
FİBRİNOJEN (g/l)	K	2,92±0,10 a	2,48±0,11 b	1,88±0,06 c B	1,40±0,05 d B
	E	2,71±0,14 a	2,64±0,15 ab	2,20±0,11 bc A	1,97±0,11 c A
	P	2,67±0,10 a	2,60±0,08 a	2,43±0,07 ab A	2,19±0,05 b A
D-DİMER (µg/ml)	K	0,18±0,01 c	0,21±0,02 c	0,47±0,03 b A	0,78±0,05 a A
	E	0,20±0,02 b	0,24±0,03 b	0,39±0,04 a AB	0,48±0,05 a B
	P	0,18±0,01 b	0,21±0,01 b	0,30±0,02 a B	0,37±0,03 a B

a, b, c, d ; aynı satırda değişik harf taşıyan saatler arası farklılık önemli (P<0.05).

AB; aynı sütünde aynı parametreye ait değişik harf taşıyan gruplar arası farklılık önemli (P<0.05).

Tablo 2: Endotoksin (K) , Vitamin E + Endotoksin (E) ve Prednisolon + Endotoksin (P) gruplarında belirlenen hematolojik parametreler (n=10, x±SEM)

PARAMETRELER	GRUPLAR	ÖRNEKLEME ZAMANI (saat)			
		0	2	4	6
TROMBOSİT (X10 ⁹ /L)	K	483±15 a	256±14 b B	164±8 c C	112±5 d C
	E	472±18 a	365±18 b A	311±12 c B	259±12 d B
	P	494±13 a	380±15 b A	356±15 bc A	307±18 c A
LÖKOSİT (x10 ³ /mm ³)	K	5,95±0,36 a	1,43±0,27 c B	1,36±0,16 c C	2,60±0,32 b B
	E	6,68±0,80 a	1,75±0,19 b AB	2,10±0,27 b B	3,35±0,36 b B
	P	6,30±0,38 a	2,45±0,28 c A	3,02±0,20 c A	4,95±0,59 b A
A Heterofil	K	32,10±1,68 a	7,50±1,04 c B	6,20±1,31 c C	18,50±2,34 b C
	E	37,10±2,51 a	10,50±1,26 b B	17,10±2,13 b B	29,30±3,39 a B
	P	35,40±2,32 b	16,70±2,09 c A	30,40±2,31 b A	52,80±2,71 a A
V Lenfosit	K	61,60±1,94 c	88,90±1,29 a A	90,40±1,24 a A	78,00±2,41 b A
	E	57,70±2,37 c	85,60±1,38 a AB	79,20±2,12 a B	67,90±3,44 b B
	P	58,90±2,57 c	80,70±2,06 a B	67,70±2,23 b C	45,90±2,65 d C
% Monosit	K	3,40±0,65	1,80±0,33 AB	2,10±0,28 A	2,50±0,37 A
	E	2,80±0,42	2,30±0,34 A	2,20±0,29 A	1,70±0,26 AB
	P	3,10±0,46 a	1,30±0,15 b B	1,10±0,01b B	0,80±0,25 b B
R Eozinofil	K	1,80±0,29 a	0,90±0,23 b	0,70±0,21 b	0,60±0,22 b
	E	1,50±0,17 a	1,00±0,21 ab	0,90±0,23 ab	0,70±0,15 b
	P	1,60±0,22 a	0,90±0,18 b	0,50±0,17 b	0,40±0,16 b
L Bazofil	K	1,10±0,28	0,90±0,18	0,60±0,22	0,40±0,16
	E	0,90±0,23	0,60±0,16	0,60±0,22	0,40±0,16
	P	1,00±0,21 a	0,40±0,16 b	0,30±0,15 b	0,10±0,01 b

a, b, c, d ; aynı satırda değişik harf taşıyan saatler arası farklılık önemli (P<0.05).

A, B, C; aynı sütünde aynı parametreye ait değişik harf taşıyan gruplar arası farklılık önemli (P<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Tavşanlarda endotoksin uygulaması ile oluşturulan DIC üzerine E vitamini ve prednisolon'un etkilerinin araştırılmasının amaçlandığı çalışmada, tüm grupları oluşturan hayvanlarda 100µg/kg/saat dozunda E.coli lipopolisakkaridinin (0111:B4 serotipi) intravenöz 6 saat süreli infüzyonuyla deneysel endotoksemi gerçekleştirildi (Warr ve ark., 1990; Munoz ve ark., 1999; Hermida ve ark., 1999; Montes ve ark., 2000). Plazma Vitamin E düzeyinin sürekliliğini sağlamak amacıyla verilmesi gereken miktarın tavşan, rat, fare gibi birçok laboratuvar hayvanında 10-50 mg/kg dolayında olması gerektiği yolundaki bildirimler (Yoshikawa ve ark., 1982; Marques ve ark., 1987; Broner ve ark., 1989; Sugimoto ve ark., 1991) dikkate alınarak; araştırmanın E vitamini verilen grubunu oluşturan tavşanlara endotoksin infüzyonundan önceki 4 gün 10 mg/kg dozunda vitamin E intraperitoneal olarak enjekte edildi. Prednisolon uygulanan hayvanlarda ise 10mg/kg dozda subkutan prednisolon uygulamasının deneysel endotoksemide etkili olduğu ve hemostatik parametreler ile plazma sitokin düzeyleri üzerine etkili olduğu bildiriminden (Yamazaki ve ark., 1999) hareketle, prednisolon enjeksiyonu endotoksin uygulamasından 30 dakika önce aynı doz ve yolla yapıldı.

Bütün deneysel modellerde, endotoksinin lokal yada sistemik olarak özellikle TNF ve IL gibi sitokinleri aktive etmesi sonucu etkinleşen doku faktörü/FVIIa yolu ile koagülasyon aktive edilmektedir. Bu süreçte, endotoksin infüzyonundan sonraki 3-5 saatlerde oluşan trombin; endotokseminin en önemli komplikasyonlarından biri olan DIC'in şekillenmesine yol açmaktadır (Van Devender ve ark., 1990; Levi ve ark., 1999). Bu nedenle çalışmada, endotoksin infüzyonunu izleyen 6.saat son örnekleme zamanı olarak değerlendirildi.

Araştırmada Kontrol grubu hayvanlarda belirlenen uzamış APTT, endotoksin ile oluşturulan DIC'in seyri endojen pıhtılaşma sisteminin olumsuz etkilendiğinin göstergesi sayılabilir. Kontrol grubunda 0.saatte saptanan APTT değeri; Kouz ve ark (1996)'nın tavşanlara doku faktörü vererek oluşturdukları DIC modelindeki bazal değere (65 saniye) uygunluk gösterirken, çalışmada 6.saatte 129.13 saniye olarak bulunan APTT değeri aynı araştırmacıların 7.saatte elde ettikleri 200 saniyelik değerden daha düşüktü. Bunun muhtemel sebebi, araştırmacıların (Kouz ve ark., 1996) deneysel DIC'i doku faktörü ile oluşturmaları ve APTT ölçümünü 7.saatte yapmalarına bağlanabilir. Yine İzutani ve ark. (2000)'nin E.coli lipopolisakkaridinin (0127:B8) ratlara 1 saat boyunca infüzyonuyla (50 mg/kg) oluşturdukları modelde, APTT; kontrol grubunda 35.4 saniye iken deneme

grubunda toksin infüzyonunu izleyen 2.saatte 137.5 saniye olarak belirlenmiştir. Çalışmada APTT'deki önemli düzeyde uzama, sözkonusu araştırma bulgularıyla uyum içindedir. Çalışmada endotoksin infüzyonu öncesi prednisolon veya E vitamini uygulamasının APTT'nin uzamasını önemli derecede ($P<0.05$) inhibe ettiği görüldü (Tablo 1). Bu bulgu, Yoshikawa ve ark (1982)'nin vitamin E uygulaması yaptıkları ratlara E.coli endotoksininin (055:B5) 4 saat süreli infüzyonuyla oluşturdukları DIC modelindeki PTT (parsiyel tromboplastin zamanı)'de gözledikleri değişime benzerlik göstermektedir.

Çalışmada, eksojen pıhtılaşma sisteminde rol oynayan faktörlerin aktivitelerindeki değişikliklerin saptanması amacıyla ölçülen PT değeri; kontrol grubunda son örneklemede (6.saat), Kouz ve ark (1996)'nın doku faktörü infüzyonunun 7.saatinde belirttikleri PT değerinden hafif düşük bulundu. Yamazaki ve ark (1999)'nin E. coli endotoksinini (055:B5) 30 mg/kg dozunda 4 saat boyunca infüze ederek ratlarda oluşturdukları deneysel DIC modelinde aynı parametre örneklemenin 0.saatinde 12.3 saniye iken sonuncu örneklemede (4.saat) 46.1 saniye olarak rapor edilmektedir. Benzer şekilde tavşan ve ratlarda oluşturulan deneysel DIC'de PT değerinin patolojik olarak uzadığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Ito ve ark., 1990; Yoshikawa ve ark., 1990; Gonda ve ark., 1993; Kawamura ve ark., 1993; Scherer ve ark., 1995; Fujita ve ark., 2000). Birçok deneysel DIC modelinde PT'nin uzaması bulgusu, çalışma sonuçlarıyla aynı olup eksojen pıhtılaşma yolunun deneysel DIC'den etkilenmiş olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada endotoksin infüzyonu öncesi uygulanan vitamin E ve prednisolonun, PT'deki uzamayı önemli düzeyde bastırdığı gözlemlendi (Tablo 1). P grubunda elde edilen bulgular, Yamazaki ve ark (1999)'nin E.coli endotoksinini (055:B5) 30mg/kg dozunda 4 saat süreli olarak infüze ederek ratlarda geliştirdikleri DIC modelinde elde ettikleri sonuçlarla (infüzyon sonunda; kontrol grubunda 12.3 saniye, endotoksin grubunda 46.1 saniye ve prednisolon grubunda 15.1 saniye) paralellik arz etmektedir. Vitamin E uygulanan tavşanlarda elde edilen bulgu ise Yoshikawa ve ark (1982)'nin oluşturdukları DIC modelinde belirttikleri PT'de meydana gelen değişimlere (0.saatte 12.1 saniye, 4 saatlik infüzyonun sonunda ise; endotoksin grubunda 22.5 saniye ve Vit E grubunda 15.1 saniye) uygunluk göstermektedir. Antioksidan karakteri nedeniyle vitamin E serbest radikallerle reaksiyona girerek istenmeyen oksidasyonların önlenmesi ya da azaltılmasında etkili olmaktadır. Böylece endotelyal trombomodulin inaktivasyonu ve hücre hasarının önüne geçilebilmektedir (Broner ve ark., 1989; Okajima 1999). Ayrıca vitamin E'nin platelet agregasyonunu inhibe etme özelliği ve

antitrombotik fonksiyonu bulunmaktadır (Yoshikawa ve ark., 1982; Yoshikawa ve ark., 1984). Çalışmada Vitamin E'nin söz konusu parametre üzerine olumlu etkileri; bahsedilen mekanizmalar çerçevesinde gerçekleşen faydalı rollerine bağlanabilir. Glukokortikoidler; endotoksin, kompleman ve immün komplekslerce salınan prokoagulan doku faktörü oluşumunu inhibe edebilmekte (Putterman, 1989), granülosit agregasyonunu baskılamakta, nötrofillerin endotelial yüzeye yapışma eğilimini azaltmakta, endoteliumu serbest radikallerin zararından korumakta ve kompleman aktivasyonunu engelleyebilmektedir (Skubitz ve ark., 1981; Latour, 1983). Ayrıca söz konusu madde endotoksinle indüklenen DIC'in patogeneziinde başlıca rol alan TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi yangısal sitokinlerin salınımını önemli düzeyde baskılayabilmektedir (Yamazaki ve ark., 1999). Çalışmada prednisolon uygulamasının PT üzerine baskılayıcı etkisi ise bahsedilen maddenin bu olumlu rollerine bağlandı.

Çalışmada prednisolon ve vitamin E'nin TT üzerinde önemli düzeyde baskılayıcı olduğu tespit edildi (Tablo 1). Bu etki; sözkonusu maddelerin DIC ve endotoksemi üzerine olan faydalı fonksiyonları ile açıklanabilir. TT'nin; konuyla ilgili tavşan ve kedi gibi hayvanlarda yapılan diğer araştırmalarda da (Scherer ve ark., 1995; Deniz, 1999) uzama göstermesi çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir. Kontrol grubunda araştırmanın 6.saatinde ölçülen TT değerinin Kouz ve ark (1996)'nın belirttikleri değerden (29 saniye) biraz düşük olduğu gözlemlendi. Bunun muhtemel sebebi araştırmacıların deneysel DIC'i doku faktörüyle oluşturmaları ve örnekleme 7.saatte yapılması olabilir. TT'nin uzamasının nedeni; plazma fibrin yıkım ürünlerinin, fibrinojenin fibrine dönüşümünü engellemesine ve plazma fibrinojen konsantrasyonunun normalden düşük olmasına bağlanmaktadır (Bick, 1994; Rocha ve ark., 1998; Deniz, 1999).

Çalışmadaki gibi şiddetli DIC gelişen bir canlıda, APTT, PT ve TT gibi trombin oluşum kapasitesini ölçen global koagülasyon test (Screening testler) sonuçları patolojik olarak uzamaktadır. Bunun başlıca sebebi fibrinojen ile aktifleşen bazı koagülasyon faktörlerinin (FII, V, VII, IX ve X) kullanılması, plazmince parçalanması ve fibrin yıkım ürünleri tarafından yapımlarının inhibe edilmesidir. Bunun yanında hafif seyirli DIC olgularında nadiren bu değerler örnekleme zamanlarına bağlı olarak değişmemekte veya kısalabilmektedir (Bick, 1994; Rocha ve ark., 1998).

Araştırmada kontrol grubunda fibrinojen konsantrasyonu 0.saat sonrası tüm örnekleme zamanlarında kademeli olarak düştü ($P < 0.05$). Montes ve ark (2000) geliştirdikleri DIC modelinde, fibrinojen

bazal düzeyini 3.34 g/L, endotoksin uygulaması sonrası 2., 4. ve 6.saatlerde sırasıyla; 3.09, 2.72, 2.39 g/L olarak belirtmektedirler. Munoz ve ark (1999) ise 0., 2. ve 6.saatlerdeki fibrinojen miktarını sırasıyla; 2.78, 2.48 ve 1.58 g/L olarak bildirmekte ve önemli düşüşe dikkat çekmektedirler. Paloma ve ark (1992)'nin oluşturdukları tavşan modelinde de bazal, 2. ve 6.saatlerdeki fibrinojen miktarı sırasıyla; 2.67, 1.93 ve 1.46 g/L olarak rapor edilmektedir. Yamazaki ve ark (1999), ratlarda kontrol grubunda fibrinojen konsantrasyonunu 2.93 g/L, LPS infüzyonunun 4.saatinde ise 0.34 g/L gibi çok düşük bir düzeyde belirlemişlerdir. Çalışma bulguları söz konusu araştırma sonuçlarının tamamını destekler niteliktedir. Çalışmada Vitamin E'nin fibrinojen düzeyindeki düşüşü K grubunun göre baskıladığı gözlemlendi (Tablo 1). Elde edilen değerler Yoshikawa ve ark (1982)'nin fibrinojen düzeyinde meydana gelen değişimlere ilişkin belirttikleri bulgularla (0.saat; 1.27 g/L, 4 saatlik infüzyon sonrası; endotoksin grubunda < 0.2 g/L, vitamin E grubunda 0.37 g/L) paraleldir. Benzer şekilde prednisolonun da DIC'de şekillenen fibrinojen miktarındaki düşüşü azalttığı görüldü (Tablo 1). Bu bulgu, Yamazaki ve ark (1999)'nin elde ettikleri çalışma sonuçlarına (4 saatlik infüzyon sonrası; kontrol grubunda 2.93 g/L, endotoksin grubunda 0.34 g/L, prednisolon grubunda 1.94 g/L) ve söz konusu maddenin DIC ve endotoksemide yararlı olduğu şeklindeki bildirimlere (Osterud ve ark., 1989; Semrad, 1993; Han ve ark., 1999) uygunluk göstermektedir (Tablo 1).

D-dimer düzeyinin intravasküler fibrin yıkımının önemli bir göstergesidir (Bick, 1994). Yamazaki ve ark (1999) kontrol grubu ratlarda plazma D-dimer düzeyinin $0.23 \mu\text{g/ml}$ olduğunu, endotoksin infüzyonunun 4.saatinde ise $1.08 \mu\text{g/ml}$ 'ye yükseldiğini kaydetmektedirler. Asakura ve ark (2001a, b) ratlarda yaptıkları çalışmalarda endotoksin infüzyonu öncesi D-dimer düzeyini $0.18 - 0.19 \mu\text{g/ml}$, infüzyon sonrası 4.saatte ise $1.2 - 1.3 \mu\text{g/ml}$ olarak bildirmektedirler. Scherer ve ark (1995) da tavşanlarda LPS (E.coli K-235) uygulayarak oluşturdukları DIC modelinde araştırmanın başlangıcında $0.05 \mu\text{g/ml}$ olarak ölçtükleri D-dimer düzeyini uygulamadan sonraki 4.saatte $1.65 \mu\text{g/ml}$ olarak kaydetmişlerdir. Çalışmada belirlenen; endotoksin infüzyonunun D-dimer düzeyinde artışa yol açması bulgusu, söz konusu araştırma sonuçlarıyla uyum göstermesine karşın, elde edilen değerler biraz düşüktü. Çalışmada endotoksin infüzyonu öncesi uygulanan vitamin E ve prednisolonun, plazma D-dimer düzeyindeki artışı önemli düzeyde baskıladığı gözlemlendi (Tablo 1). Prednisolon uygulanan grupta elde edilen bulgular Yamazaki ve ark (1999)'nin E.coli endotoksinini (055:B5, 30mg/kg) ratlara 4 saat süreli olarak infüze ederek geliştirdikleri DIC modelinde elde ettikleri bulgularla (infüzyon sonunda; endotoksin

grubunda 1.08µg/ml ve prednisolon grubunda 0.32µg/ml) uyumludur. Çalışmada E vitamini grubunda kontrol grubundakine göre D-dimer düzeyinde belirlenen baskılanma, Yoshikawa ve ark (1982)'nin kontrol grubuna göre Vitamin E grubunda fibrin yıkım ürünleri (FDP) düzeyinde belirledikleri değişimle uyum göstermektedir.

Montes ve ark(2000)'nin 100µg/kg/saat dozunda ve 6 saat boyunca sürekli endotoksin infüzyonuyla tavşanlarda oluşturdukları DIC modelinde, infüzyon öncesi trombosit sayısı $462 \times 10^9 /L$ iken, örneklemenin 2., 4. ve 6.saatlerinde sırasıyla; 239, 144 ve $84 \times 10^9 /L$ olarak kaydedilmekte ve örnekleme zamanları arasındaki farklılıkların önemli olduğu vurgulanmaktadır. Munoz ve ark (1999) E.coli endotoksini (0.111:B4) 6 saat infüzyonuyla (100µg/kg/saat) tavşanlarda oluşturdukları DIC'te, bazal, 2. ve 6.saatlerdeki trombosit sayısını sırasıyla; 454, 226 ve $97 \times 10^9 /L$ olarak belirtmektedirler. Paloma ve ark (1992)'nin tavşanlarda E.coli endotoksiniyle (0.128:B8, 20µg/kg/saat) oluşturdukları modelde bazal, 2. ve 6. saatlerdeki trombosit sayısını sırasıyla; 517, 272 ve $150 \times 10^9 /L$ olarak bildirilmektedir. Tüm bu çalışmalar ışığında DIC'in ve organ yetersizliğinin patogenezesinde platelet aktivasyonunun önemli rolü olduğu sonucuna varılmıştır. Sepsis esnasında platelet aktivasyonunun başlıca mediyatörleri trombin ve PAF dir. Endotoksemilerde bu gibi mediyatörlerin etkisiyle koagülasyon olayına katılan plateletlerin periferel kandaki düzeyleri önemli ölçüde azalmakta, trombositopeni meydana gelmektedir. Trombositopeni oluşumunda plateletlerin gelişiminin birkaç gün sürmesi de önemli bir faktördür. Ayrıca endotoksinin kendisi plateletlere bağlanarak protein kinaz C'nin aktivasyonunu sağlamakta ve fibrinojen bağlanma alanlarının (GPIIb/IIIa) konformasyonel değişikliğine sebep olarak agregasyonu artırmakta ve hızlandırmaktadır (Salat ve ark., 1999). DIC'te oluşan trombositopeninin bir başka nedeni de endotoksinle aktifleşen kompleman sisteminin plateletlere zarar vermesidir (Latour, 1983; Bick, 1994). Çalışmada prednisolon uygulamasının trombosit sayısındaki azalmayı önemli oranda baskıladığı görüldü (Tablo 2). Elde edilen sonuçlar Yamazaki ve ark (1999)'nin geliştirdikleri rat modelinde prednisolon verdikleri grupta elde ettikleri bulgulara (kontrol grubunda; $753 \times 10^9/L$, endotoksin grubunda; $179 \times 10^9 /L$ ve prednisolon grubunda $565 \times 10^9 /L$) benzerlik göstermektedir. Ayrıca çalışma bulguları; "endotoksemi öncesi glukokortikoid uygulamasının plateletlerdeki serotonin kaybını, faktör III oluşumunu, plateletlerin agregasyonunu ve kompleman aktivasyonundan kaynaklanan trombositopeniyi önlediği" bildirimlerini destekler niteliktedir (Latour, 1983). Çalışmada vitamin E'nin de trombosit sa-

yısındaki düşüşü önemli oranda baskıladığı gözlemlendi (Tablo 2) ve sözkonusu değişiklik Vitamin E'nin trombosit agregasyonunu önleme ve antioksidan özelliğine bağlıdır. Çalışmada elde edilen bulgular Vitamin E ile ilgili olarak Yoshikawa ve ark (1982)'nin oluşturdukları DIC modellerinde belirttikleri trombosit sayısında meydana gelen değişimlere uygunluk göstermektedir.

Endotoksin uygulamasından hemen sonra tüm gruplarda gözlenen lökosit sayısındaki düşüşün, başlıca lökosit adezyon molekülleri ile endotelial reseptörlerin etkileşiminden kaynaklandığı ileri sürülmektedir. Çalışmada endotoksemiye ilk cevap olarak belirlenen lökopeni tablosu; "endotoksinin, nötrofillerin aktivasyonuna ve endoteliuma adezyonlarına sebep olarak sepsisin şiddetine göre başlangıç lökosit sayısını azaltabileceği" bildirimlerini destekler niteliktedir (Gaviria ve ark., 1998; Saenz ve ark., 2001). Ayrıca çalışmada elde edilen bulgular, konuyla ilgili çeşitli araştırma sonuçlarıyla benzerdir (Osterud ve ark., 1989; Semrad, 1993; Scherer ve ark., 1995). Çalışmada P grubunda özellikle 6.saatte diğer gruplarınkine göre lökosit sayısında gözlenen önemli artış, glukokortikoidlerin endotoksin tarafından oluşturulan lökopeniyi engelleyebileceği bildiriyle uyumludur (Latour, 1983; Osterud ve ark., 1989). Ayrıca Naess ve ark (1991)'nin domuzlarda yaptıkları çalışmada; kontrol grubunda endotoksin infüzyonunun (E.coli 026:B4) önemli derecede lökopeni oluşturduğu, metilprednisolon (MP) uygulanan grupta ise 1.saatte gözlenen lökopeni tablosunun 5.saatte düzelerek, lökosit sayısının başlangıç değerinin de üzerine çıktığı kaydedilmektedir. Söz konusu araştırmalardan elde edilen sonuçlar çalışma bulgularını destekler niteliktedir.

Deneyisel endotoksemi ile akut bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda kısa bir nötropeni periyodunu nötrofil tablosu izlemektedir. Endotoksin uygulamasını izleyen nötrofil sayısındaki söz konusu azalma; lökosit adezyon molekülleri ile karaciğer, akciğer ve dalak gibi birçok organdaki endotelial reseptörlerin etkileşmesiyle ilişkilendirilmektedir. Bu etkileşimi NfP, endotoksin, TNF-α, IL-1, IL-8 ve PAF artırmaktadır. (Gaviria ve ark., 1998). Nötropeni oluşumunu izleyen birkaç saat içerisinde endotoksinin direkt olarak salınımını artırdığı sitokinler (G-CSF, GM-CSF, TNF-α) ve aktive ettiği kompleman C3e vasıtasıyla kemik iliği rezervlerinden nötrofil salınımı stimüle edilmektedir (Dale ve ark., 1995; Gaviria ve ark., 1998). Nitekim çalışmada 6.saatte, 2.ve 4.saatlere göre bir heterofil gözlenmektedir (Tablo 2).

Endotoksemide nötropeniye eşlik eden lenfopeni önemli bulgular arasında sayılmaktadır (Saenz ve ark., 2001; Choi ve ark., 2002). Araştırmada K grubunda 0.saatte %61.60 olan lenfosit oranının 2. (%88.90) ve

4. (%90.40) saatlerde yükselmesi genel değerlendirme çerçevesinde bir lenfositöz tablosu olarak algılanmamalıdır. Bu durum lökosit sayısının oranının aynı saatlerde azalmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü aynı grubun (K) 0.saatinde belirlenen ortalama lökosit sayısı; 5.95, 2.saatte 1.43, 4.saatte ise $1.36 \times 10^3 / \text{mm}^3$ 'dür (Tablo 2). Bu değerlere göre basit bir hesaplamayla 0.saatte mm^3 kandaki lenfosit sayısının 3665, 2.saatte 1271, 4.saatte 1229 6.saatte ise 2028 olduğu ve lenfositöz değil, lenfopeni tablosunun olduğu görülmektedir.

Endotoksemide proinflatuvar sitokin salınımı ve doku faktörü oluşumuna sebep olan monositler DIC'in patogeneziinde önemli rol oynamaktadır. Enfeksiyonlarda, konakçı savunmasında önemli rol oynayan bu hücrelerin sayılarının azaldığı bildirilmektedir (Dekkers ve ark., 2000; Fijen ve ark., 2000; Choi ve ark., 2002). Çalışmada elde edilen monosit yüzde değerlerinin, gerek oransal gerekse aynı örnekleme zamanındaki lökosit sayısı göz önüne alınarak yapılan değerlendirilmesinde, tüm gruplarda 0.saatte göre 2.,4.ve 6.saatlerde düşük olduğu gözlemlendi. Monosit yüzde oranları örnekleme zamanlarına göre K ve E gruplarında önemli bir farklılık göstermezken, P grubunda 2.örneklemede önemli düzeyde düşmüş ($P < 0.05$) ve söz konusu düşüş sonraki örnekleme-lerde de devam etmiştir. Deneme grupları arasında monosit yüzdesi P grubunda 2.saatte E grubununkine, 4.saatte her iki grubunkine, 6.saatte ise K grubununkine göre düşük bulundu ($P < 0.05$)(Tablo 2).

Eozinopeni septik hastalarda belirlenen bulgular arasında yer almaktadır (Choi ve ark., 2002). Araştırmada eozinofil yüzde oranları, K ve P gruplarında ilk örnekleme zamanına göre 2., 4.ve 6.saatlerde düşerken ($P < 0.05$), E grubunda gözlenen azalma sadece 6.saatte önemliydi ($P < 0.05$). Söz konusu parametre açısından hiçbir örnekleme zamanında gruplar arası farklılık anlamlı değildi (Tablo 2).

Çalışmada bazofil yüzde değerleri yönünden sadece P grubunda 0.saatte göre daha sonraki örnekleme saatlerinde önemli düzeyde azalma ($P < 0.05$) belirlenirken, gerek diğer gruplarda örnekleme zamanları arasında gerekse aynı saatlerde gruplar arası bir farklılık gözlenmedi. Bununla birlikte en yüksek yüzde oranı tüm gruplarda 0.saat, en düşük oran ise 6. saatte görüldü (Tablo 2).

P grubundaki akyuvar formülündeki değişimler glukokortikoidlerin kemik iliğinde nötrofil oluşumunu artırmasına, lenfosit, monosit, eozinofil ve bazofil sayısını ise azaltmasına bağlanabilir (Yılmaz, 1999).

Sonuç olarak; tavşanlarda endotoksin infüzyonu ile oluşturulan deneysel DIC üzerine vitamin E ve prednisolon'un etkilerinin belirlenmesinin amaçlandığı

çalışmada; yalnız endotoksin uygulanarak DIC oluşturulan tavşanlarda APTT, PT ve TT' de önemli derecede patolojik uzama, fibrinojen konsantrasyonu ve trombosit sayısında azalma, D-dimer seviyesinde yükselme ve lökopeni belirlendi. Ancak önceden E vitamini ve özellikle de prednisolon uygulamalarının, hemostatik mekanizmalarda ve hematolojik parametrelerde oluşacak olumsuz değişiklikleri engelleyebileceği ve DIC'te kullanılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı.

Kaynaklar

- Asakura, H., Aoshima, K., Ichino, T., Suga, Y., Saito, M., Morishita, E. et al (2001a). All-trans retinoic acid is partially effective against lipopolysaccharide-induced but not against tissue-factor-induced disseminated intravascular coagulation in rat models. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 12, 301-306.
- Asakura, H., Aoshima, K., Suga, Y., Yamazaki, M., Morishita, E., Saito, M. et al (2001b). Beneficial effect of the active form of vitamin D3 against LPS-induced DIC but not against tissue-factor-induced DIC in rat models. *Thromb Haemost*, 85, 287-290.
- Basu, S., Eriksson, M. (2000). Vitamin E in relation to lipid peroxidation in experimental septic shock, Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 62,3,195-199.
- Bick, R.L. (1994) Disseminated intravascular coagulation: Objective Criteria for Diagnosis and Management. *Medical Clinics of North America*, 78(3), 511-543.
- Broner, C.W., Henep, J.L., Stidham, G.L., Stokes, D.C., Fairclough, D., Schonbaum, G.R., Rehg, J.E. (1989). Effect of antioxidants in experimental Escherichia coli septicemia. *Circulatory Shock*, 29, 77-92.
- Choi, S.C., Kwon, H.Y., Kim, J.Y., Hwang, S.M., Kim, T.U., Seong, H.K., Kim, Y.W., Lee, W.J. (2002) Hematological Aspects in A Endotoxemic Young Rabbit Model. *J. Biomed. Lab. Sci.*, 8, 115-125.
- Dale, D.C., Liles, C., Summer, R.(1995). Review: Granulocyte colony-stimulating factor- role and relationships in infectious diseases. *J Infect Dis*, 172, 1061-1075.
- Dekkers, P.E.P., ten Hove, T., Velde, A.A., Deventer, A.J.H., van der Poll, T. (2000). Upregulation of monocyte urokinase plasminogen activator receptor during human endotoxemia. *Infection and Immunity*, 68, 4, 2156-2160.
- Deniz, A. (1999). Felin immun yetmezlik virus'unun (FIV) seropozitif olduğu kedilerde kan pıhtılaşma sisteminin kontrolü. *Vet Bil Derg*, 15, 1, 111-118.
- Fijen, J.W., Kobold, A.C.M., de Boer, P., Jones, C.R., van der Werf, T.S., Tervaert, J.W.C. et al (2000). Leukocyte activation and cytokine production during experimental human endotoxemia. *European Journal of Internal Medicine*, 11, 89-95.
- Fujita, M., Izutani, W., Kamurasaki, Y. (2000). Effect of urinary protein C inhibitor on lipopolysaccharide- induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb Haemost*, 84, 54-58.
- Gaviria, J.M., Dale, D.C., Root, R.K. (1998). Neutrophils: Function and role in sepsis syndrome. *Sepsis*, 2, 107-117.
- Gonda, Y., Hirata, S., Saitoh, K., Aoki, Y., Mohri, M., Gomi, K.

- et al (1993). Antithrombotic effect of recombinant human soluble thrombomodulin on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thrombosis Research*, 71, 325-335.
- Hack, C.E. (1993). Inhibitor substitution in sepsis. *Intensive Care Med*, 19, 1-2.
- Han, S.J., Choi, J.H., Ko, H.M., Yang, H.W., Choi, I.W., Lee, H.K., Lee, O.H., Im, S.Y. (1999). Glucocorticoids prevent NF- κ B activation by inhibiting the early release of platelet-activating factor in response to lipopolysaccharide. *Eur J Immunol*, 29, 1334-2341.
- Hardaway, R.M. (2000). Review of septic shock. *The American Surgeon*, 66(1), 22-29.
- Hernida, J., Montes, R., Munoz, M.C., Orbe, J., Paramo, J.A., Rocha, E. (1999). Effects of low molecular weight heparin, alone or combined with antithrombin III, on mortality, fibrin deposits and hemostatic parameters in endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits. *Am J Hematol*, 60, 6-11.
- Hesselvik, J.F., Blomback, M., Brodin, B., Maller, R. (1989). Coagulation, fibrinolysis and kallikrein systems in sepsis: relation to outcome. *Critical Care Med*, 17, 724-733.
- Ito, T., Asai, F., Oshima, T., Kobayashi, S. (1990). Role of activated platelets in endotoxin-induced in rats. *Thrombosis Research*, 59, 735-747.
- İzutanı, W., Fujita, M., Nishizawa, K., Koga, J. (2000). Urinary protein C inhibitor as a therapeutic agent to disseminated intravascular coagulation (DIC): A comparison with low molecular weight heparin in rats with lipopolysaccharide-induced DIC. *Biol Pharm Bull*, 23 (9), 1046-1050.
- Jansen, P.M., Boermeester, M.A., Fischer, E. (1995). Contribution of interleukin-1 to activation of coagulation and fibrinolysis, to neutrophil degranulation and the release of sPLA2 in sepsis. *Blood*, 86, 1027-34.
- Kawamura, M., Terashita, Z., Imura, Y., Shino, A., Nishikawa, K. (1993). Inhibitory effect of TCV-309, a novel platelet activating factor (PAF) antagonist, on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats: possible role of PAF in tissue factor generation. *Thrombosis Research*, 70, 281-293.
- Konuk, T. (1981). *Pratik Fizyoloji*, A Ü Vet Fak Yayınları, Ankara.
- Kouz, J., Czscht, J., Nicolay, U., Dickneite, G. (1996). Influence of recombinant hirudin on tissue-factor-induced activation of coagulation in rabbits. *Haemostasis*, 26, 179-186.
- Latour, J.G. (1983). Modulation of disseminated intravascular coagulation (DIC) by steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Agents and Actions*, 13, 5/6, 487-495.
- Levi, M., Van der Poll, T., ten Cate, H., van Deventer, S.J.H. (1997). The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanism in sepsis and endotoxaemia. *European Journal of clinical investigation*, 27, 3-9.
- Levi, M., Jonge, E., van der Poll, T., ten Cate, H. (1999). Disseminated intravascular coagulation. *Thrombosis and Haemostasis*, 82(2), 685-705.
- Levi, M., Jonge, E., van der Poll, T., ten Cate, H. (2000). Novel approach to the management of disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med*, 28 (9), 20-24.
- Marques, D., Cazana, L., Puyol, R. (1967). d- α -Tocopheryl acetate induces hypocoagulability and platelet hypoaggregability in rats. *Internal J Vit Nutr Res*, 57, 375-379.
- Michie, H.R., Manogue, K.R., Spriggs, D.R. (1988). Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med*, 318, 1481-1486.
- Montes, R., Declercq, P.J., Calvo, A., Montes, M., Hermida, J., Munoz, M.C., Rocha, E. (2000). Prevention of renal fibrin deposition in endotoxin-induced DIC through inhibition of PAI-1. *Thromb Haemost*, 84, 65-70.
- Munoz, M.C., Montes, R., Hermida, J., Orbe, J., Paramo, J.A., Rocha, E. (1999). Effect of the administration of recombinant hirudin and / or tissue-plasminogen activator (t-PA) on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation model in rabbits. *British Journal of Haematology*, 105, 117-122.
- Naess, F., Roese, O., Pilgram-Larsen, J., Fluud, T.E., Staas, J.O., Aasen, A.O. (1991). Plasma kallikrein generation in endotoxaemia is abolished by ultra high doses of methylprednisolone: In vivo studies in a pig model. *Circulatory Shock*, 34, 394-355.
- Okajima, K. (1999). The role of leukocytes in disseminated intravascular coagulation associated with sepsis. *Sepsis*, 3, 135-142.
- Osterud, B., Tindall, A., Olsen, J.O. (1989). Effect of steroids during *Escherichia coli* endotoxaemia in rabbits. *Haemostasis*, 19, 292-299.
- Paloma, M.J., Paramo, J.A., Rocha, E. (1992). Effect of DDAVP on endotoxin-induced-intravascular coagulation in rabbits. *Thrombosis and Haemostasis*, 68 (3), 306-309.
- Putterman, C. (1989). Corticosteroids in sepsis and septic shock: the jury reached a verdict?. *Isr J Med Sci*, 25, 332-338.
- Rocha, E., Paramo, J.A., Montes, R., Panizo, C. (1998). Acute generalized, widespread bleeding. Diagnosis and management. *Haematologica*, 83, 1024-1037.
- Saenz, J.J., Izura, J.J., Manrique, A., Sala, F., Gaminda, I. (2001). Early prognosis in severe sepsis via analyzing the monocyte immunophenotype. *Intensive Care Med*, 27, 970-977.
- Salat, A., Murabito, M., Boehm, D., Bodingbauer, G., Pulak, S., Sautner, T., Mueller, M.R., Fuegger, R. (1999). Endotoxin enhances in vitro platelet aggregability in whole blood. *Thrombosis Research* 93, 145-148.
- Scherer, R.U., Giebler, R.M., Schmidt, U., Paar, D., Wüst, T., Spangenberg, P., Militzer, K., Hirche, H., Kox, W.J. (1995). Short-time rabbit model of endotoxin-induced hypercoagulability. *Laboratory Animal Science*, 45, 538-546.
- Semrad, S.D. (1993). Comparison of flunixin, prednisolone, dimethyl sulfoxide, and a lazaroid (U74389F) for treating endotoxemic neonatal calves. *Am J Vet Res*, 54, 9, 1517-1522.

- Skubitz, K.M., Craddock, P.R., Hammerschmidt, D.E., August, J.T. (1981). Corticosteroids block binding of chemotactic peptide to its receptor on granulocytes and cause disaggregation of granulocyte aggregation in vitro. *J Clin Invest*, 68, 13-20.
- SPSS (1988) SPSS/PC + V.2.0. Base Manual for IBM PC/XT/AT and PS/2. Marija and Morusis. Soil Science Society of America, Inc., Chicago, IL.
- Sugimoto, H., Matsuzaki, S., Hamana, K., Yamada, S., Kobayashi, S. (1991). α -Tocopherol and superoxide dismutase suppress and diethyldithiocarbamate and phrone enhance the lipopolysaccharide-induced increase in N¹-Acetylspermidine concentration in mouse liver. *Circulatory Shock*, 33, 171-177.
- Takeda, K., Shimada, Y., Okada, T., Amano, M., Sakai, T., Yoshiya, I. (1986). Lipid peroxidation in experimental septic rats. *Crit Care Med*, 14, 8, 719-723.
- Van Devender, S.J.H., Buller, H.R., ten Cate, J.W., Aarden, L.A., Hack, C.E., Sturk, A. (1990). Experimental endotoxemia in humans; analysis of cytokine release and coagulation, fibrinolytic, and complement pathways. *Blood*, 76, 2520-2526.
- Warr, B.T.A., Rao, V.M., Rapaport, S. (1990). Disseminated intravascular coagulation in rabbits induced by administration of endotoxin or tissue factor: effect of anti-tissue factor antibodies and measurement of plasma extrinsic pathway inhibitor activity. *Blood*, 75, 7, 1481-1489.
- Weiss, D.J., Rashid, J. (1998). The Sepsis-coagulant axis: A review. *J Vet Intern Med*, 12, 317-324.
- Yamazaki, M., Aoshima, K., Mizutani, T., Ontachi, Y., Saito, M., Morishita, E., Asakura, H., Matsuda, T., Triplett, D.A. (1999). Prednisolone inhibits endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation and improves mortality in rats: Importance of inflammatory cytokine suppression. *Blood Coag Fibrinol*, 10, 321-330.
- Yılmaz, B. (1999). Glikokortikoidler "Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi", 210-228, Feryal mabaacılık, Ankara.
- Yoshikawa, T., Furukawa, Y., Murakami, M., Watanabe, K., Kondo, M. (1982). Effects of vitamin E on endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rats. *Thromb Haemostas* 48, 235-237.
- Yoshikawa, T., Murakami, M., Kondo, M. (1984). Endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in vitamin E deficient rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 74, 173-179.
- Yoshikawa, T., Takeda, S., Naito, Y., Kondo, M. (1990). Protective effects of ono-3307, a new synthetic protease inhibitor against experimental disseminated intravascular coagulation in rats. *Thrombosis Research*, 60, 1-7.