

DENEYSEL ENDOTOKSEMİK SIÇANLARDA VAZOAKTİF İNTESTİNAL PEPTİD VE GİNGKO BİLOBA EKSTRESİNİN KARACİĞER KORUYUCU ETKİNLİĞİ VE BU ETKİNLİKTE MAST HÜCRELERİNİN ROLÜ*

Antioxidant and Hepatoprotective Activity of Vasoactive Intestinal Peptide and Ginkgo Biloba Extract in Experimental Endotoxemic Rats and the Role of Mast Cells on This Activity

Tülay MORTAŞ¹, Birkan YAKAN², Recep SARAYMEN³

Özet : Vazoaktif intestinal peptid (VIP), septik şokta mast hücrelerinden salınan kimyasal mediyatörlere karşı dokuların özgül reaksiyonlarını düzenlemektedir. Ginkgo biloba ekstresi olan EGb 761'in serbest oksijen radikal oluşumu ve bu oluşumun önlenmesi üzerine etkisi birçok çalışmada gösterilmesine karşın bu etkinin endotoksemik sıçanlarda araştırılması çok az çalışılmıştır. Bu nedenle sunulan çalışmada deneysel yolla endotoksemi oluşturulan sıçanlara VIP ve Ginkgo biloba ekstresi (EGb 761) verilip karaciğer üzerindeki koruyucu etkileri ve bu etkide mast hücrelerinin rolü araştırıldı. Bu amaçla Sprague dawley türü 35 sıçan 7'şerli 5 gruba ayrılarak çalışıldı. Birinci grup serum fizyolojik, ikinci grup serum fizyolojik ve lipopolisakkarit verilerek kontrol grupları olarak çalışıldı. Üçüncü, dördüncü, beşinci grup sıçanlara sırası ile; lipopolisakkarit ve VIP, lipopolisakkarit ve EGb 761, lipopolisakkarit ve nitrik oksit inhibitörü olan nitro-L-arginin metil ester (L-NAME) verildi. Maddelerin uygulanmasından 30 dakika sonra anestezisi altında sıçanların karaciğerleri alındı. Her bir hayvanın karaciğer dokusundan alınıp yaş ağırlığı belirlenen parçalarda biyokimyasal incelemeyle lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeylerine bakıldı. Deney gruplarının MDA değerleri anlamlı düzeyde farklı bulundu. Değerler karşılaştırıldığında; EGb 761 uygulamasının MDA değerini belirgin bir şekilde düşürürken, VIP uygulanmasının bu değerleri daha az oranda düşürdüğü belirlendi. Histolojik takipte dokular toluidine blue boyasıyla boyanarak her bir gruptaki mast hücre sayısı saptandı. Gruplar arasında mast hücre sayısında farklılıklar olduğu belirlendi. Endotoksemi sırasında gözlenen ven hasarı, hepatosit hasarı ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonlarına rastlanmadı. Sonuçlar, VIP ve EGb 761'in septik şok tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Endotoksemik sıçan, malondialdehit, vazoaktif intestinal peptid, ginkgo biloba, mast hücresi

Summary : Vasoactive intestinal peptide (VIP) regulates the specific reaction of tissues against chemical mediators that are sent from septic shock mast cells. The unobstructed oxygen formation of Ginkgo biloba's extract which is EGb 761, and the presentive effectiveness of this formation is shown in many studies but the effect in endotoxemic rats is rarely inquired. For this reason in this study, the rats that formed endotoxemia are given VIP and Ginkgo biloba (EGb 761) extract by experimental manner. Then the protective effectiveness of the matters in liver that is carried out and the role of mast cells on this effectiveness is inquired. For this purpose 35 species of Sprague dawley rats are divided in 7 groups of 5 in each. The first group, which is the control group, is given serum physiologic, the second group, which is also control group, is given serum physiologic and lipopolysaccharide. The third, fourth, fifth groups in order are given; lipopolysaccharide and VIP, EGb 761 and lipopolysaccharide, lipopolysaccharide and nitric oxide inhibitor which is nitro-L-arginin methyl ester (L-NAME). Thirty minutes after the livers of these rats are taken under anesthesia. Then in each animals' liver tissue's weight is determined. Afterwards the last product of lipide peroxidation that is malondialdehyde is looked in it by biochemical methods. The MDA valence of experimental group is found significantly different. When the valences are compared it has been seen that the EGb 761 administration reduced MDA valance much more than the VIP practice. In histologyc pursuit, the tissues are stained with toluidine blue due to determine the mast cells in each groups. It is found that the number of mast cells in each group differentiate. During endotoxemia there was not any vein damage, hypotocyte damage and polymorphonuclear cell infiltrations observed. The results show us that; VIP and EGb 761 could be effective in septic shock treatment.

Key words: Endotoxemic rat, malondialdehyde, vasoactive intestinal peptide, ginkgo biloba, mast cell

¹ Bilim Uz. Erciyes Ün.Sağ. Bil.Ens. Hist. Emb. AD, Kayseri

² Prof. Dr. Erciyes Ün. Tıp Fak. Histoloji Emb. AD, Kayseri

³ Uz. Dr. Erciyes Ün. Tıp Fakültesi, Biyokimya AD, Kayseri.

Geliş Tarihi : 30. 06. 2008 Kabul Tarihi : 24. 07. 2008

Karaciğer; sindirim sistemi ve vücudun diğer bölümleri arasında yer alarak metabolik homeostazın devamlılığında çok önemli bir rol oynar ve komşuluğundaki sindirim bölgesi özellikle sepsis sürecinde damarlanma ve bakteriyel taşınma ile karşı karşıyadır (1). Aynı zamanda vücuttaki makrofajların

*** Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TA. 04. 08 nolu proje ile desteklenmiştir.**

(Kupffer hücreleri) büyük kısmını oluşturduğu için ciddi enfeksiyonlara yanıt verilmesinde ve organizmanın immünolojik savunma mekanizmalarında çok önemli görevler üstlenmesi sebebiyle, sepsis'ten en çok etkilenen organlardan biridir. İn vitro ve in vivo deneyler sonucunda, sepsis sırasında oluşan hemodinamik ve metabolik değişikliklerin; nitrik oksit (NO), sitokinler ve eikosanoidlerin (prostaglandin öncülü maddeler) üretimindeki belirgin artışlarla ilişkili olduğu gerçeği ortaya çıkmıştır. Sepsisteki hiperdinamik yanıt ve artmış sitokin düzeylerinin; bir çok dokunun endotel hücrelerinde inorganik nitrik oksit sentaz (iNOS) uyarılmasına yol açtığı her ne kadar faydalıymış gibi görünse de akut sepsiste iNOS artışının gerçekte organizma için zararlı sonuçlara yol açabildiği bilinmektedir (2-6).

İlk olarak 1800'lü yıllarda gözlenen ve tanımlanan mast hücreleri, sitoplazması bazofilik granüllerle dolu, küçük çekirdekli ve 15-30µm büyüklüğünde hücrelerdir. En karakteristik özellikleri sitoplazmalarındaki granüllerin metakromatik boyanmasıdır. Mast hücre proteazlarına karşı kullanılan antikorlar ya da metakromatik boyalarla, karaciğer mast hücrelerinin insan ve sıçan karaciğerinde portal alanların safra kanalları, venler ve hepatik arterlere komşu bağ dokusunda yerleştiği gösterilmiştir (7). Mast hücre membranında Ig E reseptörleri bulunmaktadır. Mast hücrelerinin çok çeşitli uyarılara karşı fizyolojik yanıtı daha çok Ig E reseptörleri vasıtasıyla olur. Son yıllardaki çalışmalar mast hücrelerinin Ig'lerin aracılığı olmadan da aktive olabileceğini göstermiştir (5, 6). İnsan ve fare mast hücrelerindeki Toll-like reseptörlerin (TLR) çeşitli bakteriyel, viral ve fungal molekülleri tanımak suretiyle sitokin yapımını ve iltihabi yanıtı uyardığı bildirilmiştir (7).

Endotoksemi, şokla sonuçlanabilecek şekilde endotoksinlerin kanda bulunması halidir. Endotoksinler, gram negatif bakterilerin dış zarının bir bileşeni olan lipopolisakkarit (LPS)'lerdir. Sistemik endotoksin'in ilk etkisi yoğun bir şekilde adrenerejik yapıların uyarılması ve buna bağlı olarak sempatik sinir sisteminin uyarılmasıdır. Böylece bu etki genellikle az ya da çok arteriyel bir vazospazm ile sonuçlanır. Endotoksinlerin

sekonder etkisi ise immünolojik sistemin bazı hedef hücrelerinde (örneğin mast hücreleri) ortaya çıkmaktadır (2-7).

Septik şok boyunca mast hücrelerinden salınan kimyasal mediyatörlere karşı dokuların özgül reaksiyonları muhtemelen vazoaktif intestinal peptid (VIP) tarafından düzenlenmektedir. Septik şok sırasında insanlarda ve hayvanlarda VIP'in artmış plazma düzeyleri gösterilmiştir. VIP, başlıca savunma düzenleyici görevi iltihabı önlemek olan multifonksiyonel bir nöropeptittir. VIP'in sitokin üretimini, T lenfosit çoğalmasını, makrofajlarda fagositozu, solunum yangısını (respiratuvar burst) ve kemotaksiyi önlediği gösterilmiştir. Keza son zamanlarda VIP'in muhtemelen endojen tümör nekroze edici faktör (TNF- α) ve interlökin-6 (IL-6) inhibisyonu yoluyla endotoksik şoktan fareleri koruduğu ve LPS ile uyarılmış makrofajlarda IL-6 ve TNF- α yapımını engellediği bulunmuştur (8-10). Bu nedenle sunulan çalışmada VIP'in deneysel endotoksemide karaciğer koruyucu etkisi veya etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Ginkgo biloba ekstresi olan EGb 761 lipit peroksidasyonunu önleyici etkisi nedeniyle; serebral fonksiyon bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, sinir-duyu ve dolaşım sistemi bozuklukları ve iltihapta tedavi edici olarak sıklıkla kullanılır (11-13). EGb 761'in endotoksemik sıçanlarda serbest radikal oluşumu ve lipit peroksidasyonunu önleyici etkisiyle ilgili çok az sayıda araştırma vardır (11). Bu nedenle bu çalışmada sıçanlarda oluşturulan endotoksemideki lipit peroksidasyonu üzerinde EGb 761'in koruyucu etkilerinin de araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Sprague dawley türü (200-+300 gr) dişi sıçanlar kullanıldı. Tüm çalışmalar etik kurallara uygun olarak gerçekleştirildi. Deneysel endotoksemi; sıçanlara 6 mg/kg dozunda intra peritoneal (i.p) yolla verilen LPS (Escherichia coli, Sigma L-3129) ile sağlandı. Sıçanlar beş gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu I sıçanlara sadece serum fizyolojik (SF) (%0,9'luk NaCl sol.) 0,1 ml i.p yolla başlangıçta ve 30 dak. sonra olmak üzere 2'şer kez (SF+SF) uygulandı (n=7)

Grup 2: Kontrol grubu II'ye SF verildikten 30 dak. sonra LPS (SF+LPS) verildi (n=7)

Grup 3: LPS verilen hayvanlara 30 dak. sonra 25 ng/kg i.p. yolla VIP (Sigma V-3628) (LPS+VIP) uygulandı (n=7)

Grup 4: LPS verilen hayvanlara 30 dak. sonra 50mg/kg dozunda i.p. yolla Ginkgo biloba ekstresi olan EGb 761 (Tebokan, Abdi İbrahim) (LPS+Egb 761) uygulandı (n=7).

Grup 5: LPS verilen hayvanlara 30 dak. sonra NO sentez inhibitörü olan L-NAME (NG-nitro-L-arginin metil ester) (Sigma N-5751) 30 mg/kg dozunda i.p. olarak (LPS+L-NAME) verildi (n=7).

Uygulamalar başlamadan önce sıçanların rektal vücut ısıları ölçüldü. Deney protokolu yerine getirildikten sonra tüm gruplar 6 saat süreyle gözlemlendi. Gözlem süresi dolduktan sonra sıçanlara xylazin ve ketamin anestezisi uygulanarak karaciğerleri alındı. Karaciğerin sağ lobundan iki parça alınıp her bir sıçandan alınan karaciğer parçalarından biri lipit peroksidasyon ürünü olan MDA ölçümü için alüminyum folyo'ya sarılarak -80°C'de saklandı. Diğer parçası ise histolojik inceleme amacıyla nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Karaciğeri alınan sıçanlar, diyafram zarı kesilerek öldürüldü. Sıçanlardan alınan karaciğer doku örnekleri rutin histolojik uygulamalara tabi tutuldu (14). Elde edilen 5-6 µm kalınlığındaki kesitlere mast hücreleri için spesifik bir boya olan toluidine blue'nun standart metodu uygulandı (14). Deney gruplarındaki her bir hayvanın karaciğerinden seri onar kesit alındı. Her bir gruptaki portal alan sayıları belirlendi. Portal alanlardaki mast hücreleri 20X objektifle sayıldı. En uygun görüntüleri elde edebilmek için uygun preparatlar seçildi ve bunların Olympus BH-2 fotomikroskop ile mikrofotografı çekildi.

Doku homojenizasyonu ve MDA tayini için alüminyum folyo'dan çıkarılan dokuların yaş ağırlıkları tartıldı. Bu dokuların homojenizasyonu sağlandı. Doku homojenatları 13200 rpm'de 30 dak. santrifüjlendi. Karaciğer dokusu MDA tayininde, Ohkawa ve arkadaşları (13) tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem kullanıldı. Metodun prensibi, lipit peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden biri olan MDA'nın tiyobabitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır. Stok MDA (5.848 M) çözeltisinden ara stok hazırlandı. Ara stokdan çalışma standartları hazırlandı. Standart seri solüsyonlarının her birinden 0.1 ml alınarak numune gibi çalışıldı ve standart eğri çizildi. Standart eğri kullanılarak çalışılan numunelerin okunan renk şiddetleri üzerinden MDA değerleri belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Kruskal Wallis varyans analizi ve çoklu bağımsız örneklem testi kullanıldı.

BULGULAR

Tüm gruplardaki hayvanların rektal ısıları LPS verilmeden önce 37,0-37,5°C olarak ölçüldü. LPS verildikten sonra rektal ısılarının 36°C'nin altında olduğu belirlendi.

Işık Mikroskopisi Bulguları : Grup 1'deki karaciğer preparatları normal görünmekteydi. Lobüller içerisinde vena santralis etrafında ışımsal dizilmiş hepatositler yer alıyordu. Portal alanlarda bağ dokusu içerisine oturmuş arter, ven ve safra kanalı üçlüsü yer almaktaydı. Mast hücreleri özellikle safra kanalları çevresinde gözlenmekteydi. Mast hücrelerinin yer olmadığı portal alanlar da izleniyordu. Portal alanlar ile mast hücreleri sayıları ayrı değerlendirildiğinde gruplar arası anlamlı fark olmadığı belirlendi. Ancak gruplar arasında birim portal alandaki mast hücre sayısı açısından anlamlı bir fark belirlenmedi. Bir portal alan başına düşen mast hücre sayısının, en az birinci grupta olduğu hesaplandı (Resim 1, Tablo I ve Tablo II).

Grup 2'deki sıçanlarda karaciğer parankiması içinde bağ dokusunun oluşturduğu bölgede menekşe renginde boyanmış mast hücreleri görülmekteydi. Hesaplamalar sonucu her bir portal alandaki mast hücre sayısının en çok bu grupta olduğu belirlendi. (Resim 2, Tablo I ve II).

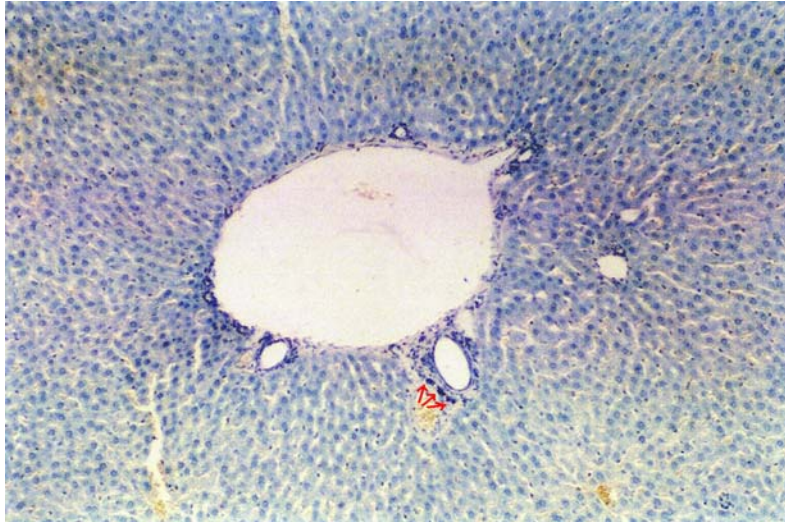
Grup 3'teki (LPS+VIP uygulanan grup) sıçan karaciğerinde arter, ven ve safra kanalı üçlüsünün yer aldığı portal alanlarda safra kanalını kuşatan mast hücreleri sayılıp değerlendirildiğinde bir portal alana düşen mast hücre sayısının grup 1'den fazla, grup 2'den daha düşük olduğu belirlendi (Resim 3, Tablo I ve II).

Grup 4'teki (LPS+EGb 761 uygulanan grup) sıçan karaciğerindeki portal alanda yer alan arter, ven ve safra kanalları ve bağ dokusunda görülen menekşe renkli mast hücreleri değerlendirildiğinde; mast hücrelerinin bir portal alandaki sayısının grup 3'ten anlamlı düzeyde bir farklılık göstermediği belirlendi. Endotoksemi sonucu ortaya çıkabilecek; hücre hasarı, santral ven çevresinde hidropik dejenerasyon, nekroz alanları ve hücre infiltrasyonları gibi patolojik bulgulara diğer gruplarda olduğu gibi bu grupta da rastlanmadı (Resim 4, Tablo I ve II).

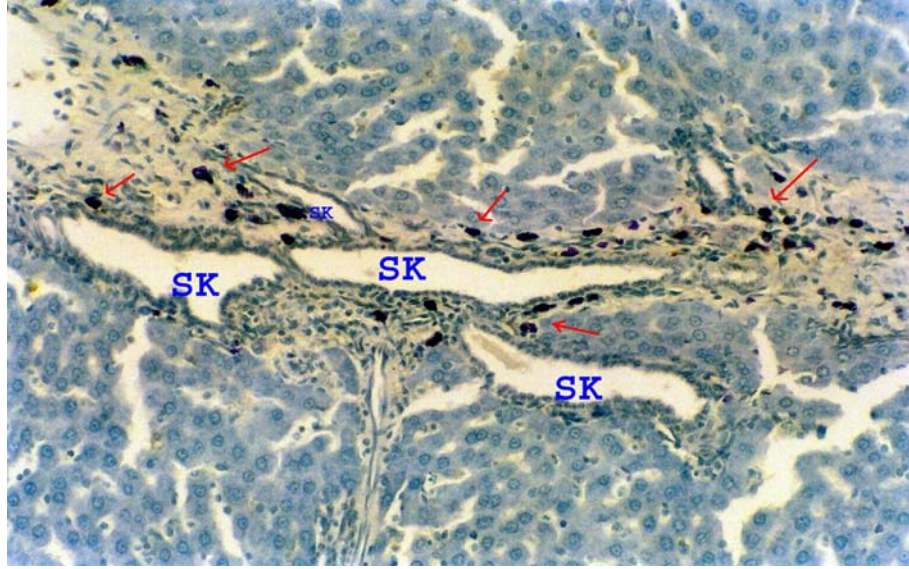
Grup 5 (LPS+L-NAME)'te portal alanda safra kanalları çevresindeki mast hücreleri sayısı grup 1'e göre artmış olarak hesaplandı. Bir portal alandaki mast hücre sayısının grup 1 dışında diğer gruplardan daha düşük sayıda olduğu hesaplanmıştır (Resim 5, Tablo I ve II).

Deney grupları arasında portal alandaki mast hücre sayısı yönünden farklılıklar değerlendirildiğinde; grup 2'de mast hücre sayısının en fazla grup 1'de en düşük olduğu hesaplandı. Diğer grupların mast hücre sayıları birbirlerine yakın olarak bulundu. Portal alan ve mast hücre sayıları ayrı ayrı değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi (Tablo I).

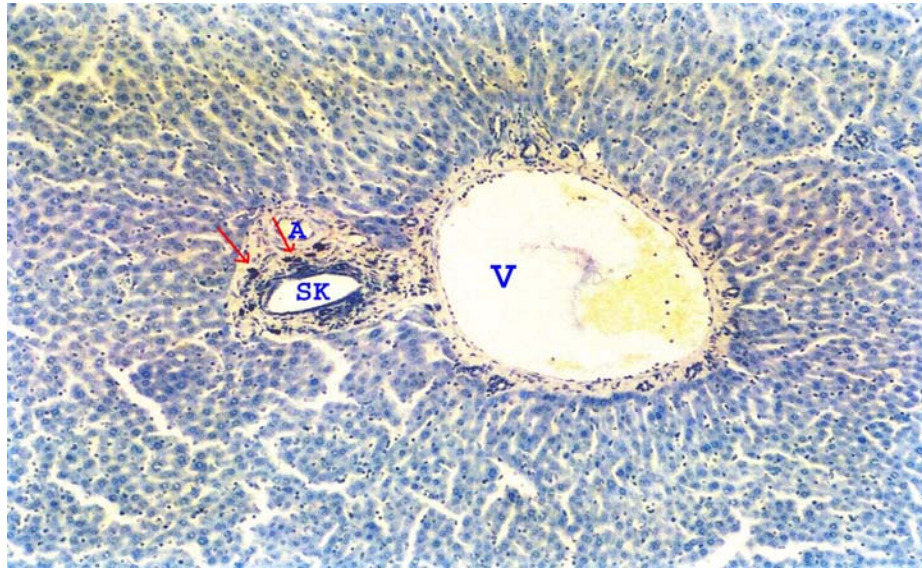
Portal alan başına düşen mast hücre sayıları dikkate alındığında gruplar arasında fark gözlenmemiştir. Bir portal alandaki mast hücre sayısının grup 1'de (ortanca 0,143 ile) en düşük olduğu ortaya çıkmıştır. Grup 2'de ise birim portal alandaki mast hücre sayısı (ortanca 1,0 değeri ile) en yüksek olarak belirlenmiştir. Diğer grupların (3.-5. gruplar) birim portal alandaki mast hücre sayı değerlerinin (0,556-0,600 arasında) birbirlerine yakın olduğu gözlenmiştir.



Resim 1. (SF+SF uygulanan) Grup 1'deki bir sıçanın karaciğer kesitinde yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue, X100.



Resim 2. SF+LPS uygulanan grup 2'deki bir sıçanın karaciğer preparatında safra kanalları (SK) etrafında yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue, X100.



Resim 3. LPS+VIP verilmiş olan grup 3'teki bir sıçanın karaciğer preparatında mast hücreleri (kırmızı oklar), arter (A), safra kanalı, (SK) ve ven (V), toluidine blue, X100.

Tablo I. Sırası ile SF+SF, SF+LPS, LPS+VIP, LPS+EGb 761, LPS+L-NAME uygulanan grup1, grup 2, grup 3, grup 4 ve grup 5'teki sıçanların karaciğer preparatlarının ışık mikroskopisi incelenmesinde 20'lik objektifte belirlenen portal alan ve mast hücre sayıları

	N=7	Portal Alan (PA) Sayısı	PA 'da Mast Hücre Sayısı
(SF+SF) Grup 1	1	10	11
	2	6	Yok
	3	8	8
	4	2	Yok
	5	8	3
	6	7	3
	7	6	Yok
(SF+LPS) Grup2	1	1	2
	2	2	14
	3	7	19
	4	2	9
	5	2	6
	6	12	11
	7	15	15
(LPS+VIP) Grup 3	1	5	9
	2	1	9
	3	4	17
	4	9	13
	5	10	12
	6	4	5
	7	6	10
(LPS+EGb 761) Grup 4	1	14	19
	2	12	18
	3	7	7
	4	8	7
	5	6	10
	6	2	2
	7	4	10

Tablo I. Sırası ile SF+SF, SF+LPS, LPS+VIP, LPS+EGb 761, LPS+L-NAME uygulanan grup1, grup 2, grup 3, grup 4 ve grup 5'teki sıçanların karaciğer preparatlarının ışık mikroskopisi incelenmesinde 20'lik objektifte belirlenen portal alan ve mast hücre sayıları (devamı)

	N=7	Portal Alan (PA) Sayısı	PA 'da Mast Hücre Sayısı
(LPS+L-NAME Grup 5	1	9	10
	2	9	19
	3	10	11
	4	5	9
	5	12	13
	6	17	5
	7	5	7

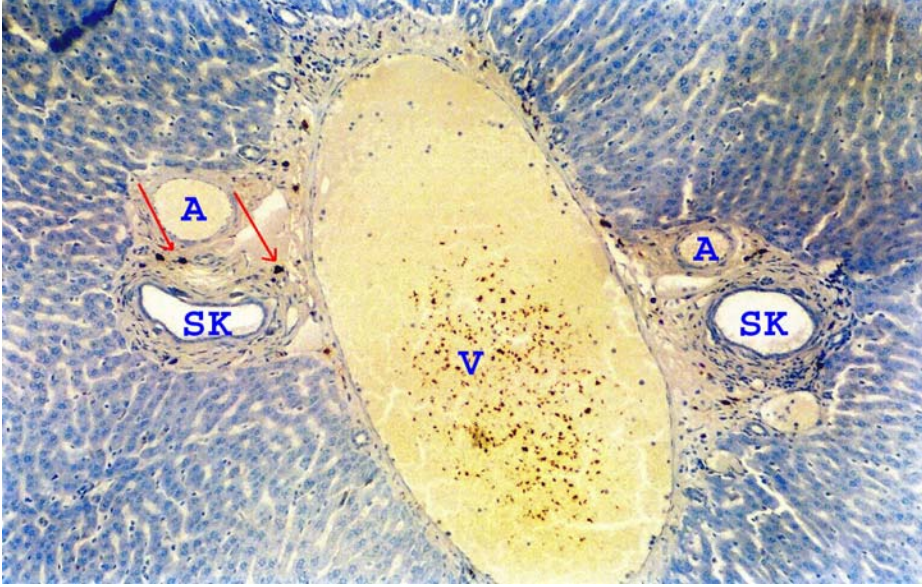
Tablo II. Sıçanların karaciğer preparatlarında ışık mikroskopisi ile portal alan başına belirlenen mast hücreleri sayıları

Gruplar	Portal alan sayısı		PA'da mast hücre		Birim (bir portal alandaki) PA'daki mast hücre	
	Ortanca	Min-Max	Ortanca	Min-Max	Ortanca	Min-Max
Grup1 (SF+SF)	7	2-10	3	0-11	0,143	0,1-0,5
Grup 2 (Sf+LPS)	2	1-15	11	2-19	1	0,13-2
Grup 3 (LPS+VIP)	5	1-10	10	5-17	0,6	0,3-3
Grup 4 (LPS+Ginkgo)	7	2-14	10	2-19	0,571	0,29-2
Grup 5 (LPS+L-NAME)	9	5-17	10	5-19	0,556	0,29-1
	X ²	4,34		8,27		12,037
	p	> 0,05		> 0,05		< 0,05

Biyokimyasal Bulgular

Grup 1'deki sıçanların karaciğer dokusu MDA değerlerinin diğer gruplardan yüksek (400.1) olduğu belirlenmiştir. Grup 2 için karaciğer MDA değeri (371.7) grup 1 ve grup 5'düşük olarak bulunmuştur. Grup 3'te MDA değerinin (363.1) grup 1, grup 2 ve grup 5'e göre düşük olduğu gözlenmektedir. Grup 4'teki MDA değerinin (251.3) ise diğer grupların MDA değerlerine kıyasla düşük olduğu

bulunmuştur. Grup 5'teki (LPS+L-NAME) MDA değerinin grup 2,3 ve 4'e kıyasla daha yüksek olduğu (384.8) gözlenmektedir. Ancak grupların kendi içinde de farklılık mevcuttur. Özellikle grup 2'deki 686.183 değeri, grup 3'teki 601.882 değeri ile grup 5'teki 685.102 ve 1317.218 değerleri bir hayli yüksektir. Bununla birlikte grup 4'te hemen hiç yüksek bir değer bulunmamaktadır. Dolayısıyla daha homojen bir grup olduğu görülmektedir (Tablo III).



Resim 4. LPS+Ginkgo biloba uygulanan grup 4'teki bir sıçanın karaciğer preparatında arter (A), ven (V) ve safra kanalları (SK) etrafında yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue, X100.



Resim 5. LPS+L-NAME uygulanan bir sıçanın karaciğer preparatında mast hücreleri (kırmızı oklar) ve ortada yerleşmiş ven (V), toluidine blue, X100

Tablo III. Sıçanların karaciğer dokularında gruplara göre MDA değerlerinin karşılaştırılması

	N=7	MDA Değerleri (nmol/gr)
Grup 1 (SF+SF)	1	392.244
	2	322.352
	3	400.141
	4	405.514
	5	411.176
	6	433.802
	7	306.799
Grup 2 (Sf+LPS)	1	287.669
	2	686.183
	3	371.701
	4	374.88
	5	294.669
	6	343.797
	7	413.1222
Grup 3 (LPS+VIP)	1	465.582
	2	400.273
	3	359.041
	4	300.09
	5	271.741
	6	363.058
	7	601.882
Grup 4 (LPS+Ginkgo)	1	252.21
	2	196.853
	3	196.988
	4	333.142
	5	325.708
	6	251.32
	7	244.183

Tablo III. Sıçanların karaciğer dokularında gruplara göre MDA değerlerinin karşılaştırılması

	N=7	MDA Değerleri (nmol/gr)
Grup 5 (LPS+L-NAME)	1	384.839
	2	237.093
	3	1317.218
	4	284.161
	5	685.102
	6	595.9
	7	382.072

TARTIŞMA

Tunçel ve arkadaşları (8) yaptıkları bir çalışmada 6 mg/kg dozunda LPS (E.coli) uygulamasında sıçan mast hücrelerinde degranülasyonun oluştuğunu ve 30 mg/kg dozunda L-NAME uygulanmasının ise NO sentezinin engellenmesi yoluyla degranülasyona sebep olduğunu iddia etmektedirler. Aynı çalışmada yazarlar uygulanan VIP'in (25ng/kg, i.p.) ise, endotoksinin oluşturduğu degranülasyonu engellediğini ve hatta granüllü mast hücre sayısını dahi azalttığını ileri sürmektedirler (8). Septik şok sırasında insanlarda ve hayvanlarda VIP'in artmış plazma seviyeleri bildirilmiştir (9). Septik şokta VIP salınması, savunma mekanizmasının aşırı bir yanıtı olarak yorumlanabilir (9, 10). VIP'in inflamatuvar hücrelerde süperoksit radikal oluşumunu engellediği ve bir antioksidan gibi oksijen ve hidroksil radikallerini toplama yeteneği olduğu iddia edilmiştir (8-10).

Serebral fonksiyon bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, sinir-duyu ve dolaşım sistemi bozuklukları ve iltihapta kullanılan Ginko biloba (EGb 761) ekstresinin koruyucu etkisinin hidroksil radikallerini söndürmesine bağlı olduğu bildirilmektedir (11-13).

Pluripotent hemopoietik kök hücrelerinden kaynaklanan ve hedef dokuya ulaşmadan olgulaşmayan mast hücreleri dolaşımında 'adlanmış öncül hücreler'

olarak bulunurlar (15). Doku mast hücrelerinin doku enfeksiyonu ve yaralanmalarda salgıladıkları çeşitli mediyatörlerle tanı için primer bir belirteç olarak kullanılacakları ileri sürülmektedir. Bu bilgiye dayanarak bu çalışmada endotoksemi sonucu oluşabilecek hepatosit hasarı, santral ven çevresinde hidropik dejenerasyon, nekroz alanları ve hücre infiltrasyonları vb patolojik bulgular gözlenmedi. Ancak gruplar arasındaki bir portal alan başına düşen mast hücre sayısı farklı bulundu. Portal alana düşen mast hücre sayısı grup 2'de en yüksek, grup 1'de en düşük ve diğer gruplarda ise bu iki değer arasında idi. Çalışmamızda LPS'nin 6 mg/kg dozunda verilmesi sonucu oluşan MDA değerlerindeki azalma, Tunçel ve arkadaşlarının (8) sonuçlarına benzemektedir. LPS uygulaması sonucunda oluşan MDA değerlerindeki azalmanın EGb 761 uygulanan grup 4'teki sıçanlarda daha belirgin olması LPS verilmesiyle oluşan serbest oksijen radikallerinin uygulanan antioksidan EGb 761 etkisiyle ortadan kalkmasıyla açıklanabilir. Grup 2'deki mast hücre sayısının en yüksek değerde bulunması ise, inflamasyonda ilk harekete geçen hücrelerin mast hücreleri olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bulgularımıza göre, deney gruplarında EGb 761 ve VIP uygulamasının karaciğer dokusu MDA değerlerinde azalma sağlaması bu maddelerin sepsiste tedavi edici etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Markiewski MM, De Angelis RA, Lambris JD. Liver inflammation and regeneration: Two distinct biological phenomena or parallel pathophysiological processes? *Molecular Immunology* 2006, 43:45-56.
2. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin* 2000, 16:193-213.
3. Karima R, Matsumoto S, Higashi H, Matsushima R. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. *Mol Med Today* 1999, 5:123-132.
4. Llesuy S, Evelson P, Gonzales FB, et al. Oxidative stress in muscle and liver of rat with septic synrome. *Free Rad Biol Med* 1994, 16:445-51.
5. Erdei A, Andrasfalvy M, Peterfy H, Toth G, Pecht I. Regulation of mast cell activation by compement-derived peptides. *Immunology Letters* 2004, 39-42.
6. Armbrust T, Batusic D, Ringe B, Ramadori G. Mast cells distribution in human liver disease and experimental rat liver fibrosis. Indications for mast cell participation in development of liver fibrosis. *J Hepatol* 1997, 26:1042-54.
7. Varadaradjalou S, Feger F, Thieblemont N. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur J Immunol* 2003, 33 (4):899-906.
8. Tunçel N, Töre F, Şahintürk V, Ak D, Tunçel M. Vasoactive intestinal peptide inhibits degranulation and changes granular content of mast cells: a potential therapeutic strategy in controlling septic shock. *Peptides* 21 (2000), 81-89.
9. Revhaug A, Lygren I, Jenssen GT, Giercksky KE, Burhol PG. Vasoactive intestinal peptide in sepsis and shock. *Ann NY Acad Sci* 1998, 527:536-45.
10. Delgado M, Munoz-Elias EJ, Gomariz RP, Ganea D. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide enhance IL-10 production by murine macrophages: in vitro and in vivo studies. *J Immunol* 1999, 162: 1707-16.
11. Coşkun Ö, Yakan B, Öztaş E, Sezen Ş, Günaydin AA. Antioxidant and hepatoprotective activity of vitamin E and EGb 761 in experimental endotoxemic rats. *Turk J Med Sci* 2000, 30 (5):427-432.
12. Selçuk Y, Yakan B, Başoğlu M, et al. Effect of Ginkgo glycosid (EGb 761) on some vascular endothelial functions and renal histology in rabbits with acute cyclosporine nephrotoxicity. *Turk J Med Sci* 2000, 30:109-113.
13. Welt K, Weiss J, Martin R, et al. Ultrastructural, immunohistochemical and diabetes and acute hypoxia without application of Ginkgo extract. *Exp Toxic Pathol* 2004, 331-345.
14. Bancroft JD, Stevens A, Turner DR. *Theory and Practie of Histological Techniques*. (3 rd ed)Chuchill Livingston, Philadelphia 1990, pp 43-59, p 167.
15. Özdemir Ö, Savaşan S. Gözardı edilmiş bir hücrenin dönüşü: mast hücresi ve hematoloji-onkoloji /immünoloji alanlarında tanımlanan yeni rolleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005, 48:1-7.

