

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

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

**Tezi Hazırlayan  
Tülay MORTAŞ**

**Tezi Yöneten  
Prof.Dr.Birkan YAKAN**

**Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Haziran 2006  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

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

**Tezi Hazırlayan  
Tülay MORTAŞ**

**Tezi Yöneten  
Prof.Dr.Birkan YAKAN**

**Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TA.04.08 nolu  
proje ile desteklenmiştir**

**Haziran 2006  
KAYSERİ**

**Prof.Dr. Birkan YAKAN** danışmanlığında **Tülay MORTAŞ** tarafından hazırlanan “**Deneysel Endotoksemik Sıçanlarda Vazoaktif İntestinal Peptid ve Ginkgo Biloba Ekstresinin Karaciğer Koruyucu Etkinliği ve Bu Etkinlikte Mast Hücrelerinin Rolü** ” konulu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji ve Embriyoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

12/ 05 /2006

**JÜRİ :**

**İmza**

**Üye : Prof. Dr. Birkan YAKAN (Danışman)**

**Üye : Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR**

**Üye : Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ**

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Enstitü Müdürü**  
**Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU**

## TEŞEKKÜR

Çalışmamda bana göstermiş olduğu sabır, hoşgörü ve anlayıştan dolayı, tez danışman hocam Erciyes Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr.Birkan YAKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.Saim ÖZDAMAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimyasal çalışmamda bana yardımcı olan Erciyes Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında Uzm.Dr.Recep SARAYMEN hocam'a teşekkürlerimi sunarım. Yine istatistiki hesaplamalarda yardımcı olan Erciyes Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalında Öğretim Üyesi Doç. Dr. İskender GÜN hocam'a teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımda bana yardımcı olan DEKAM'daki arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. Son olarak tez yazımında bana her türlü yardım eden kan bankasında çalışan arkadaşım Fatih POLAT'a teşekkürlerimi borç bilirim.



#### IV

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

#### **ÖZET**

Bu çalışmada deneysel endotoksemik sıçanlara Vazoaktif intestinal peptid (VIP) ve Ginkgo biloba ekstresi (EGb 761) verildi. Koruyucu etkinliği olduğu düşünülen bu maddelerin karaciğer üzerindeki etkisi ve bu etki ortaya çıkarken, mast hücrelerinin rolü araştırıldı.

VIP, septik şokta mast hücrelerinden salınan kimyasal mediyatörlere karşı dokuların özgül reaksiyonlarını düzenlemektedir. Biz bu çalışmada VIP'in karaciğer koruyucu etkisini inceledik. Endotoksemik sıçanlarda serbest radikal oluşumu ve bunda bir Ginkgo biloba ekstresi olan EGb 761'in rolü çok az çalışmada araştırılmıştır. Biyokimyasal takipte lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyine baktık. Deney gruplarımız arasındaki MDA değerleri arasında anlamlı farklar ortaya çıktı. EGb 761, kontrol grubu I'e göre MDA değerini belirgin bir şekilde düşürürken, VIP daha az düşürdü. Histolojik takipte ise dokuları toluidine blue ile boyayarak her bir gruptaki mast hücre sayısını saptadık. Gruplar arasında mast hücre sayısında farklılık gördük. Endotoksemi sırasında gözlenen ven hasarı, hepatosit hasarı ve polimorfnükleer hücre infiltrasyonlarına rastlamadık.

Elde ettiğimiz sonuçlar, Vazoaktif intestinal peptid ve Ginkgo biloba ekstresinin septik şok tedavisinde rolü olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Endotoksemik sıçan, Malondialdehit, Vazoaktif intestinal peptid, Ginkgo biloba, Mast hücreleri

**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**

**ABSTRACT**

In this study it has administrated Vasoactive intestinal peptide (VIP) and Ginkgo biloba extract (EGb 761) to experimental endotoxemic rats. It is investigated the effect of the matter (Which is thought that it has a protective effect.) on liver and the role of mast cells when the effect come into being .

In VIP septic shock it is regulated the specific reactions if the tissues to chemical mediators that are release from mast cells. In this study we have examined the liver protective effect of VIP. The reactive oxygen species being in endotoxemic rats and the role of EGb 761 which has a Ginkgo biloba extract investigated in a few studys. In biochemical follow have looked to malondialdehyde (MDA) levels of the last production the lipid peroxidation. It has been significant differences between our experimental groups' MDA levels. Although EGb 761, has decreased the MDA levels clearlier than control group I, VIP has decreased less. the level of MDA I. In histological following, we have found the number of mast cells in each groups by staining the tissue with toluidine blue. We have seen different between groups. While endotoxemic observation we haven't seen any vein damage and polymorfnuclear cell infiltration.

Our results make thinking that Vazoactive intestinal peptide and Ginkgo biloba extract could have a role in septic shock.

**Key words:** Endotoxemic rat, Malondialdehyde, Vazoactive intestinal peptid, Ginkgo Biloba, Mast cells

## VI

### İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK .....	I
KABUL VE ONAY SAYFASI .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
ÖZET .....	IV
ABSTRACT .....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ .....	VII
KISALTMALAR .....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. KARACİĞERİN EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2.2. KARACİĞERİN MORFOLOJİK YAPISI.....	4
2.3. İNFLAMASYON .....	9
2.4. LİPOLİSAKKARİT .....	10
2.5. LİPİD PEROKSİDASYONU VE MDA .....	13
2.6. MAST HÜCRELERİ.....	14
2.6.1. Mast Hücrelerinin Morfolojisi .....	14
2.6.2. Mast Hücre Mediatorleri.....	16
2.6.3. Mast Hücre Heterojenitesi .....	19
2.6.4. Mast Hücrelerinin Fonksiyonları .....	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	25
3.1. DENEYSEL SÜREÇLER .....	26
3.2. IŞIK MİKROSKOBU VE HİSTOKİMYA .....	26
3.3. DOKU HOMOJENİZASYONU VE MDA TAYİNİ.....	27
4. BULGULAR.....	30
4.1. IŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR.....	30
4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR.....	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	42
6. KAYNAKLAR .....	45
ÖZGEÇMİŞ	

## ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
<b>Tablo 2.1.</b> Mast Hücre Mediatörleri.....	21
<b>Tablo 4.1.</b> Portal alanlardaki mast hücre sayıları .....	38
<b>Tablo 4.2.</b> Birim portal alandaki mast hücreleri .....	39
<b>Tablo 4.3.</b> Gruplardaki MDA değerleri .....	40
<b>Tablo 4.4.</b> Gruplara göre MDA değerlerinin karşılaştırılması .....	41
<b>Şekil 2.1.</b> İri büyük granüllerle mast hücrelerinin görünümü.....	14
<b>Şekil 3.1.</b> MDA standart grafiği .....	29
<b>Şekil 4.1.</b> Kontrol grubu I'de (SF + SF) yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100 .....	31
<b>Şekil 4.2.</b> Safra kanalı (SK) etrafında kontrol grubu I'de yer alan menekşe renginde boyalı mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400 .....	31
<b>Şekil 4.3.</b> Safra kanalları etrafında LPS verilmiş (SF + LPS) kontrol grubu II'de yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100 .....	32
<b>Şekil 4.4.</b> LPS enjekte edilmiş kontrol grubu II'deki mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400 .....	33
<b>Şekil 4.5.</b> VIP verilmiş (LPS+VIP) grupta mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100 .....	34
<b>Şekil 4.6.</b> VIP 'li grupta mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400 .....	34
<b>Şekil 4.7.</b> Ginkgo biloba uygulanmış (LPS+Ginkgo biloba) grupta arter, ven ve safra kanalları etrafında yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100.....	35
<b>Şekil 4.8.</b> Ginkgo grubundaki mast hücreleri (kırmızı oklar) toluidine blue X400 .....	36
<b>Şekil 4.9.</b> Nitrik oksit sentez inhibitörü (L-NAME) enjekte edilmiş gruptaki (LPS+L-NAME) mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100 .....	37
<b>Şekil 4.10.</b> L-NAME'li gruplarda safra kanalları (SK) etrafındaki mast hücreleri, toluidine blue X400 .....	37

## VIII

### KISALTMALAR

<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarid
<b>VIP</b>	: Vazoaktif intestinal peptid
<b>L-NAME</b>	: NG-nitro-L-arginine methyl ester
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>Vp</b>	: Vena porta
<b>Ah</b>	: Arteria hepatica
<b>GER</b>	: Granüllü endoplazmik retikulum
<b>SER</b>	: Granülsüz endoplazmik retikulum
<b>PAF</b>	: Trombosit aktive edici faktör
<b>SIRS</b>	: Systemic inflammatory response sendrome
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>İNOS</b>	: İnorganik nitrik oksit sentaz
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikali
<b>MDA</b>	: Malondialdehit
<b>TBA</b>	: Tiobarbitürik asit
<b>SCF</b>	: Stem cell factor
<b>TLR</b>	: Toll-like reseptör
<b>IgE</b>	: İmmunglobulin E
<b>IL-1</b>	: İnterlökin-1
<b>IL-3</b>	: İnterlökin-3
<b>ECF-A</b>	: Anafilaksinin eosinofil kemotaktik faktörü
<b>IL-4</b>	: İnterlökin-4
<b>IL-5</b>	: İnterlökin-5
<b>IL-6</b>	: İnterlökin-6
<b>IL-8</b>	: İnterlökin-8
<b>MMC</b>	: Mukozal mast hücreleri
<b>CTMC</b>	: Connective mast hücreleri
<b>RMCP</b>	: Sıçan mast hücre proteazı
<b>MMCP</b>	: Fare mast hücre proteazı

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu araştırma sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan endotoksemide Vazoaktif İntestinal Peptid (VIP) ve bir Ginkgo biloba ekstresi olan Egb 761'nin karaciğer koruyucu etkinliği ve bu etkinlikte mast hücrelerinin rolünü araştırmak amacıyla planlandı. Gram negatif bakteriyel endotoksin'in yol açtığı sepsis ve septik şok; klinik tablosu ve başlıca multipl organ yetmezliğine neden olduğu için mortalitesi yönünden son derece önemlidir.

Endotoksemi, şokla sonuçlanabilecek şekilde endotoksinin kanda bulunması halidir. Endotoksinler, gram negatif bakterilerin dış membranının bir bileşeni olan lipopolisakkarid (LPS)'lerdir. Bir polisakkarid zincir, bir çekirdek bölgesi ve lipid A'dan oluşmaktadır. Septik şokun tedavisi hala tartışılmaktadır. Sistemik endotoksinin ilk etkisi yoğun bir şekilde adrenerjik yapıların uyarılması ve buna bağılı olarak sempatik sinir sisteminin uyarılmasıdır ki bu etki az ya da çok arteriyel vazospazm ile sonuçlanır. Endotoksinin sekonder etkisi ise immünolojik sistemin bazı hedef hücrelerinde (örneğin mast hücreleri) ortaya çıkmaktadır.

VIP, muhtemelen septik şok boyunca mast hücrelerinden salınan kimyasal mediyatörlere karşı dokuların özgül reaksiyonlarını düzenlemektedir. Septik şok boyunca insanlarda ve hayvanlarda VIP'in artmış plazma seviyeleri gösterilmiştir. Septik şokta VIP salınması, savunma mekanizmasının aşırı bir yanıtı olarak yorumlanabilir. VIP, başlıca savunma

düzenleyici görevi iltihabı önlemek olan multifonksiyonel bir nöropeptiddir. VIP'in sitokin üretimi, T-lenfosit çoğalması, makrofajların fagositozu, respiratuar burst (solunum yangısı) ve kemotaksi olayını önlediği gösterilmiştir. Keza son zamanlarda VIP'in muhtemelen endojen tümör nekroz faktör ( TNF- $\alpha$  ) ve interlökin-6 (IL-6) inhibisyonu yoluyla endotoksik şoktan fareleri koruduğu ve LPS ile uyarılmış makrofajlarda IL-6 ve TNF- $\alpha$  yapımını engellediği bulunmuştur. Bu nedenle VIP'in deneysel endotoksemide karaciğer koruyucu etkisi ya da etkilerini araştırmak bu çalışmadaki başlıca amaçlarımızdan birisidir.

Ayrıca Ginkgo biloba ekstresi olan EGb 761'in temel kullanım endikasyonları; serebral fonksiyon bozuklukları, kardiovasküler hastalıklar, sinir-duyu ve dolaşım sistemi bozuklukları ve iltihaptır. Endotoksemik sıçanlarda serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonunu önleyecek EGb 761'in kapasitesi çok az çalışmada araştırılmıştır. Bu nedenle bu araştırmada sıçanlarda oluşturulan endotoksemideki lipid peroksidasyonu üzerinde EGb 761'in koruyucu etkilerini de araştırmak diğer çalışma amaçlarımızı oluşturmaktadır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. KARACİĞERİN EMBRİYOLOJİSİ**

Karaciğer, insanda gelişimin 3. haftasının ortasında, duodenumda hepatopankreatik halka adını alan bölgenin ön bölümünde endodermin kalınlaşmasıyla ortaya çıkar. Daha sonra derinleşerek hepatik divertikulum veya karaciğer tomurcuğu olarak adlandırılan yapıyı oluşturur. Bu yapı septum transversum içine nüfuz eden ve hızla çoğalan hücrelerden ibarettir. Septum içine doğru ilerleyen hepatik hücre kümeleri büyüyerek karaciğer parankiması ve safra kanallarını yaparlar. Karaciğer taslağının ventralinde safra kesesi ve duktus sistikus gelişir. Gelişimin daha ileri evresinde, karaciğer hücre kordonları arasına vitellin ve umbilikal venler karışarak hepatik sinüzoidleri oluşturur. Karaciğer kordonları parankima içerisine yayılarak safraya ait duktusların sınırlarını belirlerler. Hemopoietik hücreler, Kupffer hücreleri ve bağ dokusu hücreleri septum transversum'un mezoderminden, hepatositler ise ön bağırsağın endoderminden gelişir.

Karaciğer, 6-22 haftalık insan embriyo ve fetusunda hemopoietik organ olarak işlev görür. Karaciğerde kan yapımı intrauterin hayatın son iki ayı içinde giderek azalmakta ve doğumda sadece küçük hemopoietik adacıklar halinde kalmaktadır (1).



## 2.2. KARACİĞERİN MORFOLOJİK YAPISI

Abdominal kavitenin sağ üst bölümünde, diyafragmanın hemen altında yer alan karaciğer, vücuttaki bezlerin en büyüğüdür. Regio hypochondriaca dextranın tamamını, regio epigastrica'nın büyük bir bölümünü ve regio hypochondriaca sinistra'nın üst sağ yarısını doldurur. Küçük bir parçası ise karnın ön duvarı ile doğrudan temas halindedir. Yetişkin bir insanda 1500 gr. ağırlığında olan karaciğer dört lobdan oluşmuştur ve loblar arasında H harfi şeklinde porta hepatis (karaciğer hilusu) bulunur. Organa giren ve çıkan büyük damarlar, lenf yolları, sinirler ve safra kanalı bu bölgeden geçer (2).

Safra kanalları yolu ile salgısını duodenuma boşalttığından dolayı ekzokrin, sentezlediği maddeleri doğrudan kana vermesinden dolayı da endokrin bez özelliği taşıyan karaciğere kan Vena porta (Vp) ve Arteria hepatica (Ah)'dan gelir. Vp kanı Vena mesenterica superior yolu ile barsaklardan ve Vena splenica yoluyla dalak, pankreas, mide ile safra kesesinden alır. Vena porta karaciğerin fonksiyonel damarı olup, karaciğere gelen kanın %75'i buradan sağlanır. Karaciğere % 25 oranında kan getiren Arteria hepatica, karaciğerin oksijenden zengin besleyici damarıdır. Barsaklarda absorbe edilen ve kan yolu ile gelen sindirim ürünleri karaciğerde metabolize edilir, değişime uğratılır, sonra depolanır veya diğer organlarda kullanılmak üzere kana verilir (2).

Karaciğer dıştan visseral peritonla örtülüdür. Peritonun altında Glisson kapsülü adı verilen, elastik fibrillerden zengin bir kapsül bulunur. Porta hepatis bölgesinde kapsülden ayrılan ince bağ dokusu septumları organ içine doğru girerek, karaciğeri lob ve lobüllere ayırır. Domuz gibi bazı memelilerde interlobüler bağ dokusu belirgin olmakla beraber, insan dahil pek çok memeli türünde lobüller arası sınır belirgin değildir. Lobüllerin birleştiği bölümlerde bağ dokusu artarak üçgen bir yapı oluşturur. Portal kanal, Glisson üçgeni, Kiernan aralığı ya da Portal aralık olarak adlandırılan bu bölgede portal venin bir dalı, bir hepatik arter, bir safra duktusu ve lenf damarı bulunur. Hepatik arter, portal ven ve safra duktusundan oluşan üçlü yapıya 'portal triad' adı verilir. Portal kanalı lobülün dışında yer alan hepatositler çevreler. Bağ dokusu stroması ile hepatositler arasındaki alan Mall bölgesi

olarak tanımlanmaktadır ve burasının karaciğer lenf yapım bölgeleri olduğu düşünülmektedir (2).

Bağ dokusu ile çevrelenmiş altıgen şekilli lobüller karaciğerin yapısal ve fonksiyonel birimi olup, klasik veya hepatik lobül olarak adlandırılır. Yaklaşık 0.7x2.0 mm. boyutlarında olan hepatik lobüllerde ortada bir Vena centralis ve periferdeki köşelerde portal kanallar bulunur. Klasik lobüllerde kan akışı periferden vena centralise, safra akışı ise merkezden perifere doğru, yani safra duktusuna doğrudur (2).

Bazı araştırmacılar tarafından, safra salgılanışı dikkate alınarak, yapılan diğer bir lobülasyon tipi de Portal lobüldür. Portal lobül yapısında merkezde portal kanal, üçgen biçimindeki lobülün köşelerinde birer Vena centralis bulunmaktadır. Bu şekildeki bir lobülde safra salgısının akışı, merkezde yer alan safra duktusuna doğru olmaktadır (2).

Karaciğer asinüsü olarak tanımlanan diğer bir lobülasyon tipinde ise; dikdörtgen prizma şeklindeki yapının iki köşesinde vena centralis'ler, diğer iki köşesinde de portal kanallar bulunur. Bu lobülasyon tipinde, hücre grupları iki komşu klasik lobül içinde aynı interlobüler ven'den beslenirler. Histologlar tarafından bu üç tip lobülasyonun, karaciğerin fonksiyonlarını açıklamada birbirlerini tamamlayıcı unsurlar olduğu belirtilmektedir (2).

Portal kanallarda yer alan interlobüler damarlar kanı sinüzoidlere verirler. Sinüzoidlerdeki kan akışı Vena centralise doğrudur. Lobül boyunca ilerleyen Vena centralis'ler daha sonra sublobüler ven'i, birçok sublobüler ven de birleşerek hepatik venleri oluşturur. Hepatik ven, Vena cava inferior'a boşalır. Portal ven ve dalları lümenleri aynı çaptaki arterlere göre daha geniş olup, tipik ven yapısı gösterir. Kalın bir duvara sahip olan hepatik arter, arteriyel kanı direkt olarak sinüzoidlere verir. Hepatik sinüzoidlerden gelen kanı alan vena centralisler ince duvarlı damarlardır ve endotelini spiral olarak düzenlenmiş bağ dokusu fibrilleri çevreler. Hepatik venler gibi tek başına seyreden sublobüler venler, Vena centralis'lerden gelen kanı alırlar. Histolojik olarak; endotel ve endoteli çevreleyen kollajen ve elastik liflerden oluşan bağ dokusu yapısındadır (2).

Karaciğerin önemli yapılarından biri olan sinüzoidler geniş lümenli ve düzensiz şekilli özel tipte kapillerler olup, hepatik hücre plakları arasında yer alırlar. 9-12 mikron çapa sahip olan sinüzoidler hem arter hem de ven kanı taşırlar. Sinüzoidlerde kan akımı periferden

Vena centralise doğrudur. Sinüzoidlerde endotel hücreleri, Kupffer hücreleri ve perisinüzoidal yağ depolayıcı hücreler (İto hücreleri) bulunur (2).

Kesintili bazal lamina ile kuşatılmış olan sinüzoidlerde endotel hücreleri genellikle aralıklı, nadiren sıkıca bir araya gelmiş olarak yerleşim gösteren yassı hücrelerdir. Nükleusları koyu boyanır. Sitoplazmasında çok sayıda delikler bulunur, bu nedenle pencere tiptedir. Az miktarda organel bulunan sitoplazmasındaki pinositotik veziküller, pinositotik aktiviteye sahip olduklarının göstergesidir (2).

Sinüzoid duvarında ikinci hücre tipi, aynı zamanda mononükleer fagositer sisteme ait kabul edilen Kupffer hücreleridir. Çevreye sitoplazmik uzantıları olan yıldız biçimini andıran hücrelerdir. Lümene ve sinüzoid duvarını sınırlayan endotele doğru uzanan sitoplazmik çıkıntıları vardır. Belirli aralıklarla endotel hücreleri arasında bulunurlar. Köken ve fonksiyonları endotel hücresinden farklıdır. Kan monositlerinden köken alırlar ve fagositoz yetenekleri vardır. Bu fonksiyonla ilgili organeller sitoplazmada belirgin olarak gözlenir. Elektron mikroskopta gözleendiğinde hücre gövdesinde kısa sitoplazmik uzantılar izlenir. Hücre zarında içeriye doğru girintiler vardır (3).

Sinüzoid duvarında yer alan diğeri bir hücre tipi de yağ depolayıcı hücrelerdir. İnterstitiel hücre, Ito hücresi, liposit veya satellit olarak adlandırılan bu hücreler ilk olarak Ito (1951) tarafından tanımlanmıştır. Fibroblast yapısına benzeyen bu hücrelerin sitoplazmalarında bol miktarda lipid damlası bulunur. Orijinleri ve fonksiyonları tam olarak bilinmeyen, yağ depolayıcı hücrelerin destekleyici görev yapmalarının yanısıra, A vitamini depoladıkları, retiküler ve kollajen liflerin yapımına katıldıkları, fetal dönemde hemopoiesis için stem hücreler oldukları düşünülmektedir (2).

Perisinüzoidal bölgede yer alan Pit hücreleri ise hayvan türlerinde görülür, immün sisteme ait olduğu bildirilmiştir (3).

Hepatositler ile sinüzoid endoteli arasında kalan bölge Disse aralığı, perisinüzoidal aralık veya subendotelyal aralık olarak tanımlanır. Retiküler fibriller ve az miktarda kollajen fibril içerir. Hepatositlerin bu aralığa bakan yüzlerinde bol miktarda mikrovillus bulunur. Ara madde içermeyen bu bölge kanın şekilli elemanlarını da bulundurmaz. Ancak kan plazmasının varlığı, kan ile hepatositler arasında metabolitlerin aktif değişiminin

gerçekleştiği ve karaciğer hücre yüzeyinde bulunan mikrovillusların bu değişimi artırıcı rol oynadıkları belirtilmektedir (2).

Hepatositler lobül içinde fonksiyonel parankim hücreleridir (3). Karaciğer hücre topluluğunun %80 kadarını oluşturan bu hücrelerin yaşam süresinin 200-400 gün olduğu belirtilmektedir. 20-30 mikrometre çapındaki bu hücreler poligonal biçimli olup, dallanma, anastomozlaşma gösteren plakalar şeklinde düzenlenmişlerdir. Hepatositler; kan damarları ile safra kanalikülü arasında madde transferinde önemli rol oynayan sinüzoidal, kanaliküler ve intersellüler olmak üzere üç yüzeye sahiptir. Hepatosit yüzeyinin %70'ini oluşturan sinüzoidal yüzey hepatositlerin Disse aralığına bakan bol mikrovillus içeren yüzeyi olup, sinüzoidler ve hepatositler arasında materyal transferinin yapıldığı alanlardır. Birbirine komşu iki hepatosit arasında bulunan kanaliküler yüzey hepatosit yüzeyinin yaklaşık %15 kadarıdır ve hepatositlerden kanalikül içine safranın verildiği yüzeydir. Safra kanalikülü komşu iki karaciğer hücresinin düzgün seyreden membranları arasındaki 0.5-2.5 µm çapındaki tubuler bir aralıktır. Bu bölgeyi sınırlayan hepatosit membranları lümen içerisine uzanan mikrovillusları oluşturur. Hepatositlerin intersellüler yüzeyleri sinüzoidler veya kanaliküllerle temasta olmayan, komşu hepatositler arasındaki yüzeydir ve hepatosit yüzeyinin diğer %15'lik bölümüdür (2).

Hepatik asinüste hepatositler fonksiyonel açıdan, dağıtıcı venlere olan yakınlığına göre, 3 zona ayrılır. I. zon (periferik zon) damarlara en yakın zondur. Sürekli aktivite gösteren bu zonunun hücrelerinin sitoplazmasında bol miktarda glikojen depolanır. II. zon (ara zon), I. zon ile III. zon arasında kalan bölgeyi oluşturur. III. zon (merkezi zon) Vena centralis etrafında yer alan bölge olup, dinlenme halindeki hücreleri içerir. I. zonda kan yoluyla gelen glikoz glikojen şeklinde depolanır. Bu zondan geçen bir miktar glikoz II. zonda toplanır. I. zondaki glikojen tükenene kadar diğer zonlardaki hücrelerden glikoz verilmez. Bu zonal düzenleme hepatositlerin çeşitli etkenler veya hastalık durumunda farklı derecede hasar görmelerinin nedenini açıklamaktadır (2).

Hepatositler büyüklüğü hücreden hücreye değişen, merkezi yerleşimli, büyük yuvarlak ve düzgün yüzeyli nükleuslara sahiptir. Çoğunlukla tek nükleus içeren karaciğer hücrelerinin %25 kadarı çift nükleuslu olabilir. Nükleus birkaç dağınık kromatin grubu ile birlikte bir ya da daha çok veziküler nükleolus içerir (2).

Hepatosit sitoplazması bol miktarda organel içerir ve bunların hepsi iyi gelişmiştir. Bazofilik karakterde olan sitoplazmasında hem granüler hem de agranüler endoplazmik retikulum (GER, SER) bulunur. Dallanma gösteren tübüler bir ağ yapısında olan agranüler endoplazmik retikulum (SER) glikojen yapımında fonksiyon görmektedir. Birbirine paralel sisternalar şeklinde izlenen GER, protein sentezinden sorumlu organeldir. Plazma proteinleri sentezi, kan glikozunun serbestleşmesi ve detoksifikasyon gibi fonksiyonlara sahip karaciğer dokusunun önemli bir organeli olan endoplazmik retikulumun yüzey ve hacim yoğunluğu fare ve sıçan gibi deney hayvanları ile yapılan araştırmalarla incelenmiştir. Buna göre; perisentral hepatositlerde periportal alandaki hücrelere oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir (2).

Safra kanalikülleri karaciğer hepatositleri arasında ince kanalcıklar şeklinde bulunur ve lobuluslar içinde dallanıp anastomozlaşarak retiküler bir ağ yapısı oluştururlar. Rutin incelemelerle ayırt edilemeyen safra kanalikülleri gümüşleme veya alkalin fosfataz reaksiyonu ile belirgin olarak seçilebilirler. Vena centralisler çevresinde kör uçlar şeklinde başlayan kanaliküller küçük safra kanallarına (Hering kanalı) açılır. Bu kanalların bir yüzünde parankimal hücreler bulunurken, diğer yüzünü boşaltım kanalı epiteline benzer hücreler döşer. Belirgin bir bazal membran üzerine oturan bu hücreler koyu nükleuslu, soluk sitoplazmalı, organelden fakir ve kübik biçimdedirler. Karaciğerin iki büyük lobundan gelen sağ ve sol safra kanalı porta hepatiste birleşerek, duodenuma açılan duktus koledokus'u meydana getirir. Duktus hepatikus, duktus sistikus ve duktus koledokus'tan oluşan üçlü yapıya ekstra-hepatik safra duktusları denir (2).

Otonomik sinir sisteminin sempatik ve parasempatik bölümlerinden sinirler alan karaciğer sinirleri organa porta hepatisten girerek, portal kanallar içinde dallanır. Kan damarlarını sempatik, duvarlarında düz kas içeren büyük duktusları parasempatik sinirler inerve etmektedir (2).

### 2.3. İNFLAMASYON

İnflamasyon, inflamatuvar bir stimulusa cevap olarak ortaya çıkan dinamik olaylar zinciridir. İnflamasyon alanında vazodilatasyonu takiben kan akımı değişiklikleri, damar permeabilite artışı, ödem sıvısı oluşumu, lokal lökosit birikimi gözlenir. Bu birbirini takip eden olayların gelişiminden çeşitli mediatörler sorumludur. Histamin, inflamasyonda rol oynadığı gösterilen ilk mediatörlerden biri olmasına karşın, bu olayda çok sayıda mediatörün katkısının olduğu daha sonraki çalışmalarda gösterilmiştir (4-9).

Karaciğer, sindirim sistemi ve vücudun diğer bölümleri arasında stratejik konumda yer alarak metabolik homeostazın devamlılığında çok önemli bir rol oynar. Görevleri arasında vitaminler, lipidler, karbonhidratlar ve amino asit olarak besinlerin işlenmesi, belli maddelerin fagositozu, serum proteinlerinin sentezi, yaygın metabolitlerin biyolojik dönüşümü, detoksifikasyon ve safra içine endojen artık ürünlerin boşaltımı gibi görevler yer alır. Portal venöz sistemin bulunması organa aynı anda hem arteriyel hem de venöz kan sağlar. Karaciğerde bulunan bu portal venöz sistem abdominal vicsera'nın venöz boşaltımının çoğu için bir ara filtre görevi yapar (10).

Bu anatomik farklılık karaciğerin sadece fizyolojik görevlerine yardım etmekle kalmaz, aynı zamanda neoplastik, dolaşım, mikrobik ve toksik zararlı etkilere karşı savunmasına da yardım eder. Karaciğerin iltihabi rahatsızlıklarında bazı hepatositler yok olabilir ve inflamatuvar hücreler toplanabilir (10).

Sindirim bölgesi ve periferik dolaşım arasında organın stratejik yerleşimi yüzünden karaciğer; kanı splanknomezenterik damar yatağından süzer. Bu bölge özellikle sepsis boyunca damarlanma ve bakteriyel translokasyon (taşınma) ile karşı karşıyadır (10).

SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome; SIRS*), endotoksemi, bakteriyemi, viremi, fungemi, sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği gibi birçok patolojinin ortak klinik görüntüsüdür. Sepsis “enfeksiyona sistemik inflamatuvar yanıt” olarak tanımlanabilir. Özellikle Gram (-) bakterilerin meydana getirdiği SIRS, sık görülmesi, yüksek ölüm oranı (%30-90) ve kolay deneysel metodlar kurulabilmesi nedeniyle Gram (+)'lere göre daha çok

araştırma konusu olmuştur. Aslında SIRS çoğu zaman “endotel disfonksiyonu” ile beraber seyretmektedir (4-9).

#### 2.4. LİPOLİSAKKARİD

Endotoksin, Gram (-) bakterilerin hücre dışı duvarının en önemli komponenti olup temel olarak lipopolisakkarit (LPS) ve çeşitli oranlarda bakteri duvar komponentlerini içerir. Literatürde LPS ve endotoksin aynı anlamda kullanılsa da aralarında fark vardır. LPS saflaştırılmış glikolipid yapısına sahiptir. Endotoksin ise LPS’e ek olarak az miktarda hücre duvarı proteinleri, lipidler, lipoproteinler ve polisakkarit içerir. LPS toksisitesi, çoğunlukla içerdiği Lipid A’dan kaynaklanır. Sıçanlara yüksek doz endotoksin uygulanması vazodilatasyon, kardiovasküler kollaps (şok) ve erken ölüme neden olmaktadır. Düşük doz uygulama ise hiperdinamik cevap ve kardiyak debi artışı yapar. Deneysel model sonucunda oluşan tablo “enfeksiyona karşı sistemik inflamatuvar yanıt” benzeridir (4-9).

LPS genelde liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilir. *Escherichia coli* (*E.coli*), *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok Gram (-) bakteriden elde edilmesine rağmen deneysel septik şok çalışmaları *E. coli*’den elde edilen LPS’ler üzerinde yoğunlaşmıştır. Toz halindeki LPS planlanan deneysel çalışma protokolleri esas alınarak, suda çözülerek deney hayvanlarına periton veya damar içine tek doz ve/veya infüzyon şeklinde verilir. Literatür incelendiğinde uygulanacak dozun 1 mg/kg ile 80-100 mg/kg gibi geniş bir doz aralığına sahip olduğu gözlemlenir. Sağkalım (survival) çalışmalarında dozlar genelde yüksektir (4-9).

Gram negatif bakteriyel endotoksin [lipopolisakkarid (LPS)] sepsis ve septik şoka sebep olur. Endotoksik şok, klinik seyirde çok önemlidir ve ölümler çoklu (multipl) organ yetmezliğinden dolayı yüksektir. Septik şokun tedavisi hala tartışılmaktadır. Hatırı sayılır vakada reaktif oksijen radikalleri sepsis ve septik şok boyunca organ bozukluklarına aracı olarak katılmaktadırlar. Nitrik oksit (NO) ile süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi reaktif oksijen radikalleri, oluşturdukları sekonder ürünlerin birbiriyle etkileşime girmesi sonucu septik şoku ilerletirler. Nitrik oksit ve oksijen radikallerinin birbirini etkilemesi; toksisiteyi ve lipid peroksidasyonunu artırabileceği gibi, serbest

radikallerden dolayı toksisiteyi azaltabilir de; dolayısıyla dokuların antioksidan durumları değişebilir (11-16).

Karaciğerin, sepsis tarafından en çok etkilenen organ olduğu düşünülmektedir. Çünkü, organizmanın immunolojik savunma mekanizmalarında çok önemli bir rol oynamaktadır (17-20). Karaciğer, sepsiste 2 zıt role sahiptir:

1. İnflamatuar mediatörlerin bir kaynağı gibi iş görür.
2. İnflamatuar mediatörlerin etkileri için bir hedef organdır (21).

Karaciğer vücuttaki makrofajların (Kupffer hücreleri) en büyük kısmını içerdiği için, ciddi enfeksiyona karşı yanıt vermede çok önemlidir. İn vitro ve in vivo deneyler göstermiştir ki, sepsis sırasındaki hemodinamik ve metabolik değişiklikler; NO, sitokinler ve eikosanoidlerin (prostaglandin öncülü) üretiminde belirgin artışlarla ilişkilidir. NO'nin faydaları; doku perfüzyonunun devam ettirilmesi, platelet agregasyonunun inhibisyonu ve splanknik dolaşımın iyileştirilmesidir. Sepsiste NO karmaşık bir role sahiptir; kan basıncını ve antimikrobiyal savunma mekanizmalarını düzenler ve iltihaba karşı yanıtı değiştirir. Sepsisteki hiperdinamik cevap ve artmış sitokin seviyeleri, çok sayıda dokunun endotel hücrelerinde inorganik nitrik oksit sentaz (iNOS)'ın uyarılmasına sebep olur. Akut sepsiste iNOS artışı faydalıymış gibi görünse de, sepsisteki aşırı artışı zararlı olabilir. Bu aşırı artış NO'nin aşırı üretimine sebep olabilir. NO ise, organ hasarına katkıda bulunacak şekilde vazodilatasyon ve dirençli hipotansiyona yol açabilir. iNOS ve NO'deki artışlar karaciğer, böbrekler ve ince bağırsaklarda sistemik olarak tespit edilebilir (17, 19-31).

Vasküler sistemdeki etkilerine ilave olarak NO, sepsis sırasında karaciğerdeki bazı hücrel olayları ve hasarı da düzenler. Serbest oksijen radikalleri (SOR), biyolojik sistemlerde moleküler oksijenin kısmi indirgenmesinden üretilen ara ürünlerdir. Değişik hastalık durumlarında ve hücrel hasarın bir çok formunda, SOR'in toksik etkileri gösterilmiştir. Lipid peroksidasyonu yan ürünü olan MDA ile ölçülen SOR'leri, endotoksik şok ve sepsis sırasında üretilirler ve sepsiste arttıkları gösterilmiştir. Sepsis sırasında üretilen SOR'leri, hücre membranlarına direkt lipid peroksidasyonuyla hasar verme yanında, sepsis



fizyopatolojisinde immunolojik ve hemodinamik sonuçları olan lökotrien ve prostaglandinlerin artışına artışa da yol açarlar (21, 32-37).

Kupffer hücreleri endotoksemi'ye karşı savunma sürecinde gözlenirler ve bu sırada karaciğer sinüzoidlerinde hareket ederler. Kupffer hücreleri bakteri kökenli endotoksinlerin sistemik dolaşıma girmesini önlerler. Ayrıca periferik kan dolaşımından bakterileri yok edebilirler (10).

Az sayıda çalışma, farelere 15 mg/kg LPS'nin verilmesiyle karaciğerlerinde lipid peroksidasyonu oluşturmadığı gösterilmiştir. Keza septik sıçanların karaciğerinde oksidatif stres oluşmadığı bulunmuştur (38, 39).

Septik şok boyunca insanlar ve hayvanlarda VIP'in artmış plazma seviyeleri bildirilmiştir. Septik şokta VIP salınması, savunma mekanizmasının aşırı bir yanıtı olarak yorumlanabilir. VIP, başlıca bağışıklığı düzenleyici görevi iltihabı önlemek olan multifonksiyonel bir nöropeptiddir. VIP'in sitokin üretimi, T lenfosit çoğalması, makrofajların fagositozu, respiratuvar burst (solunum yangısı) ve kemotaksi olayını önlediği gösterilmiştir. Keza son zamanlarda VIP'in muhtemelen endojen TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın inhibisyonu yoluyla endotoksik şoktan fareleri koruduğu ve LPS ile uyarılmış makrofajlarda, IL-6 ve TNF- $\alpha$  yapımını engellediği bildirilmiştir (40- 46).

Makrofajlar proinflamatuvar sitokinleri, oksidanları ve NO'ı salgılayarak septik şokta oldukça önemli düzenleyici bir rolü üstlenirler (15, 44). Mast hücreleri ise septik şokta merkezi bir rol oynayan hücreler olarak bilinirler. Mast hücreleri çok çeşitli fonksiyon gören sitokinlerin, oksidanların ve NO'in kaynağı olarak endotoksik şokta çok önemli bir rol oynayabilirler. Doku mast hücreleri multifonksiyonel immun hücrelerdir. Bu hücrelerin doku hasarı ve enfeksiyonda sitokinler, prostaglandinler, PAF, lökotrienler, triptaz, proteoglikanlar ve histamin gibi bir takım mediatörlerin salınmasıyla asıl mekanizmayı oluşturdukları iddia edilmektedir (47-50).

Gingko biloba ekstresi olan EGb 761'in temel kullanım endikasyonları; serebral fonksiyon bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, sinir-duyu ve dolaşım sistemi bozuklukları ve iltihaptır (51, 52).

## 2.5. LİPİD PEROKSİDASYONU VE MDA

Lipid peroksidasyonu, membranlarda bulunan poliansature (çoklu doymamış) yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehitler gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonuna verilen isimdir. Lipid hidroperoksitleri yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşurlar. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından genişleyip hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Böylece birçok hastalığa ve doku hasarına sebep olurlar (53).

Peroksidasyon sırasında açığa çıkan malondialdehit (MDA) gibi yıkım ürünleri, çeşitli hücre bileşenleriyle reaksiyona girebilmekte ve böylece hücre yapısı ve fonksiyonunu bozabilmektedir. Lipid peroksidasyonunun bilinen en yaygın son ürünü olan MDA, ikiden fazla çift bağ taşıyan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşmaktadır. Nispeten küçük yapısı ve nonpolar özellikte olması; MDA'nın biyomoleküllerle etkileşimini kolaylaştırmakta ve başta membranlar olmak üzere, aşağıda sıralanan yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açmaktadır (54, 55):

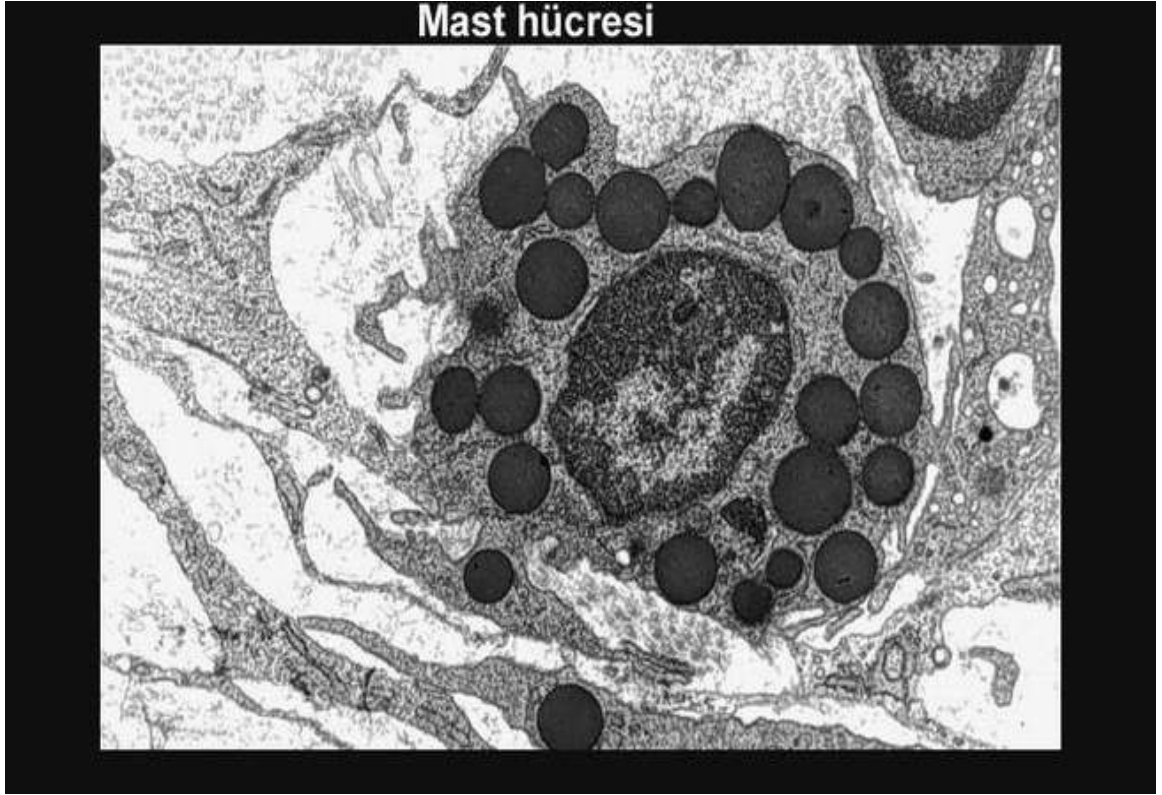
- Membran permeabilite, deformabilite, akışkanlık gibi özelliklerin değişmesi sonucunda iyon transportunun ve buna bağlı olarak intrasellüler iyon dengesinin bozulması;
- Oksidatif hasar nedeniyle enzim aktivitesine sahip bazı membran proteinlerinde aktivite kaybı;
- Nükleer membrandan kolayca diffüze olabilmesi nedeniyle DNA ile etkileşimi: DNA zincirinin kırılması.

Biyolojik doku ve sıvılarda MDA ölçümü, HPLC, spektrofotometre, spektrofotometre gibi yöntemlerle yapılabilmektedir; bunların büyük bir kısmı, MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır (56, 57).

## 2.6. MAST HÜCRELERİ

### 2.6.1. Mast Hücrelerinin Morfolojisi

İlk olarak 1800'lü yıllarda bulunan mast hücreleri; yerleşimlerine göre yuvarlak, oval veya mekik şeklinde ortalama 15- 30  $\mu\text{m}$  büyüklüğünde olan, sitoplazması bazofilik granüllerle dolu, küçük çekirdekli hücrelerdir (Şekil 2.1). Pluripotent hematopoietik kök hücrelerinden kaynaklanırlar ve hedef dokuya ulaşmadan olgunlaşmazlar. Diğer bir deyişle dolaşımında "adlanmış öncül hücreler " olarak bulunurlar (58-60).



Şekil 2.1. İri büyük granüllerle mast hücresinin görünümü (131).

İnsanda periferik kan dolaşımında bulunan mast hücre öncülleri CD13+/CD34+/c-kit fenotipik özelliklerine sahiptir. Bu öncül hücreler yerleştikleri doku ve ortam şartlarından etkilenerek özgün bir fenotipe ulaşır olgunlaşmalarını tamamlarlar. Dokulara göçten sonra olgunlaşmamış mast hücreleri tipik granüllerle donanırlar. Geleneksel Romanowski

boyaları (Wright, Giemsa veya Leishman gibi) mast hücrelerinin görülebilmesi için en ideal boyalardır. En karakteristik özellikleri toluidin blue, thionin, methylen blue gibi katyonik boyalarla boyandığı zaman sitoplazmalarındaki granüllerin metakromatik boyanmasıdır. Sıçan karaciğerinde, doku kesitlerinde alcian blue/safranin ile mast hücrelerinin boyanması bu hücrelerin mukozal subtipin baskın olduğunu gösterir (59-68).

Normal karaciğerin içinde, insanda milimetre kare başına (~1.2-3.9/mm<sup>2</sup>) mast hücrelerinin yoğunluğu, nadir olmasına rağmen sıçan karaciğerinde daha boldur (~1.8-12/mm<sup>2</sup>). Mast hücre proteazlarına karşı kullanılan antikorlar veya metakromatik boyalar; karaciğer mast hücrelerinin genellikle insan ve sıçan karaciğerinde portal alanların safra kanalları, venler ve hepatic arterlere bitişik bağ dokusunda yerleştiğini göstermiştir. Fakat karaciğer mast hücrelerinin % 10'u insan karaciğerinde perisinüzoidal yerleşime sahiptir (69-71).

Mast hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve yaşamını sürdürmesinin yanı sıra adhezyon, kemotaksis ve (aktivasyon) sekresyon gibi belirli işlevlerinin de mast hücre yüzeyinde eksprese edilen stem cell faktör (SCF) tarafından düzenlendiği bir çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Mast hücre büyüme faktörü, Steel faktörü ve c-kit ligand olarak da adlandırılan SCF, hem solubl bir büyüme faktörü olarak salınmakta hem de stromal hücrelerin yüzeyinde eksprese edilmektedir. Mast hücreleri diğer hemopoietik hücrelerin aksine farklılaştıktan sonra da SCF ihtiva ederler. Bu durum belki de onların nötrofiller, monositler ve lenfositler gibi bağışıklıkla ilgili hücrelerin bazı işlevlerine benzer bir çok özelliklere sahip olmalarını açıklayabilir. Mast hücrelerinin fagositoz yapmaları, antijeni işlemeleri, sitokin üretmeleri, vazoaktif madde salgılamaları bu özelliklerinden bazılarıdır. Mast hücrelerinin fagositoz yaparak bakterileri öldürebildiği ve antijenleri işleyerek antijen sunucu hücreler gibi işlev görebildiği bilinmekle birlikte ancak bu etkileri asıl fagositlerden daha azdır (62, 72- 77).

Mast hücresi membranında IgE reseptörleri bulunmaktadır. Pek çok etken, mediatör salıverilmesini uyarır. Mast hücrelerinin uyarıya fizyolojik cevabı daha çok IgE reseptörleri vasıtasıyla olur. IgE'nin reseptörü ile bağlanması hücreyi aktive edip degranülasyona neden olmaz. Ancak "multivalent" antijenlerin, mast hücre yüzeyindeki reseptörlerine tutunan spesifik IgE'ler ile çapraz bağlar oluşturması mast hücre aktivasyonunu başlatır. IgE aracılı mast hücre cevabı aşırı duyarlılık reaksiyonlarının yanı sıra, parazitlere karşı savunma

mekanizmasında da önemli bir rol oynamaktadır. Son yıllardaki çalışmalar mast hücrelerinin Ig'lerin aracılığı olmadan da aktive olabileceğini göstermiştir. İnsan ve fare mast hücresindeki Toll-like reseptörlerin (TLR), çeşitli bakteriyel, viral ve fungal molekülleri tanımak suretiyle sitokin yapımını ve iltihabi cevabı uyardığı bildirilmiştir (62, 76, 78- 80).

Nöropeptidler (substans P, somatostatin, vazoaaktif intestinal peptid, nörotensin vb.), bazı temel bileşikler (48/80 bileşiği, polymyxin B vb.), kompleman anafilatoksinleri (C3a, C4a, C5a), sitokinler (IL-1, IL-3) ile bazı ilaçlar gibi nonimmunolojik uyarılar da mast hücrelerini aktive edebilirler. İmmunolojik veya nonimmunolojik uyarılarla oluşan degranülasyon morfolojik olarak benzer görülmekle birlikte mediatör salınımına neden olan biyokimyasal olaylar farklı olabilir (61, 62, 76).

Allerjik reaksiyonların aksine, otoimmün veya iltihabi olaylar sırasında mast hücrelerinin degranüle olduğu nadiren görülmüştür. Elektron mikroskopik düzeyde yapılan çalışmalar; belirgin bir degranülasyon olmaksızın, mast hücresi granüllerinin elektron yoğun yapısında değişiklikler oluştuğunu göstermiştir. Bu değişiklikler degranülasyon olmaksızın bazı maddelerin salgılandığını düşündürmektedir (62, 81, 82).

### **2.6.2. Mast Hücre Mediatörleri**

Mast hücre salgı ürünleri histamin ve serotonin gibi biyolojik aminleri, heparin gibi proteoglikanları, çok sayıda enzimleri, prostaglandinler ve lökotrienler gibi araziidonik asit ürünlerini ve bir çok interlökin içerikli sitokinleri içerirler. Mast hücre mediatörleri genelde iki tiptedirler (60, 64).

#### **1.Önceden şekillenmiş mast hücre mediatörleri (65) :**

**Histamin:** Mast hücre granüllerinde depolandığı gibi sinir uçlarından nöromediatörlere benzer şekilde de salgılanır. Kapiller damarlarda genişleme ve geçirgenliğin artmasını sağlayan biyolojik bir amin yapısındadır. Mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde etkilidir. Hedef hücredeki reseptöre bağlanarak etkisini gösterir. H1, H2 ve H3 olmak üzere 3 türlü histamin reseptörü vardır. Reseptöre bağlanan histamin, hücre içi olayları başlatır. Endotel hücrelerinde büzüşmeye yol açar ve hücreler arasındaki açıklıktan damar içinden civar dokulara plazma geçişi olur. Histaminin bir başka etkisi, endotel hücrelerinde prostasiklin

ve nitrik oksit (NO) sentezine yol açmasıdır. Bunlar damar düz kaslarını gevşetici etki yaparak, vazodilatasyona yol açarlar. Histamin barsak ve bronş düz kaslarında kasılmaya yol açar. Besin allerjilerinde bu duruma bağlı olarak barsak peristaltizminde artma, astımda ise bronşlarda spazm olarak görülür (83). Histaminin mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna yardım ettiği de gösterilmiştir (84-86). İnsanda mast hücreleri yalnızca histamin içerirken; kemiriciler gibi bazı türlerin mast hücrelerinde serotonin de vardır. Histamin dakikalar içinde metabolize olduğu için, etkisi salgılandığı yerde veya yakınında olur (75, 76).

**Heparin:** Sülfatlı asit mukopolisakarittir. Heparinin güçlü bir antikoagülan olduğu bilinmektedir. Ancak kanda endojen heparin bulunmaz, bu yüzden kan pıhtılaşmasını düzenlemede fizyolojik bir rolü yoktur. İn vitro çalışmalarda heparinin kollajen ürününü veya fibroblast proliferasyonunu yükselttiği gösterilmiştir. Makrofajlardaki kolesterol birikimini kolaylaştırır. Endotel hücresinden çıkan büyüme faktörünün salınımına yol açan fibronektini bağladığı ve antikor üretimi ve antijenin neden olduğu lenfosit proliferasyonunu engellediği gösterilmiştir (76, 86-93).

**ECF-A :** (Anafilaksinin eosinofil kemotaktik faktörü) Eozinofillere kemotaktik etki yapar ve aktive eder. Bronşlarda kas kasılması, trombosit toplanması ve vazodilatasyon yapar (83).

**Triptaz:** Nöropeptidlerin parçalanması, bradikinin oluşumu, kollajenazın dolaylı olarak aktive edilmesi yanında bronşiyal hiperaktivite, fibroblast proliferasyonu ve kemik yeniden yapılandırılmasıyla ilgilidir. Triptazın, yeni damar gelişimi için gereken sahayı açmak üzere bağ dokusunu yıktığı ve güçlü bir anjiyogenik uyarıcı olduğu da ileri sürülmüştür. İnsan triptazı, prostromelysini (metalloproteinaz III) aktifleştirir ve fibrinojeni inaktive eder. Oysa köpeklerdeki triptaz, vazoaaktif intestinal peptidi (VIP) inaktifleştirir ve fibroblast proliferasyonunu uyarır. Serumda triptazın yükselmiş seviyesi, anafilaksi ve mastositozis gibi sistemik mast hücre hastalıklarında ortaya çıkar. Otopsi sırasındaki serumda triptazın yükselmiş seviyesi, ölümden önce mast hücre aktivasyonunu gösterir. Akciğer ve derinin her ikisinde triptaz salınımı allerjenlere doğrudan doğruya cevap süresince ortaya çıkar. İnsan mast hücre triptazı fibroblastlar ile proliferasyon, migrasyon ve tip I kollajen sentezine sebep olur. Fibrinojenin yıkımında, bazı nöropeptidlerin hidrolize edilmesinde ve

nötrofillerin, eozinofillerin ve diğer inflamatuvar hücrelerin toplanmasını uyarmada etkilidir (63, 76, 94-98).

**Kimaz:** Mukus sekresyonu, ekstrasellüler matriks degradasyonu ile ilgilidir. İnsan kimazı, bradykinini hareketsizleştirir ve dermal/epidermal birleşme yerindeki bazal membranın lamina lucidasına saldırır. Köpek kimazı, substans P (duyumsal tellerden salınmış bir nöropeptid) ve VIP'i hareketsizleştirir ve glandular mukus salgısını uyarır. Anjiotensinogen ve anjiotensin I'i anjiotensin II'ye dönüştürme gücünden dolayı kimaz arteriyelleri büzecektir. Son zamanlarda kimazın bir çeşit granzim olduğu ve apoptozu indüklediği de gösterilmiştir. Yakın zamanlarda mast hücre (MH) kimazının kalp kası hücrelerinde apoptozu indükleyebildiği de ileri sürülmüştür (63, 95, 99-103).

## **2.Yeni Şekillenen Mast Hücre Mediatörleri (65) :**

Mast hücresi ve bazofil granüositlerdeki "lipid mediatörler" yeni sentezlenen maddelerdir. Bu mediatörlerin ana maddeleri ünit zarda ve lipid cisimciklerinde bulunan fosfolipidlerdir. Mast hücresinde ilk tanımlanan lipid mediatör "Prostaglandin D2 (PGD2)"dir (83).

**Prostaglandin:** Fosfolipidden oluşan araşidonik asitten, siklooksijenaz enzimi etkisiyle oluşur. Siklooksijenaz enzimini inhibe eden aspirin ve nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar PGD2 sentezini önlerler. PGD2 düz kas hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, vasodilatatör ve bronş spazmı yapıcı etki gösterir (83).

**Lökotrienler:** Araşidonik asitten oluşan diğer aracı maddelerdir. Araşidonik asitten, lipoksijenaz ve diğer enzimlerin etkisiyle başlıca 3 lökotrien LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub> sentezlenir. Bu lökotrienler, düz kas hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, uzun süreli bronş spazmı yaparlar. Deri içine enjekte edildiğinde, uzun süreli kızarıklık ve kabarıklık oluşur (83).

**PAF:** (Trombosit aktive edici faktör) Bazofil granüositlerde daha fazla bulunan PAF, bronş spazmı yapar. Endotel hücrelerinde büzülme yapar. Damar düz kasında gevşeme yapar. Daha çok, damar endotel hücrelerinde sentezlenmektedir. Trombositlerin toplanması ve degranülasyonunu sağlar (35, 83).

Bunlardan başka bir üçüncü tip mediatör de sınıflandırmaya dahil edilebilir.

### 3. Mast Hücre Sitokinleri (65) :

Hem önceden oluşmuş hem de yeni üretilmiş sitokinler kalsiyum iyonu ve antijenlerle aktiflenmiş mast hücreleri tarafından salgılanır (95).

**TNF- $\alpha$**  : (Tümör nekroze edici faktör) Fibrin oluşumuna katılabildiği bildirilmiştir. Fibroblastlarda kollajen çeşitlerinin sentezine neden olduğu bilinir. Önce nötrofillerin, daha sonra monosit ve lenfositlerin damar endotellerine yapışmasına neden olur. Lökositlerin iltihap sahasında toplanmasını sağlar. Diğer hücrelere etki yaparak IL-1, IL-6, IL-8 ve kendi salgısını artırır. Tümör büyümesini baskılar (43, 63, 83).

**IL-4:** İnsan fibroblastlarıyla kollajen üretimini uyarır. Farelerde IL-4, parazitik nematod *Heligmosomoides polygyrus*'a karşı koruyucu bağışıklık için önemlidir. Atopi gelişimi ve IgE üretimini uyarabilir (95).

**IL-5:** Eozinofillerin gelişme ve farklılaşmasını uyarır. Olgun eozinofil granülositlerin helmintler üzerine öldürücü etkisini aktive eder. Ayrıca B lenfositleri aktive ederek IgA sentezini artırır (83, 95).

**IL-6:** IgE dahil Ig yapımını B hücreleriyle artırır ve T lenfositlerini de uyarır (95).

**IL-8:** Nötrofil granülositler için hem aktive eden, hem de kemotaktik bir faktördür (83).

#### 2.6.3. Mast Hücre Heterojenitesi

Enerback 1966'da sıçanlarda yaptığı çalışmalarda mast hücrelerini fiksasyon özellikleri ve histokimyasal boyanmalarına göre incelemiş ve bağ dokularında ya da intestinal mukozada bulunan bu hücrelerin biyokimyasal özelliklerini yansıtan iki farklı fenotipini tanımlamıştır (111, 112). Bağ dokusu mast hücreleri terminolojisi çıktıktan sonra, son yıllarda yapılan çalışmalar mast hücrelerinin biyokimyasal ve işlevsel olarak da farklılıklar gösterdikleri kanıtlanmıştır (76, 98). İnsanlarda da birden fazla mast hücresi tipinin varlığının saptanması ile bu hücrelerin fonksiyonlarına ilişkin çalışmalar hız kazanmıştır (62).



Tarihsel olarak kemiricilerde fenotiplerine ve doku lokalizasyonlarına göre iki temel mast hücre tipi tanımlanmıştır (Tablo 2.1):

- 1) T-hücrelerine bağımlı mukozal mast hücreleri (Mucosal Mast Cell: MMC), esas olarak gastrointestinal sistem mukozasında ve solunum yolunun lamina propriasında bulunurlar.
- 2) T-hücrelerine bağımlı olmayan bağ dokusu mast hücreleri (Connective Tissue Mast Cell: CTMC); gastrointestinal sistem submukozasında, deride ve peritonda bulunurlar (62).

MMC'lerin küçük hücreler olup (5-10  $\mu\text{m}$ ), Carnoy veya bazik kurşun asetat fiksasyonundan sonra kolaylıkla görülebildikleri, standart formalin veya aldehite dayanan fiksatiflerle fiksasyonu takiben boyanma özelliklerinin bazılarını kaybedebilecekleri iyi bilinmektedir (76, 110, 112). CTMC'leri ise daha büyük hücreler olup (10-20 $\mu\text{m}$ ), formaldehit tespitinden etkilenmezler (62). Bununla birlikte formalinle tespitten sonra uzun süreli toluidin blue boyama tekniği ile MMC'lerin boyanabildikleri gösterilmiştir (113).

MMC'ler kondroitin sülfat ve Sıçan Mast Hücre Proteazı II (Rat mast Cell Proteaz II) (RMCP II) içerirken, CTMC'ler heparin ve Sıçan Mast Hücre Proteazı I (Rat Mast Cell Proteaz I) (RMCP I) içermektedirler (95, 62, 114). Sıçanlarda MMC'lerin, CTMC'lerden daha az histamin ve serotonin içerdikleri bilinmektedir (76) (Tablo 2.1). Düşük pH'da alcian blue/safranin O boyaması ve berberin sülfat fluoressan boyamasının her ikisi de mast hücrelerinin proteoglikan içeriklerine bağlıdır. Alcian blue/safranin O boyamasında MMC'ler sadece alcian blue ile mavi boyanırken, CTMC'ler safraninle kırmızı boyanırlar. Berberin sülfat CTMC'lerin granüllerindeki heparinle güçlü bir floresan kompleks oluşturur. MMC'ler fiksasyon tipi ne olursa olsun berberinle boyanmazlar (111, 113-116).

Fare mast hücrelerinde, 5 kimaz proteaz [fare mast hücre proteaz (MMCP)-1, -2, -3, -4 ve -5], bir mast hücre karboxypeptidaz ve iki triptaz (MMCP-6 ve-7) bildirilmiştir (104). MMCP-3, -4, -5, ve -6 ve mast hücre karboxypeptidazı bağ dokusu tipi mast hücrelerinde vardır (Tablo 2.1). MMCP-1 ve -2 helmint-enfektli kemiricilerin intestinal mukozasında selektif olarak yayılmış mukozal mast hücrelerinde vardır ve asla safraninle boyanmazlar. Çünkü onlarda heparin eksiktir (95).

Elektron mikroskopik (EM) çalışmalarında CTMC'lerin sitoplazmik granüllerinin ortalama 0.2-0.4 µm çapları ile homojen görünümde oldukları, MMC'deki granüllerin ise amorf görünümlü fakat daha küçük oldukları saptanmıştır (49).

İnsan mast hücrelerinde genler iki kimotriptik enzim (kimaz ve katepsin G-like proteaz) ve bir mast hücre karboksidaz enzimi kodlamaktadır. Mast hücrelerinin iki tipi immunohistokimyasal analizlerle bulunmuştur. MC<sub>Tc</sub> tipi triptaz, kimaz, katepsin G-like proteaz ve mast hücre karboksidazı içerirler (Tablo 2.1). MC<sub>Tc</sub> normalde deri ve intestinal submukozada sayıca daha çoktur, oysa MC<sub>T</sub> tipi sadece triptaz içerir ve normalde akciğer alveol duvarı ve intestinal mukozada sayıca daha çoktur. Her bir tipin hemen hemen eşdeğer yoğunlukları nazal mukozada bulunmuştur.

**Tablo 2.1.** Mast Hücre Mediatorleri (95).

<b>Mast Hücrelerinin Predominant Medyatörleri.</b>			
<b>Mast Hücre Tipi</b>	<b>Biojenik Amin</b>	<b>Nötral Proteaz</b>	<b>Proteoglikan</b>
<b>Fare</b>			
Mukozal	Histamin	MMCP-1, -2	Kondroitin Sülfat E
Bağ Dokusu	Histamin	MMCP-3, -4, -5, -6, (-7)	Heparin
	Serotonin	Karboksipeptidaz	
<b>Sıçan</b>			
Mukozal	Histamin	RMCP-2	Kondroitin Sülfat-B
Bağ Dokusu	Histamin	RMCP-1	Heparin
	Serotonin	Karboksipeptidaz	
<b>İnsan</b>			
MC <sub>T</sub> Hücreleri	Histamin	Triptaz	Heparin
MC <sub>Tc</sub> Hücreleri	Histamin	Kimaz	Kondroitin Sülfat
		Katepsin G like proteaz	Heparin
		Karboksipeptidaz	Kondroitin Sülfat

MC<sub>Tc</sub> hücresi, sıçan bağı dokusu mast hücresine karşılık gelirken, MC<sub>T</sub> hücresi sıçan mukozal mast hücresinin karşılığı olabilir. MC<sub>Tc</sub> hücrelerindeki triptaz, kimaz ve mast hücre karboksipeptidazı proteoglikan ile makromoleküler komplekslerde yerleşirler. Fakat ilginç olan triptaz, mast hücre karboksidazı ve kimazın yerleştiğinden ayrı kompleksde bulunsa da aynı salgı granüllerinde ortaya çıkarılmıştır. Histokimyasal heterogenite kriterleri kullanılarak yapılan bir ultrastrüktürel analizde tüm insan mast hücrelerinin heparin içermesi; insan mast hücrelerinin farklı tiplerini seçmede faydalı marker olarak görünmemektedir. Ayrıca rolleri henüz tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte, mast hücrelerinin çeşitli insan dokularında, yalnızca kimaz (MC<sub>C</sub>) içerdikleri de gösterilmiştir. MC<sub>T</sub> daha çok akut yangısal olaylarda rol alırken, MC<sub>Tc</sub> kronik olaylarda ve bağı dokusunun yenilenme sürecinde rol oynar (40, 95, 116-118).

İnsan mast hücrelerinin ince yapı düzeyinde de farklılık gösterdikleri saptanmıştır. TEM ve immun elektron mikroskopik incelemeler MC<sub>T</sub> tipi hücrelerin tomar benzeri (scroll-like) yapıdaki granüllerde triptaz içeriğine sahip olduğunu, bu granüllerin MC<sub>Tc</sub> hücrelerdeki granüllerden çok daha küçük olduğunu göstermiştir. Buna karşılık MC<sub>Tc</sub> hücrelerde tomar benzeri yapıda granüller bulunmadığı, triptaz ve kimaz pozitif bu granüllerin kristal ya da ızgara/kafes benzeri yapıda olduğu saptanmıştır. Tam olmayan tomar benzeri yapılar her iki hücre tipinin granüllerinde bulunmaktadır (62, 76).

#### **2.6.4. Mast Hücrelerinin Fonksiyonları**

Mast hücrelerinin erken fazdaki klasik rollerini bir tarafa bırakacak olursak, alerjide geç ve kronik evrelerde de önemli bir işleve sahiptir. Bu evrelerde mast hücreleri; eozinofil granülositler, lenfositler gibi infiltre olmuş hücreler vasıtasıyla aktive olabilirler ve bu hücrelerle etkileşebilirler. Aktive olmuş mast hücreleri eozinofillerin kemotaksisi, aktivasyonu ve yaşamasına yardım eden mediatörler salgırlar. Mast hücreleri, makrofajları ve epitel hücrelerini de lenfosit ve eozinofiller için kemotaktik maddeler oluşturmaları konusunda uyarırlar (62, 118).

Mast hücreleri esas olarak mikroorganizmaların vücuda girebildikleri yerlerde bulunduğu için patojenlerle direkt temas kuran ilk iltihabi hücrelerden biri olarak değerlendirilebilir. Mast hücresinin enfeksiyon bölgesine TNF- $\alpha$  salgıladığı, bunun dolaşımdaki nötrofiller gibi

bakterisidal özellikleri olan lökositleri enfeksiyon bölgesine topladığı gösterilmiştir (39). Maurer ve ark. (70) SCF'nin verilmesi ile bunu izleyen mast hücre hiperplazisinin akut bakteriyel peritonitli normal farelerin yaşam süresini arttırabildiğini bildirmişlerdir. Bakteriyel enfeksiyon sırasında, mast hücreleri kompleman sistemi vasıtasıyla da aktive olabilmektedirler (62, 106, 118, 121).

Mast hücreleri vasküler permeabiliteyi arttıran ve enfeksiyon bölgesine iltihabi hücrelerin toplanmasını sağlayan mediatörler salgılayarak kazanılmış bağışıklıkta yer alırlar. T hücrelerinin farklılaşması için gerekli IL-4 mast hücrelerinden salgılanmaktadır. Mast hücresi sitokinlerinin, B hücrelerinde IgE yapımını uyardığı, mast hücrelerinin antijen işleyebilen ve sunabilen hücreler olarak da kazanılmış bağışıklıkta rol oynadığı bildirilmiştir (62, 77, 122). Paraziter enfeksiyonlarda sıklıkla serum ve doku IgE düzeyleri ve mast hücre sayıları artmaktadır. Mast hücreleri lokal cevabı etkileyen mediatörler salgılayarak parazitleri direkt olarak etkileyebilir, eozinofiller gibi diğer hücrelerin toplanmasını ve aktive olmasını sağlayabilir, mukus salgılanmasını ve bağırsak peristaltizmini arttırarak parazitlerin atılmasına yardımcı olabilirler. Mast hücrelerinin kazanılmış bağışıklıktaki rolünün, muhtemelen T- hücrelerinden köken alan IL-3 vasıtasıyla düzenlendiği gösterilmiştir. Lantz ve ark. (123), bağırsak nematodu olan *Strongyloides venezuelensis* ile enfekte farelerde, IL-3'ün bağışıklığı ve dokudaki mast hücre sayısını arttırdığını gözlemişlerdir (62, 76, 123).

Morfolojik ve biyokimyasal çalışmaların her ikisinde de açık olarak ortaya çıkan fibrosis; mast hücreleri, onların sitokinleri (IL-3, IL-4) ve büyüme faktörleri ve ayrıca T hücreleri ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin bir çeşidinin etkileşiminden ortaya çıkan kollajen birikiminin sonucudur. Mast hücreleri fibrozisin esas sorumluları olan fibroblastları direkt etkileme potansiyeline sahiptirler. Histamin ve heparin fibroblastların çoğalmasını ve kollajen sentezini arttırmaktadır.

Mast hücresindeki triptaz ve kimazın her ikisinin de fibronektin, laminin, kollajen tip IV ve V'i yıkıma uğratabildiği gösterilmiştir. Triptaz normal akciğer ve deri fibroblastlarında tip I kollajen yapımını uyarmaktadır. Proteazlar veya histamin gibi mast hücre mediatörlerinin mitogenesis veya fibroblast proliferasyonuna yardım ettiği gösterilmiştir (62, 76, 84, 85, 93, 124).

Fibrotik karaciğerde, mast hücreleri portal alanların çevresinde gelişen fibröz septumlarda çoğu sürekli olarak gözlenmiştir ve doku mast hücre infiltrasyonunun miktarı kollajen miktarıyla doğrudan ilişkilidir (71).

Anjiogenez temel olarak embriyonik ve postnatal büyüme döneminde görülmeyle birlikte erişkin normal dokularında, kadın üreme organları dışında, fizyolojik olarak yer almaz. Bununla birlikte yara iyileşmesi ve inflamasyon gibi yaşamı korumaya yönelik olaylarda anjiogenez gerçekleşmesi, her dokuda endojen pro-anjiogenik ve anti-anjiogenik faktörler arasında değişebilen bir denge olduğunu gösterir. Mast hücrelerinin anjiogenezi etkilediği, kanserin gelişimi ve ilerlemesinde etkili olduğu bilinmektedir. Mast hücre-hedef hücre etkileşimini de kapsayan, anjiogenezisi açıklamaya yönelik gelecekteki çalışmalar kanser ve romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisi ve doku tamiri açısından önem taşımaktadır (62, 75, 125).

Mast hücreleri anjiogenez, kemik dokusu yeniden şekillenmesi, parazit öldürülmesi ve allerjik inflamasyon gibi farklı görevlerde, değişik homeostatik ve patolojik şartlarda kritik etkileri olan hücrelerdir. Yakın zamanda T hücrelerine antijenleri sundukları ve ko-stimülasyon sağladıkları, B hücrelerine de differansiyasyon ve proliferasyon sinyallerini ulaştırdıkları gösterilmiştir. Bu çeşitlilik, bu fenotip olarak heterojen hücrelerden, hem önceden oluşturulan (histamin), hem de yeni sentezlenen (TNF) mediatörlerin salınmasına bağlıdır. Son bulgular, mast hücrelerinin, nitrik oksit sentaz ürettiğini ve endojen nitrik oksitin bir kaynağı olduğunu göstermektedir (126).

Urticaria pigmentosa ve sistemik mastositoz hastaları ve allerjenle karşılaşan atopik kişilerde deri lezyonlarındaki kanama zamanının normal kişilere göre uzamış olduğu tespit edilmiş ve mast hücrelerinin kardiyak ve venöz trombus bölgelerinde arttığı gözlenmiştir. Ayrıca genetik olarak mast hücreleri olmayan farelerde tromboemboli oluşma olasılığının arttığı gösterilmiştir (127-129).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneyde *Sprague dawley* türü (200-300 gr) dişi sıçanlar kullanıldı. Deneysel endotoksemi; sıçanlara 6 mg/kg intra peritoneal (i.p) yolla verilen lipopolysaccharide (LPS) (*Escherichia coli*, Sigma L-3129) ile sağlandı. Sıçanlar da kendi aralarında beş gruba ayrıldı:

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

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

**Grup 3:** LPS verilen hayvanlara 30 dak. sonra 25 ng/kg i.p. olarak vazoaktif intestinal peptid (VIP) (Sigma V-3628) uygulandı. (n = 7)

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

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

### **3.1. DENEYSEL SÜREÇLER**

Uygulamalar başlamadan önce sıçanların rektal vücut ısıları ölçüldü. İki kontrol gruplarının ikisine de ilk olarak SF verildi. Daha sonra kontrol grubu I'e 30 dak. sonra yine SF verilirken kontrol grubu II'e LPS enjekte edildi. Kontrol gruplarının dışındaki diğer gruplara ise ilk olarak LPS verildi. Sonra üçüncü gruba LPS uygulandıktan 30 dak. sonra intraperitoneal yolla VIP enjekte edildi. Dördüncü gruba 30 dak. sonra Ginkgo biloba uygulandı. Beşinci gruba ise 30 dak. sonra L-NAME enjekte edildi. Tüm gruplar 6 saat gözlemlendi. Gözlem süresi dolduktan sonra sıçanlar rampon ve ketaminle anestezi edilerek karaciğerleri alındı. Karaciğerin sağ lobundan iki parça alındı. Her bir sıçandan alınan karaciğer parçalarından biri antioksidan enzim olan MDA ölçümü için alüminyum folyoya sarılarak -80°C'de saklandı. Diğer parçası ise histolojik inceleme için nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Karaciğeri alınan sıçanlar, diyafram zarı kesilerek öldürüldüler.

### **3.2. IŞIK MİKROSKOBU VE HİSTOKİMYA**

Sıçanlardan alınan karaciğer kesitlerinden biri histolojik uygulamalara tabi tutuldu. Önce her bir hayvandan alınan karaciğer dokuları %10'luk formalinde 11 saat tespit edildi. Formalinde tespit edilen dokular artan alkol serilerinden geçirildi. Sırayla %70'lik, %80'lik, %96'luk, %100'lük, %100'lük ve yine %100'lük alkollerde 1 saat tutuldu. Sonra dokular ksilende çalkalandıktan sonra ksilen bulunan iki kapta ayrı ayrı 1,5 saat bekletildi. Doku parçaları sonra etüvde bulunan erimiş parafin içerisine konularak bir gece bekletildi.

Ertesi gün bu dokular bloklara dökülmüş erimiş parafin içerisine isimlendirilerek gömüldü ve 4°C de buzdolabında saklandı. Doku kesiti alınacağı gün bu dokular dolaptan çıkarılarak 6 µm kalınlıkta mikrotomda kesit alındı. Alınan bu kesitlerdeki kırışıklığı gidermek için 50-60°C ayarlı sıcak su havuzuna yayıldı. Burada dokular açıldıktan sonra lama alındı. Alınan bu dokular alım sırasına göre kasetlere yerleştirildi. Daha sonra kasetlere yerleştirilen bu dokular 60°C'ye ayarlı etüvde bir gece bekletildi.

Lamdaki parafinleri akan bu dokular, ertesi gün ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Kasetlerdeki dokular önce 15 dak. iki tane ksilen kaplarında bekletildi. Sonra tekrar bir ksilen kabında daha 30 dak. bekletildi. Ksilenden geçen doku kasetleri üç defa %100'lük alkollerden 15 dak. geçirildi. Daha sonra %96'lık alkolde 5 dak., %80'lik alkolde 5 dak. ve %70'lik alkolde 5 dak. tutuldu. Bundan sonra kasetler çeşme suyundan geçirildikten sonra boyamaya alındı.

Mast hücreleri için spesifik bir boya olan toluidine blue'da yarım saat bekletildi. Süre dolduktan sonra kasetler çeşme suyunda boya akana kadar tutuldu. Sonra %50'lik alkolde 5 dak., %70'lik alkolde 5 dak., %96'lık alkolde 5 dak., %100'lük alkolde 10 dak. ve yine %100'lük alkolde 15 dak. tutuldu. Alkol serilerinden sonra üç ksilen kaplarında sırayla 10 dak., 10 dak. ve 15 dak. tutuldu. Ksilenden çıkarılan dokulu lamalar üzerine entellan damlatılarak lamelle kapatıldı. Kapatılmış lamalar gruplarına göre isimlendirilerek numaralandırıldı.

Gruplardaki her bir hayvandan seri 10'ar kesit alındı. Her gruptaki preparatlar değerlendirilerek portal alan sayıları belirlendi. Yine portal alanlardaki mast hücreleri 20'lik objektifte sayıldı. Preparatlar içerisinde en iyi görüntüler elde etmek için uygun preparatlar tespit edildi. Bunların fotoğrafları çekildi.

### **3.3. DOKU HOMOJENİZASYONU VE MDA TAYİNİ**

Alüminyum folyodan çıkarılan dokuların yaş ağırlığı tartıldı. Bu dokuların homojenizasyonu için tampon hazırlandı.  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ve  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ' den ayrı ayrı 500 ml hazırlandı ve  $\text{pH} = 7$ 'de sabitlendi. Çözünmüş dokular deiyonize kaplara konuldu ve hazırlanan tampondan 4 ml alınıp dokular homojenize edildi. Her doku polistren tüplere aktarıldı. Doku homojenatları 13200 rpm'de 30 dak. santrifüjlendi.

Karaciğer dokusu MDA tayininde, Ohkawa ve ark. (131) tarafından geliştirilen spektrofotometrik yöntem kullanıldı.



Metodun prensibi, lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden olan MDA'nın, tiyobarbitürik asit (TBA) ile oluşturduğu pembe renkli kompleksin renk şiddetinin 532 nm dalga boyunda ölçülmesi esasına dayanır (131).

### **Çözeltiler**

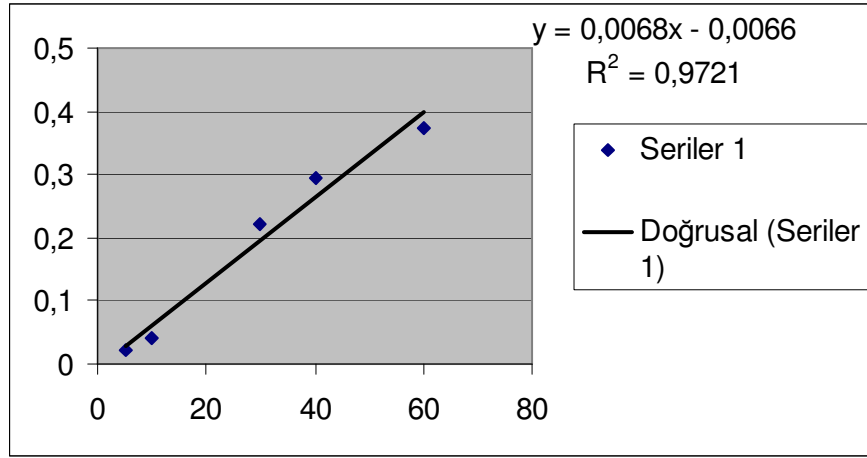
- %8.1 Sodyum dodesil sülfat (SDS)
- %0.8 Tiyobarbitürik asit (TBA)
- %20 Asetik asit (HAc), pH =3.5
- n-Bütanol/pirimidin karışımı (15/1, v/v)
- 5,848 M MDA (stok standart)

### **Çalışma**

Karaciğer doku homojenatı (1/10 w/v)'nın santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatant, MDA ölçümünde kullanıldı. Süpernatantlardan 0.1 ml alınıp kapaklı cam tüplere konuldu. Üzerlerine sırasıyla 0.1 ml SDS, 0.75 ml asetik asit, 0.75 ml TBA ve 0.3 ml distile su eklenerek iyice karıştırıldı. Ağızları sıkıca kapatılan tüpler, kaynar su banyosunda 60 dak. kaynatıldı. Musluk suyu altında soğutulan tüplere 0.5 ml distile su ve 2.5 ml n-bunatol/piridin karışımı ilave edilerek vorteksle iyice karıştırıldı. Ekstraksiyonu takiben, +4°C'de 4000 rpm'de 15 dak. santrifüje edilen tüplerin üst kısmında oluşan, pembe renkli organik fazın absorbansı, 532 nm'de, distile su ile aynı şekilde çalışılan köre karşı ölçüldü. Değerlendirme standart eğri üzerinden yapıldı.

### **Standart Serinin Hazırlanması**

Stok MDA (5.848 M) çözeltisinden 100 nmol/ml konsantrasyonda ara stok hazırlandı. Ara stok standarttan, deney ortamında (2.0 ml) 0.25; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; 3.0; nmol MDA/ml olacak şekilde, sırasıyla 5; 10; 20; 30; 40; 60; nmol/ml konsantrasyonlarında MDA çalışma standartları hazırlandı. Standart serinin her birinden 0.1 ml alınarak numune gibi çalışıldı ve standart eğri çizildi (Şekil 3.1).

**MDA değeri (nmol/gr)****Şekil 3.1** MDA standart grafiği

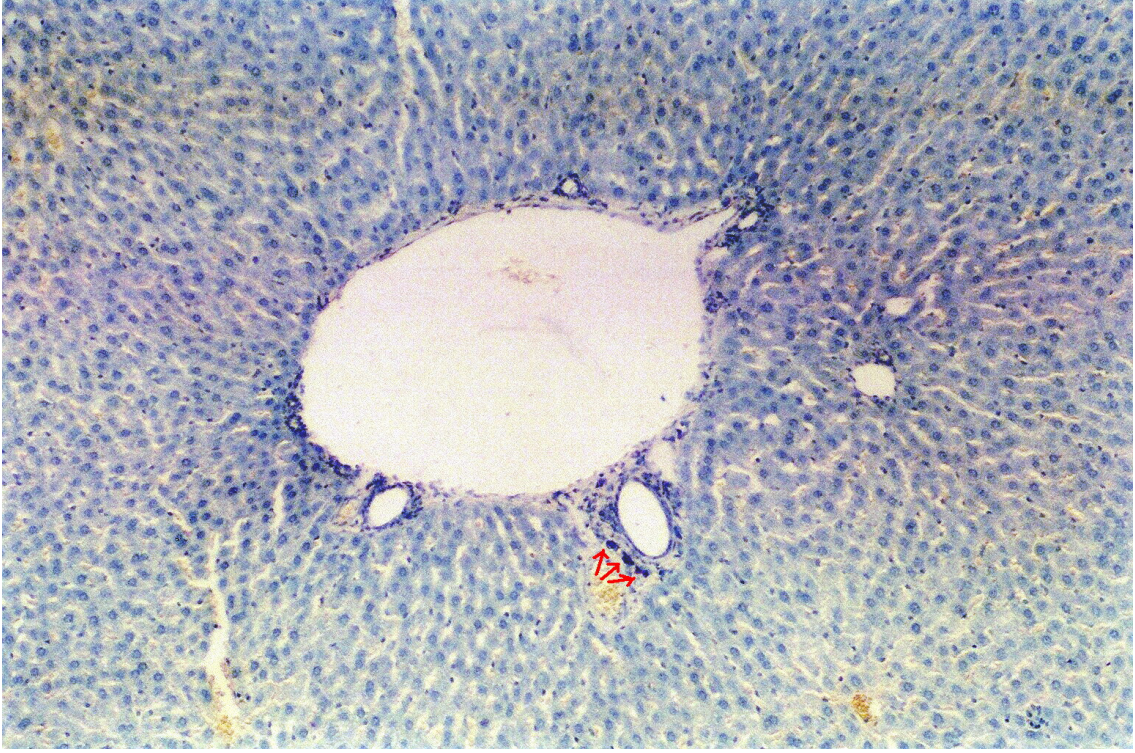
İstatistiksel sonuçlar Kruskal Wallis Varyans analizine göre deęerlendirildi.

## **4. BULGULAR**

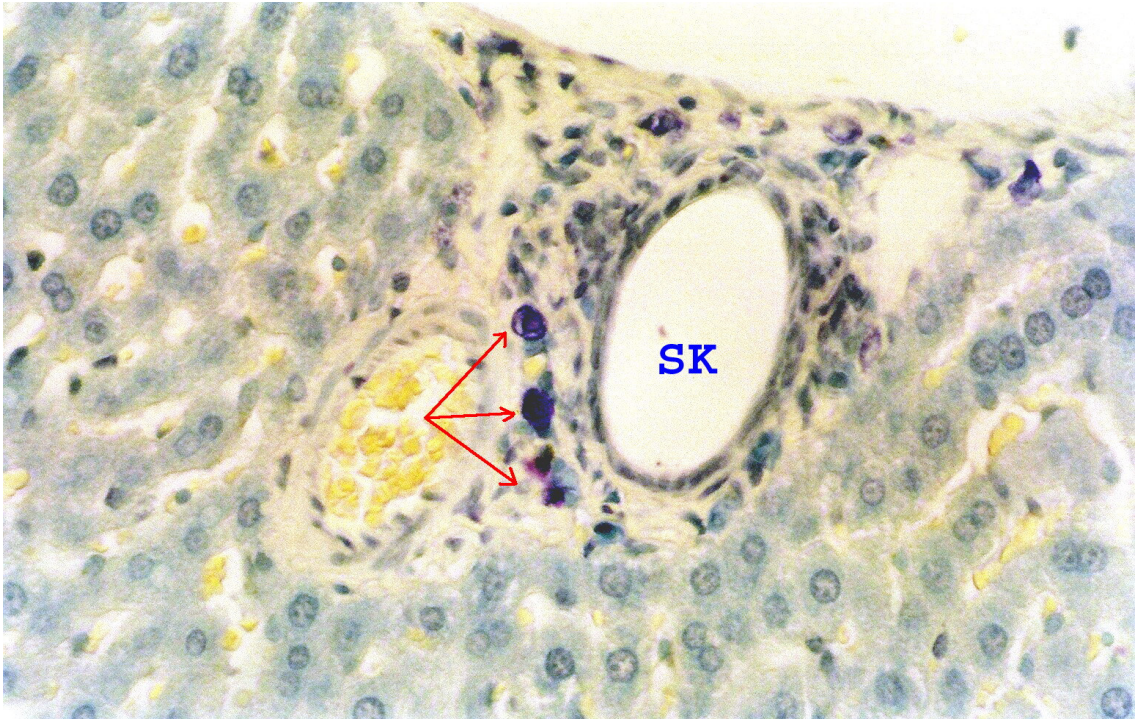
LPS verilmeden önce tüm gruplarımızın rektal ısıları 37-37,5°C ölçüldü. Ancak LPS enjekte edildikten sonra rektal ısıları 36°C'nin altındaydı.

### **4.1. IŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR**

Kontrol grubumuz I'de karaciğerimiz normal görünmektedir. Lobüller içerisinde vena centralis etrafında ışınal dizilmiş hepatositler yer almaktadır. Hepatositler arasında karaciğer sinüzoidleri gözlenmektedir. Portal alanlarda bağ dokusu içerisinde oturmuş arter, ven ve safra kanalı üçlüsü yer almaktadır. Burada toluidine blue ile menekşe renginde boyanmış mast hücrelerine rastlanmaktadır. Mast hücreleri özellikle safra kanalları çevresinde gözlenmektedir. Ancak karaciğerin parankima dokusunda mast hücrelerine rastlanmamaktadır. Mast hücrelerinin bulunmadığı portal alanlar da görülmektedir. Portal alanlarla mast hücreleri ayrı değerlendirildiğinde anlam ifade etmemektedir. Ancak gruplar arasında birim portal alandaki mast hücre sayısında fark görülmektedir. Birim portal alan başına düşen mast hücresi en az bu grupta tespit edilmektedir (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).



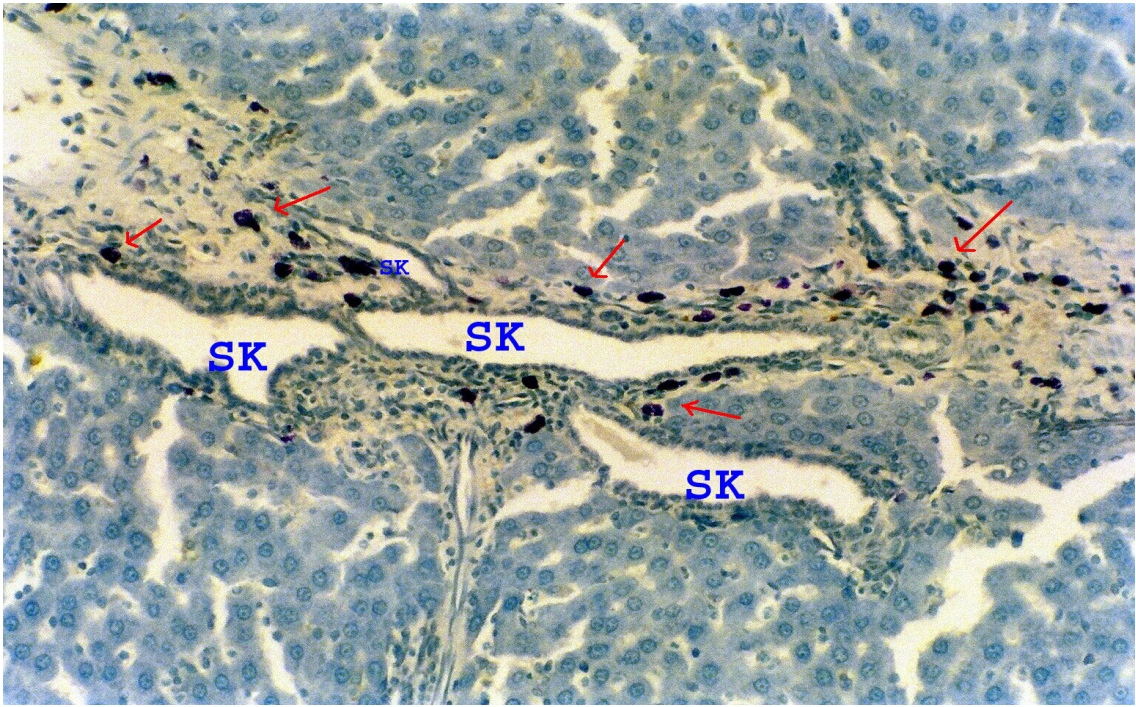
**Şekil 4.1.** Kontrol grubu I'de (SF+SF) yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100



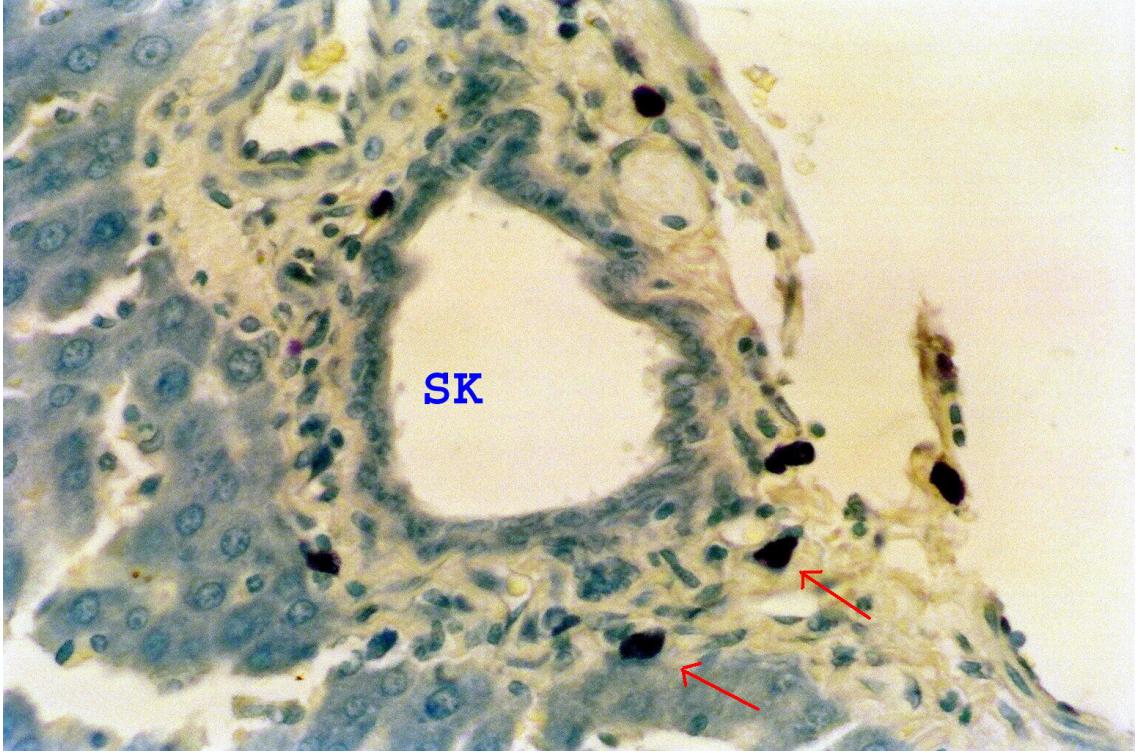
**Şekil 4.2.** Safra kanalı (SK) etrafında kontrol grubu I'de yer alan menekşe renginde boyalı mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400



Kontrol grubu II'de karaciğer parankiması içerisinde hepatositler bulunmaktadır. Portal alanda safra kanalları, arter ve ven yer almaktadır. Bağ dokusunun oluşturduğu bu bölgede menekşe renginde mast hücreleri görülmektedir. Özellikle safra kanallarını çevrelemişlerdir. Endotoksemi sonucu oluşabilecek hücre hasarı, santral ven çevresinde görülebilecek hidropik dejenerasyon, nekroz noktaları hücre infiltrasyonlarına rastlanmamaktadır. Birim portal alandaki mast hücre sayısı en fazla bu grupta görülmektedir (Şekil 4.3, Şekil 4.4, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).



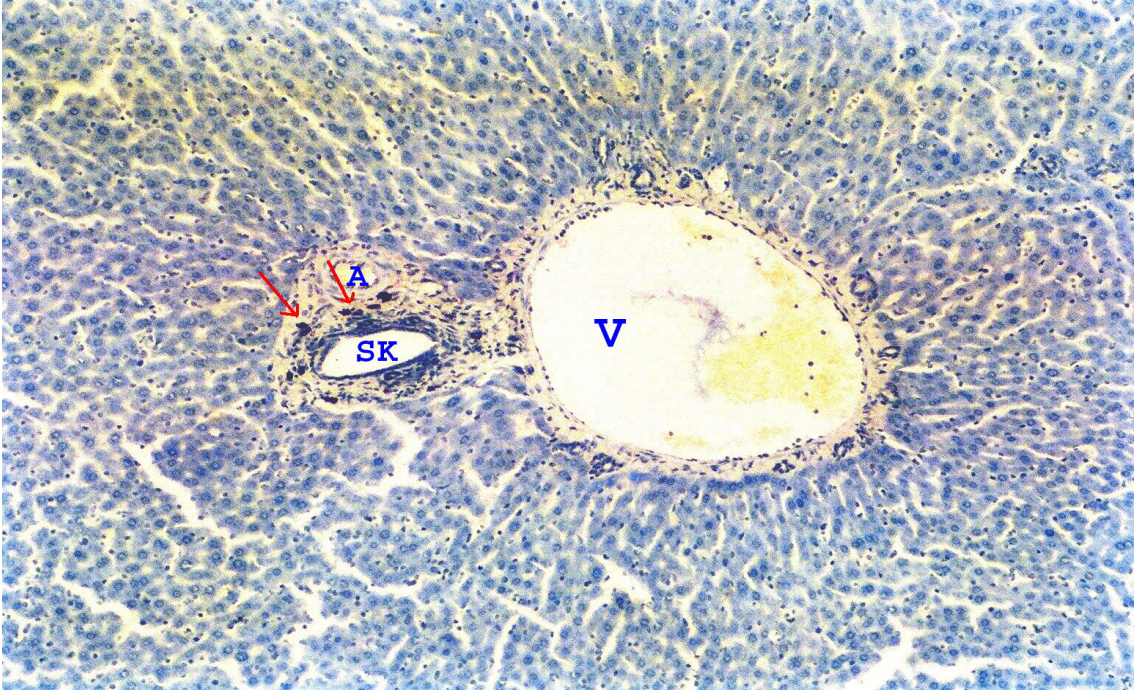
**Şekil 4.3.** Safra kanalları (SK) etrafında LPS verilmiş (SF+LPS) kontrol grubu II'de yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100



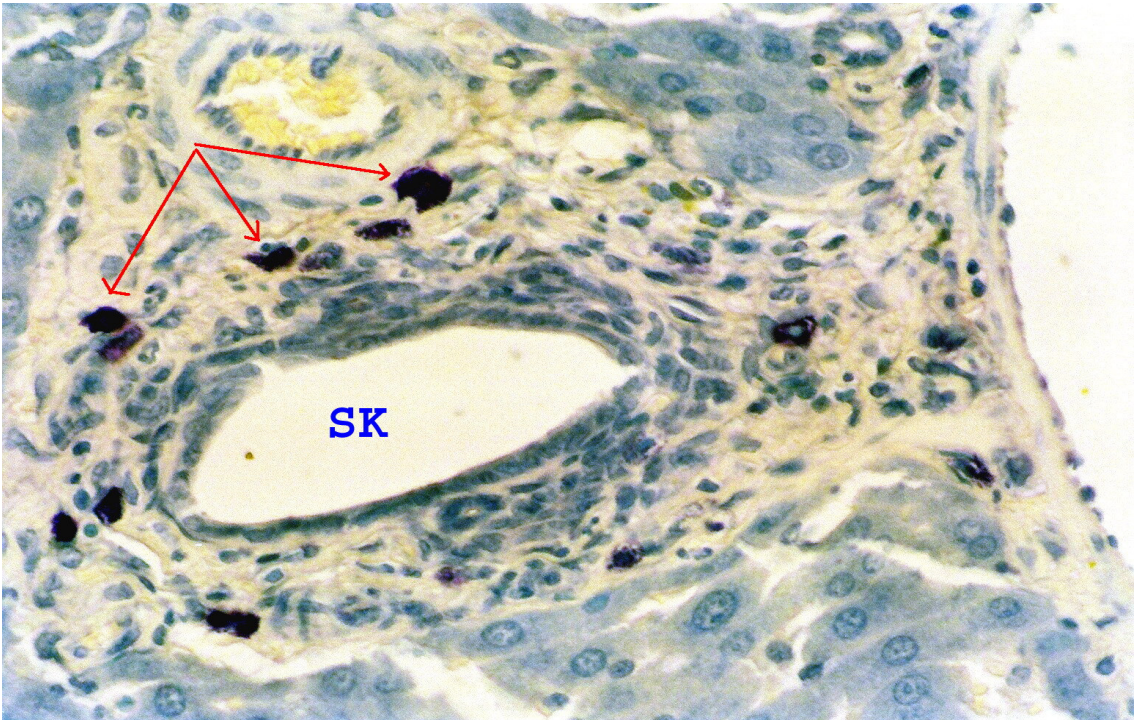
**Şekil 4.4.** LPS enjekte edilmiş kontrol grubu II'deki safra kanalları (SK) etrafındaki mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400

LPS+VIP'li grupta arter, ven ve safra kanalı üçlüsünün yerleştiği portal alan bulunmaktadır. Büyük ven çevresinde küçük safra kanalları yer almaktadır. Yine safra kanallarını kuşatan mast hücreleri bulunmaktadır. Bu grupta da patolojik bulgulara rastlanmamaktadır. Birim portal alana düşen mast hücre sayısı kontrol I'den fazlayken kontrol II'den düşük bulunmaktadır (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).





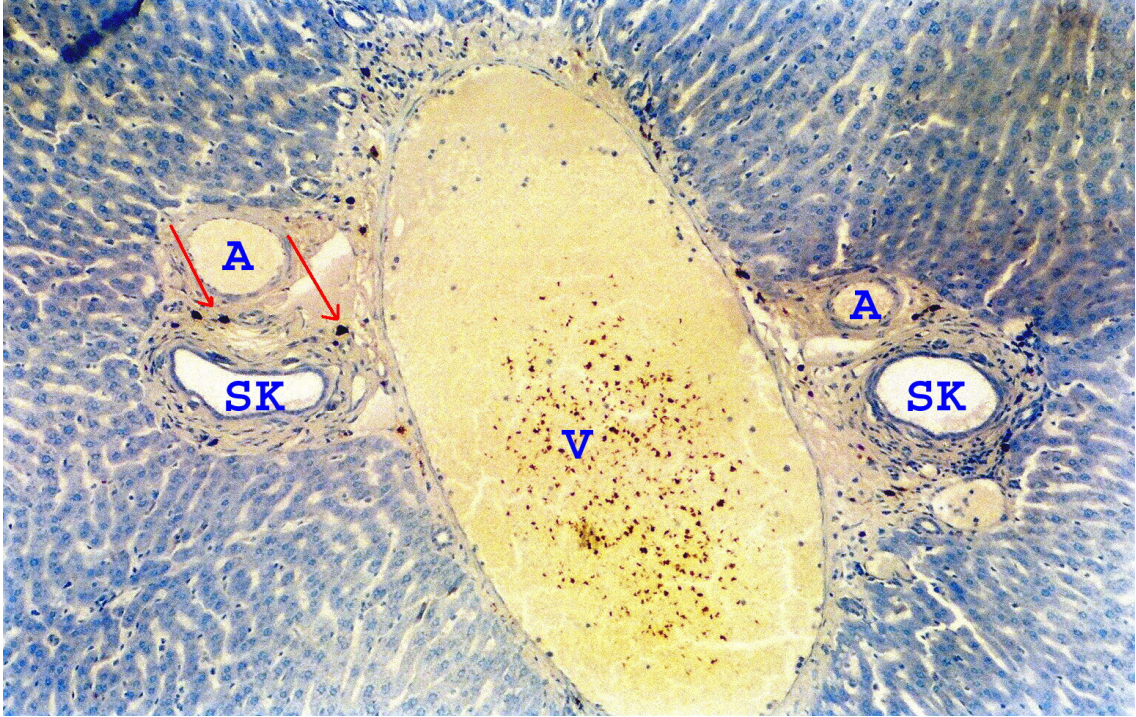
**Şekil 4.5.** VIP (LPS+VIP) verilmiş grupta mast hücreleri (kırmızı oklar), arter (A), safra kanalı, (SK) ve ven (V), toluidine blue X100



**Şekil 4.6.** VIP 'li grupta safra kanalı (SK) etrafındaki mast hücreleri (kırmızı boyalı), toluidine blue X400

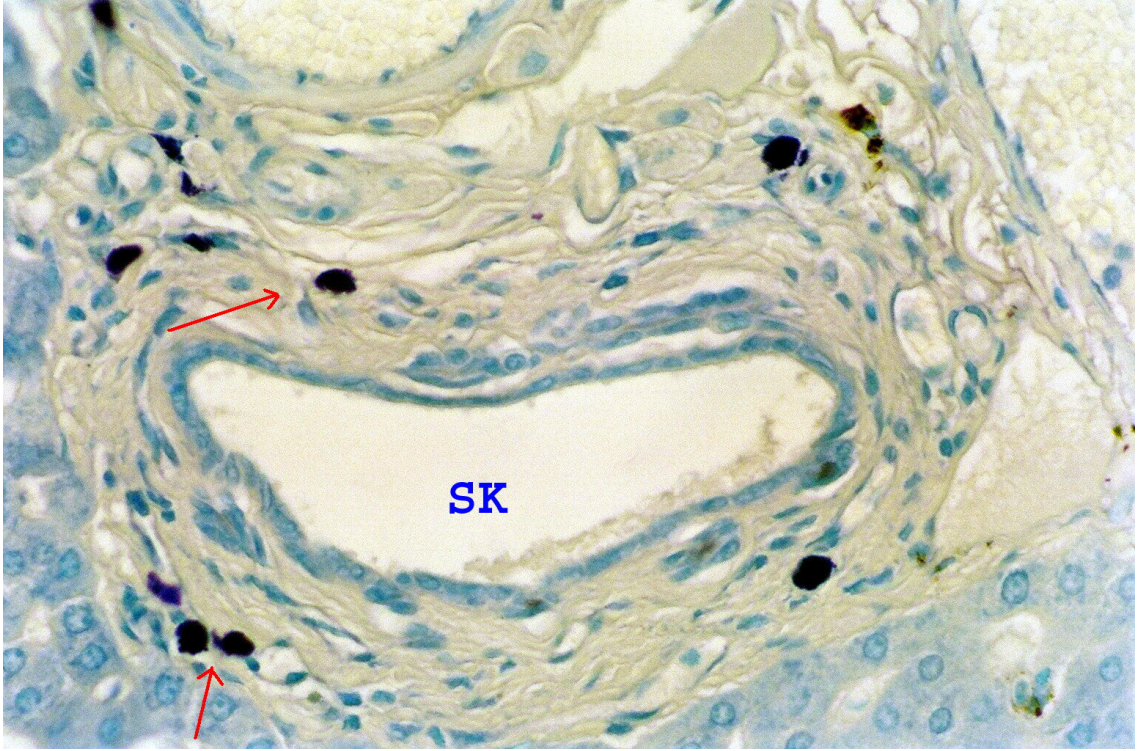


LPS+Ginkgo biloba grubunda endotokseminin mikroskopik belirtileri görülmemektedir. Portal alanda oturmuş arter, ven ve safra kanalları gözlenmektedir. Bağ dokuda menekşe renkli mast hücreleri bulunmaktadır. Mast hücrelerinin birim portal alandaki sayısı VIP grubuna yakın görülmektedir. Endotoksemi sonucu oluşan bulgulara rastlanmamaktadır (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).



**Şekil 4.7.** Ginkgo biloba uygulanmış (LPS+Ginkgo biloba) grupta arter (A), ven (V) ve safra kanalları (SK) etrafında yer alan mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X100

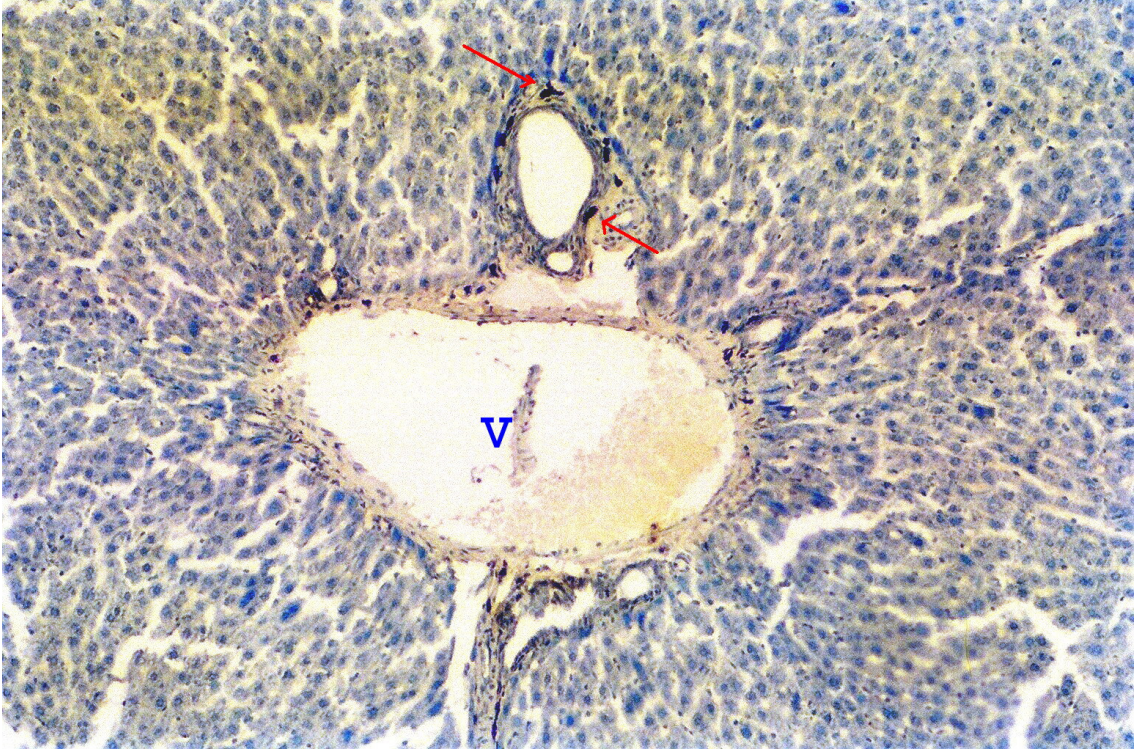




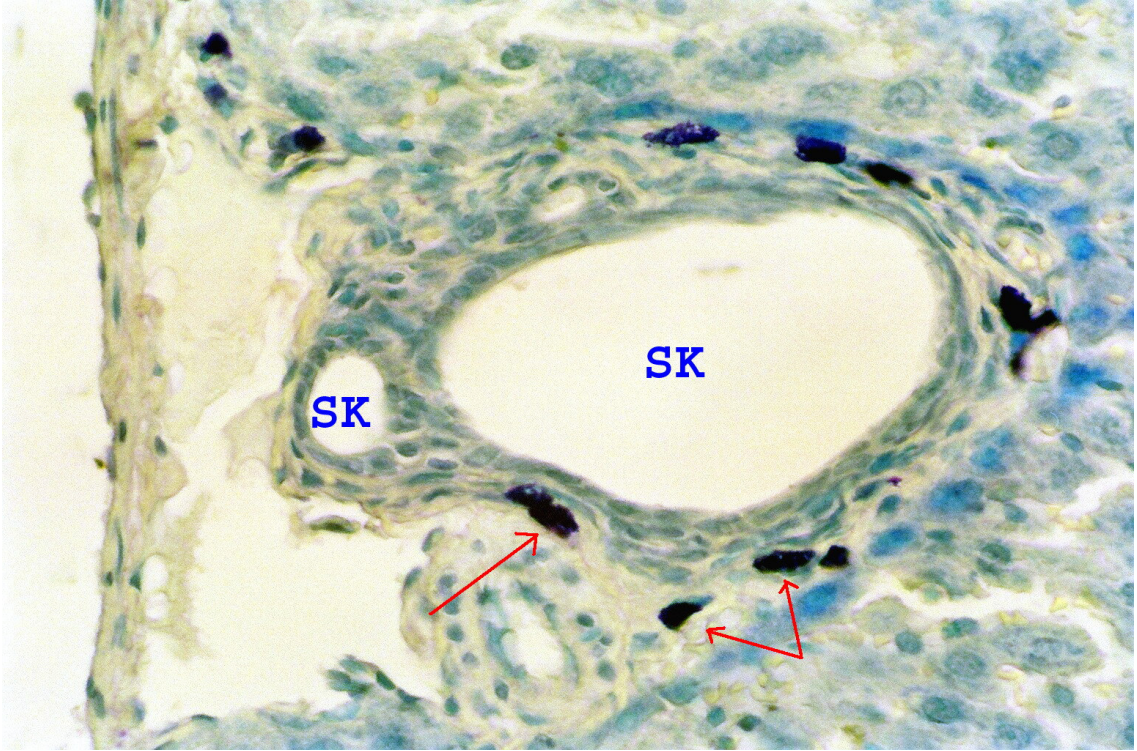
**Şekil 4.8.** Ginkgo biloba grubundaki safra kanalı (SK) etrafındaki mast hücreleri (kırmızı oklar), toluidine blue X400

LPS+L-NAME grubunda normal olarak karaciğer hücreleri gözlenmektedir. Portal alanda safra kanalları çevresinde mast hücreleri bulunmaktadır. Işık mikroskopik görüntüde patolojik bulgular gözlemlenmemektedir. Kontrol I'e göre mast hücre sayıları artmış bulunmuştur. Birim portal alandaki mast hücre sayısı ise kontrol grupları hariç diğer gruplardan düşük görülmüştür (Şekil 4.9, Şekil 4.10, Tablo 4.1 ve Tablo 4.2).





**Şekil 4.9.** Nitrik oksit sentez inhibitörü (L-NAME) enjekte edilmiş (LPS+L-NAME) gruptaki mast hücreleri (kırmızı oklar) ve ortada yerleşmiş ven (V), toluidine blue X100



**Şekil 4.10.** L-NAME'li gruplarda safra kanalları (SK) etrafındaki mast hücreleri, toluidine blue X400

Bu gruplar içerisinde birim portal alandaki mast hücre sayısında fark görülmüştür. Özellikle kontrol grubu II'de mast hücre sayısı daha fazla bulunmuştur. Mast hücre sayısı en düşük kontrol I'de ortaya çıkmıştır. Diğer grupların mast hücre sayılarının birbirlerine yakın olduğu gözlenmiştir. Portal alanlardaki mast hücreleri ayrı değerlendirildiğinde gruplar arasında anlam görülmemiştir (Tablo 4.1 ve Tablo 4.2)..

**Tablo 4.1.** Portal alanlardaki mast hücre sayıları.

	N=7	20 ' lik objektifde	
		Portal Alan (PA) Sayısı	PA 'da Mast Hücre Sayısı
<b>Kontrol I</b>	1	10	11
	2	6	Yok
	3	8	8
	4	2	Yok
	5	8	3
	6	7	3
	7	6	Yok
<b>Kontrol II</b>	1	1	2
	2	2	14
	3	7	19
	4	2	9
	5	2	6
	6	12	11
	7	15	15
<b>LPS + VIP</b>	1	5	9
	2	1	9
	3	4	17
	4	9	13
	5	10	12
	6	4	5
	7	6	10
<b>LPS + Ginkgo</b>	1	14	19
	2	12	18
	3	7	7
	4	8	7
	5	6	10
	6	2	2
	7	4	10
<b>LPS + L- NAME</b>	1	9	10
	2	9	19
	3	10	11
	4	5	9
	5	12	13
	6	17	5
	7	5	7

**Tablo 4.2.** Birim portal alandaki mast hücreleri

Gruplar	Portal alan sayısı		PA'da mast hücre		Birim PA'daki mast hücre	
	Ortanca	Min-Max	Ortanca	Min-Max	Ortanca	Min-Max
Kontrol I	7	2-10	3	0-11	0,143	0,1-0,5
Kontrol II	2	1-15	11	2-19	1	0,13-2
LPS+VIP	5	1-10	10	5-17	0,6	0,3-3
LPS+Ginkgo	7	2-14	10	2-19	0,571	0,29-2
LPS+L-NAME	9	5-17	10	5-19	0,556	0,29-1
X <sup>2</sup>	4,34		8,27		12,037	
p	> 0,05		> 0,05		< 0,05	

#### 4.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Kontrol I'deki MDA değeri diğerlerinden yüksek görülmektedir. LPS enjekte edilen kontrol II'de lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA değeri düşük bulunmaktadır. MDA değerinin LPS+VIP grubunda da kontrol I'e göre düştüğü gözlenmektedir. LPS+Ginkgo grubunda MDA değerinin kontrol I'den epeyce düştüğü görülmektedir. LPS+L-NAME grubunda ise MDA değeri kontrol II, VIP ve Ginkgo gruplarına göre daha yüksek olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak grupların kendi içerisinde de farklılık görülmüştür. Özellikle kontrol II'de (686,183), LPS+VIP (601,882) ve LPS+L-NAME (685,102 ve 1317,218) gruplarında çok yüksek değerlere de rastlanmaktadır. Bununla beraber LPS+Ginkgo grubunda hiç yüksek değer gözlenmemektedir (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4).

**Tablo 4.3** Gruplardaki MDA Değerleri

	N=7	MDA Değerleri (nmol/gr)
<b>Kontrol I</b>	1	392.244
	2	322.352
	3	400.141
	4	405.514
	5	411.176
	6	433.802
	7	306.799
<b>Kontrol II</b>	1	287.669
	2	686.183
	3	371.701
	4	374.88
	5	294.669
	6	343.797
	7	413.1222
<b>LPS + VIP</b>	1	465.582
	2	400.273
	3	359.041
	4	300.09
	5	271.741
	6	363.058
	7	601.882
<b>LPS + Ginkgo</b>	1	252.21
	2	196.853
	3	196.988
	4	333.142
	5	325.708
	6	251.32
	7	244.183
<b>LPS + L-NAME</b>	1	384.839
	2	237.093
	3	1317.218
	4	284.161
	5	685.102
	6	595.9
	7	382.072

**Tablo 4.4.** Gruplara göre MDA değerlerinin karşılaştırılması

<b>Gruplar</b>	<b>Ortanca</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>
Kontrol I	400.1 nmol/gr	306.8 nmol/gr	433.8 nmol/gr
Kontrol II	371.7 nmol/gr	287.7 nmol/gr	686.2 nmol/gr
LPS+ViP	363.1 nmol/gr	271.7 nmol/gr	601.9 nmol/gr
LPS+Ginkgo	251.3 nmol/gr	196.9 nmol/gr	333.1 nmol/gr
LPS+L-NAME	384.8 nmol/gr	237.1 nmol/gr	1317.2 nmol/gr

$X^2=10,952$ , SD=4,  $p < 0,05$



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sepsis patofizyolojik mekanizmaların anlaşılmasında ve tedavisinde pek çok stratejiler geliştirilmesine rağmen, yoğun bakım ünitelerinin büyük bir problemidir. Konağın, enfeksiyona abartılmış bir sistemik yanıtı sonucu oluşan sepsis, multipl organ yetmezliği ve ölüme yol açabilir (21). Septik şokun ayırt edici özelliklerinden endotoksemi ile metabolik isteklerin zorlandığı ilişkilendirilmiş (132). Karaciğerin, sepsis tarafından en çok etkilenen organlardan olduğu düşünülmektedir, çünkü, organizmanın immünolojik savunma mekanizmalarında çok önemli bir rol oynamaktadır (21).

İskit ve ark. (132) endotoksemik farelerin karaciğerinde vena centralis'in çevresinde şiddetli hidropik dejenerasyon, nekroz noktaları ve safra kanalı çevresinde seyrek plazma hücreleri dahil lenfosit infiltrasyonu gözlemişlerdir. Arthur ve ark. (133) 28 mg/kg *Corynebacterium parvum* vererek sıçan karaciğerinde mononükleer hücre kaçı, nötrofiller ve eozinofillerin oluşturduğu granuloma görmüşlerdir. Tsa ve ark. (135) 10 mg/kg LPS (*E.coli*) uygulanan sıçan karaciğerinde polimorfnükleer nötrofil infiltrasyonu ve interstisiyel ödem elde etmişlerdir. Kara ve ark. (21) çekum ligasyon sonucu oluşturdukları sepsiste anormal perisinüzoidal inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlemişlerdir. Bunun yanı sıra sepsis sırasında sıçanlarda MDA seviyelerinin yükseldiğini bulmuşlardır (21). Ancak sıçanların mortalitesi ve sağkalımını çalışmamışlardır (21).

Tunçel ve ark. (43) 6 mg/kg LPS (E. coli) uygulayarak mast hücrelerinde degranülasyonun oluşduğunu göstermişlerdir. 30 mg/kg L-NAME uygulamasının ise NO sentezinin engellenmesiyle degranülasyona sebep olduğunu bulmuşlardır (43). VIP'in ise endotoksinin oluşturduğu degranülasyonu engellediğini ve granüllü mast hücre miktarını dahi azalttığını ortaya koymuşlardır (43). Alcian blue + safraninle boyadıkları mast hücrelerinin gruplar arasında farklı boyandığını göstermişlerdir (43). Septik sıçanlarda mast hücrelerinin heparin içeriğinin azalması sonucu safraninle kırmızı boyandığını göstermişlerdir (43). Ancak mavi boyalı mast hücre sayısında artış olurken kırmızı boyalı mast hücre sayısında azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir (43). Tunçel ve ark. karaciğerde MDA değerini LPS'nin düşürdüğünü göstermişlerdir (43).

Daha önce belirtildiği gibi, septik ratlarda, artmış lipid peroksidasyon ürünleri, serbest oksijen (SOR) radikallerine bağlı hücre membran hasarını gösterebilir (21). Hepatik hasarın patogeneziinde oksijenden kaynaklanan serbest oksijen radikallerinin önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir (134).

Ayrıca septik sıçanlardaki MDA düzeyi kontrol gruplarının altındaydı. Vücut ağırlığı başına; 15 mg/kg LPS dozu farelerin karaciğerinde lipid peroksidasyonuna yol açmadığı gösterilmiştir. (38, 43).

Reaktif oksijen ürünlerinin, endotoksik hasarlar sırasında lipid peroksidasyonuna sebep olmadan önce diğer mekanizmalar tarafından tüketilebildiği söylenebilir. Bu reaktif oksijen türleri, NO ve mast hücre tüketimi, histamin arasındaki karmaşık etkileşimlerden kaynaklanmış olabilir. VIP ve L-NAME muamelesi, LPS'nin azalttığı karaciğer doku MDA düzeyini önemli derecede değiştirmemektedir (16, 43).

LPS'li sıçanlarda L-NAME ile NO oluşumunun engellenmesi, süperoksit iyonunun oluşumunu düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bununla beraber, süperoksit radikallerinin toplayıcısıyla NO'nin endotoksemide doku hasarına karşı koruyucu bir etkiye sahip olduğu bildirildi. Yine başka bir çalışmada; NO'nun etkileşimi sonucunda peroksinitrit'in oluştuğunu ve süperoksit iyonunun önemli bir sitotoksik bir mediatör olmadığını gösterildi (11, 12, 14, 16, 43).



VIP inflamatuvar hücrelerde süperoksit radikal oluşumunu da engellediği bildirilmiştir. VIP'in bir antioksidan gibi, yalnız oksijenleri ve hidroksil radikalleri toplayan kabiliyeti olduğu söylenmiştir (42, 43).

Ginkgo biloba ekstresinin temel kullanım endikasyonları; serebral fonksiyon bozuklukları, kardiovasküler hastalıklar, sinir-duyu ve dolaşım sistemi bozuklukları ve iltihap'tır. Kollajen'in azalmasında Ginkgo biloba'nın ciddi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Ginkgo biloba'nın nisbeten az olan koruyucu etkisi bunun hidroksil radikallerini söndürmesi olabilir (51, 52, 133).

Bizim sonuçlarımızda endotoksemi sonucu oluşan patolojik bulgulara rastlanılmadı. Ancak gruplar arasındaki birim portal alan başına düşen mast hücre miktarı farklı bulundu. 6 mg/kg LPS verilmesi sonucu MDA değerlerindeki düşüş Tunçel ve ark. (43) çalışmalarıyla paraleldir. Ancak çalışmamızın eksik tarafı sıçanlarda mortalite ve sağkalım çalışılmamıştır. Mast hücre heterojenitesinde kullanılan alcian blue + safranin kullanılmadı. Bu nedenle mast hücre heterojenitesi tespit edilmemiştir. LPS verilmesiyle oluşan serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılmasından dolayı MDA değerlerinin ortadan kaldırılmasıyla açıklanabilir. Kontrol grubu II'deki mast hücre sayısının daha fazla olması ise inflamasyonda ilk harekete geçen hücrelerin mast hücreleri olabileceğini düşündürür. Bünyesinde bulunan granüller ve salgıladığı sitokinler sayesinde mast hücrelerinin merkezi bir rol oynayabileceğini akla getirir. Gruplardan MDA değerinin düşüşünü sağlayan Ginkgo biloba ve VIP'in sebep olması sepsiste tedavi edici olabileceğini akla getirir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Gürsoy E, Koptagel E. Embriyoloji Atlası. İstanbul, Esnaft Ofset Matbaacılık, Mayıs, 1997: 125.
2. Başımoğlu Koca Y. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan duktus koledok tıkanıklığı ve tıkanıklığın giderilmesi sonrası karaciğerin histolojik yapısı, Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas 1996.
3. Tekelioğlu M. Özel Histoloji. Ankara, Antıp A.Ş. Yayınları, 2002: 79-84.
4. Iskit A.B, Sungur A, Gedikoğlu G, Guc M.O, 1999. The effects of bosentan, aminoguanidine and L- canavine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. Euro. J. Pharmacol. 379, 73-80.
5. Baykal A, Iskit A.B, Kaynaroğlu V, Guc M.O, Sayek I, Sanac Y, 1999. effects of adrenaline or endotoxin tolerance states on mesenteric blood flow in endotoxaemia. Aus.N.Z.J. Surg 69, 134-137.
6. Kavuklu B, Iskit A.B, Guc M.O, İlhan M, Sayek İ, 2000. Aminoguanidine attenutes endotoxin-induced mesenteric vascular hyporeactivity. Br. J. Sur. 87, 448-453.
7. Baykal A, Kavuklu B, Iskit A.B, Guc M.O, Hascelik G, Sayek I, 2000. An experimental study of the effect of nitric oxide inhibition on mesenteric blood flow and interleukin-10 levels in lipopolysaccharide. World. J. Surg. 24 (9), 1116-1120.
8. Baykal A, Iskit A.B, Hamaloglu E, Guc M.O, Hascelik G, Sayek I, 2000. Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF alpha concentrations after lipopolysaccharide challenge. Eur. J. Surg. 166, 722-727.

9. Iskit A.B, Guc M.O, 2001. The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. *Euro. J. Pharmacol.* 414, 281-287.
10. Markiewski MM, DeAngelis RA, Lambris JD. Liver inflammation and regeneration: Two distinct biological phenomena or parallel pathophysiologic processes? *Molecular Immunology* 43 (2006) 45-56.
11. Hutcheson IR, Whittle JRB, 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: 815-20.
12. Liaudet L, Rosselet A, Schaller MD, Markert M, Perret C, Feihl F. Nonselective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis* 1988; 177: 127-32.
13. Van Deventer SJH, Ten Cate JW, Tytgat GNJ. Intestinal endotoxemia. *Gastroenterology* 1988; 94: 825-31.
14. Goode HF, Cowley HC, Walter BE, Howdle PD, Webster NR. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med* 1994; 23: 646-51.
15. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *N engl J Med* 1993; 328: 1471-7.
16. Ma TT, Ischiropoulos H, Brass CA. Endotoxin-stimulated nitric oxide production increases injury and reduces rat liver chemiluminescence during reperfusion. *Gastroenterology* 1995; 108: 463-9.
17. Pastor CM, Billiar TR, Losser MR, Payen DM. Liver injury during sepsis. *J Crit Care Med.* 1995; 10: 183-197.
18. Strassburg CP. Gastrointestinal disorders of the critically ill. Shock liver. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2003; 17: 369-381.
19. Strassheim D, Park JS, Abraham E. Sepsis: Current concepts in intracellular signaling. *Int J Biochem Biol.* 2002; 34: 1527-1533.
20. James PE, Madhani M, Roebuck W, et al. Endotoxin-induced liver hypoxia: Defective oxygen delivery versus oxygen consumption. *Nitric Oxide.* 2002; 6: 18-28.
21. Kara E, Var A, Vatansever S, Cilaker S, Kaya Y, and Coşkun T. Effects of rofecoxib, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, on endothelial dysfunction, lipid peroxidation, and hepatocyte morphology in rats with sepsis-induced liver damage. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2004; 65: 278-291.

22. Vicent JL. Update on sepsis: Pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg.* 2000; 55: 79-87.
23. Casey LC. Immunologic response to infection and its role in septic shock. *Crit Care Clin.* 2000; 16: 193-213.
24. Shah AM . Induceble nitric oxide synthase and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2000; 45:148-155.
25. Karima R, Matsumoto S, Higashi H, Matsushima R. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. *Mol Med Today.* 1999;5: 123-132.
26. Szabo G, Romics L Jr, Frenzl G. Liver in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Clin Liver Dis.* 2002; 6: 1045-1066.
27. Maynard ND, Bihari DJ, Dalton RN, et al. Liver function and splanchnic ischemia in critically ill patients. *Chest.* 1997; 111: 180-187.
28. Schoonover LL, Stewart AS, Clifton GD. Hemodynamic and cardiovascular effects of nitric oxide modulation in the therapy of septic shock. *Pharmacotherapy.* 2000; 20: 1184-1197.
29. Titheradge MA. Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta.* 1999; 1411: 437-455.
30. Strand OA, Leone A, Giercksky KE, Kirkeboen KA. Nitric oxide indices in human septic shock. *Crit Care Med.* 2000; 28: 2779-2785.
31. Wray GM, Foster SJ, Hinds CJ, Thiermermann C. A cell wall component from pathogenic and non-pathogenic gram-positive bacteria (peptidoglycan) synergises with endotoxin to cause the release of tumour necrosis factor-alpha, nitric oxide production, shock, and multiple organ injury/dysfunction in the rat. *Shock.* 2001; 15: 135-142.
32. Olinescu R, Bartoc R, Milltaru M, et al. The changes of peroxides and total antioxidants in the plasma of patients who received 1311 therapeutically. *Rom J Intern Med.* 1992; 30: 113-117.
33. Jaeschke H. Mechanisms of oxidant stress-induced acute tissue injury. *Proc Soc Exp Biol Me.* 1995; 209: 104-111.
34. Simson R, Alon R, Kobzik L, et al. Neutrophil and nonneutrophil-mediated injury in intestinal ischemia-reperfusion. *Ann Surg.* 1993; 218: 444-454.

35. Wei H, Frenkel K. Relationship of oxidative events and DNA oxidation in senescent mice to *in vivo* promoting activity of phorbol ester-type tumor promoters. *Carcinogenesis*. 1993; 14: 1195-1201.
36. LaLonde C, Daryani R, Campbell C, et al. Relationship between liver oxidant stress and antioxidant activity after zymosan peritonitis in the rat. *Crit Care Med*. 1993; 21: 894-900.
37. Broner CW, Shenep JL, Stidham GY, et al. Effect of scavengers on survival in sepsis. *Am Surg*. 1991; 57: 86-88.
38. Icho T, Kojima S, Shimohara N, Kajivara Y, Kitabatake K, Kubota K. Protective effects of tetrahydropterin against free radical-induced injury. *Biochem Pharmacol* 1993; 45: 1953-8.
39. Llesuy s, Evelson P, Gonzales FB, Peralta J, Carreras MC, Poderoso JJ, Boveris A. Oxidative stress in muscle and liver of rat with septic syndrome. *Free Rad Biol Med* 1994; 16: 445-51.
40. Schwartz LB. Mast cells and their role in urticaria. *J Am Acad Dermatol* 1991;25: 190-204.
41. Revhaug A, Lygren I, Jenssen GT, Giercksky KE, Burhol PG. Vasoactive intestinal peptide in sepsis and shock. *Ann NY Acad Sei* 1988; 527: 536-45.
42. Said SL. Vasoactive intestinal peptide and nitric oxide: divergent roles in relation to tissue injury. *Ann NY Acad Sci* 1996; 805: 379-87.
43. 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.
44. Delgado M, Munoz-Elias EJ, Gomariz RP, Granea 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.
45. Said SL. Airway Smooth muscle, peptide receptors, ion channels, and signal transduction. In: Raeburn D, Giembycz MA, editors. *Vasoactive intestinal peptide*. Basel: Birkhauser Verlag (chap. 4), 1995. p. 87-113.
46. Delgado M, Martinez C, Pozo D, Calvo JR, Leceta J, Granea D, Gomariz RP. Vasoactive intestinal peptide (VIP) and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) protect mice from lethal endotoxemia through the inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-6. *J Immunol* 1999; 162: 1200-5.

47. Echtenacher B, Mannel DN, Hultner L. Critical protective role mast cell in a model of acute septic peritonitis. *Nature* 1996; 381: 75-7.
48. Gaboury JP, Jonhston B, Niu X, Kubes P. Mechanisms underlying acute mast cell-induced leukocyte rolling and adhesion in vivo. *J Immunol* 1995; 154: 804-13.
49. Galli JS. New concepts about the mast cell. *N Engl J Med* 1993; 328: 257-65.
50. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cell as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today* 1990; 11: 458-63.
51. Coşkun Ö, Yakan B, Öztaş E, Sezen Ş, Günaydın AA. 2000. antioxidant and hepatoprotective activity of vitamin E and EGb 761 in experimental endotoxemic rats. *Turk J Med Sci* 30 (5): 427-432.
52. Selçuk Y, Yakan B, Başoğlu M, Gündoğdu C, Kızıltunç A, Tonbul HZ, San A. 2000. Effect of Ginkgo glycosid (EGb 761) on some vascular endothelial functions and renal histology in rabbits with acute cyclosporine nephrotoxicity. *Turk J Med Sci* 30: 109-113.
53. Benzer F, Temizer Ozan S. *Fasciola hepatica* ile enfekte koyunlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzimler ve nitrik oksit düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci* 27 (2003) 657-661.
54. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 181-200.
55. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* 2nd ed. Oxford, Clarendon Press, 1996; 10-19, 86-130, 187-288.
56. Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: An analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 899: 191-208.
57. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
58. Cook EB., Stahl JL., Barney NP., Graziano FM. 2001 Ocular Mast Cells. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. Vol.20, no.2, 243-268.
59. Junquera L.C., Carnerio J., Kelly R.O., 1993 Mast Hücreleri. *Temel Histoloji*. Barış Kitabevi. İstanbul.

60. 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
61. Erdei A, Andrasfalvy M, Peterfy H, Toth G, Pecht I. Regulation of mast cell activation by complement-derived peptides. *Immunology Letters*: 2004; 39-42.
62. Erpek S. Mast hücreleri. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 11 (2) 2004; 109-120.
63. Gurish MF., Austen KF. The diverse roles of mast cells. *J Exp Med* 2001; 194: F1-5.
64. Dahm R.L., Latimer K. S. 2001 Mast Cell Disease in Dogs and Cats: An Overview. College of Veterinary Medicine, The University of Georgia, Athens. Tharp M. D. 2003
65. Tharp M. D. 2003 Mast Cells and Their Mediators. American Academy of Dermatology.
66. Noviana D, Mamba K, Makimura S, Horii Y. 2004 Distribution, Histochemical and Enzyme Histochemical Characterization of Mast Cells in Dog. *Journal of molecular Histology*. 35: 123-132.
67. Gray's Anatomy 2004 Body Part-Mast Cell.
68. Morgan SJ., Williams JH., Walls AF., Church MK., Holgate ST., McGill JI. 1991 Mast Cell Numbers and Staining Characteristics in The Normal and Allergic Human Conjunctiva. *J Allergy Clin Immunol*. 87 (1 Pt 1): 111-6.
69. Rioux KP, Sharkey KA, Wallace JL, Swain M. Hepatic mucosal mast cell hyperplasia in rats with secondary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1996; 23: 88-95.
70. 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.
71. Farrell D, Hines JE, Walls AF et al. Intrahepatic mast cells in chronic liver diseases. *Hepatology* 1995; 22: 1175-81.
72. Hermes B, Welker P, Feldmann-Boddeker I, Krger-Krasagakis S, Hartmann K, Zuberbier T, Henz BM. Expression mast cell growth modulating and chemotactic factors and their receptors in human cutaneous scars. *J Invest Dermatol* 2001; 116 (3): 387-93.
73. Ashmann LK. The biology of stem cell factor and its receptor c-kit. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999; 31 (10): 1037-51.

74. Dastyk j, Metcalfe DD. Stem cell factor induces mast cell adhesion to fibronectin. *J Immunol* 1994; 152: 213-219.
75. Norrby K. Mast cells and angiogenesis. *APMIS* 2002, 110; 355-71.
76. Metcafe DD., Baram D, Mekori YA. Mast cells. *Phys Rev* 1997; 77 (4): 1033-1079.
77. Galli SJ, Maurer M, Lanz Cs. Mast cells as sentinels of innate immunity. *Curr Opin Immunol* 1999, 11 (1) : 53-9.
78. Metzger H. The high affinity receptor for IgE on mast cells. *Clin Exp Allergy* 1991; 21 (3) : 169-79.
79. Varadaradjalou S, Feger F, Thieblemont N, hamouda NB, Pleau JM Dy M, Arock M. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur J Immunol.* 2003 ; 33 (4) : 899-906.
80. McCurdy JD, Lin TJ, Marshall JS. Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J Leukoc Biol.* 2001; 70 (6): 977-84.
81. Theoharides TC, Cochrane DE. Critical role of mast cells in inflammatory diseases and the effect of acute stress. *J Neuroimmunol* 2004; 146: 1-12.
82. Letourneau R, Rozniecki JJ, Dimitriadou V, Theoharides TC. Ultrastructural evidence of brain mast cell activation without degranulation in monkey experimental allergic encephalomyelitis. *J Neuroimmunolog.* 2003; 145 (1-2): 18-26.
83. Gülmezoğlu E, Ergüven S. İmmünoloji. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 1994: 214-219.
84. Norrby K. İntradermal mast cell secretion causing cutaneous mitogenesis. *Virchow S Arch (Cell Pathol)* 1983; 42: 263-9.
85. Vicher TL. Stimulation of mouse B lymphocytes by trypsin. *J İmmunol* 1974; 113: 58-62.
86. Levi-Schaffer F, Weg VB. Mast cells, eosinophils and fibrosis. *Clin Exp Allergy* 1997; 27 (Suppl. 1): 64-70.
87. Forsberg E, Pejler G, Ringvall M, Lunderius C, Tomasini-Johansson B, Kusche-Gullberg M, Eriksson I, Ledin J, Hellman L, Kjellen L. Abnormal mast cells in mice deficient in a heparin-synthesizing enzyme. *Nature* . 1999; 400 (6746): 773-6.
88. Kokkonen JO., Lindstedt KA., Kovanen PT. Metabolism of LDL in mast cells recovering from degranulation: description of novel intracellular pathway leading to proteolytic modification of lipoprotein. *Arterioscler Tromb* 1993; 13: 276-285.



89. Lindstedt KA., Kokkonen JO., Kovanen PT. Solubl heparin proteoglycans realeased from stimulated mast cells unduce uptake of low density lipoproteins by macrophages via scavenger receptor-mediated phagocytosis. *J lipid Res* 1992; 33: 65-75.
90. Gajdusek C. Release of endotelial cell-derived growht factor (ECDGF) by heparin. *J Cell Physiol* 1984; 121: 13-21.
91. Frieri M, Metcalfe DD. Analysis of the effect of mast cell granules on lymphocyte blastogenesis in the absence and presence of mitogens: identification of heparin as a granule associated suppressor factor . *J İmmunol* 1983; 131: 1942-9.
92. Angadi CV., Frieri M. Suppression of immunglobulin production by mast cell granules and their mediators in culture. *Fed Proc* 1984; 44: 3358.
93. Steen VD., Medsger TA., Jr., Rodnan GP. D-Penicillamine therapy in progressive systemic sclerosis (scleroderma): a retrospective analysis . *Ann İtern Med* 1982; 97: 652-9.
94. Hiromatsu Y, Toda S. Mast cell and angiogenesis. *Microsc Res Tech.* 2003; 60: 64-69.
95. Schwart LB. Mast cells: function and contents. *Current Opinion in Immunology.* 1994; 6: 91-97.
96. Cairns JA., Walls AF. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J Clin Invest.* 1997; 99: 1313-21.
97. Gruber BL., Kew RR., Jelaska et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol.* 1997; 158: 2310-7.
98. Gurish ME, Austen KF. The diverse roles of mast cells. *J Exp Med.* 2001; 194 (1): F1-F5.
99. Edwards KM.,Kam CM., Powers JC., Trapani Ja. The human cytotoxic T cell granule serine proteaz granzyme H has chymotrypsin-like (chymase) activity and is taken up into cytoplasmic vesicles reminiscent of granzyme B-containing endosomes. *J Biol Chem.* 1999; 274: 30468-30473.
100. Leskinen M, Wang Y, Leszczynski D, Lindstedt KA., Kovanen PT. Mast cell chymase induces apoptisis of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 516-522.
101. Garcia-Sanz JA., MacDanold HR., Jenne DE. et all. Cell specificity of granzyme gene expression. *J Immunol.* 1999; 145: 3111-3118.

102. Pemberton AD., McEuen AR., Scudamore CL. Characterisation of tryptase and a granzyme H-like chymase isolated from equine mastocytoma tissue. *Vet Immunol Immunopathol* . 2001; 97: 2045-2052.
103. Hara M, Matsumori A, Ono K . et all. Mast cell cause apoptosis of cardiomyocytes and proliferation of other intramyocardial cells in vitro. *Circulation* 1999; 100: 1443-1449.
104. Bllding P, Roberts JA., Britten KM, et all. İnterleukin –4,5 and 6 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 471-80.
105. Gordon JR., Galli SJ. Mast cells as a source of both performed and immunological inducible TNF- $\alpha$ /cachectin. *Nature* 1990; 346: 274-6.
106. Malavia R, Ikeda T, Ross E, et all. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF-alpha. *Nature* 1996; 381:77-80.
107. Fertin C, Nicolas JF, Gillery P, Kalis B, Banchereau J, Maquart FX. Interleukin-4 stimulates collagen synthesis by normal and scleroderma fibroblasts in dermal equivalents. *Cell Mol Biol* 1991, 37: 823-829.
108. Urban JF JR, Katona IM, Paul WE, Finkelman FD. İnterleukin 4 is important in protective İmmunity to gastrointestinal nematode infection in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991, 88: 5513-5517.
109. Levi-Schaffer F, Weg VB. Mast cells, eosinophils and fibrosis. *Clin Exp Allergy* 1997; 27 (Suppl. 1) : 64-70.
110. Enerback L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa I. Effects of fixation. *Acta Path et Microbiol Scandinav* 1996a; 66: 298-302.
111. Enerback L. Mast cells in rat gastrointestinal mucosa . II. Dye-binding and metachromatic properties. *Acta Path et Microbiol Scandinav* 1966b; 66: 303-12.
112. Erpek S, Otlu A. Tavşan ağız mukozasında mast hücrelerinin dağılımı. *Turgut Özal tıp Merkezi Dergisi* 1995; 2 (3) : 258-267
113. Wingren U, Enerback L. Mucosal mast cells of the rat intestine: a re-evelution of fixation and staining properties, with special reference to protein bloking and solobility of the granular glycosaminoglycan. *Histochemj* 1983; 15: 571-587.
114. Marshall JS, Bienenstock J. Mast cells. *Springer Semin Immunopathol* 1990; 12: 191-202

115. Kitamura Y. Heterogeneity of mast cells and phenotypic change between subpopulations. *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 59-76
116. Irani AA, Schwartz LB. Mast cell heterogeneity. *Clin Exp Allergy* 1989; 19: 143-155.
117. Schwartz LB. Heterogeneity of mast cells in humans. In: Galli SJ, Austen KF, eds. *Mast cells and basophil differentiation and function in health and disease*. New York: Raven Press Ltd. , 1989: 93-105.
118. Enerback L, Pipkorn U, Aldenborg F, Wingren U. Mast cell heterogeneity in man: properties and function of human mucosal mast cells. In: Galli SJ, Austen KF, eds. *Mast cell and basophil differentiation and function in health and disease*. New York:Raven Press Ltd. , 1989
119. Puxeddu I, Piliponsky AM, Bachelet I, Levi-Schaffer F. Mast cells in allergy and beyond. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003; 35 (12): 1601-7.
120. Maurer M, Echtenacher B, Hultner L, et all. The c-kit ligand, stem cell factor, can enhance innate immunity through effectson mast cells. *J Exp Med* 1998; 188: 2343-2348.
121. Prodeus AP, Zhou X, Maurer M, et all. Impaired mast cell-dependent natural immunity in complement C3-deficient mice. *Nature* 1997; 390: 172-175.
122. Brody D, Metcalfe DD. Mast cells: a unique and fonctional diversity. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 (10): 1167-70.
123. Lantz CS, Boesiger J, Song CH, et all. Role for interleukin-3 in mast cell and basophil development and in immunity to parasites. *Nature* 1998; 392 (6671): 90-3.
124. Puxeddu I, Levi-Schaffer f. Mast cells tissue remodeling. *Rev Fr Allergol Immunol clin* 2002; 42:16-8.
125. Hiromatsu Y, Toda S. Mast cell and angiogenesis. *Microsc Res Tech* 2003; 60 (1): 64-9.
126. Forsythe P, Gilchrist M, Kulka M, Dean Befus A. Mast cells and nitric oxide: control of production, mechanisms of response. *International Immunopharmacology* 1(2001) 1525-1541.
127. Kauhanen P, Kovanen PT, Reunala T, Lassila R. Effects of skin mast cells on bleeding time and coagulation activation at the siteof platelet plug formation. *Thromb Haemost*. 1998; 79 (4): 843-7.

128. Bankl HC, Radaszkiewicz T, Klappacher GW, et all. Increase and redistribution of cardiac mast cells in auricular thrombosis. Possible role of kit ligand. *Circulation* 1995; 91 (2): 275-83.
129. Kitamura Y, Taguchi T, Yokoyama M, et all. Higher susceptibility of mast cell-deficient W/WW mutant mice to brain thromboembolism and mortality caused by intravenous injection of ink. *Am J Pathol.* 1986; 122 (3): 469-80.
130. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
131. Prussin, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111 (2suppl): s 486-94.
132. K Welt, J Weiss, R Martin, D Dettmer, T Hermsdorf, et.al. Ultrastructural, immunohistochemical and diabetes und acute hypoxia without application of Ginkgo extract. *Exp Toxic Pathol* 2004; 331-345.
133. Arthur M.J.P., Bentley I.S., Tanner A.R., Kowalski Saunders P., Milward-Sadlers G.H., et al. Oxygen-derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology* 1985; 89: 1114-22.
134. Tsao C-M., Ho S-T., Chen A., Wang J-J., Tsai S-K., et al. Propofol ameliorates liver dysfunction and inhibits aortic superoxide level in conscious rats with endotoxic shock. *European Journal of Pharmacology* 2003; 477 (2): 183-193.
135. Iskit A.B, Sungur A, Gedikoğlu G, Guc M.O. The effects of bosentan, aminoguanidin and L-canavine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *European Journal of Pharmacology* 1999; 379: 73-80.

## ÖZGEÇMİŞ

25 Aralık 1977 Kayseri'nin Kemer köyünde doğdu. İlkokulu yabancı dil eğitimiyle Fransa'da bitirdi. Orta öğretimini Fevzi Çakmak Lisesi'nde tamamladı. Kayseri Melikgazi Lisesi'nde liseyi bitirdi. 1997 tarihinde Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2001'de bu bölümden mezun oldu. 2002 tarihinde Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. Halen bu bölümde öğrenci olup tez aşamasındadır.