

# Türk Farmakoloji Derneği

Farmakoloji Eğitim Sempozyumları Programı

VIII

## İnflamasyon

KONUŞMA ÖZETLERİ

A.Ü. Tıp Fakültesi, Ankara, 1999

# **İçindekiler**

## **Giancarlo Folco**

COOPERATION BETWEEN LEUKOCYTES AND ENDOTHELIAL  
CELLS AND THE CONTROL OF CORONARY FUNCTION ..... 1

## **Mehmet Melli**

PROSTAGLANDİNLERİN ANTIİNFLAMATUVAR ETKİLERİ ..... 4

## **H. Kurtel ve ark.**

GASTROİNTESTİNAL İNFLAMASYONDA ENDOTELİN-1'İN ROLÜ ..... 9

## **M. Oğuz Güç**

YARARLI VE ZARARLI YÖNLERİ İLE ENDOTOKSİK İNFLAMASYON ..... 13

## **Tuncay Demiryürek**

İNFLAMASYONDA SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ ..... 16

## **Eyup S. Akarsu**

SIÇANLarda İNFLAMATUVAR YANITA EŞLİK EDEN  
TERMOREGULATUVAR DEĞİŞİKLİKLER ..... 19

# COOPERATION BETWEEN LEUKOCYTES AND ENDOTHELIAL CELLS AND THE CONTROL OF CORONARY FUNCTION

Giancarlo Folco

*Center for Cardiopulmonary Pharmacology, University of Milan, Inst. of Pharmacological Sciences, Via Balzaretti 9, 20133 Milan, Italy.  
ph. +39-2-20488312, fax +39-2-7-0488385  
E-mail: giancarlo.folco@unimi.it*

Sulfidopeptide leukotriene (cys-LT) are powerful bioactive autacoids that originate from the oxidative metabolic pathways of arachidonic acid (AA); their biosynthesis may result from two different enzymatic processes: a) a primary oxidation by 5-lipoxygenase (5-LOX), leading to the formation of LTA<sub>4</sub> [1]; b) a secondary enzymatic conversion carried out by C4-synthase [2] leading to the formation of LTC<sub>4</sub>. Depending upon the enzymes present, the synthesis of leukotrienes (LTs) exhibits remarkable cellular specificity: following challenge with the calcium ionophore A23187, eosinophils [3], mast-cells [4] and basophils [5] generate mainly LTC<sub>4</sub> and its metabolites LTD<sub>4</sub> and LTE<sub>4</sub>, also collectively defined as cysteinyl LT (cys-LT).

## TRANSCELLULAR BIOSYNTHESIS OF LEUKOTRIENES IN ISOLATED CELL PREPARATIONS

Bunting et al. [6] first proposed the existence of transcellular biosynthesis as a mechanism responsible for prostacyclin generation within the arterial wall from platelet-derived prostaglandin endoperoxides.

In 1980, Marcus and coll. [7] provided chemical evidence that unstable intermediates of arachidonic acid metabolism (i.e. prostaglandin endoperoxide) could be transferred between cells and subsequently metabolized to prostacyclin by aspirin-treated endothelial cells.

In 1984, Fitzpatrick and coll. identified LTA<sub>4</sub>-hydrolase activity in erythrocytes, that lack 5-LOX [8] and hypothesized that distinct cells could perform the different biosynthetic steps leading to bioactive LTs: the unstable metabolic intermediate LTA<sub>4</sub> could be generated by a donor cell possessing 5-LOX and transferred to vicinal cells (i.e. acceptor cells) possessing LTA<sub>4</sub>-hydrolase. Presence of LTA<sub>4</sub>-hydrolase activity (but not 5-LOX) was identified in lymphocytes [9], epithelial cells [10] and keratinocytes [11]. McGee and Fitzpatrick [12] subsequently reported an increased production of leukotriene B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) upon ionophore stimulation of neutrophils in the presence of red blood cells, as compared to neutrophils alone, accompanied by a decreased formation of non enzymatic breakdown products of LTA<sub>4</sub>. This was consistent with the metabolism of LTA<sub>4</sub> (released from neutrophils) into LTB<sub>4</sub> by vicinal acceptor erythrocytes.

Thus, the *in vitro* transcellular biosynthesis of LT illustrates the importance of the cellular environment (i.e. cell-cell interaction and cooperation) in controlling the production of eicosanoids.

## Formation of cys-LT by transcellular biosynthesis

The generation of LTC<sub>4</sub> was subsequently reported in cells devoid of 5-LOX (i.e. human platelets [13], endothelial cells [14], smooth muscle cells [15], and epidermis [16]), following addition of synthetic LTA<sub>4</sub>. Increased synthesis of LTC<sub>4</sub> was observed upon activation of neutrophils in presence of platelets [17], endothelial cells [14], mast cells [18] and vascular smooth muscle cells [15]. Experiments using [<sup>35</sup>S]-Cysteine to label the glutathione of the acceptor cell (platelet or endothelial cell), resulted in the production of labeled LTC<sub>4</sub>, demonstrating transfer of substrate between the two cells.

Recently, molecular cloning and expression of LTC<sub>4</sub>-synthase [19] as well as different glutathione S-transferases identified a new enzyme sharing substrate specificity with both LTC<sub>4</sub>-synthase and glutathione S-transferases and defined as GST-II [20]. This enzyme has been characterized by its ability to synthesize LTC<sub>4</sub> and LTC<sub>4</sub> synthase activity in endothelial cells appeared to be due to GST-II enzyme activity rather than to LTC<sub>4</sub>-synthase.

Extra-cellular release of the unstable intermediate LTA<sub>4</sub> is a key step of transcellular metabolism; this aspect has recently been re-evaluated in detail and found that in bovine or human neutrophils LTA<sub>4</sub> and not LTB<sub>4</sub>, is the main 5-lipoxygenase metabolite released from these cells [21, 22]. In addition, the use of a receptor-mediated agonist of the neutrophils, such as the formyl peptide fMLP, enhanced the production of LTB<sub>4</sub> in neutrophil/red blood cells as compared to neutrophils alone [12]. Similarly, neutrophils stimulated with opsonized zymosan/formyl peptide, in the absence or presence of platelets, generated LTC<sub>4</sub> only in the latter conditions albeit 100 fold lower when compared to the calcium ionophore [23]. These experiments suggest that even at low level of neutrophil stimulation, LTA<sub>4</sub> is released in the external medium for transcellular metabolism; only a fraction synthesized by the neutrophil is converted by the intracellular hydrolase.

## TRANSCELLULAR BIOSYNTHESIS OF CYS-LT IN ISOLATED ORGAN PREPARATIONS

The study of transcellular biosynthesis of cys-LT in isolated organs constitutes a first approach in assessing the functional consequences of this metabolism.

### **Heart**

Cys-LT possess potent cardiovascular effects: they can constrict small and large vessels, affect cardiac and coronary functions, the microcirculation and reproduce manifestations of ischemia/reperfusion injury [24-25]. Perfusion of rabbit heart Langendorff preparations with a relatively low concentration of neutrophils ( $10^5$  cells/ml), and activation with the calcium ionophore A23187 (0.5 mM, 30 min) or fMLP, resulted in the production of significant amounts of cys-LT [26-28], confirmed by UV absorbance-spectral analysis of RP-HPLC peaks. Neutrophils alone could not be responsible for the observed amount of cys-LT in the perfusate (isolated PMNL, produce small amounts of LTC<sub>4</sub>, possibly because of minor platelet contamination or the presence of a limited number of eosinophils [17]); challenge with A23187 of perfused hearts in absence of human PMNL resulted in low amounts of cys-LT, and even undetectable with fMLP and inhibition of PMNL 5-LO using MK886, a slowly reversible inhibitor of LT biosynthesis, suppressed the formation of cys-LT. Thus, intact PMNL 5-LO activity is a prerequisite for the observed formation of cys-LT.

### **Transcellular biosynthesis of cys-LT and cardiac function**

In the isolated heart, production of cys-LT was accompanied by progressive increase of coronary perfusion pressure (CPP) [26], perivascular oedema and vasoconstriction [27].

Suppression of either the synthesis or the activity of cys-LT, using synthesis inhibitors as well as LTD<sub>4</sub> receptor antagonists resulted in significant inhibition of functional changes [26-28]. Similarly, morphological changes were also prevented through LTD<sub>4</sub>-receptor antagonism and LT synthesis inhibition, pointing out to the key role of cys-LT in the overall cardiac derangement observed.

Bolus injections of 100 mg nitroprusside, reduced up to 60% the increase in CPP evoked by neutrophil activation, showing a substantial cys-LT-dependent vasoconstriction contributing to the increase in CPP. The penetration of neutrophils in the tissue after extravasation and the formation of evident oedema pouches around the microvasculature could account for the nitroprusside-resistant increase in CPP.

### **Importance of neutrophil adhesion events**

Adhesive reactions between blood and vascular wall cells, mediated by the selectins [29] or the integrins [30], are likely to play an active role for "anchoring" circulating cells. Thus more efficient transfer of reactive substrate can occur between adjacent cells

rather than via the extracellular matrix or fluid phase. This step is obviously critical for the transfer of an unstable intermediate from blood cells to vascular cells, thus leading to a very efficient uptake of LTA<sub>4</sub> by acceptor cells (endothelial or smooth muscle). Brady & Serhan [31] reported that monoclonal antibodies directed against CD11/CD18 integrins and L-selectin suppressed LTC<sub>4</sub> generated during interactions of PMNL and glomerular endothelial cells. We have confirmed the importance of adhesion in promoting cys-LT formation, originating from PMNL-endothelial cell cooperation, in a neutrophil-perfused isolated rabbit heart. Indeed, pretreatment of PMNLs with a monoclonal anti-CD18 antibody prevents transcellular biosynthesis of cys-LT and protects against leukotriene-dependent increase in coronary vascular resistance and myocardial stiffness (unpublished).

These result suggests that interactions between PMNL-endothelial cells, via cell-surface adhesion molecules promote cys-LT biosynthesis. Furthermore, the stabilization of the unstable LTA<sub>4</sub> by membrane-like liposomes favors the hypothesis that tight cell membrane proximity facilitates the exchange of substrate [32].

### **Pharmacological manipulation of transcellular biosynthesis of cys-LT**

Limitation of PMNL activation but also of adhesion may impair cys-LT biosynthesis and reduce functional modification at the organ level.

Prostacyclin (PGI<sub>2</sub>) is a potent mediator which modulates vessel tone and attenuates neutrophil activation and migration, with a cAMP-dependent mechanism [33-34]. Pretreatment of the isolated rabbit heart with the prostacyclin analog iloprost (3 nM), resulted in a marked cardioprotective effect [35], associated with a significant suppression of cys-LT production in spite of the lack of direct effect on 5-LOX metabolism in isolated PMNL.

Nitric oxide (NO), [36], is a powerful bioactive autacoid with a complex pharmacological profile, that includes reduction of platelet adhesion to endothelial cell in vitro and inhibition of PMN activation [37] and adhesion [38-39]. Pretreatment of isolated rabbit heart with the NO-synthase inhibitor L-NMMA (10  $\mu$ M) increases "per se" basal coronary tone. Under these conditions, perfusion and challenge of PMNL caused a very rapid adhesion of PMNL associated with the synthesis of large amounts of cys-LT and a dramatic increase in coronary perfusion pressure [40]. Restoration of NO synthesis with L-Arginine pretreatment (100  $\mu$ M), significantly decreased the adhesion of perfused activated PMNL, associated with a significant reduction of cys-LT production as well as in changes in coronary tone, supporting the importance

of PMNL-EC adhesion in transcellular synthesis of cys-LT [40].

## CONCLUSION

The data collected so far provide clear examples that production of LT by mixed cell populations differs from that predicted from each individual cell, both quantitatively and qualitatively. In vivo, activation of neutrophils occurs in a multicellular environment, that may likely result in the production of bronchoconstricting and vasoactive cys-LT in addition to the chemotactic factor LTB<sub>4</sub>. Thus, our understanding of a number of inflammatory processes involving neutrophils and resulting, for example, in changes of vascular permeability should be reappraised in this context. While it is known that cys-LT are able to induce the extravasation of macromolecules through a direct action on the endothelial cell [41-42], neutrophil-dependent oedema formation is very seldom connected to the formation of cys-LT by transcellular metabolism [43].

Taken together these data strongly support the hypothesis of a cooperation between PMNL and cardiac endothelial cells for the production of significant amounts of cys-LT. These results suggest a possible involvement of these mechanisms in the pathogenesis of cardiac ischemic events. Increased urinary LTE<sub>4</sub> excretion has been reported in patients following episodes of myocardial ischemia, providing clinical evidence for the involvement of 5-LOX in the development of ischemic events [44].

## References

1. Shimizu T, Radmark O, Samuelsson B (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81: 689-93
2. Bach MK, Brashler JR, Peck RE, Morton DR, Jr. (1984) J Allergy Clin Immunol 74: 357-7
3. Weller PF, Lee CW, Foster DW, Corey EJ, Austen KF, Lewis RA (1983) Proc Natl Acad Sci USA 80: 7626-30
4. MacGlashan DW, Jr., Schleimer RP, Peters SP, Schulman ES, Adams GKd, Newball HH, Lichtenstein LM (1982) J Clin Invest 70: 747-51
5. Orning L, Hammarstrom S, Samuelsson B (1980) Proc Natl Acad Sci USA 77: 2014-7
6. Bunting 5, Gryglewski R, Moncada S, Vane JR (1976) Prostaglandins 12: 897-913
7. Marcus AJ, Weksler BB, Jaffe EA, Broekman MJ (1980) J Clin Invest 66: 979-86
8. Fitzpatrick F, Liggett W, McGee J, Bunting 5, Morton D, Samuelsson B (1984) J Biol Chem 259: 11403-7
9. Odlander B, Claesson HE (1988) Acta Endocrinol 117:463-9
10. Bigby TD, Lee DM, Meslier N, Gruenert DC (1989) Biochem Biophys Res Commun 164: 1-7
11. Iversen L, Fogh K, Ziboh VA, Kristensen P, Schmedes A, Kragballe K (1993) J Invest Dermatol 100: 293-8
12. McGee JE, Fitzpatrick FA (1986) Proc Natl Acad Sci USA 83: 1349-53
13. Pace-Asciak CR, Klein J, Spielberg SP (1986) Biochim Biophys Acta 877: 68-74
14. Feinmark SJ, Cannon PJ (1986) J Biol Chem 261: 16466-72
15. Feinmark SJ, Cannon PJ (1987) Biochim Biophys Acta 922: 125-35
16. Iversen L, Kristensen P, Gron B, Ziboh VA, Kragballe K (1994) Arch Dermatol Res 286: 261 -6
17. Maclouf JA, Murphy RC (1988) J Biol Chem 263: 174-81
18. Dahinden CA, Wirthmueller U (1990) Methods Enzymol 187: 567-77
19. Lam BK, Penrose JF, Freeman GJ, Austen KF (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91: 7663-7
20. Jakobsson PJ, Mancini JA, Ford-Hutchinson AW (1996) J Biol Chem 271: 22203-10
21. Sala A, Bolla M, Zarini S, Muller-Peddinghaus R, Folco G (1996) J Biol Chem 271: 17944-8
22. Sala A, Testa T, Folco G (1996) FEBS Lett 388: 94-8
23. Maclouf J, Murphy RC, Henson PM (1989) Blood 74: 703-7
24. Roth DM, Lefer AM (1983) Prostaglandins 26: 573-81
25. Piper PJ, Stanton AW, Yaacob HB, Antoniw J (1988) Biochem Soc Trans 16: 482-3
26. Sala A, Rossoni G, Buccellati C, Berti F, Folco G, Maclouf J (1993) Br J Pharmacol 110: 1206-12
27. Sala A, Aliev GM, Rossoni G, Berti F, Buccellati C, Burnstock G, Folco G, Maclouf J (1996) Blood 87: 1824-32
28. Rossoni G, Sala A, Berti F, Testa T, Buccellati C, Molta C,
29. Muller Peddinghaus R, Maclouf J, Folco GC (1996) J Pharmacol Exp Ther 276: 335-41
30. Abbassi O, Kishimoto TK, McIntire LV, Anderson DC, Smith CW (1993) J Clin Invest 92: 2719-30
31. Gahmberg CG (1997) Curr Opinion Cell Biol 9: 643-50
32. Brady HR, Serhan CN (1992) Biochem Biophys Res Commun 186: 1307-14
33. Fiore S, Serhan CN (1989) Biochem Biophys Res Commun 159: 477-81
34. Zimmerman GA, Wiseman GA, Hill HR (1985) J Immunol 134: 1866-74
35. Riva CM, Morganroth ML, Ljungman AG, Schoeneich SO, Marks RM, Todd RFd, Ward PA, Boxer LA (1990) Am J Respir Cell Mol Biol 3: 301-9
36. Rossoni G, Sala A, Buccellati C, Maclouf J, Folco GC, Berti F (1996) J Cardiovasc Pharmacol 27: 680-5
37. Moncada S, Higgs EA, Palmer RM (1988) Biochem Soc Trans 16: 484-6
38. Lefer AM (1997) Circulation 95: 553-4
39. Gaboury J, Woodman RC, Granger DN, Reinhardt P, Kubes P (1993) Am J Physiol 265: H862-7
40. Kubes P, Suzuki M, Granger DN (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88: 4651-5
41. Buccellati C, Rossoni G, Bonazzi A, Berti F, Maclouf J, Folco G, Sala A (1997) Br J Pharmacol 120: 1128-34
42. Dahlen SE, Bjork J, Hedqvist P, Arfors KE, Hammarstrom S, Lindgren JA, Samuelsson B (1981) Proc Natl Acad Sci USA 78: 3887-91
43. Joris I, Majno G, Corey EJ, Lewis RA (1987) Am J Pathol 126: 19-24
44. Guidot DM, Repine MJ, Westcott JY, Repine JE (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91: 8156-9
45. Carry M, Korley V, Willerson JT, Weigelt L, Ford-Hutchinson AW, Tagari P (1992) Circulation 85: 230-6

# PROSTAGLANDİNLERİN ANTİİNFLAMATUVAR ETKİLERİ

Prof. Dr. Mehmet Melli

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı,  
Sıhhiye 06100, Ankara

Thomas Lewis, histaminin klasik olarak "üçlü cevap" olarak bilinen etkisini 1927 yılında yayımlamıştır (Lewis, T., 1927). Bu reaksiyonda, cilde kuvvetli, künt bir travma uygulanırsa, 3 olayın olduğu gözlenmektedir.

1. Künt travmaya maruz kalan bölgede saniyeler içinde oluşan kızarıklık,
2. 15-30 saniye içinde gelişen ve künt travmanın yapıldığı bölgenin birkaç santimetre çevresinde yayılan kırmızılık,
3. 2-3 dakika içinde vasküler permeabilitet artışına bağlı olarak oluşan lokal ödem

Lewis, dokunun künt travmaya maruz kalmasıyla açığa çıkan histaminin, doğrudan doğruya lokal kan damarlarına etki ederek travma bölgesinde kırmızılık ve şişliğe neden olduğunu ileri sürmüştür. Travma bölgesinin çevresindeki yaygın kırmızılığa ise, akson refleksi neden olmaktadır.

Bu çalışmanın en önemli yönü, sadece üçlü cevapta histaminin rolünü göstermesi değil, aynı zamanda inflamasyonda mediatör çağını başlatmasıdır. Thomas Lewis'den önce inflamasyon, başta Rudolf Virchow, Julius Cohnheim ve Elie Metchnikoff olmak üzere diğer araştırmacıların öncü çalışmalarıyla hücrelerle açıklanmaya çalışıyordu. Histamin, inflamasyonda rol oynadığı gösterilen ilk mediatörlerden biri olmasına karşın, bu olayda çok sayıda mediatörün katkısının olduğu gösterilmiştir.

## PROSTAGLANDİNLERİN PROİNFLAMATUVAR ETKİLERİ

Arakidonik asitten sıklooksijenaz enzimi aracılığıyla oluşan prostaglandinler (PG'ler), çeşitli proinflamatuvar etkiler oluşturmaktadır. PG'lerin akut inflamasyonun 4 kardinal belirtisini oluşturdukları iyi bilinmektedir. E serisi PG'lerin serebral ventriküllere direkt injeksiyonu ateş neden olmaktadır (Milton, A.S., Wendlandt, S., 1970; Feldberg, W., Saxena, P.N., 1971). PG'ler insanda infüze edildiği zaman ven boyunca ağrıya neden olmaktadır (Collier, J.G., ve ark., 1972). Yüksek dozda PG verilmesiyle ağrı oluşmasına karşılık, düşük doz PG verilmesi hiperaljeziye neden olmaktadır (Ferreira, S.H., 1972). E serisi prostaglandinler eritem oluşturmaktadır (Solomon, L.M., ve ark., 1968). PG'lerin ödem oluşumundaki etkileri daha karışiktır. Tek başlarına vasküler permeabiliteti artırmamalarına rağmen, histamin ve bradikinin gibi vasküler permeabiliteti artıran mediatörlerle sinerjistik etkileşim göstermeye ve ödem oluşumuna neden olmaktadır (Williams, T.J., 1979). Ayrıca çeşitli deneysel infla-

masyon modellerinde (Willis, A.L., 1969; Blackham, A., ve ark., 1974; Chang, W.C., ve ark., 1977) ve klinike çeşitli inflamatuvar hastalıklar esnasında (Swinson, D.R., ve ark., 1976; Patrona, C., ve ark., 1976) prostaglandinlerin düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Bunun ötesinde inflamatuvar hastalıklarda faydalı etkisi olduğu bilinen nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların (NSAİİ) prostaglandin sentezini inhibe ettiği, 1971 yılında Sir John Vane tarafından gösterilmiştir (Vane, J.R., 1971). Prostaglandinler; yukarıda bahsedilen özellikleri nedeniyle inflamasyonun mediatörü olarak kabul edilmektedirler.

## PROSTAGLANDİNLERİN ANTİİNFLAMATUVAR ETKİLERİ

Sir John Vane'in NSAİİ'lerin PG sentezini inhibe ettiğini gösterdiği klasik deneyinden 2 yıl önce, 1969 yılında, PGE<sub>2</sub>'nin romatoid artritin deneyel modeli olarak kabul edilen adjuvan artritte faydalı etkisi olduğu bildirilmiştir (Aspinall, R.L., Cammarata, P.S., 1969). Bu, prostaglandinlerin antiinflamatuvar etkilerini gösteren ilk çalışma olmasına karşılık, çeşitli çalışma grupları tarafından akut (Tate, G., ve ark., 1988), kronik (Kunkel, S.L., et al., 1981) ve immunolojik orjinli (Zurier, R.B. ve ark., 1977; McLeish, K.R., ve ark., 1985) çeşitli deneyel inflamasyon modellerinde PG'lerin faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. PG'lerin, özellikle kronik ve immunolojik orjinli inflamasyonda faydalı etkilerini açıklayabilecek çeşitli immünonolojik etkileri bulunmaktadır. Fizyolojik konsantrasyonlarda PGE<sub>1</sub> veya PGE<sub>2</sub>, konkanavalin A veya fitohemaglutinin ile uyarılmış periferik kan mononükleer hücre kültüründe ilave edildikleri zaman hücre bölünmesini inhibe etmektedir (Goodwin, J.S., ve ark., 1977). Fitohemaglutinin uyarısıyla bu çalışmada kullanılan konsantrasyonlarda PGE<sub>2</sub>'nin periferik kan mononükleer hücre kültüründe olması (Goodwin, J.S., ve ark., 1977; Goodwin, J.S., ve ark., 1978) ve prostaglandin sentezini inhibe eden indometasasinin, hücre kültüründe ilave edildiği zaman, hücre bölünmesini belirgin olarak artırması (Goodwin, J.S., ve ark., 1978), PG'lerin hücre bölünmesi üzerine olan inhibitör etkilerini daha anlamlı kılmaktadır. Bunun ötesinde fizyolojik konsantrasyonlarda PGE<sub>2</sub>'nin in vitro olarak mitojene cevap verme (Novagrodsky, A., ve ark., 1979), klonal çoğalma (Bockman, R.S., 1979), E-roset oluşumu (Erten, U., ve ark., 1980) ve lenfosit migrasyonu gibi (Van Epps, D., 1981) çeşitli T lenfosit fonksiyonlarını inhibe ettiği gösterilmiştir. PG'lerin, lenfosit fonksiyonlarının ötesinde, serbest radikal oluşumu, fagositoz, kemotaksis gibi çeşitli nötrofil fonksiyonlarını da inhibe ettiği gösterilmiştir (Mikawa, K., ve ark., 1994).

PG'ler klinikte çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Sentetik bir PGE<sub>1</sub> analogu olan misoprostol, NSAİİ'ların oluşturduğu gastrointestinal lezyonların önlenmesinde ve tedavisinde sıkılıkla kullanılmaktadır (Ryan, J.R., ve ark., 1987; Graham, D.Y., ve ark., 1988). Misoprostol'un bu amaçla kullanılması, "yerine koyma" tedavisinin bir tipi olarak kabul edilebilir. Misoprostol'un NSAİİ'lerin kullanımasından sonra gastrointestinal kanalda düzeyleri azalan PG'lerin yerine geçerek faydalı oldukları genel olarak kabul edilmektedir. PG'lerin inflamasyonun mediatoru olarak kabul edilmeleri durumunda, NSAİİ'lerle misoprostolun, klinikte çeşitli antiinflamatuar hastalıklarda kullanıldıkları gibi, birlikte kullanılmaları durumunda misoprostol'un NSAİİ'ler tarafından düzeyi azaltılmış PG'lerin yerine geçerek, NSAİİ'lerin antiinflamatuar etkilerini azaltacağı ileri sürülebilir. Anabilim dalmızda siçanlarda adjuvan artrit modelinde sabit dozda aspirin ile değişik dozlarda misoprostol kombinasyonunun, parametre olarak pençe çevresi ve sekonder lezyon indeksi kullandığı zaman, tek başına aspirine göre daha faydalı etki sağladığını tespit edilmiştir (Taşçılar, Ö., ve ark., 1993).

### **NSAİİ'LERİN İNFLAMASYONDA SIKLOOKSİJENAZ İNHİBİSYONU HARİCİNDEKİ ETKİLERİ**

PG'lerin çalışılan çeşitli modellerde antiinflamatuar etkilerinin olması ve NSAİİ'lerle misoprostol kombinasyonuna sinerjistik etki göstermesi; NSAİİ'lerin antiinflamatuar etkilerinde, siklooksijenaz inhibisyonu haricinde, diğer bazı etkilerinin olabileceği düşünülmektedir. NSAİİ'lerin çeşitli nötrofil fonksiyonlarını inhibe etkileri bilinmemektedir. Çalışılan çeşitli NSAİİ'lerin süperoksit oluşumu, agregasyon, lizozim salınımı ve cAMP oluşumu gibi inflamasyonda önemli olabilecek parametreleri inhibe ettiği gösterilmiştir (Abramson, S., ve ark., 1984; Abramson, S., ve ark., 1985; Kitsis, E.A., ve ark., 1991). Daha önce deyinildiği gibi, PG'ler de çeşitli nötrofil fonksiyonlarını inhibe etmekte (Mikawa, K., ve ark., 1994) ve siçan adjuvan artrit modelinde olduğu gibi NSAİİ'lerle PG'lerin kombinasyonu, nötrofil fonksiyonları üzerinde sinerjistik etkileşme göstermektedir (Abramson, S., ve ark., 1984; Kitsis, E.A., ve ark., 1991). 12 NSAİİ'nin nötrofil "respiratory burst" üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, bu ilaçların hepsinin siklooksijenaz enzimini inhibe etmesine rağmen, söz konusu parametreyi bazı NSAİİ'lerin azalttığı, bazlarının etkilemediği, çoğunun ise arttırdığı bulunmuştur (Twomey, B.M., 1992). NSAİİ'lerin sitostatik etkisinde de, PG'lerin rolü olmadığı bildirilmiştir (De Mello, M.C.F., ve ark., 1980).

### **PROSTAGLANDİNLERİN MEDIATÖR SALINIMI ÜZERİNE İNHİBİTÖR ETKİSİ**

PG'lerin inflamasyonla ilgili değişik etkilerinin ötesinde, mediatör salınımı üzerine baskılacak etkisi bulunmaktadır. Hamster yanak kesesinde oluşturulan akut alerjik inflamasyon modelinde indometasının histamin salınımını artırdığı ve ekzojen olarak uygulanan PGE<sub>2</sub>'nin histamin salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Raud, J., ve ark., 1988). Bir başka

çalışmadada, insan bronşyal biyopsi örneklerinde PGE<sub>2</sub>'nin peptidolökotrienlerin ve tromboksan B<sub>2</sub> salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Schafer, D., ve ark., 1996). E serisi PG'lerin mediatör salınımını artırdığını gösteren ilk çalışmaların birisi, nötrofillerde yapılmış ve gerek PGE<sub>1</sub> ve gerekse PGE<sub>2</sub>'nin insan ve sıçan nötrofillerde lökotrien B<sub>4</sub> salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Ham, E.A., ve ark., 1983). Anabilim dalmızda yürütülen bir çalışmada, sıçan karagenin hava kesesi inflamasyon modelinde ekzojen olarak uygulanan misoprostol'un eksudada tromboksan B<sub>2</sub> oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Sayar, K., Melli, M., 1999).

NSAİİ'lerin PG'lerin mediatör salınımı üzerindeki inhibitör etkisini önlüyor, mediatör salınımında artış neden olması beklenir. Çeşitli çalışmalarla NSAİİ kullanımından sonra özellikle lökotrienlerin salınımında artış olduğu bildirilmiştir (Robinson, D.R., ve ark., 1986; Sayar, K., Melli, M., 1999). Yalnız sıçan karagenin hava kesesi inflamasyon modelinde ekzojen olarak uygulanan misoprostol, eksudada lökotrien B<sub>4</sub> oluşumunu değiştirmezken, indometasin eksuda lökotrien B<sub>4</sub> oluşumunda belirgin artışa neden olmuştur (Sayar, K., Melli, M., 1999).

NSAİİ kullanımından sonra lökotrien düzeylerinin arttığı bilinen bir klinik durum, aspirinle oluşan astmadır. Söz konusu klinik tablo, literatüre aspirinle oluşan astma olarak geçmiş olsa da, sadece aspirinle değil, siklooksijenaz enzimini inhibe eden tüm NSAİİ'ler tarafından oluşturulmaktadır (Szczeklik, A., 1989). Söz konusu sendromu açıklamaya yönelik çeşitli hipotezler olmasına karşılık (Szczeklik, A., 1988; Sladek, K., Szczeklik, A., 1993), bu hipotezlerin hepsinde siklooksijenaz inhibisyonu önemli rol oynamaktadır. Aspirinle oluşan astması olan hastalarda aspirin ve diğer NSAİİ'lerle siklooksijenazın inhibisyonundan sonra, her ne kadar mekanizması açık olmasa da, sistemik lökotrien aktivitesinin göstergesi olarak idrar da lökotrien E<sub>4</sub>'ün (Christie, P.E., ve ark., 1991; Knapp, H.R., ve ark., 1992) ve aspirin uygulamasından sonra lokal olarak nazal lavaj sıvısında lökotrien B<sub>4</sub> ve peptid lökotrienlerin (Picado, C., ve ark., 1992) arttığı gösterilmiştir. Peptid lökotrienler bronkokonstriksiyon (Drazen, J.M., ve ark., 1980), bronşyal reaktivitede (Lee, T.H., ve ark., 1987) ve mukus salgısında artış gibi (Marom, L., ve ark., 1982) astmanın semptomlarını taklit etmektedirler.

PGE<sub>2</sub> inhalasyonunun aspirinle oluşan astma tedavisinde, zorlu ekspirasyon volümünü artırdığı ve idrarla LTE<sub>4</sub> itrahını önlediği bildirilmiştir (Sestini, P., ve ark., 1996). Söz konusu faydalı etki, alerjenle oluşan astmada da bildirilmiştir (Pavord, I.D., ve ark., 1993). Anabilim dalmızda yürütülen bir çalışmada, aspirinle oluşan astmali hastaların periferik kan lökositlerinin *in vitro* olarak aspirin ile uyarılmasından sonra basale göre daha fazla peptid lökotrien salınımına neden olduğu gösterilmiştir. Bu artış, alerjik astmali hastalarda ve kontrol grubunda bulunmamıştır. PGE<sub>2</sub> *in vitro* aspirin inkubasyonuyla olan peptid lökotrien salınımını konsantrasyon bağımlı olarak inhibe etmektedir (Çelik, G., 1999). Bu bulgular, PGE<sub>2</sub> inhalasyonunun astmada

faydalı etkisinin peptid lökotrienlerin salınımını inhibe ederek olabileceğini düşündürmektedir.

## **PROSTAGLANDİNLERİN İNFLAMASYONUN MEDİATÖRÜ OLМАDIĞI KONUSUNDAKI BULGULAR**

PG'lerin inflamasyonun mediatörü olmadığı yönünde kuvvetli bir kanıt, esansiyel yağ asitinden yoksun diyetle beslenen sincanlarda oluşturulan inflamasyon modellerinden elde edilmiştir. Dişi sincanların hamileliğinden başlayarak süt verme dönemini de kapsayacak şekilde uzun süre ve yavru sincanlarında beslenmeye başlandıktan sonra prostaglandinlerin prekürsörleri olan bis-homo- $\gamma$ -linoleik asit ve arakidonik asitten yoksun diyetle beslenmeleri; bu hayvanların membran fosfolipidlerine sözkonusu yağ asitlerinin yerine, siklooksijenaz enzimine substrat teşkil etmeyen 5-8-11-eikosatrienoik asitin geçmesine neden olmaktadır (Ziboh, V.A., ve ark., 1974). Esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan hayvanların plateletlerinin kontrollere göre çok daha az PG-endoperoksitlerin, tromboksan A<sub>2</sub>'nin ve E serisi PG'lerin salınımına neden olduğu (Bult, H., Bonta, I.L., 1976), ayrıca bu hayvanlardan elde edilen eksudada PGE düzeylerinin çok düşük olduğu bulunmuştur (Bonta, I.L., ve ark., 1977). Esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan bu hayvanlarda çeşitli deneysel inflamasyon modellerini oluşturmak mümkün olmuştur. Karagenin pençe ödeminin şiddeti, esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan hayvanlarda, kontrol grubuna göre daha düşük olmuş, siklooksijenaz inhibitörü aspirin her iki grupta aynı etkinlikte pençe ödemini önlemiştir (Bonta, I.L., ve ark., 1976). Buna karşın iki kronik deneysel inflamasyon modelinde, esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan hayvanlar kontrol grubuya karşılaştırıldığında, daha az eksüdasyon ve daha fazla hücre proliferasyonuoluştugu saptanmıştır (Bonta, I.L., ve ark., 1977).

PG'lerin eksüdasyonla karakterize akut inflamasyonda proinflamatuvardır, proliferasyonla karakterize kronik inflamasyonda antiinflamatuvardır etkilerinin olduğu gözönüne alınırsa, esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan hayvanlardan elde edilen sözkonusu bulgular çelişkili gözükmemektedir. Yalnız PG düzeyinin, kontrollerle karşılaştırıldığında çok düşük bulunduğu bu grup hayvanlarda inflamatuvardır cevapın sadece şiddetinin değişmesi, PG'lerin inflamasyonda mediatör değil, modülatör rolü oynadıklarını düşündürmektedir. Ayrıca aspirinin gerek kontrol grubunda ve gerekse pratik olarak PG oluşumunun sözkonusu olmadığı esansiyel yağ asiti yetmezliğine sokulan hayvanlarda benzer şekilde etki oluşturulması, aspirinin etkisinde siklooksijenaz inhibisyonu haricinde bazı etkilerinin önemli olabileceğini düşündürmektedir.

İnflamasyonda PG'lerin katkısını değerlendirmek için siklooksijenaz-2 gen çıkarılması (deletion) yapılan sincanlarda, pençeye karagenin injeksiyonundan 1 hafta sonra pençe volümünün ve kalınlığının arttığı bildirilmiştir (Wallace, J.L., ve ark., 1998). İnflamasyonun mediatörü olarak kabul edilen endojen bir maddenin etkinliğinin "gen çıkarılması" yoluyla önlenmesinin, inflamatuvardır cevabı artırması hayli ilginçtir. Bu bulgu, siklooksijenaz-2 enzimi aracılığıyla

oluşan PG'lerin normal hayvanlarda inflamatuvardır cevabı sınırladığını düşündürmektedir.

## **PROSTAGLANDİNLERİN FİZYOLOJİK "FEEDBACK" ETKİLERİ**

PG'lerin değişik sistemlerde modulasyon yaptıklarına dair çeşitli örnekler bulunmaktadır. Sempatik sinir uyarısı esnasında dalaktan PGE salındığı bildirilmiştir. Salinan PGE'nin sempatik sinir uyarısı sonucu dalaktan noradrenalin salınımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Hedqvist, P., 1970). Bu örnekte PGE, noradrenalin salınımı üzerinde negatif "feedback" etki göstermekte ve sempatik sinir uyarısının noradrenalin salgılatıcı etkisini frenleyerek, noradrenalin salınımına bağlı dokudaki olası olumsuz etkileri önlemektedir. Buna benzer bir modulasyon böbreklerde de gösterilmiştir. Vasopressin, distal nefrondan PGE<sub>2</sub> salınımına neden olmaktadır. Salinan PGE<sub>2</sub>'nin toplayıcı kanallarda suya karşı permeabiliteyi azaltarak vasopressinin etkinliğini azalttığı bildirilmiştir (Lum, G.M. ve ark., 1977).

PG'lerin modulatör etkileri, immunoinflamatuvardır olaylarda da gösterilmiştir. Fareiere koyun eritrositerinin injeksiyonunun, dalakta PG'lerin oluşumunda 80 kat artışa neden olduğu bildirilmiştir. Antijen uygulanmasından önce PG sentez inhibitörü verilmesi; antijen uyarımı bağlı PG oluşumunu önlemiş ve plak yapan dalak hücresi sayısını anlamlı olarak arttırmıştır (Webb, D.R., Osherooff, P.L., 1976). Bu örnekte antijen uyarımı, negatif "feedback" kontrol mekanizması olarak PG salınımına yol açmış, salinan PG antijen uyarımı bağlı olarak plak yapıcı hücre sayısında azalmaya neden olmuştur. Benzer fizyolojik "feedback" mekanizmalarını çeşitli T lenfosit fonksiyonlarında da görmek mümkün olmaktadır (Goodwin, J.S., ve ark., 1977).

## **SONUÇ**

Bu bulguların ışığı altında PG'leri, inflamasyonun mediatörü olmaktan çok modulatör olarak kabul etmek daha doğru olacaktır. Suprafizyolojik, yüksek dozlarda PG'ler antiinflamatuvardır etkiler oluşturabilmektedirler. Benzer şekilde, siklooksijenaz enzimini inhibe etkileri dolayısıyla PG sentezini önledikleri dozların üzerinde NSAİ'ler, olasılıkla siklooksijenaz inhibisyonu haricindeki etkileri nedeniyle antiinflamatuvardır etkiler oluşturmaktadır. Mamaif, organizmanın normal homeostazis mekanizmaları içinde PG'ler, diğer çeşitli sistemlerde olduğu üzere, immunoinflamatuvardır olaylarda da fizyolojik modulatör rol oynamaktadırlar.

## **KAYNAKLAR**

1. Abramson, S., Edelson, H., Kaplan, H., Ludewig, R., Weissmann, G. (1984) Inhibition of neutrophil activation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Am. J. Med., 77(suppl 4B): 3-6.
2. Abramson, S., Korchak, H., Ludewig, R., Edelson, H., Haines, K., Levin, R.I., Herman, R., Rider, L., Kimmel, S., Weissmann, G. (1985) Modes of action of aspirin-like drugs, PNAS, 82: 7227-7231.
3. Aspinall, R.L., Cammarata, P.S. (1969) Effect of prostaglandin E<sub>2</sub> on adjuvant arthritis, Nature, 224: 1320-1321.

4. Blackham, A., Farmer, J.B., Radziwonik, H., Westwick, J. (1974) The role of prostaglandins in rabbit monoarticular arthritis, *Br. J. Pharmacol.*, 51: 35-44.
5. Bockman, R.S. (1979) PGE inhibition of T-lymphocyte colony formation, *J. Clin. Invest.*, 64: 812-821.
6. Bonta, I.L., Bult, H., Vincent, J.E., Zijlstra, F.J. (1976) Acute anti-inflammatory effects of aspirin and dexamethasone in rats deprived of endogenous prostaglandin precursors, *J. Pharm. Pharmacol.*, 29: 1-7.
7. Bonta, I.L., Parmham, M.J., Adolfs, M.J.P. (1977) Reduced exudation and increased tissue proliferation during chronic inflammation in rats deprived of endogenous prostaglandin precursors, *Prostaglandins*, 14: 295-307.
8. Bult, H., Bonta, I.L. (1976) Rat platelets aggregate in the absence of endogenous precursors of prostaglandin endoperoxides, *Nature*, 264: 449-451.
9. Chang, W.C., Murota, S.I., Tsurufuji, S. (1977) Thromboxane B<sub>2</sub> transformed from arachidonic acid in carragenin-induced granuloma, *Prostaglandins*, 13: 17-24.
10. Christie, P.E., Tagari, P., Ford-Hutchinson, A.W., Charlesson, S., Chee, P., Arm, J.P., Lee, T.H. (1991) Urinary leukotriene E<sub>4</sub> concentrations increase after aspirin challenge in aspirin-sensitive asthmatic subjects, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 143: 1025-1029.
11. Collier, J.G., Karim, S.M.M., Robinson, B. (1972) Action of prostaglandins A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> and F<sub>2α</sub> on superficial hand veins of men, *Br. J. Pharmacol.*, 44: 374P-375P.
12. Çelik, G. (1999) Aspirin duyarlı astmali olgularda in vitro aspirin stimülasyonu ile sistenil lökotrienlerin salınımı ve PGE<sub>2</sub>'nin periferik kan lökositlerinden lökotrien salınımına etkisi, Allerjik Hastalıklar Uzmanlık Tezi, Ankara Üniversitesi Tip Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı, Allerjik Hastalıklar Bilim Dalı.
13. De Mello, M.C.F., Bayer, B.M., Beaven, M.A. (1980) Evidence that prostaglandins do not have a role in the cytostatic action of anti-inflammatory drugs, *Biochem. Pharmacol.*, 29: 311-318.
14. Drazen, J.M., Austen, K.F., Lewis, R.A., Clark, D.A., Goto, G., Marfat, A., Corey, E.J. (1980) Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C-1 and D in vivo and in vitro, *PNAS*, 77: 4354-4358.
15. Erten, U., Emre, T., Çavdar, A.O., Türker, R.K. (1980) An in vitro study on the effect of prostaglandin E<sub>2</sub> and F<sub>2α</sub> on E-rosette forming activity on normal lymphocytes, *Prostagland Med.*, 5: 255-261.
16. Feldberg, W., Saxena, P.N. (1971) Fever produced by prostaglandin E<sub>1</sub>, *J. Physiol. (Lond.)*, 217: 547-555.
17. Ferreira, S.H. (1972) Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia, *Nature*, 240: 200-203.
18. Goodwin, J.S., Bankhurst, A.D., Messner, R.P. (1977) Suppression of human T-cell mitogenesis by prostaglandin, *J. Exp. Med.*, 146: 1719-1734.
19. Goodwin, J.S., Messner, R.P., Peake, G.T. (1978) Prostaglandin suppression of mitogen-stimulated lymphocytes in vitro, *J. Clin. Invest.*, 62: 753-760.
20. Graham, D.Y., Agrawal, N.M., Roth, S.H. (1988) Prevention of NSAID-induced gastric ulcer with misoprostol: Multicentre, double-blind, placebo-controlled trial, *Lancet*, I: 1277-1280.
21. Ham, E.A., Soderman, D.D., Zanetti, M.E., Dougherty, H.W., McCauley, E., Kuehl, Jr., F.A. (1983) Inhibition by prostaglandins of leukotriene B<sub>4</sub> release from activated neutrophils, *PNAS*, 80: 4339-4353.
22. Hedqvist, P. (1970) Studies on the effects of prostaglandins E<sub>1</sub> and E<sub>2</sub> on the sympathetic neuromuscular transmission in some animal tissues, *Acta Physiol. Scand.*, (suppl. 79) 345: 1-40.
23. Kitsis, E.A., Weissmann, G., Abramson, S.B. (1991) The prostaglandin paradox: Additive inhibition of neutrophil function by aspirin-like drugs and the prostaglandin E<sub>1</sub> analog misoprostol, *J. Rheumatol.*, 18: 1461-1465.
24. Knapp, H.R., Sladek, K., Fitzgerald, G.A. (1992) Increased excretion of leukotriene E<sub>4</sub> during aspirin-induced asthma, *J. Lab. Clin. Med.*, 119: 48-51.
25. Kunkel, S.L., Ogawa, H., Conran, P.G., Ward, P.A., Zurier, R.B. (1981) Suppression of acute and chronic inflammation by orally administered prostaglandins, *Arthritis Rheum.*, 13: 1151-1158.
26. Lee, T.H., Arm, J.P., Spur, B.W. (1987) Leukotriene E<sub>4</sub> (LTE<sub>4</sub>) enhances airways histamine responsiveness in asthmatic subjects, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 79: 256.
27. Lewis, T. (1927) Blood vessels of the human skin and their responses, Shaw and Sons, London.
28. Lum, G.M., Aisenbrey, G.A., Dunn, J.M., Berl, R.W., Schrier, R.W., McDonald, K.M. (1977) In vivo effect of indomethacin to potentiate the renal medullary cyclic AMP response to vasopressin, *J. Clin. Invest.*, 59: 8-12.
29. Marom, L., Shelhamer, J.H., Bach, M.K., Morton, D.R., Kaliner, M. (1982) Slow-reacting substances, leukotrienes C<sub>4</sub> and D<sub>4</sub> increase the release of mucus from human airways in vitro, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 126: 449-451.
30. McLeisch, K.R., Stelzer, G.T., Eades, D.S., Cohen, R., Wallace, J.H. (1985) Serial changes in humoral and cellular immunity induced by prostaglandin E<sub>2</sub> treatment of murine immune complex glomerulonephritis, *J. Lab. Clin. Med.*, 106: 517-523.
31. Mikawa, K., Akamatsu, H., Maekawa, N., Nishina, K., Obara, H., Niwa, Y. (1994) Inhibitory effect of prostaglandin E<sub>1</sub> on human neutrophil function, *Prostagland. Leukotrien. Essent. Fatty Acids*, 51: 287-291.
32. Milton, A.S., Wendlandt, S. (1970) A possible role of prostaglandin E<sub>1</sub> as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat, *J. Physiol. (Lond.)*, 207: 76P-77P.
33. Novagrodsky, A., Rubin, A.L., Stenzel, K.H. (1979) Selective suppression by adherent cells, prostaglandin, and cyclic AMP analogue of blastogenesis induced by different mitogens, *J. Immunol.*, 122: 1-8.
34. Patrona, C., Bombardieri, S., Di Muma, O., et al. (1976) Radioimmunoassay measurement of prostaglandins F<sub>1α</sub> and F<sub>2α</sub> in human synovial fluids and superfusates of synovial tissue, In: The role of prostaglandins in inflammation, Bern, Hans Huber, 122-135.
35. Pavord, I.D., Wong, C.S., Williams, J., Tattersfield, A.E. (1993) Effect of inhaled prostaglandin E<sub>2</sub> on allergen-induced asthma, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 148: 87-90.
36. Picado, C., Ramis, I., Rosello, J., Prat, J., Bulbena, O., Plaza, V., Montserrat, J.M., Gelpi, E. (1992) Release of peptide leukotriene into nasal secretions after local instillation of aspirin in aspirin-sensitive asthmatic patients, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 145: 65-69.
37. Raud, J., Dahlen, S-E., Sydbom, A., Lindbom, L., Hedqvist, P. (1988) Enhancement of acute allergic inflammation by indomethacin is reversed by

- prostaglandin E<sub>2</sub>: Apparent correlation with in vivo modulation of mediator release, PNAS, 85: 2315-2319.
38. Robinson, D.R., Skoskiewicz, M., Bloch, K.J., Castorena, G., Hayes, E., Lowenstein, E., Melvin, C., Michelassi, F., Zapol, W.M. (1986) Cyclooxygenase blockade elevates leukotriene E<sub>4</sub> production during acute anaphylaxis in sheep, J. Exp. Med., 163: 1509-1517.
39. Ryan, J.R., Vargas, R., Clay, G.A., McMahon, F.G. (1987) Role of misoprostol in reducing aspirin-induced gastrointestinal blood loss in arthritic patients, Am. J. Med., 83(1A): 41-44.
40. Sayar, K., Melli, M. (1999) Effect of combination of misoprostol and indomethacin on eicosanoid production in carrageenan-induced air pouch inflammation in rats, Eur. J. Pharmacol., 369: 365-371.
41. Schafer, D., Lindenthal, U., Wagner, M., Bölcsei, P.L., Baenkler, H.W. (1996) Effect of prostaglandin E<sub>2</sub> on eicosanoid release by human bronchial biopsy specimens from normal and inflamed mucosa, Thorax, 51: 919-923.
42. Sestini, P., Armetti, L., Gambaro, G., Pieroni, M.G., Refini, R.M., Sala, A., Vaghi, A., Folco, G.C., Bianco, S., Robuschi, M. (1996) Inhaled PGE<sub>2</sub> prevents aspirin-induced bronchoconstriction and urinary LTE<sub>4</sub> excretion in aspirin-sensitive asthma, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 153: 572-575.
43. Sladek, A., Szczeklik, A. (1993) Cysteinyl leukotrienes overproduction and mast cell activation in aspirin-provoked bronchospasm in asthma, Eur. Respir. J., 6: 391-399.
44. Solomon, L.M., Juhlin, L., Kirschaum, M.B. (1968) Prostaglandins in cutaneous vasculature, J. Invest. Dermatol., 51: 280-282.
45. Swinson, D.R., Bennett, A., Hamilton, A.B.D. (1976) Synovial prostaglandins in joint disease, In: The role of prostaglandins in inflammation, Bern, Hans Huber, 41-46.
46. Szczeklik, A. (1988) Aspirin-induced asthma as a viral disease, Clinical Allergy, 18: 15-20.
47. Szczeklik, A. (1989) Aspirin-induced asthma: New insights into pathogenesis and clinical presentation of drug intolerance, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 90: 70-75.
48. Taçcılar, Ö., Saray, A., Dizbay-Sak, S., Melli, M. (1993) Acetylsalicylic acid and misoprostol combination in adjuvant arthritis of rats, Inflammation, 17: 489-498.
49. Tate, G.A., Mandell, B.F., Schumacher, H.R., Zurier, R.B. (1988) Suppression of acute inflammation by 15-methyl prostaglandin E<sub>1</sub>, Lab. Invest., 59: 192-199.
50. Twomey, B.M., Dale, M.M. (1992) Cyclooxygenase-independent effects on nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the neutrophil respiratory burst, Biochem. Pharmacol., 43: 413-418.
51. Van Epps, D. (1981) Suppression of human lymphocyte migration by PGE<sub>2</sub>, Inflammation, 5: 81-87.
52. Vane, J.R. (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs, Nature (New Biol.), 231: 232-235.
53. Wallace, J.L., Bak, A., McKnight, W., Asfaha, S., Sharkey, A., MacNaughton, W.C. (1998) Cyclooxygenase 1 contributes to inflammatory responses in rats and mice: Implications for gastrointestinal toxicity, Gastroenterology, 115: 101-109.
54. Webb, D.R., Osheroff, P.L. (1977) Antigen stimulation of prostaglandin synthesis and control of immune responses, PNAS, 73: 1300-1309.
55. Williams, T.J. (1979) Prostaglandin E<sub>2</sub>, prostaglandin I<sub>2</sub> and the vascular changes of inflammation, Br. J. Pharmacol., 65: 517-524.
56. Willis, A.L. (1969) Release of histamine, kinin and prostaglandins during carragenin induced inflammation in the rat, In: Prostaglandins, Peptides and Amines, London, Academic Press, 31-37.
57. Ziboh, V.A., Vanderhoek, J.Y., Lands, W.E.M. (1974) Inhibition of sheep vesicular gland oxygenase by unsaturated fatty acids from skin of essential fatty acid deficient rats, Prostaglandins, 5: 233-240.
58. Zurier, R.B., Sayadoff, D.M., Torrey, S.B., Rothfield, N.F. (1977) Prostaglandin E<sub>1</sub> treatment of NZB mice, Arthritis Rheum., 20: 723-728.

# GASTROİNTESTİNAL İNFLAMASYONDA ENDOTELİN-1'İN ROLÜ

H. Kurtel, B. K. Oktar, A. Bozkurt, B.Ç. Yeğen, M. A. Gülpınar, D.N. Granger , S. Ghandor

*Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, 81326, Haydarpaşa, İstanbul*

Mukoza mikrosirkülasyonun kontrolü gastrointestinal mukoza devamlılığın ve bütünlüğün korunmasında önemli bir role sahiptir. Bu nedenle endotel hücrelerinden lokal olarak salınan vazoaktif moleküller mikrosirkülasyonun düzenlenmesinde önemli bir işlev görürler. Son yıllarda yapılan çalışmalar endotelin-1 (ET-1)'in gastrointestinal kan akımı ve fonksiyonun düzenlenmesinde fizyolojik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir (1,2). Ayrıca, ET-1'in mikrovasküler hasar ile karakterize çeşitli inflamasyon modellerinin patogenezinde de rol oynadığı çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür. Bu inflamatuar değişiklikler arasında karaciğer iskemi reperfüzyon (I/R) hasarı (3), hemorajik şok ile meydana gelen gastrik mukoza hasar (4), kolit (5), etanol (6) veya indometazin (7) ile induklenen gastrik hasar sayılabilir. Yapılan çalışmalarda ET-1'in patogenezdeki rolünü destekleyen başlıca üç temel bulgudan bahsedilebilir; 1) kan veya dokuda ölçülen ET-1 düzeylerinin çeşitli inflamasyon modellerinde artmış olarak bulunması, 2) ET-1 inhibitörleri veya reseptör antagonistlerinin kulianılmasının inflamatuar hasarın azalmasına neden olması, 3) inflamatuar dokularda ET-1'e karşı meydana gelen reaktivitede bir artma saptanmasıdır. Bu bulgularla ilave olarak bazı araştırmacılar ekzojen olarak verilen ET-1'in gastrointestinal dokularda meydana getirdiği hasarı araştırmışlardır. Yapılan çalışmalarda eksojen olarak verilen ET-1'in gastrik vasküler tonüsü artırarak mukoza hasara yol açtığı, ince barsakta ise nekrotik ve hemorajik lezyonlar ile karakterize değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (8). ET-1 tarafından meydana getirilen mukoza hasarın superoksid dismutaz (SOD) ve katalaz enzimleri ile azaltılması ayrıca platelet aktive edici faktör (PAF) inhibitörleri ile kalsiyum antagonistlerinin faydalı bulunması, oluşan hasarda reaktif oksijen metabolitlerinin (ROM), PAF'in, kalsiyumun ve muhtemelen polimorfonukleer lökositlerin (PMN) önemli roller oynadığını düşündürmüştür (8).

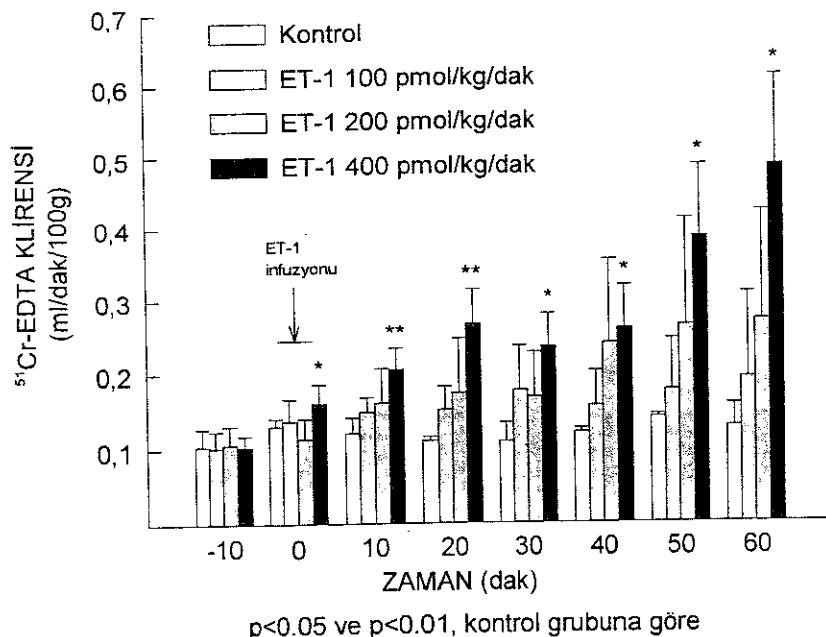
Hernekadar bu güne kadar yapılan çalışmalar akut gastrointestinal inflamasyonda ET-1'in önemli bir rol oynayabileceğini göstermişse de, ET-1'in intestinal epitelial bariyer üzerindeki etkileri bilinmemektedir. Epitel bariyerin sağlamlığı intestinal hasarın hassas bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Örneğin epitelial

bariyer özelliğin bozulması çeşitli toksik faktörlerin transmural olarak dolaşma geçmesine yol açarak sepsis ile karakterize organ yetmezliklerine yol açabilmektedir (9). Ayrıca ET-1'in gastrointestinal inflamasyonda önemli bir rol oynadığı düşünülen lökosit-endotel hücre ilişkileri üzerindeki etkisini inceleyen sistematik bir araştırmada yapılmamıştır. İlave olarak ET-1'in vazokonstriktör etkisi, PMN aktivasyonuna neden olması ve mikrovasküler permeabiliteyi artıracı etkisi bu peptidin I/R ile meydana gelen intestinal hasarda da önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Bu bulguların ışığı altında çalışmamızda; 1) ET-1'in intestinal mukoza parametreler (mukoza permeabilite, PMN infiltrasyonu oksidan stres) üzerindeki etkilerini incelemeyi, 2) ET-1 ile meydana gelen mukoza bariyer bozuklukta PMN'ler, PAF ve intersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1)'in rolünü araştırmayı, 3) ince borsak I/R hasarında ET-1'in olası rolünü belirlemeyi amaçladık.

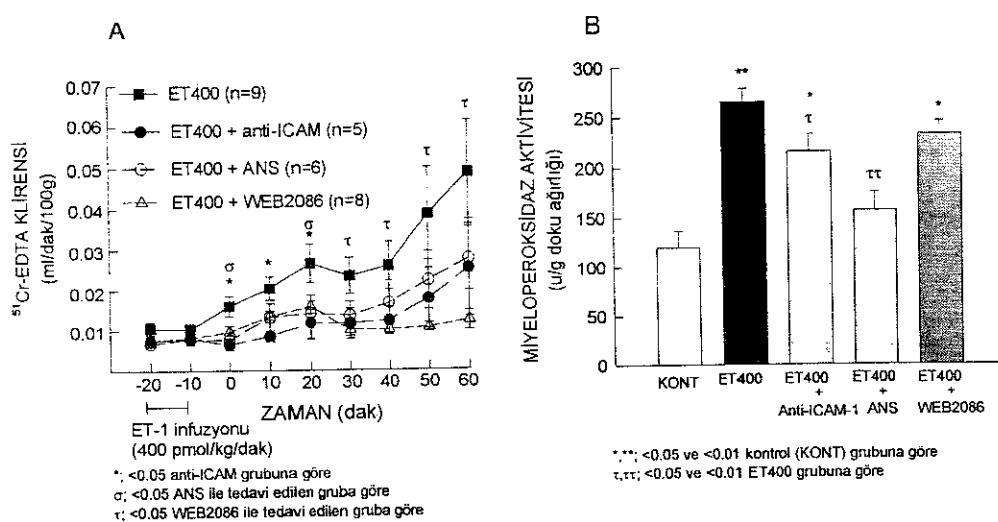
## *ET-1'in İntestinal Parametreler Üzerindeki Etkileri:*

ET-1'in aorta içine yerleştirilen bir kanül aracılığı ile superior mezenterik arterin (SMA) aortadan çıktıgı yere lokal olarak, 100, 200, ve 400 pmol/kg/dak dozlarında (10 dakika süreyle) infüzyonu, intestinal parametrelerde önemli değişikliklere yol açmıştır. En belirgin değişiklikler ET-1'in 400 pmol/kg/dak dozunda ortaya çıkmış, bu dozda verilen ET-1, duodenal, jejunal ve ileal segmentlerde ölçülen miyeloperoksidad (MPO) aktivitelerinde anlamlı artışlara yol açmıştır. ET-1 infüzyonunu takip eden 60 dakikalık zaman içinde <sup>51</sup>Cr-EDTA molekülünün kan-lümen klirensi ölçülerek hesaplanan mukoza permeabilite değerlerinde de anlamlı artışlar meydana gelmiştir (şekil 1). ET-1 infüzyonu sonrası artan mukoza permeabilite değerlerinde PMN'lerin rolünü araştırmak için deney hayvanları ET-1 infüzyonu öncesinde nötropenik hale getirilmiş (antinötrofil serum, ANS, 12 saat aralıklar ile 3 doz, Accurate Chem. Corp.) veya bir başka deney grubunda infüzyondan hemen önce ICAM-1'e karşı geliştirilen monoklonal antikor (MAb 1A29, 2.0 mg/kg, iv, Upjohn Co, Kalamazoo) ile tedavi edilmiş veya PAF reseptör antagonisti WEB2086 (10 mg/kg, iv, bolus) verilmiştir (şekil 2A). Her üç yaklaşımında ET-1 ile artan mukoza permeabilite değerlerinde anlamlı azalma lara neden olmuştur.

**ŞEKİL 1.** ET-1'in 100, 200, ve 400 pmol/kg/dak dozlarında, 10 dak süreyle, SMA'ye infüzyonunun, mukozal permeabilite ( $^{51}\text{Cr}$ -EDTA'nın kan-lümen klürensi) üzerindeki etkileri.



**ŞEKİL 2.** Monoklonal antikor 1A29 (anti-ICAM-1), antinötrofil serum (ANS) ve PAF antagonistı (WEB2086) tedavilerinin, ET-1 (400 pmol/kg/dak) tarafından değiştirilen mukozal permeabilite ve doku myeloperoksidaz aktiviteleri üzerine etkisi



Bu deneylerin sonuçları, SMA içine ET-1 infüzyonunun ince barsak duvarında doza bağımlı olarak PMN infiltrasyonuna yol açtığını, ayrıca  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA molekülüne karşı mukozal geçirgenliktede de artışa neden olduğunu göstermiştir. ANS tedavisinin mukozal permeabilite artışlarında etkili olması, PMN'lerin ET-1 ile meydana gelen permeabilite değişikliklerinin önemli bir aracı olduğunu düşündürmektedir. PMN'lerin bu olaydaki rolünü belirlemek için kullanılan bir diğer yaklaşım ise ET-1 infüzyonu öncesinde ICAM-1

spesifik monoklonal antikor kullanılması olmuştur. MAb 1A29 tedavisi klirens değerlerinde özellikle ilk 30 dakikada belirgin olan anlamlı düşüşlere neden olmuştur. MAb 1A29'un antiadreziv etkisi ET-1 infüzyonu sonrasında artan doku MPO düzeylerinde meydana gelen düşüşler ile de desteklenmiştir (Şekil 2B). Ancak gerek ANS, gerekse MAb 1A29 tedavileri mukozal permeabilite değerlerinde kısmi bir azalmaya neden olmuş, bu bulgular PMN'lerden bağımsız başka mekanizmalarında rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Ayrıca mukozal permeabilite meydana gelen değişikliklerin zamana bağlı olarak gelişimi incelendiğinde PMN'lerin özellikle erken dönerde meydana gelen permeabilite değişikliklerinde daha önemli olabileceğini göstermiştir.

ET-1 ile oluşan permeabilite değişikliklerinde PAF'ın rolünü araştırmak amacıyla deney hayvanları PAF reseptör antagonistisi WEB2086 ile tedavi edilmiştir. WEB2086'nın ET-1 ile meydana gelen permeabilite değişikliklerini anlamlı olarak azaltması, ET-1 ile meydana gelen intestinal hasarda PAF'ında rol oynayabileceğini düşündürmüştür. PAF antagonistinin özellikle permeabilite ölçümlerinin daha geç dönemlerinde etkili olması, ayrıca ET-1 ile artan MPO değerlerine etkisiz olması (şekil 2B), ET-1 ile meydana gelen PMN infiltrasyonunda PAF dışı başka aracılardan rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak deneysel bulgularımız ET-1 ile oluşan intestinal inflamasyonda, PMN infiltrasyonu ve mukozal bariyer bozukluğunun önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, ET-1 infüzyonunu takiben artan mukozal geçirgenliğin PMN'ler, lökosit-endotel hücre adezyonu ve PAF'da içeren bir mekanizma sonucu ortaya çıktıği ileri sürülebilir.

#### *İnce Barsak I/R Hasarında ET-1'in Rolü:*

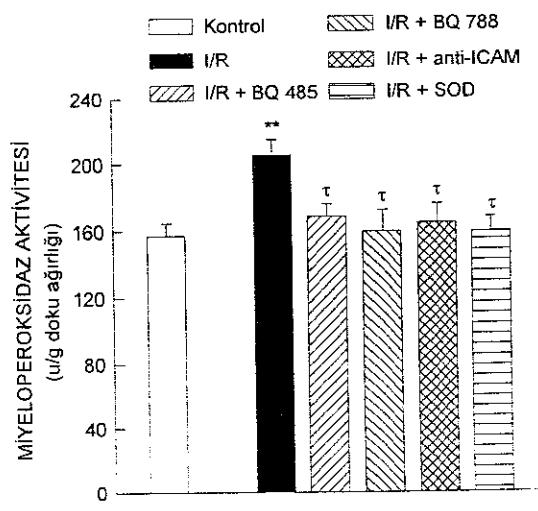
İskemik barsağın reperfüzyonu, kapiller filtrasyon hızında artma, (lenf akımının artması), damar dışına protein sızması (ödem), inflamatuar hücre infiltrasyonu ve dokuda çeşitli kimyasal mediyatörlerin açığa çıkışına ile karakterize akut inflamatuar bir yanıt neden olmaktadır. ET-1 in uzun süreli güçlü vazokonstriktör etkisi, PMN infiltrasyonuna yol açabilmesi, ve mikrovasküler ve mukozal permeabilitesi artırıcı etkisi bu peptidin I/R hasarında da önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Wistar Albino sıçanlarında, SMA'in 30 dakika iskemik bırakılması, bunu takip eden 30 dakikalık reperfüzyon süresinin sonunda önemli mukozal hasara yol açmıştır. İnce barsakta meydana gelen hasarı karakterize etmek için doku MPO düzeyleri, mukozal permeabilite ölçülmüş, doku örneklerinden histolojik kesitler alınarak hasar indeksi araştırılmıştır. Ayrıca ince barsak kan akımı ve rezistansı SMA çevresine yarıştırılan akım ölçer (Transonic Systems Inc.) vasıtası ile iskemi sırasında ve bunu takip eden 30 dakikalık reperfüzyon periyodu boyunca tayın

edilmiştir. Yapılan çalışmalarda 30 dakika iskemi ve reperfüzyon, doku MPO aktivitesinde, mukozal permeabilitede ve portal kan ET-1 düzeylerinde (radyoimmunassay kit, Amersham) anlamlı artışlara neden olurken histolojik olarak ince barsak mukozasında hemorajik nekroz ve villus kaybı (skor; 4) ile karakterize bir hasara yol açmıştır. Ayrıca ince barsak kan akımı reperfüzyon periyodunda belirgin olarak azalma göstermiştir (kontrole göre). İnce barsak I/R hasarında ET-1'in rolünü daha iyi karakterize edebilmek için deney hayvanları I/R öncesinde ET-A reseptör antagonistisi BQ485 (150 nmol/kg bolus ve 10 nmol/kg infüzyon), ET-B reseptör antagonistisi BQ788 (150 nmol/kg bolus ve 10 nmol/kg infüzyon) ve kan akımı deneylerinde buna ilave olarak ET-A ve B reseptör antagonistini bosentan ile tedavi edilmişlerdir. Ayrıca antagonistlerin olası etkilerini daha iyi karakterize edebilmek için alınan sonuçlar, I/R hasarına etkili olduğu iyi bilinen SOD ve anti-ICAM-1 MAb (1A29) tedavilerinin sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Yapılan deneyler, ET-A ve ET-B reseptör antagonistleri ile tedavinin, I/R nedeniyle artan doku MPO düzeyleri üzerinde etkili olduğunu ortaya koyarken (şekil 3A), ET-B reseptör antagonistinin bura ilave olarak mukozal permeabilite (şekil 3B) ve doku kan akımı değişikliklerinde de etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca sonuçlarımız, iyileştirici etkinin SOD ve anti-ICAM tedavileri ile karşılaştırılabilir boyutta olduğunu da göstermiştir. Benzer sonuçların mikroskopik skorlama sonuçlarının değerlendirilmesi ile de gözlenmesi ve normalde reperfüzyon sırasında gözlenen kan akımı bozuklıklarının ET antagonistleri ile düzeltilebilmesi, uygulanan I/R modelinde ET-1'in önemli bir rol oynadığını düşündürmüştür.

Sonuç olarak deneysel bulgularımızda elde edilen bulgular I/R ile oluşturulan akut inflamatuar yanıtın patogenezinde ET-1 düzeylerinde meydana gelen artışın önemli olabileceğini göstermektedir. Buna ilave olarak özellikle ET-B reseptör antagonistinin ve daha az oranda da ET-A reseptör antagonistinin ölçülen hasar parametreleri üzerinde etkili olması I/R hasarı ile meydana gelen doku değişikliklerinde ET reseptör antagonistlerinin tedavi amacı ile kullanılabileceği düşüncesini ince barsak dokusunda da desteklemiştir.

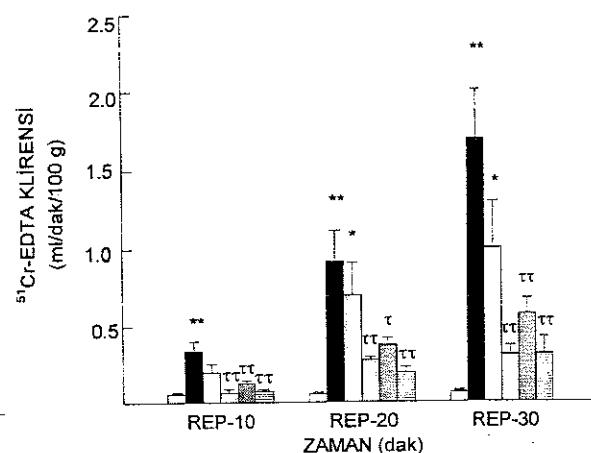
ŞEKİL 3. BQ485 (ET-A reseptör antagonistı), BQ788 (ET-B reseptör antagonistı), monoklonal antikor (MAb) 1A29 (anti-ICAM-1) ve SOD (superoksid dismutaz) tedavilerinin I/R nedeniyle değişen MPO aktivitesi ve reperfüzyon sırasında ölçülen mukozal permeabilite değerleri üzerine etkileri.

A



\*\* p<0.01, kontrol grubuna göre.  
† p<0.05, I/R grubuna göre.

B



\* p<0.05, kontrol grubundaki uygun zaman noktasına göre.  
† p<0.05 ve ‡ p<0.01, reperfüzyon grubundaki zaman noktasına göre.

## REFERANSLAR

- Takahashi, K., P. Jones, S. Kans, H. Lam, R. Spokes, M. Ghatei, S. Bloom. Endothelin in the gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 99: 1660-1667, 1990.
- Spokes, R., M. Ghatei, S. Bloom. Studies with endothelin-3 and endothelin-1 on rat blood pressure and isolated tissues: evidence of multiple receptor subtypes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 13: Suppl. 5, S191-S192, 1989.
- Moritaka, G., Y. Takei, S. Kawano, K. Nagano, S. Tsuji, E. Masuda, Y. Nishimura, S. Okumura, T. Kashiwagi, H. Fusamoto, T. Kamada. Endothelin-1 is involved in the pathogenesis of ischemia-reperfusion liver injury by hepatic microcirculatory disturbances. *Hepatology* 19: 675-681, 1994.
- Michida, T., S. Kawano, E. Masuda, I. Kobayashi, Y. Nishimura, M. Tsuji, N. Hayashi, Y. Takei, S. Tsuji, K. Nagano, H. Fusamoto, T. Kamada. Role of endothelin 1 in hemorrhagic shock-induced gastric mucosal injury in rats. *Gastroenterology* 106: 988-993, 1994.
- Hogaboam, C.M., M.J. Muller, S.M. Collins, R.H. Hunt. An orally active non-selective endothelin receptor antagonist, bosentan, markedly reduces injury in a rat model of colitis. *Eur. J. Pharmacol.* 309, 261-69, 1996.
- Masuda, E., S. Kawano, K. Nagano, S. Tsuji, Y. Takei, N. Hayashi, M. Tsuji, M. Oshita, T. Michida, I. Kobayashi, H. Peng, H. Fusamoto, T. Kamada. Role of endogenous endothelin in pathogenesis of ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Am. J. Physiol.* 265 (Gastrointest. Liver Physiol. 28): G474-G481, 1993.
- Matsumaru, K., H. Kashimura, M. Hassan, A. Nakahara, K. Goto, H. Fukutomi, H. Muto, N. Tanaka. Phosphoramidon, an inhibitor of endothelin-converting enzyme prevents indomethacin-induced gastric mucosal damage in rats. *Life Sciences* 62, 79-84, 1998.
- Miura, S., I. Kurose, D. Fukumura, M. Suematsu, E. Sekizuka, H. Tashiro, H. Serizawa, H. Asako, M. Tsuchiya. Ischemic bowel necrosis induced by endothelin-1: an experimental model in rats. *Digestion* 48: 163-172, 1991.
- Crissinger, K.D., P.R. Kvietys, D.N. Granger. Pathophysiology of gastrointestinal mucosal permeability. *J. Int. Med.* 228: supp. 1, 145-154, 1990.

# YARARLI VE ZARARLI YÖNLERİ İLE ENDOTOKSİK İNFLAMASYON

Doç. Dr. M. Oğuz Güç

*Farmakoloji Anabilim Dalı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi*

## Prolog

Bu yazının amacı ve kapsamı, Türk Farmakoloji Derneği'nin düzenlemekte olduğu "Farmakoloji Eğitim Sempozyumları"nın genel amacı olan "bu konudaki konuşmacının konuya ilgili bilgi birikimini dinleyicilere aktarmak ve ileride bu konuda çalışmak isteyecek araştırcılara yol göstermek" ile uyumlu olmak üzere saptanmış olup, septik şokun çeşitli deneysel modelleri kullanılarak yaptığım çalışmaların bulgularına toplu bir bakışı içermektedir.

## Temel Bilgiler

"Sistemik Inflamatuvar Yanıt Sendromu" organizmanın herhangi bir zedeleyici sataşmaya (yanık, "crush" sendromu, infeksiyon, v.d.) karşı verdiği biyolojik cevabin bütünüdür. Bu kavram; endotoksemi, bakteriyemi, viremi, fungemi, sepsis, septik şok ve çoklu organ yetmezliği gibi geniş bir yelpazede yer alan çok çeşitli patolojilerin ortak klinik görüntüsünü temsil etmektedir (1). Her ne kadar Gram (+) bakteriler, bazı virüsler ve mantarlar çoklu organ yetmezliği tablosu oluşturma potansiyeline sahipse de, Gram (-) bakterilerin meydana getirdiği "sistemik inflamatuvar yanıt sendromu", sık görülmeli ve yüksek mortalitesi dolayısıyla önem arz etmektedir (2). Dolayısıyla, sempatomimetik mediyatörler başta olmak üzere çeşitli hormonlar, otakoidler, prostanoidler, sitokinler ve organizmanın diğer tüm savunma sistemlerini harekete geçirmesi ile karakterize olan Gram (-) sepsis ve endotoksemi sonucu gelişen "çoklu organ yetmezliği tablosu", inflamasyonun ulaşabileceği en uç noktayı teşkil etmektedir (3).

## Endotoksinin biyolojik etkileri

Endotoksin, Gram (-) bakterilerin hücre dış duvarının en önemli komponenti olup temel olarak lipopolisakkarit ve çeşitli oranlarda bakteri duvar komponentlerini içerir (4). Lipopolisakkarit (LPS) ise her serotip için farklı抗原的特徴を有するオリゴサッカリドの鎖である。LPS ise her serotip için farklı抗原的特徴を有するオリゴサッカリドの鎖である。LPS ise her serotip için farklı抗原的特徴を有するオリゴサッカリドの鎖である。

## Lipopolisakkarit (LPS) in etki mekanizması

Gram (-) bakterilerin yıkımı sonucu kana geçen LPS, LPS-Bağlayıcı Protein (LBP) ile kompleks oluşturur. Serumda çözünür halde dolaşan (sCD14) ve myeloid hücre membranında da bulunan (mCD14) adezyon

molekülünün bu kompleks için reseptör rolü oynadığı ve dolayısıyla LPS' nin indüklediği bir dizi reaksiyon için temel basamaklardan birini teşkil ettiği bilinmektedir. LPS, bu yolla, makrofaj, nötrofil ve endotel hücrelerini aktive ederek sitokinlerin (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6, vb.), lipid metabolitlerinin (lökotrienler, prostaglandinler, trombosit aktive edici faktör, vb.), proteazların (elastaz, kollajenaz, vb.), toksik O<sub>2</sub> metabolitlerinin (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH, vb.), nitrik oksit ve adezyon moleküllerinin (selektinler, immunoglobulin geni süper ailesi, integrinler, CD14, vb.) sentezi ile salıverilmelerini artırır. Ayrıca, plazma protein sistemlerini de etkileyerek kompleman, koagülasyon, kallikrein-kinin ve endojen opioid sistemlerini de aktive eder. Öte yandan mononükleer fagositik hücrelerden endotoksin etkisiyle TNF $\alpha$ , IL-1 vb. açığa çıkar. Bunlar, ateş ve hemodinamik etkilerle seyreden akut faz reaksiyonuna, lökosit aktivasyonuna, trombosit aktive edici faktör, prostaglandin, proteaz sentezi ve fibroblast proliferasyonuna yol açar (6). Kompleman komponentleri gibi vazoaktif maddelerin serbestleşmesi de, arterial ve venöz dilatasyona, vasküler geçirgenliğin artmasına, trombosit ve granülosit agregasyonu ile aktivasyonuna neden olur. Aktive nötrofiller, adezyon molekülleri aracılığıyla birbirlerine ve endotel hücrelerine yapışkan hale gelir. Bunu takiben araşidonik asit metabolitlerinin, toksik O<sub>2</sub> ürünlerinin ve lizozomal enzimlerin sentez ve salıverilmesi de hızlanır. İlerleyen dönemde kapiller sızıntı ile plazma ekstravasküler alana sızar. Arterio-venöz damar şantları ile de doku perfüzyonu bozulur. Mikrovasküler dolaşında meydana gelen bu düzensizlikler, endotel kaynaklı nitrik oksitin de içinde bulunduğu pek çok mediyatörün katkısıyla olur. Endotelde meydana gelen zarar, intrinsik ve ekstrinsik pihtlaşma mekanizmalarını harekete geçirerek yaygın damar içi koagülasyona sebep olur ve agregasyon sonucu kapillerlerde yavaşlayan kan akımı ile doku hipoksisi daha da artar. Bunlarla birlikte endotoksin, taşkardiy, kardiak indeksin artmasına, kan basıncında ve sistemik vasküler dirençte düşmeye sebep olurken, kalbin atım hacmi başlangıçta değişmez. Daha sonra gelişen myokard işlev bozukluğu ile atım hacmi düşer. İlerleyen dönemde, myokard depresyonu, mikrovasküler bozukluklara bağlı perfüzyon yetersizliği ve meydana gelen direkt doku hasarı ciddileşerek, akciğerler, santral sinir sistemi, böbrekler gibi hayatı dokularda çok kötü прогнозun işaretini kabul edilen çoklu organ yetmezliği sendromunu meydana getirir (6).

Yukarıda özetlenen temel etki mekanizmalarına bakarak endotoksinin organizma için sadece zararlı etkilerinin olduğu düşünülebilir ancak biraz "quixotic" bakış ile bu mekanizmaların bazlarından organizmanın yararına olabilecek biyolojik etkilerin elde edilmesi de olasıdır.

Aşağıda, bu iki ihtimal ana başlıklar halinde verilmektedir.

#### **Zararlı etkiler 1: Endotoksin vazokonstriktörlerle karşı vasküler cevapsızlık oluşturur.**

Sepsis sendromunun nihai noktası olan septik şok, hipotansiyon ve vazokonstriktör işlemelere karşı cevapsızlık ile karakterizedir ve bu durum deney hayvanlarına endotoksin verilerek taklit edilebilir. Ancak bu cevapsızlık bütün vazokonstriktör ajanları için aynı olmayıp örneğin alfa-1, alfa-2 adrenoseptör agonistleri (7) ve sempatik sistemin elektriksel stimülasyonu ile oluşan kan basıncı artışı için farklı (8) ancak endotelin için geçerli değildir. Diğer bir deyişle endotelin cevapları endotoksinden etkilenmemektedir (9). Endotoksinin bu etkisinin temelinde artmış nitrik oksit yapımının (10) yanı sıra tümör nekroz faktörü - alfa nun da etkisinin olduğu bilinmektedir (11). İlginç olarak endotoksinin bu etki kalibi L-tipi  $Ca^{2+}$  kanallarının blokörü olan nikardipinin etki kalibine benzemektedir (12). Öte yandan, endotoksin tarafından salıverilen mediyatörlerin bir zamanlar popüler olan ancak en dramatik etkilerinden biri olan trombosit aktive edici faktör ise endotoksinin bu etkilerini taklit etmeye yetersiz kalmıştır (13).

#### **Zararlı etkiler 2: Endotoksin vazodilatörlerle karşı vasküler cevapsızlık oluşturur.**

Benzer şekilde damarsal yapıların vazodilatör ajanlara karşı olan cevapları da endotoksin tarafından azaltılmaktadır. Ancak vazokonstriktör cevaphılıkta olan görüntünün aksine, endotoksinin duyarsızlaştırıcı etkisi tüm vazodilatör ajanlara karşı aynı şiddette oluşmaktadır (14).

#### **Zararlı etkiler 3: Endotoksin ekstravasküler cevapsızlık oluşturur.**

Endotoksinin vazoaktif ajanlara karşı oluşturduğu yanıtızlık hali sıçan anokoksigeus kası gibi damar-disi düz kas preparatlarında da meydana gelmektedir (15). Nitekim endotoksin bu preparatta, alfa agonistler, guanetidin veya elektriksel alan stimülasyonu ile oluşan kasılma cevapları ile yine elektriksel alan stimülasyonu ile oluşan nitrerjik gevşeme cevaplarını da anlamlı derecede bozmaktadır. Bu etkilerin temelinde L-arjinin-nitrik oksit yolağının bulunduğuna ilişkin deliller mevcuttur (15).

#### **Zararlı etkiler 4: Endotoksin mezenterik iskemi oluşturur.**

Her ne kadar septik şok yaygın vazodilatasyona bağlı hipotansiyon ile karakterize ise de, bu hastalarda mezenterik damar yatağında iskemi olduğunu düşündüren çeşitli klinik gözlemler mevcuttur. Nitekim deneysel sıçan endotoksemi modelinde barsak yatağının damarsal rezistansının artığı ve bu artışın ise endotelin peptidlerden kaynaklanması olasıdır. İlginç bir gözlem olarak indüklenebilir nitrik oksit sentaz blokörü olan aminoguanidinin bu rezistans artısını engellediği saptanmıştır (16).

#### **Zararlı etkiler 5: Endotoksin barsak duvarından bakteriyel translokasyona sebe olur.**

Barsak mukozasının beslenmesi kapiller dolaşımından ziyade % 80 oranında barsak lumeninden emilen gıdalar ile karşılaşmaktadır (17). Dolayısıyla bu dokunun fizyolojik bariyer fonksiyonunun barsak lumenin içeriği ile doku kan akımına bağımlı olduğu sonucuna varılabilir. Özellikle endotoksemide gözlenen ölçüde şiddetli mezenterik rezistans artışıyla bağlı barsak iskemisinin barsak duvarının bütünlüğünü bozması ve lümene bulunan fırsatçı mikroorganizmaların dolaşma geçmesine izin vermesi olasıdır. Bu hipotezin doğru olduğu deneysel olarak çok düşük dozda endotoksin verilmesi sonucu mezenterik lenf nodları, dalak, karaciğer ve sistemik dolaşında canlı koloni oluşturabilir bakterilerin bulunduğu gösterilmesi ile kanıtlanmıştır (18). Benzer şekilde bu fenomen de aminoguanidin ön-tedavisi ile engellenebilir olup endotelin peptidlerinin bir şekilde katkılarının olduğunu düşündürmektedir (18). Öte yandan hemorajik şok gibi hipoperfüzyon durumlarında da bakteriyel translokasyonun olduğu ve olayın boyutlarının hayvanların aç bırakılmalarıyla arttığı ancak granülosit-koloni stimulan faktör tedavisinin bu olayın şiddetini azalttığı da bulunmuştur (19).

#### **Zararlı etkiler 6: Endotoksin karaciğer ve dalaka histopatolojik hasar oluşturur.**

Düşük dozlarda endotoksinin morfolojik olarak dokularda hasar oluşturmaması iyi bilinmekte olup karaciğer ve dalak bu etkiye izlemek açısından pratik olarak çalışılması kolay organlardır. Endotoksin bir kaç saat içerisinde her iki organda da parankim harabiyeti, hemokonjesyon, inflamatuvar lenfositik infiltrasyon ile karakterize olan ağırlık artışı oluşturmaktadır. Bu değişiklikler karaciğere özgü "spotty nekroz" ve dalağa özgü "kapsül içine kanama" olarak ta gözlenebilir. Tüm bu patolojik değişikliklerin L-arjinin-nitrik oksit yolağı ile bir ilişkisi olmayıp endotelin reseptör antagonisti bosentan tarafından tamamen bloke edilebilmesi olasıdır (20).

#### **Zararlı etkiler 7: Düşük doz endotoksin ön-tedavisi, daha sonraki yüksek dozun yapacağı hasarı artırır.**

Önceki çalışmalar, düşük doz endotoksin uygulanması sonucu organizmanın savunma sistemlerinin yeniden düzenlendiğini bildirmiştir (21). Bu noktadan yola çıkarak, düşük doz endotoksin ön-tedavisi ile endotoksinin kimi etkilerine karşı "tolerant" hale getirilmiş farelerin, aradan bir kaç gün geçiktiken sonra uygulananan yüksek doz endotoksinin etkilerine daha dayanıklı hale gelmeleri beklenebilir. Ancak bu hipotez beklentimizin aksine yanlış çıkmıştır. Şöyled ki, düşük doz endotoksin ön-tedavisi görmüş farelere dört gün sonra yüksek doz endotoksin uygulandığında mezenterik kan akımları kontrol grubuna oranla daha da düşük seviyeye inmiş yani, endotoksinin "normalde" oluşturduğu barsak iskemisi daha da şiddetlenmiştir. Bu sonuçlar, düşük doz endotoksin ön-tedavisinin sanki bir "promoter" gibi davranışını göstermiştir (22).

### **Yararlı etkiler 1: Endotoksin antiaritmik etki gösterir.**

Çeşitli sempatomimetik aminlerin uyarısı sonucu kalp kasında siklik AMP miktarlarındaki artışın aritmik etkiler yaptığı bilinmektedir. Dolayısıyla bu dokuda siklik GMP miktarının artmasını görecel olarak siklik AMP düzeylerini azaltması ve antiaritmik etkiler göstermesi kuvvetle muhtemeldir. Nitekim endotoksin ile uyarılan induklenebilir nitrik oksit sentazın, özellikle miyokard dokusunda bol miktarda nitrik oksit oluşturmaması sonucu çözünebilir guanilat siklazın aktive olması ve hücre-içi siklik GMP düzeyinin artmasına yol açar. İşte bu temel hipotez çerçevesinde, endotoksin uygulamasının anestezi altında koroner arterleri bağlanmak ve daha sonra açılmak suretiyle miyokard iskemisi ve reperfüzyonu oluşturulan sıçanlardaki aritmik aktiviteye etkisinin incelenmesi sonucu bariz antiaritmik etkinlik bulunmuştur (23). Yapısal nitrik oksit sentaz blokörü olan L-NAME in bu aritmogenik aktiviteyi etkilememiş olması (24) ve endotoksinin oluşturduğu antiaritmik etkinin induklenebilir nitrik oksit sentazın selektif blokörleri olan deksametazon ve L-kanavanin ile bloke edilebilmesi (23) endotoksinin organizma için yararlı olabilecek bu etkinliğinde nitrik oksitin önemli rolü olduğunu telkin etmektedir. Dolayısıyla lipopolisakkaritin toksik olmayan derivelarının antiaritmik amaçla kullanımı için temel veriler oluşmuş bulunmaktadır.

### **Epilog**

Tüm bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda endotoksin, kardiyovasküler farmakoloji alanında yapılacak deneyel araştırma için çok yönlü ve kullanışlı bir araştırma aracıdır denilebilir (25).

### **TEŞEKKÜR**

Bu metinde özetlenen çalışmalar değişik tarihlerde *Eczacıbaşı Bilimsel Araştırma ve Ödül Fonu*, TÜBİTAK-SBAG Proje No: 1231, *Ulusal Cerrahi Derneği-DİF-SANOFİ*, *Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu* Proje No: 96.01.101.017 ile 97.01.101.005 ve *NOVARTIS Farmakoloji Dali Proje Destekleri* tarafından desteklenmiş deneyel çalışmaların sonuçlarına dayanmaktadır.

### **REFERENCES**

1. Davies MG, Hagen P-O. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surgery* 1997, 84: 920-935.
2. Bone RC. The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med* 1991, 115: 457-469.
3. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV. Multiple organ failure syndrome. *Arch Surg* 1986, 121: 196-214.
4. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner J-D, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. *Lancet* 1991, 338: 732-735.
5. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright S, Sibley CH, Ding A, Nathan CF. Gram-negative endotoxin: an extraordinary lipid with profound effects on eukaryotic signal transduction. *FASEB J* 1991, 5: 2652-2660.
6. Parrillo JE (1993). Pathogenetic mechanisms of septic shock *N Engl J Med* 328: 1471-77
7. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Endotoxin-induced impairment of vasopressor and vasodepressor responses in the pithed rat *Br J Pharmacol* 1990, 101: 913-919.
8. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Reversal of endotoxin-induced impairment of responsiveness to sympathetic stimulation by L-nitroarginine methyl ester and vasopressin in pithed rats. *Br J Pharmacol* 1991, 102: 320P.
9. Guc MO, Furman BL, Stoclet J-C, Parratt JR. Endotoxin depresses vascular reactivity to phenylephrine, clonidine and Bay K 8644 but not to endotelin. *Br J Pharmacol* 1989, 98: 628P.
10. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Modification of alpha-adrenoceptor-mediated pressor responses by N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester and vasopressin in endotoxin-treated pithed rats. *Eur J Pharmacol* 1992, 224: 63-69.
11. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Anti-tumour necrosis factor antibody prevents endotoxin-induced impairment of vasodepressor responsiveness to 5-hydroxytryptamine. *Circ Shock* 1990, 31: 232.
12. Furman BL, Guc MO, Parratt JR. Similarities between endotoxin and nicardipine in impairing vascular reactivity. *Circ Shock* 1990, 31: 224.
13. Bouvier C, Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Platelet activating factor impairs responses to noradrenaline in the anaesthetized rat but not does not mediate endotoxin-induced hyporeactivity. *Circ Shock* 1994, 42: 14-19.
14. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Endotoxin-induced impairment of vasodepressor responses in the pithed rat. *Eur J Pharmacol* 1991, 204: 63-70.
15. Guc MO, Furman BL, Parratt JR. Endotoxin impairs the responses of rat anococcygeus muscle to electrical field stimulation. *Eur J Pharmacol* 1991, 202: 397-401.
16. Kavuklu B, Iskit AB, Guc MO, Cakmakci M, Sayek I. Inhibition of inducible nitric oxide synthase by aminoguanidine attenuates endotoxin-induced decrease in mesenteric blood flow. *Br J Surg* 1997, 84: 888.
17. Roediger WEW. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut* 1980, 21: 793-797.
18. Kavuklu B, Agalar C, Guc MO, Sayek I. Evidence that aminoguanidine inhibits endotoxin-induced bacterial translocation. *Br J Surg* 1998, 85: 1103-1106.
19. Agalar F, Iskit AB, Agalar C, Hamaloglu E, Guc MO. The effects of G-CSF treatment and starvation on bacterial translocation in haemorrhagic shock. *J Surg Res* 1998, 78: 143-147.
20. Iskit AB, Sungur A, Gedikoglu G, Guc MO. The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur J Pharmacol* 1999, baskıda.
21. Zingarelli B, Chen H, Chaputi AP, Halushka PV, Cook JA. Reorientation of macrophage mediator production in endotoxin tolerance. *Prog Clin Biol Res* 1995, 392: 529-537.
22. Baykal A, Iskit AB, Kaynaroglu, Guc MO, Sayek I, Sanac Y. Effects of adrenaline or endotoxin tolerance states on mesenteric blood flow in endotoxaemia. *Surg Res* 1999, 69: 134-137.
23. Iskit AB, Guc MO, İlhan M. L-canavanine and dexamethasone attenuate endotoxin-induced suppression of ischaemia-reperfusion arrhythmias. *Eur J Pharmacol* 1997, 326: 183-190.
24. Iskit AB, Guc MO. Comparison of sodium pentobarbitone and urethane anaesthesia in a rat model of coronary artery occlusion and reperfusion arrhythmias: Interaction with L-NAME. *Pharmacol Res* 1996, 33: 13-18.
25. Guc MO. Endotoxin: a versatile tool in circulation research *Polish J Pharmacol* 1998, 50: (Suppl.), 18.

# İNFLAMASYONDA SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ

Doç. Dr. A. Tuncay Demiryürek

*Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara.*

Serbest radikallerin inflamasyonuda içeren 100'ü aşkın hastalığın patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1989; Halliwell ve ark., 1992). Son yıllarda reaktif oksijen türleri (ROT), serbest radikaller yanında hidrojen peroksit, hipokloroz asit ve singlet oksijen gibi bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içermeyen fakat ekstra ve intraselüler ortamda serbest radikal oluşturma kapasitesine sahip molekülleri de içerecek şekilde genişletilmiştir (Halliwell, 1997).

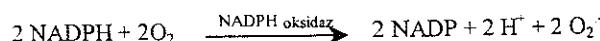
ROT oluşumu endojen antioksidanların kapasitesini aşınca farklı mekanizmalarla doku hasarı oluştururlar. Bunlar arasında, DNA hasarı, lipid peroksidasyon, protein hasarı, enzim oksidasyonu, intraselüler tiyol bileşiklerinin tüketimi ve nükleer faktör kB aktivasyonuyla monosit ve makrofajlardan proinflamatuar sitokin salıverilmesini stımule etmek sayılabilir. Birçok ROT oldukça kısa yarı ömrə sahip olmalarına karşın ( $10^{-9} - 10^{-6}$  s) serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatarak doku hasarına yol açabilir (Pryor, 1986). Burada oksidatif stresde ve serbest radikal biyokimyasında rol oynayan başlıca türler anlatılacak ve bunların inflamasyondaki rolleri hakkında bilgi verilecektir.

## *Süperoksit anyonu*

Oksijen molekülünün ekstra elektron almasıyla oluşur.



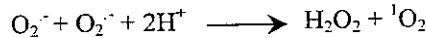
ROT hücresel metabolizmanın normal ürünleri olarak sürekli olarak oluşurlar. Oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondriyal sitokrom oksidaz enzimi ile moleküler oksijen dört elektron alarak suya indirgenir. Bununla birlikte bu yolaktan oksijenin yaklaşık %1-5'i sızarak, enzimatik olmayan, basamaklı ve her basamakta tek elektronun kullanıldığı bir başka yolağa girerek toksik ara ürünler oluştururlar. Bu reaksiyonların ilkinde süperoksit oluşur (Reilly ve ark., 1991). Fakat inflamasyonda en önemli süperoksit kaynağı aktive nötrofiller ile makrofajlardır ve daha az ölçüde eozinofiller, monositler ve lenfositler rol alırlar. Nötrofil, makrofaj gibi fagositlerde süperoksit oluşumu membranındaki nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaza bağlıdır. Bu oksidaz kronik granulomatoz hastalığında fonksiyonel değildir ve bu hastalarda nötrofiller opsonize bakteriyi alırlar fakat öldürmezler (Halliwell, 1997).



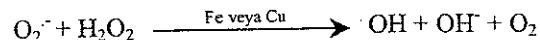
Nitrik oksit sentazın bilinen üç izoformu, substrat veya bazı kofaktörlerin yokluğunda oksijenden süperoksit oluşturduğu gösterilmiştir (Pou ve ark., 1992; Xia ve Zweier, 1997; Vasquez-Vivar ve ark., 1998).

Süperoksit hidroksil radikaline oranla reaktivitesi daha zayıftır, membranları geçemez ve az sayıda hücresel hedeflere hasar verir. Genelde reaktivitesi sınırlıdır ve sadece birkaç bileşikle (NO gibi) hızlı reaksiyona girer.

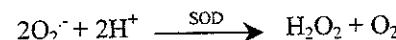
Spontan olarak sulu ortamda hidrojen peroksit ve singlet oksijene dismutre olur ve hücre hasarı oluşturur.



Süperoksit metal iyonlarının katalize ettiği reaksiyonlarla hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek hidroksil radikaline dönüşür (Haber – Weiss reaksiyonu).

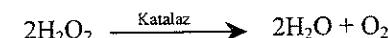


Süperoksit nitrik oksitle etkileşip peroksinitrit ve hidroksil radikalı oluşturabilir. Süperoksinin DNA veya proteinlerle direkt reaksiyona girip girmediği kesin değildir. Süperoksinin ortamdan uzaklaştırılması spontan olarak veya süperoksit dismutaz (SOD) ile hidrojen peroksite dismutasyonuya oluşur.

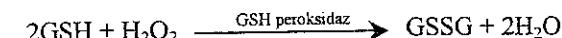


## *Hidrojen peroksit*

Hidrojen peroksit fagositlerden salınan süperoksinin dismutasyonuya oluşur ve birçok fizyolojik fonksiyona sahiptir. Bazı enzimler (ksantin oksidaz, glikolat gibi) direkt olarak hidrojen peroksit oluştururlar (Halliwell, 1997). SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit daha çok intraselüler ortamda bulunan katalaz enzimi ile suya ve oksijene dönüştürülür.



Ekstrasellüler ortamda katalazın görevini daha çok selenyum bağımlı enzim olan glutatyon (GSH) peroksidaz üstlenir.

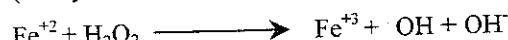


Hidrojen peroksit, zayıf bir oksidan olmasına rağmen hücre membranından kolayca difüze olabileme yeteneğinden dolayı hasar oluşturucu potansiyeli yüksektir. Fenton reaksiyonıyla metal iyonlarının bulunduğu yerlerde hidroksil radikaline bağlı doku hasarı oluşturur. Hidrojen peroksit proteinlerin tiyol gruplarını okside eder, intraselüler olayları indüklemesinden dolayı metabolik sinyal olarak etki gösterebileceği ileri sürülmüşdür (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

## *Hidroksil radikalı*

Hidroksil radikalı en reaktif okside edici radikaldır ve *in vivo* koşullarda  $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  gibi yüksek bir reaksiyon hızıyla hemen hemen her moleküle saldırır. İflamasyonda hidroksil radikalı başlıca üç mekanizmayla oluşur: 1) Özellikle Fe ve Cu gibi metal iyonu katalizörüğünde. Haber-Weiss reaksiyonu fizyolojik ortamda oldukça yavaş geliştiğinden biyolojik sistemlerde Fe<sup>2+</sup> veya Cu<sup>+</sup> aracılığıyla meydana gelen modifiye Fenton reaksiyonu aracılığıyla hidroksil radikalı oluştugu kabul edilmektedir. Dolayısıyla süperoksit ve hidrojen peroksinin *in vivo* oluşturduğu hasarın çoğunu hidroksil radikalı üzerinden olduğu

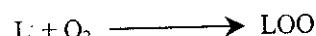
kabul edilir. 2) HOCl'nin süperoksit radikalı ile reaksiyonuyla, 3) peroksinitritin dekompozisyonuyla (Reilly ve ark., 1991; Halliwell, 1997).



Hidroksil radikalı lipid peroksidasyon olarak bilinen klasik serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatabilir. Membran fosfolipidlerin yakınında hidroksil radikalı olduğu zaman peroksil radikalı, lipid hidroperoksitler gibi radikaller oluşturur. Hidroperoksitlerin akümülasyonu membran fonksiyonunu bozabilir ve sitotoksik aldehidler oluşturabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Lipid peroksidasyonun son ürünleri olarak PGF<sub>2</sub>-benzeri bileşikler oluşabilir (Morrow ve ark., 1990).

#### Lipid peroksil radikalı

Reaktif serbest radikaller ve metabolitler membranda bir hidrojen uzaklaşımlarıyla lipid peroksidasyonu başlatırlar. Oluşan lipid radikal ( $\text{L}^{\cdot}$ ) oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini ( $\text{LOO}^{\cdot}$ ) oluşturur.



Lipid peroksil radikalı başka bir lipidden ( $\text{LH}$ ) hidrojen atomunu uzaklaştırır ve lipid hidroperoksit ( $\text{LOOH}$ ) ile başka bir lipid radikalı oluşturur. Bu zincir reaksiyonunun NO'un lipid peroksil radikalı ile etkileşerek inhibe ettiği gösterilmiştir (Hogg ve ark., 1993).



#### Nitrik oksit ve peroksinitrit

Fagositik hücrelerde L-arjininden NO oluştugu bilinmektedir (Wright ve ark., 1989, Stuehr ve ark., 1990). NO prekürsörü L-arjinin ve NO donörleri lökositlerden ROT salınımını inhibe ederler (Demiryürek ve ark., 1997). Bu etki muhtemelen direkt olarak NADPH oksidaz inhibityonuna bağlıdır (Clancy ve ark., 1992). Nitrik oksitin süperoksite reaksiyonu peroksinitrit üzerinden hidroksil ve nitrojen dioksit radikallerini oluşturur (Beckman ve ark., 1990; Merenyi ve ark., 1998). Peroksinitrit proteinlerdeki veya serbest haldeki tirozini *orta* pozisyonundan nitrolyarak 3-nitrotirozini oluşturur. Peroksinitrit nötrofillerde etkin bir 'priming' ajandır ve bu etkisine tirozin rezidülerinin nitrasyonu aracılık eder (Rohn ve ark., 1999). Endojen peroksinitrit ve reaktif nitrojen türlerinin bir göstergesi olarak ölçülen 3-nitrotirozinin düzeylerinin inflamasyon gibi serbest radikal ve metabolitlerinin varlığında değişip değişmediği önem taşımaktadır. Yaptığımız çalışmalar 3-nitrotirozinin de ROT ve metabolitleriyle etkileşliğini göstermiştir.

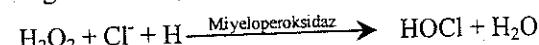


DNA hasarı oluşturan oksidanlar (peroksinitrit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalı, HOCl) hücrede nükleer bir enzim olan poli(ADP-riboz) sentazı (PARS) aktive ederler. PARS enzimi nikotinamid adenin dinükleotidi ( $\text{NAD}^+$ ) substrat olarak kullanır. Sonuçta bu olay ATP tüketimine ve hücrenin ölümüne yol açabilir. PARS inhibitörlerinin lokal ve sistemik inflamasyonda ödem

oluşumunu, mononükleer hücre infiltrasyonunu ve doku hasarını azalttığı bildirilmiştir (Szabo ve Dawson, 1998; Szabo, 1998; Demiryürek ve ark., 1998). Çalışmalarımız en çok kullanılan PARS inhibitörlerinden 3-aminobenzamid ve nikotinamidin lökosit serbest radikal salınımı üzerinde inhibitör etkili olduğu ve HOCl ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi reaktif metabolitlerle direkt etkileşebildiğini göstermektedir. PARS inhibitörleri tedavide antiinflamatuar etkili yeni bir ilaç grubunu oluşturacak potansiyelidir (Szabo, 1998). Lökositlerde glukokortikoidler tarafından NO'nun inhibityonu bu ajanların antiinflamatuar mekanizmasına katkıda bulunabilir (McCall ve ark., 1991).

#### Hipokloröz asit

HOCl nötrofillerden ve monositlerden salınan miyeloperoksidaz enziminin hidrojen peroksit üzerine etkisiyle oluşur ve ekstraselüler olarak salınır. Miyeloperoksidaz inhibitörü olan azid ile oluşumu engellenebilir (Demiryürek ve ark., 1994).



Eozinofillerde tercihan bromürü okside eden ve HOBr oluşturan benzer bir enzim olan eozinofil peroksidaz içerir. Endojen aminlerle reaksiyona girerek kuvvetli oksidan ve bakterisit etkili kloramini oluştururlar. HOCl, nitrit ile reaksiyona girerek nitril klorid ( $\text{Cl}-\text{NO}_2$ ), klorin nitrit ( $\text{Cl}-\text{ONO}$ ) ve  $\text{NO}_2$  gibi radikal ve reaktif ara ürünler oluşturduğunun gösterilmesi (Eiserich ve ark., 1996, 1998) nitritin in vivo koşullarda inflamasyonu etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. Hipohalöz asitler kuvvetli antibakteriyel ajan olmasına karşın (Weiss, 1989), düşük konsantrasyonda bazı proteinlerin fonksiyonunu bozarlar. Yüksek konsantrasyonda ise hücre lizisine yol açarlar. Hücre membranında tiyol gruplarının kuvvetli okside edicidir, membran transport sistemlerini inhibe eder ve tirozin rezidülerini klorlanması neden olur (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

#### Singlet oksijen

Serbest radikal olmamasına karşın kuvvetli okside edici ajandır ve birçok moleküle etkileşir. Membran lipidlerine etki ederek peroksitleri oluşturur. Singlet oksijen inflamasyonda peroksinitrit veya hipokloröz asitin hidrojen peroksit ile reaksiyonuyla oluşabilir (Del Maestro, 1980, Di Mascio ve ark., 1994). NO ve hidrojen peroksinin etkileşmesiyle de signet oksijen oluşabilemektedir (Noronha-Dutra ve ark., 1993).

İnflamasyon gibi birçok ROT ve metabolitlerinin birlikte bulunıldığı patolojik durumlarda radikallerin veya metabolitlerin birbirleriyle etkileşmeleri ve yeni ürünler oluşturmaları inflamasyonun mekanizmasının anlaşılması açısından önemlidir. Bu araştırmalar yeni antiinflamatuar ilaçların bulunmasına katkıda bulunacaktır.

## Kaynaklar

- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. (1990) Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 1620-1624.
- Beckman JS, Chen J, Ischiropoulos H, Crow JP. (1994) Oxidative chemistry of peroxynitrite. *Methods Enzymol.* 233, 229-240.
- Clancy RM, Leszczynska-Piziak J, Abramson SB. (1992) Nitric oxide, an endothelial cell relaxant factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *J. Clin. Invest.* 90, 1116-1121.
- Del Maestro RF. (1980) An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol. Scan. Suppl.* 492, 153-168.
- Demiryürek AT, Çakıcı İ, Kanzik, İ. (1998) Peroxynitrite: A putative cytotoxin. *Pharmacol. Toxicol.* 82, 113-117.
- Demiryürek AT, Kennedy S, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA. (1997) Influence of nitric oxide on luminol-enhanced chemiluminescence measured from porcine-stimulated leukocytes. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 30, 332-337.
- Demiryürek AT, Wainwright CL, Wadsworth RM, Kane KA. (1994) Characterization of a method for the detection of drugs with free radical scavenging activity using porcine leukocytes. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 32, 35-40.
- Di Mascio P, Bechara EJH, Medeiros MHG, Briviba K, Sies H. (1994) Singlet molecular oxygen production in the reaction of peroxynitrite with hydrogen peroxide. *FEBS Lett.* 355, 287-289.
- Eiserich JP, Cross CE, Jones AD, Halliwell B, Van der Vliet A. (1996) Formation of nitrating and chlorinating species by reaction of nitrite with hypochlorous acid. A novel mechanism for nitric oxide-mediated protein modification. *J. Biol. Chem.* 271, 19199-19208.
- Eiserich JP, Hristova M, Cross CE, Jones AD, Freeman BA, Halliwell B, Van der Vliet A. (1998) Formation of nitric oxide-derived inflammatory oxidants by myeloperoxidase in neutrophils. *Nature* 391, 393-397.
- Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. (1992) Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 119, 598-620.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. (1989) Free radicals in biology and medicine. 2<sup>nd</sup> edition. Oxford, Clarendon Press.
- Halliwell B. (1997) Antioxidants: The basics-What they are and how to evaluate them. *Adv. Pharmacol.* 38, 3-20.
- Hogg N, Kalyanaraman B, Joseph J, Struck A, Parthasarathy S. (1993) Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by nitric oxide. Potential role in atherogenesis. *FEBS Lett.* 334, 170-174.
- McCall TB, Palmer RMJ, Moncada S. (1991) Induction of nitric oxide synthase in rat peritoneal neutrophils and its inhibition by dexamethasone. *Eur. J. Immunol.* 21, 2523-2527.
- Merenyi G, Lind J, Goldstein S, Czapski G. (1998) Peroxynitrous acid homolyzes into ·OH and ·NO<sub>2</sub> radicals. *Chem. Res. Toxicol.*, 11, 712-713.
- Morrow JD, Hill KE, Burke RF, Nammour TM, Bads KF, Roberts LJ. (1990) A series of prostaglandin F<sub>2</sub>-like compounds are produced in vivo in humans by a non-cyclooxygenase, free radical-catalysed mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 9383-9387.
- Noronha-Dutra AA, Epperlein MM, Woolf N. (1993) Reaction of nitric oxide with hydrogen peroxide to produce potentially cytotoxic singlet oxygen as a model for nitric oxide-mediated killing. *FEBS Lett.* 321, 59-62.
- Pou S, Pou WS, Brendt DS, Snyder SH, Rosen GM. (1992) Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J. Biol. Chem.* 267, 24173-24176.
- Pryor WA. (1986) Oxy-radicals and related species: their formation, and reactions. *Ann. Rev. Physiol.* 48, 657-667.
- Reilly PM, Schiller J, Bulkley GB. (1991) Pharmacological approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surgery* 161, 488-503.
- Rohn TT, Nelson LK, Sipes KM, Swain SD, Jutila KL, Quinn MT. (1999) Priming of human neutrophils by peroxynitrite: potential role in enhancement of the local inflammatory response. *J. Leukoc. Biol.* 65, 59-70.
- Stuehr DJ, Kwon NS, Nathan CF. (1990) FAD and GSH participate in macrophage synthesis of nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 168, 558-565.
- Szabo C (1998) Role of poly (ADP-ribose) synthase in inflammation. *Eur. J. Pharmacol.* 350, 1-19.
- Szabo C, Dawson V. (1998) Role of poly (ADP-ribose) synthase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol. Sci.* 19, 287-298.
- Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, Tordo P, Pritchard KAJ. (1998) Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: The influence of cofactors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 9220-9225.
- Weiss SJ (1989) Tissue destruction by neutrophils. *N. Engl. J. Med.* 320, 365-376.
- Wright CD, Mulsh A, Busse R, Osswald H. (1989) Generation of nitric oxide by human neutrophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160, 813-819.
- Xia Y, Zweier JL. (1997) Superoxide and peroxynitrite generation from inducible nitric oxide synthase in macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 6954-6958.

# SİÇANLARDA İNFLAMATUVAR YANITA EŞLİK EDEN TERMOREGULATUVAR DEĞİŞİKLİKLER

Doç. Dr. Eyup S. Akarsu

*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi*

*Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Anabilim Dalı*

*e-mail: akarsu@ dialup.ankara.edu.tr*

Bu metin kapsamı içinde, gram (-) bakteri lipopolisakkaridi (LPS) ile sıçanlarda oluşan termoregulatuvar değişiklikler, akut faz reaksiyonunun bir parametresi bağlamında ele alınacak ve termoregülasyon farmakolojisi ile ilgili terminoloji, bazı metodolojik yaklaşımalarla birlikte tartışılmacaktır.

## Akut faz reaksiyonu ve ateş:

Organizmanın inflamatuvar bir uyarana karşı erken dönemde (birkaç saat içinde) oluşturduğu nonspesifik yanıtlar topluca "akut faz reaksiyonu" (AFR) adını almaktadır. AFR, primer olarak santral sinir sistemi tarafından koordine edilen, otonomik, endokrin ve immunolojik komponentler içeren kompleks ve koordine bir süreçtir.

AFR sırasında vertebralılarda termoregulatuvar anlamda en sıkılıkla izlenen değişiklik ateşdir (pirojenik yanıt). Bilindiği kadarı ile ateş, ekzojen bir pirojene karşı (örneğin LPS) organizmada proinflamatuvar endojen pirojenlerin salınımı ile, hipotalamusta (büyük olasılıkla) prostaglandin E<sub>2</sub> artışına bağlı olarak, hipotalamik sıcaklık (hipotetik) termostatinin daha yüksek bir değere ayarlanması sonucu, vücut sıcaklığının aktif olarak yükselmesidir. Bu noktada ateş tanımını "hipertermi" den ayırmak gereklidir. Hipertermi durumunda da vücut sıcaklığında bir artış izlenir. Ancak bu artış organizmaya ısının pasif olarak yüklenmesi sonucu oluşan sıcaklık artışıdır (güneşle fazlaca maruz kalma sonucu oluşabildiği gibi). Hipotalamik termostatın ayarı değişimmemiştir. Oysa ateş sırasında, değişen ayar noktasına ulaşabilmek için, organizmada metabolik ısı üretimi artarken, ısı kaybı azaltılır. Bu süreçler, organ sistemlerinin büyük bir uyum içinde çalışması ile gerçekleştiriliyor.

Pirojenik cevap, (deneyel olmak veya klinik anlamda) saatler içinde gelişir ve yine saatler boyunca sürer. Ateşin yüksek olarak seyrettiği dönemlerde, vücutta salınan bazı maddeler vücut sıcaklığının normale dönmescini sağlarlar. Bu maddeler "endojen kriyojen" adını alırlar. Arginin vazopressin ve α-melanosit stimüle edici hormon endojen kriyojenler olarak bilinirler. Endojen kriyojenlerin, normal seyreden vücut sıcaklığını düşürücü bir etkilerinin olmadığını vurgulamak gereklidir.

Ateşin, vücudun nonspesifik savunma stratejileri bakımından büyük bir yaşamsal değeri olduğuna inanılmaktadır. Örneğin, bakterilerin çoğalabilmesi için optimal sıcaklık 37.0°C civarındadır. Vücut sıcaklığının 1 derece artışı ile mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturma olasılığı azaltılmış olmaktadır.

Bazı sitokinlerin, pirojenik yanıtın endojen mediatörleri (endojen pirojenler) olarak rol oynadığına ilişkin deneyel bulgular vardır. Özellikle interlökin-1β invivo deney sistemlerinde tanımlanmış en potent endojen pirojen olarak bilinmektedir. Bunun yanı sıra interlökin-6, makrofaj inflamatuvar protein-1 ve siliyer nörotrofik faktör de endojen pirojen olarak düşünülen sitokinler arasındadır. Tümör nekrozis faktör-alfanın (TNF-α) ise özel durumunu vurgulamak gereklidir: TNF-α pirojendir. Ancak ateş sırasında uygulandığında endojen kriyojenik aktiviteye sahip olduğu da gösterilmiştir.

Adı geçen sitokinlerin, pirojenik yanıt başlatıcı sinyal molekülleri olmalarının yanı sıra proinflamatuvar etkilere de sahip oldukları hatırlanmalıdır. Yani, inflamasyon mediatörü olan bazı endojen maddeler aynı zamanda pirojenik etkinlik göstermektedirler.

Endojen pirojenler ile gelişen ateş cevabının santral mediatörleri büyük olasılıkla prostaglandinlerdir. Ancak örneğin makrofaj inflamatuvar protein-1 ile oluşan ateş cevabında prostaglandinlerin rolü olmadığı da bilinmektedir. Yine de nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların antipiretik etki mekanizması olarak, prostaglandin sentezini inhibe edici özelliklerinin primer bir önemi olduğu düşünülmektedir.

## Ateş cevabına deneyel yaklaşım:

Deneysel olarak ateş oluşturmak için genellikler LPS kullanılır. LPS nin pirojenik etkinliğine en duyarlı deney hayvanı da tavşandır. Ancak son zamanlarda çok çeşitli nedenlerle bu araştırma alanında da rodentler (sığan ve fare) daha sıkılıkla kullanılmaktadır.

Sıçanlarda termoregülasyon fizyolojisi ve farmakolojisi deneyleri tasarlarken, laboratuvar koşulları ile ilgili bazı standartlar gereklidir. Öncelikle, hayvanların muhafaza edildiği mekanda 12 saatlik karanlık/aydınlatık döngüsü olmalıdır. Çünkü normal vücut sıcaklığının sirkadien bir ritmi vardır ve karanlık periyoda doğru vücut sıcaklığında 1 derecelik bir artış olmaktadır. Bu nedenle tüm deneklerin biyorytm bakımından senkronize olması gereklidir. Ortama dışarıdan getirilen bir sıçanın böyle bir senkronizasyon için 1 haftalık bir süreye gereksinimi vardır. Yine biyorytm sebebi ile, pirojenik yanıt için hangi madde kullanılırsa kullanılsın, enjeksiyonların sabah 10.00 ila 12.00 arasında yapılması gereklidir. Aksi halde olası bir pirojenik cevap, ritmik değişikliklerin içinde maskelenebilir.

Deneylelerin yapılacağı laboratuvarın sıcaklığının ise tercihan 24-26°C arasında tutulması gerekmektedir. Daha düşük çevre sıcaklığında yapılan deneylerde daha küçük bir pirojenik yanıt elde edilmektedir.

Standardize edilmesi gereklili bir diğer nokta, sıçanlarda olabilecek stres yanıtının düzeyi ile ilgilidir. Stres yanımı olabildiğince elimine edilmelidir. Sıçanlar strese maruz kalınca hipertermik bir cevap oluşur. Bu nedenle pirojen enjeksiyonuna bağlı olarak gelişecek vücut sıcaklığı artışı, hipertermik cevap içinde maskelenebilir. Ya da saliverilen stres hormonlarının antipiretik özelliklerini sebebi ile ateş cevabı inhibe edilebilir. Bu sebeplerle deneylerde kullanılacak sıçanların, muhafaza edildikleri kafeslerde deneylerin yapılması, deneylerden önce laboratuvara birkaç defa getirilerek, taşımaya veya hayvanlarla temasla bağlı olarak gelişebilecek stres yanıtının azaltılması sağlanabilir.

#### **Deney hayvanlarında vücut sıcaklığı ölçüm yöntemleri:**

En sıkılıkla termometre yardımı ile rektal yoldan ölçülür. Bu metod kullanılan deney hayvanının anatomik özelliklerine uygun bir rektal probun uygulanmasını gerektirir. Böyle bir proba tavşan ya da kedi gibi büyük deney hayvanlarında sürekli bir kayıt yapılması sorun yaratmaz. Ancak rodentlerde probun belirli zaman aralıklarıyla uygulanması önerilir. Bizim deneylerimizde rektal sıcaklık ölçümleri 20 dakikalık aralıklarla, 4-5 cm lik bir rektal proba ölçülmüştür.

Stres yanıtının azaltılması için rektal proba hayvanın deneyden 3-4 gün öncesinden adapte edilmesi gerekmektedir. Tüm bu önlemlere rağmen, rektal yoldan ölçümlerde stabil bir bazal sıcaklık elde edilebilmesi için 6-8 ölçüm yapılması gerekmektedir.

Vücut sıcaklığının, stres cevabını tümü ile消除 ederek ölçülmesi telemetrik yöntem kullanarak mümkündür. Bu yöntemde, deney hayvanının vücut boşullarından birine (örneğin periton içine) frekansı vücut sıcaklığı ile değişen bir radyo vericisi yerleştirilir. Daha sonra bu vericiden gelen sinyaller değerlendirilerek vücut sıcaklığı herhangi bir fiziksel temas olmaksızın kaydedilir.

Vücut sıcaklığı değişimleri sırasında, kuyruk sıcaklığı ve çevre sıcaklığı da aynı anda kaydedildiğinde, denegin cild yolu ile ısı kaybedip kaybetmediğini anlaşılabılır. Bu üç parametre aşağıdaki formül yardımcı ile "ısı kaybı indeksi" olarak ifade edilebilir.

Kuyruk sıcaklığı - ortam sıcaklığı

İsı kaybı indeksi: \_\_\_\_\_

Rektal sıcaklık - ortam sıcaklığı

Indeksin yükselmesi cild yolu ile ısı kaybının artması anlamına gelir.

#### **Lipopolisakkardin sıçanlarda vücut sıcaklığı üzerine olan etkileri:**

Literatür incelendiğinde sıçanların LPS nin pirojenik etkisine dirençli olduğu izlenimi almaktadır. Bir çok araştırmacı LPS ile sıçanlarda pirojenik bir yanıt elde edemediklerini; hatta bazıları ateş yerine hipotermi gözdikediklerini bildirmektedirler. Ancak son çalışmalar, stresin azaltılması ve çevresel koşulların daha standart hale getirilmesi durumunda sıçanlarda da LPS ile ateş oluşabileceğini göstermektedir.

Bizim ön çalışmalarımızda ise, belirlenen deneysel standartlara uyamamıza karşın, farklı LPS lerin aynı dozda farklı termoregulatuvar cevaplara sebep olduğunu gözledi. Bu durumda, cevapların kullanılan LPS türüne de bağlı olabileceğini düşündük. Bunu sistematik olarak 3 farklı LPS kullanarak, doz cevap ilişkisi bağlamında gözlemeyi planladık.

Deneyselimizde Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. *E. coli* O111:B4, O55:B5 ve O127:B8 serotiplerinin fenol ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen LPS ieri, 2, 50 ve 250 µg/kg dozlarda intraperitoneal yolla enjekte edildi. Vücut sıcaklığı elektrikli bir termometre (Ellab) aracılığı ile rektal yoldan veya periton içine yerleştirilmiş vericiler yardımı ile telemetrik (Mini Mitter) yöntemle ölçüldü. Deneyler, sıcaklığı 24-26°C de tutulan bir laboratuvara yapıldı.

*E. coli* O55:B5 LPS si her üç dozda da pirojenik bir cevap oluşturdu. Diğer iki LPS ise sadece 2 µg/kg dozunda pirojenik yanıt sebep oldu. Doz yükseldikçe yanıt dual bir nitelik kazandı. Yani başlangıçta doz bağımlı bir hipotermik cevap gözlemlendi. Bunu, yine doza bağımlı olarak daha geç ortaya çıkan bir ateş cevabı izledi. Bu bulgular, LPS ile oluşan termoregulatuvar yanıtlardaki heterojenitenin, LPS lerin yapısal farklılıklar ile ilişkili olabileceğini düşündürdü. Gözlenen hipotermik yanıtlarında stres faktörünün rolü olup olmadığını analiz etmek amacıyla her üç LPS 50 µg/kg dozunda enjekte edilerek vücut sıcaklığı telemetrik olarak kayıt edildi. Bu durumda, her 3 LPS ile dual bir yanıt paterni tespit edildi. Bu bulgu hipotermiin stres ile ilişkili olmadığını düşündürdü.

LPS ile oluşan hipotermik cevabin özelliklerini belirlemek amacıyla deneyler sürdürdü. Bu deneyler için *E. Coli* O111:B4 LPS si 50 µg/kg dozda kullanıldı. Gelişen hipotermi sırasında, cild yolu ile ısı kaybı olmadığı tespit edildi. Hipotermiin başlangıç döneminde alınan kan örneklerinde ELISA yöntemi ile yapılan kantitasyonlarda serum TNF-α seviyesinin artığı, interlökin-1β ve interferon-γ seviyelerinin değişmediği saptandı. Hipotermiin farmakolojik olarak karakterizasyonu amacıyla, L-NAMΕ (10 mg/kg) ve indometazin (0.5 mg/kg) cild altı yolla; LPS enjeksiyonu ile eş zamanlı olarak uygulandı. L-NAMΕ hipotermik cevabı değiştirmeden. İndometazin ise hipotermiyi ve hipotermiye eşlik eden TNF-α artışı bloke etti. Bu durumda pirojenik cevap daha erken başladı ve daha potent olarak izlendi.

#### **Sonuç:**

Farklı LPS ler ile sıçanlarda farklı nitelikte termoregulatuvar yanıtlar gözlemlenebilir. Bu nedenle, kullanılan LPS nin belirlenmesi deneylerin karşılaştırılabilir olması bakımından gereklidir. LPS sepsis oluşturmayan dozlarda sıçanlarda ateşle birlikte hipotermik bir yanıt sebep olmaktadır. Bulgularımız bu hipotermiin LPS nin vazodilatör etkisine sekonder olarak gelişmediğini göstermektedir. Hipotermiye seruma selektif bir proinflamatuar sitokin artışı eşlik etmektedir. Bu sitokin, endojen kriyojen olarak da fonksiyon görebilen TNF-α dir. TNF-α nin salınımı inhibe edildiğinde ateş cevabı daha belirgin olarak

ortaya çıkmaktadır. Bu durum hipotermi ve ateşin, inflamatuvar bir uyarana karşı geliştirilen adaptif cevabın iki farklı stratejisi olarak ele alınabileceğini düşündürmektedir. Fonksiyonel olarak hipotermik cevap, oluşacak pirojenik yanıtın büyülüğünün kontrol edilmesi gibi bir öneme sahip olabilir.

Bulgular, hipoterminin, ateş gibi spesifik bir termoregulatuvardan yanıt olabileceğini akla getirmektedir. Vücut sıcaklığında bu şekilde oluşabilecek koordineli düşümlere terminolojik olarak "anapireksi" denilmektedir. O halde anapireksi sığanlarda (tipki ateş gibi) AFR'nun bir parametresi olarak değerlendirilmelidir.

*Bu çalışma, TÜBİTAK (SBAG-1881) ve Ankara Üniversitesi Araştırma Fonunca (97.09.00.34) desteklenmiştir.*

#### **Kaynaklar:**

- E. Briese (1998): Normal body temperature of rats: the set point controversy. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 22: 427.
- F. Coceani, E.S. Akarsu (1998): Prostaglandin E<sub>2</sub> in the pathogenesis of fever. An update. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 856: 76.
- J.K. Elmquist, T.E. Scammel, C.B. Saper (1997): Mechanism of CNS response to systemic immune challenge: the febrile response. *TINS*, 20: 565.
- M.J. Kluger (1991): Fever: role pyrogens and cryogenes. *Physiological Rev.*, 71: 93.
- H. Moltz (1993): Fever: causes and consequences. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 17: 237.
- A.A. Romanovsky, M. Szekely (1998): Fever and hypothermia: two adaptive thermoregulatory responses to systemic inflammation. *Med. Hypotheses*, 50: 219.
- N.J. Rothwell (1997): Neuroimmune interactions: the role of cytokines. *Brit. J. Pharmacol.*, 121: 841.
- C.B. Saper, C.D. Breder (1994): The neurological basis of fever. *N. Engl. J. Med.*, 330:1880.

