Mast Hücrelerinin Degranülasyonu ile Serum Çinko Seviyeleri Arasında İlişki ve Yeni bir Tepkisel Beslenme (feed - back) Mekanizması

Naci M. Bor, Ahmet Noyan, Gülsen Öner, Ayten Arcasoy, Ayhan Çavdar ve Sema Özer

Ön Bildiri

Mast hücrelerinde heparin, çinko ve histaminin birleşik halde granüller teşkil ettiği iddia edilmiştir.[1,2] Diğer taraftan pek çok fizyolojik ve patolojik şartlarda mast hücrelerinin granüllerden yoksun (degranule) olduğu gösterilmiştir.[5,6] Bu gibi durumlarda serumda histamin, heparin ve serotonin salgılandığı ve bunların bazan yüksek seviyelere ulaştığı [9,14] gösterilmişse de ayni zamanda serum Zn seviyesinin ne durumda olduğu bilinmemektedir. Halbuki bu bilgi gerek Zn'nun biolojik öneminin öğrenilmesinde gerek mast hücresinin degranülasyonu ile ilgili hastalıkların fizyopatolojisinin açıklanmasında önemli olabilir. Bu sebepledir ki bu yazımızda ön bulgularını sunduğumuz çalışmayı yaptık.

Materyel ve Metod :

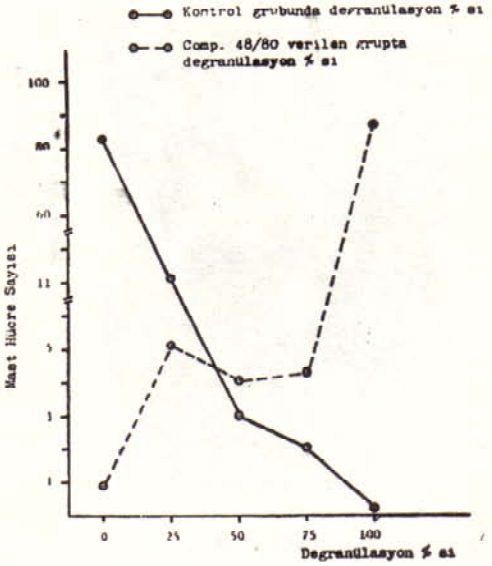
24 - 48 saat aç bırakılmış 100 - 150 gr. ağırlığında üç gruba ayrılan 41 rat bu çalışma için kullanıldı. Birinci gruptaki 17 rat eter ile uyutulduktan sonra periton boşluğuna 1 ml. serum fizyolojik verildi. 15 dakika bekledikten sonra tekrar eter verilerek uyutulan hayvanlar dekabite edilerek kardiak ponksiyon ile 1 - 2 ml. kan alındı. Ayrıca barsakları çıkarılarak travmatize edilmeden formolde tesbit edildi ve toluidin mavisi ile boyandıktan sonra lam üze-

* Hacettepe Üniv. Tıbbî ve Cerrahî Araştırma Merkezi'nden.

rine tesbit edilerek ışık mikroskobu ile incelendi II ve III ncü gruptaki ratlara 1 ml. serum fizyolojik içinde sırasiyle 200 ve 400 ug 48/80 intraperitoneal yoldan enjekte edildi ve 15 dakika bekledikten sonra birinci grupta izah edilen işlemler aynen takip edildi. Alınan kan örneklerinde serum çinko seviyeleri Perkin Elmer Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (Model 103) ile ölçüldü.



Şekil : 1



Şekil : 2

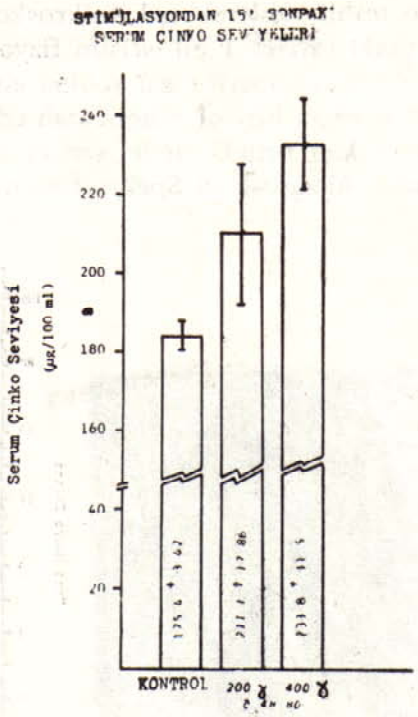
Bulgular :

Mast hücrelerinde de-granülasyon :

Kontrol grubunda başlangıçta yaptığımız deneylerden hazırlanan bazı preparatlarda Mast hücrelerinin orta derecede degranulasyona uğradığı görüldü ise de daha sonraki deneylerde mast hücreleri genellikle iyi boyanmış ve normal görünümde idiler (Şekil 1). 48/80 verilen grupta degranulasyon ilâcın dozu ile paralel bir artış göstererek 400 ug verilenlerde maksimale ulaştı (Şekil 2). Genellikle 200 ug verilen hayvanlarda % 20 - 30 kadar, 400 ug verilenlerde % 30 - 75 kadar degranulasyon tahmin edildi. Ancak kontrol vakalarda dahi bazı mast hücreleri belli derecede degranüle olduğu halde diğer mast hücrelerinin granülleri tamamen normal bulundu. 400 ug 48/80 verilenlerde ise mast hücreleri genellikle ileri derecede granülden yoksun idiler (Şekil 3).



Şekil : 3



Şekil : 4

Serum Çinko seviyesi :

Kontrol serimizi teşkil eden 17 vakada serum çinkosu 156 ile 195 arasında değişti. Aritmetik ortalama 175.4 ve standart hata (S.H.) ± 3.42 idi. İntraperitoneal olarak 200 ug 48/80 verilen 7 ratta ortalama serum Zn seviyesi yükselmiş ise de vaka adedi az olduğu için bunları istatistik değerlendirmeye katmadık. Dozu artırarak yaptığımız deneylerde ise (400 ug I.P.) serum çinko seviyesi 233.8 ± 11.50 ya yükseldi. Bu artış istatistik olarak da önemli idi ($p < 0.001$) (Şekil 4).

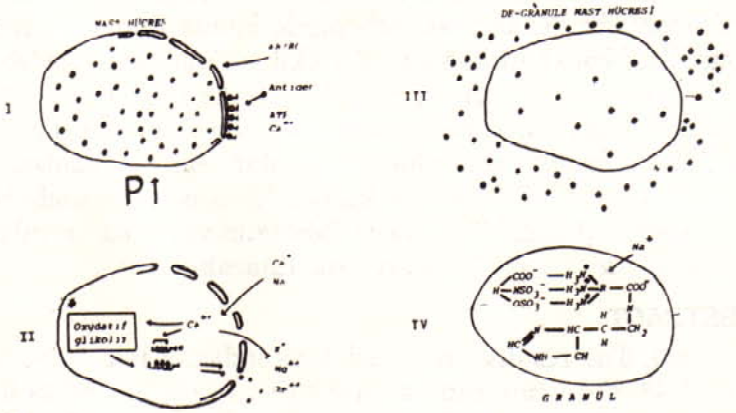
Serum çinko seviyeleri ile mast hücrelerinin degranulasyonu arasında bir korelasyon bulunamadı ($p > 0.05$).

Tartışma :

Yukarıda sunduğumuz deliller mast hücrelerini de-granüle eden compound 48/80 in serum çinko seviyelerini de anlamlı olarak yükselttiğini göstermektedir. Ancak mast hücrelerinin de-gra-

nulasyon nisbeti ile serum Zn seviyeleri arasında bariz bir paralelizm mevcut olmasına rağmen bu deneylerin sonuçlarında istatistik yönden anlamlı bir korelasyon bulunamadı ($p > 0.005$). Bunun muhtemel sebebi salgılanan Zn++'nun bir kısmının başka kaynaklardan gelmesi olabilir.[15,16] Nitekim lökositlerin granüllerinde ve ayrıca hem lökositlerin hem de eritrositlerin zarında bol miktarda çinko mevcut olduğu gösterilmiştir.[17,18] 48/80 bileşiği muhtemelen bu ve belki de diğer hücrelerden de Zn'nun salınmasına sebep olmaktadır.

Diğer taraftan mast hücrelerinin de-granulasyonu esnasında serum histamin ve heparin seviyesinin yükseldiği bilinmektedir.[3,4,6,8,10,12] Bir çok müellifler tarafından teyid edilmiş olan bu bulguların serum çinko seviyesinin yükselmesi ile ilgisi acaba nedir? Bu sualin cevabını önce literatürde aramak gerekir : Genel olarak kabul edildiğine göre hormonların salgı mekanizmasında birinci adım salgı hücrelerinde zar geçirgenliğinin artmasıdır. Bu artış bazı hücrelerde acetylcholin, diğerlerinde adrenalin veya antigen-antikor etkileşmesi sonucu olarak veya 48/80 bileşiği gibi kimyasal araçların etkisi ile sağlanır (Şekil 5 - 1). Neticede intersellüler mesafeden Ca++ ve Na+ hücreye girer ve elektrostatik dengeyi



ŞEKİL 5

sağlamak üzere K+, Mg++ hücreler arası mesafesine çıkar (Şekil 5 - II). Hücre içinde Ca++ un artması oksidatif bir glikolitik olaylar serisi başlatır ki bunun sonunda mikrofilamentöz sistem uyarılarak kasılır ve mikrokanalikuler sistemin aracılığı ile granüller hücre dışına atılırlar (emiocytosis) (Şekil 5 - III).

Granüllerde mevcut histamin, protein ve heparinin (Şekil 5 - IV) oldukça stabil bir bileşik yaptığı bilinmektedir. Bu bileşik

Zn++ ile daha da kuvvetli bir elektrostatik dengeye ulaşır ve granülün hücre içinde depo edilmesini sağlar. Granül hücreler arası mesafeye dökülünce interselluler sıvıda mevcut Na+ granül içindeki (—NH_3+) gruplarının yerini alır ve (—COOH) ve (—SO_4=) grupları ile bağlanarak (ion exchange) granülden aktif maddelerin salgılanmasını sağlar (Uvnas). Yukarıda sunulan bulgulara göre 48/80 bileşiği etkisini takiben serumda konsantrasyonu yükselen Zn++ muhtemelen bu safhada serbest kalmaktadır.

Diğer taraftan hücreler arası mesafesine çıkan Mg++'un hücre zarını stabilize eden yani onun permeabilitesini azaltan bir etkisi olduğu bilinmektedir.[19] Son zamanlarda bazı araştırıcılar Zn++'nun da buna benzer etkisi olduğunu göstermişlerdir [18, 20] Bu iki ion Ca++'un hücre içine girmesine imkân veren artmış permeabiliteyi azaltarak bir nevi feed-back (tepkisel beslenme) mekanizması oluşturmaktadırlar. İlgi çekici olan Mg ++ ionunun Ca ++'un hücre içine girişine karşı hemen hücre dışına çıkması yani permeabiliteyi erken dönemde azaltmasıdır. Bu safhada ekstrasellüler mesafede Zn++ seviyesinde ne gibi değişiklikler olduğunu bilmiyoruz. Ca++'un hücreye girişi ile uyarılan intraselluler olaylar sonucu histamin salgılanınca Zn++'nun da serumda ve şüphesiz daha önce hücreler arası mesafesinde yükseldiği bulgularımızla ispat edilmektedir. Yukarıdaki sebeplerle bunun ikinci bir tepkisel beslenme (feed-back) mekanizması teşkil ettiğini kabul edebiliriz. Organizma bu sayede hücre içine daha çok Ca++ girmesine, daha çok histamin salgılanmasına ve dolayısiyle olayların durdurulamaz bir fasit daire haline gelmesine engel olur. Bu mekanizmaların başta allerjik temellere dayanan hastalıkların patojenisinde büyük önemi olması muhtemeldir. Halen laboratuvarımızda yapılan deneyler umarız ki bu problemlere ışık tutacaktır.

ABSTRACT

Abstract. The results presented here indicate that injection of compound 48/80 to rats causes serum zinc levels to rise as a dose dependent reaction $p < 0.001$ and as a function of time ($p < 0.001$). The mast cell number and the percentage of degranulation per cell observed at the mesentery of compound 48/80 treated rats was very significantly smaller compared to the control series ($p < 0.001$).

KAYNAKLAR

1. Phill, E. and Gustafson, G.T.: Heavy metals in rat mast cell granules. Labor. Invest., 17: 588, 1967.

2. Kamierczak, W. and Maslinski, C.: The mechanism of the inhibitory action of zinc on histamin release from mast cells by compound 48/80. Agents and Actions, 4: 203, 1974.
3. Kruger, P.G. and Diamant, B., Dahlquist, R.: Morphological changes induced by ATP on rat mast cells and their relationship to histamin release. Int. Arch. Allergy, 46: 676, 1974.
4. Grosman, N., Diamant, B.: Studies on the influence of calcium in the anaphylactic histamine release from isolated rat mast cells. Agents and Actions, 4: 198, 1974.
5. Rohlich, P., Anderson, P., Unnäs, B.: Electron microscope observations on comp. 48/80 induced degranulation in rat mast cells. J. Cell Biol., 51: 465, 1971.
6. Orr, T.S.C., Hall, D.S., Gwilliam, J.M., Cux, J.S.G.: The effect of disodium cromoglycate on the release of histamine and degranulation of rat mast cells induced by comp. 48/80. Life Science, 10: 805, 1971.
7. Bergquist, U., Samuelsson, G., Uvnäs, B.: Chemical composition of basophil granules from isolated mast cells. Acta Physiol. Scand., 83: 362, 1971.
8. Dahlquist, R., Diamant, B. and Kruger, P.G.: Increased permeability of the rat mast cells to sodium and potassium caused by extracelluler ATP and its relationship to histamin release. Int. Arch. Allergy, 46: 655, 1974.
9. Uvnäs, B.: Mode of binding and release of histamin in mast cell granules from the rat. Fed. Proc., 26: 219, 1967.
10. Thon, I.L. and Uvnäs, B.: Mode of storage of histamine in mast cells. Acta Physiol. Scand., 67: 455-70, 1966.
11. Bergendorf, A. and Uvnäs, B.: Storage of 5 hydroxytriptamine in rat mast cells. Evidence for an ionic binding to carboxyl group in a granule heparin protein complex. Acta Physiol. Scand., 84: 320, 1972.
12. Uvnäs, B.: Histamine storage and release. Fed. Proc., 33: 2172-76, 1974.
13. Uvnäs, B.: Histamine release in allergic conditions in allergology. Edts. M. Rose, B. Richter, A. Sehan, A.W. Frankland. Excerpta Med. Foundation Amsterdam, 1968.
14. Diamant, B., Kruger, P.G.: Histamine release from isolated rat peritoneal mast cells induced by adenosine 5-triphosphate. Acta Physiol. Scand., 71: 291, 1967.
15. Parisi, A.F., Vallee, B.L.: Zinc metalloenzymes: Characteristics and significance in biology and medicine. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 1222, 1969.
16. Reinhold, J.G., Kfoury, G.A.: Zinc dependent enzymes in zinc depleted rats. Intestinal alkaline phosphatase. Amer. J. Clin. Nutr., 22: 1250, 1969.
17. Kozlowski, J., Litwin, J., Sitniewski, S.: A histochemical study of the granulocyte zinc content in cutaneous neoplasia skin. Reactions to internal malignancy. Acta Derm. Venereol. 47: 269, 1967.
18. Chvapil, M.: New aspects in the biological role of zinc. A stabilizer of macromolecules and biological membranes. Life Sciences, 13: 1041, 1973.
19. Malaisse, W.J.: Insulin secretion multifactorial regulation for a single process of release. Diabetologia, 9: 12, 1973.
20. Chvapil, M., Ryan, J.N., Zukoski, C.F.: The effect of Zinc and other metals on the stability of lysisomes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 140: 642, 1972.