

2004-423

52351



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Committee

**AKUT VE KRONİK STRESİN BARSAK HEMODİNAMİĞİNE ETKİSİ:
ENDOTELİN RESEPTÖR BLOKERLERİNİN ROLÜ**

PROJE NO: SBAG-2605

1028084

52351

DR. SALAH GHANDOUR (GANDUR)
YRD. DOÇ. DR. ŞULE ÇETİNEL
PROF. DR. HIZIR KURTEL

MAYIS 2004
İSTANBUL

ÖNSÖZ

Bu projede akut ve kronik strese bağlı barsak hemodinamiği ve inflamatuvar parametrelerde meydana gelen değişiklikleri karakterize etmek ve endotelin reseptörlerinin bu değişikliklerdeki rolünü araştırmak amaçlanmıştır. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu tarafından desteklenen projemizde (proje no: SBAG-2605) akut ve kronik stres uygulamalarının barsak kan akımında azalmaya, ince barsakta inflamatuvar değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir. Akut strese bağlı hemodinamik ve inflamatuvar değişiklikler, her iki endotelin reseptör antagonisti (ET-A reseptör antagonisti BQ485 ve ET-B reseptör antagonisti BQ788) uygulamaları ile düzelmiş, kronik stresin etkilerinde ise sadece ET-A antagonisti etkili olmuştur. Bu sonuçlar, akut ve kronik strese bağlı mezenterik vazokonstriksiyon ve ince barsak inflamatuvar değişikliklerinde endotelinlerin önemli rolleri olduğunu göstermektedir.

Projemizi vermiş olduğu katkıdan dolayı Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu'na teşekkürü bir borç biliriz.

Prof. Dr. Hızır Kurtel

Proje Yürütücüsü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	4
ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTELERİ	5
ÖZ	7
ABSTRACT	8
GİRİŞ	9
GENEL BİLGİLER	9
GEREÇ VE YÖNTEM	11
BULGULAR	14
TARTIŞMA / SONUÇ	33
REFERANSLAR	42
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU	46

ŞEKİL, RESİM VE TABLOLARIN LİSTELERİ

Sekillerin Listesi	Sayfa
Şekil 1. Akut ve kronik stres uygulamalarının süperiyor mezenterik arter (SMA) kan akımı (a) ve rezistansı (b) üzerine etkileri.	15
Şekil 2. Kronik stresin sıçanlarda vücut ağırlığına etkisi.	16
Şekil 3. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinin miyeloperoksidaz (MPO) aktivitelerindeki değişiklikler.	17
Şekil 4. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinde tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşiklerin (TBARB) miktarındaki (a) ve glutatyon (GSH) düzeylerindeki (b) değişiklikler.	19
Şekil 5. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinin histolojik skorlamasındaki değişiklikler.	20
Şekil 6. Akut strese (AS) bağlı SMA kan akımı (a) ve rezistansı (b) değişikliklerinde ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	22
Şekil 7. Akut strese (AS) bağlı ince barsağın MPO aktivitesin değişikliklerinde ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	23
Şekil 8. Akut streste ET reseptör antagonistleri ile tedavilerin doku tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşikler (TBARB) miktarı (a) ve glutatyon (GSH) (b) düzeyleri üzerine etkisi.	25
Şekil 9. Akut strese (AS) bağlı ince barsağın histolojik skorlamasına ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	26
Şekil 10. Üç günlük kronik strese (KS) bağlı (SMA) kan akımı (a) ve rezistans (b) değişikliklerinde ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	28
Şekil 11. Üç günlük kronik strese (KS) bağlı ince barsağın MPO aktivitesi değişikliklerinde ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	29
Şekil 12. Üç günlük kronik streste ET reseptör antagonistleri ile tedavilerin doku TBARB (a) ve GSH (b) düzeyler üzerine etkisi.	31
Şekil 13. Üç günlük kronik strese (KS) bağlı ince barsağın histolojik skorlamasındaki değişikliklerde ET-A (BQ-485) ve / veya ET-B (BQ-788) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.	32

Tabloların Listesi**Sayfa**

Tablo 1.	İnce barsak hasarının mikroskopik skorlamasında kullanılan kriterler	13
Tablo 2.	Akut ve kronik stres gruplarında kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değışiklikleri.	16
Tablo 3.	Akut stres ve ET reseptör antagonistleri ile tedavi gruplarında kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değışiklikleri.	23
Tablo 4.	Üç günlük kronik stres ve ET reseptör antagonistleri ile tedavi grupları arasındaki kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değışiklikleri.	29

ÖZ

Gastrointestinal sistemin çeşitli hastalıklarının patogeneğinde stresin önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Stres ile ilişkilendirilen hastalıklar arasında özellikle fonksiyonel ve inflamatuvar barsak hastalıkları sayılabilir. Stresin gastrointestinal sistem hemodinamiğinde önemli değişikliklere neden olduğu ileri sürülmüşse de mezenterik kan akımında strese bağlı meydana gelen değişiklikler ve bundan sorumlu aracı moleküller tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amaçları: 1) akut ve kronik strese bağlı barsak hemodinamiği ve inflamatuvar parametrelerde meydana gelen değişiklikleri karakterize etmek ve 2) endotelin (ET) reseptörlerinin bu değişikliklerdeki rolünü araştırmaktır. Akut stres, Wistar Albino sıçanlara 2 saat süreyle sudan kaçınma stresi uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Hemodinamik değişiklikler akut ve kronik stres (günde bir kez 3 veya 5 gün süreyle stres) uygulamalarından hemen sonra ölçülmüştür. Diğer bir deney grubunda ise ölçümler kronik stres süresinin bitiminden 3 veya 5 gün sonra gerçekleştirilmiştir. Endotelin-A (BQ-485; 60 µg/kg/gün, i.p.) ve/veya endotelin-B reseptör antagonistleri (BQ-788; 60 µg/kg/gün, i.p.) her stres uygulamasından 20 dakika önce verilmiştir. İnce barsaktan alınan doku örneklerinde histolojik değerlendirme, miyeloperoksidaz aktivitesi (MPO) ve lipid peroksidasyonu ölçümleri yapılmıştır. Akut stres kan basıncında yükselişe, SMA kan akımında azalışa ve ince barsağın MPO aktivitesinde, lipid peroksidasyonunda ve mikroskopik hasarında artışa neden olmuştur. Kronik stres ise, SMA kan akımında azaltmaya, MPO aktivitesinde, lipid peroksidasyonu ve histolojik hasarında ise artışa yol açmıştır. Akut strese bağlı hemodinamik ve inflamatuvar değişiklikler, her iki endotelin reseptör antagonistinin uygulanması ile düzelmiş, kronik stresin etkilerinde ise sadece ET-A antagonisti etkili olmuştur. Bu sonuçlar, akut ve kronik strese bağlı mezenterik vazokonstriksiyonda ve ince barsak inflamatuvar değişikliklerinde endotelin peptidlerin önemli roller oynadığını göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: psikolojik stres, endotelin, barsak, mezenterik, inflamasyon.

ABSTRACT

Several studies have described the effect of stress in the pathogenesis of variety of gastrointestinal conditions, with emphasis placed on its role in functional and inflammatory bowel disorders. Although stress have been shown to cause important changes in the hemodynamics of the gastrointestinal system, the stress induced mesenteric blood flow changes and the responsible molecules have not been well studied. The objectives of the present study 1) to characterize the effects of acute and chronic stress on the intestinal hemodynamics and inflammatory parameters and 2) to investigate the role of endothelin receptor antagonists on these changes. Acute stress was induced by water avoidance for 2-hours. Hemodynamic changes were measured immediately after the acute or chronic stress (daily induction of stress for 3 or 5 days) applications. In an additional group of rats, measurements were obtained 1 or 3 days after chronic stress period. Endothelin A and B receptor antagonists (BQ485 and BQ788, 60 μ g/kg/day,i.p) were administered 20 minutes before each stress in a selected group. At the end of experiments, plasma samples were collected and the small intestine was removed, weighted and stored for histological and biochemical determinations. Both acute and chronic stress decreased the SMA blood flow and increased the intestinal MPO activity, lipid peroxidation and microscopic damage. Although both ET receptor antagonists inhibited the acute stress-induced hemodynamic and inflammatory changes, only ET-A receptor antagonist was effective in the chronic stress. These results suggest that endothelin receptors play an important role in the hemodynamic and inflammatory changes induced by acute and chronic psychological stress.

Key Words: psychological stress, endothelin, intestine, mesenteric, inflammation

GİRİŞ

Psikobiyolojik bir süreç olan stres canlıların psikolojik ve bedensel sağlığı üzerinde önemli etkilere sahiptir. Stres değişik organ sistemlerini farklı şekillerde etkilerken, birçok hastalığın patogeneğinde ve prognozunda önemli rol oynamaktadır. Bilinen en güçlü vazokonstriktör peptitlerden olan endotelin (ET) peptidler, gastrointestinal sistemin (GIS)'in fizyolojisinde ve patofizyolojisinde önemli rolü olan ajanlardır. Stresin ET düzeylerini artırdığı bilinmekte, ET ile meydana gelen biyolojik etkilerin bir kısmı stres sırasında oluşan değişiklikler ile benzerlik oluşturmaktadır. Stresin GIS üzerindeki etkilerini karakterize eden çalışmalar kısıtlıdır ve GIS'de stres ile meydana gelen değişikliklerde ET'in rolü araştırılmamıştır. Ayrıca akut ve kronik stresin mezenterik dolaşımın hemodinamiğini nasıl etkilediği, ince barsak inflamatuvar parametreleri üzerine olan etkileri ve ET'nin strese bağlı değişikliklerdeki rolü bilinmemektedir.

AMAÇLAR:

Bu çalışmanın amaçları 1) akut ve kronik stresin çeşitli intestinal parametreler üzerindeki etkilerini karakterize etmek, 2) ET reseptör antagonistleri kullanarak meydana gelen bu değişikliklerde ET'lerin olası rolünü ortaya çıkarmaktır.

GENEL BİLGİLER

Sağlıklı organizmada stres cevabı genellikle bir uyarı olarak görülür ve tehlikeye karşı koruyucu bir mekanizmadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar fiziksel veya psikolojik stres türlerinin intestinal fonksiyonun düzenlenmesinde önemli roller oynadığını göstermektedir. Gastrointestinal sistem (GIS)'in akut ve kronik seyirli hastalıklarında stresin klinik gidişi ve semptomları etkilediği bilinmektedir. Genel olarak stres (akut veya kronik), iyon ve büyük moleküllerin permeabilitesini, su sekresyonunu ve mukus salınımını stimüle etmekte (1,2), mast hücre aktivasyonu (3,4,5) ve barsak mukozasında ödeme sebep olmakta (6), reaktif oksijen metabolitleri (ROM)'nin artmış salınımına (7), bakterilerin mukozal adezyonuna neden olmakta (8) ve intestinal bariyer bütünlüğü bozarak epiteliyal geçirgenliği arttırmaktadır (1,5). Strese bağlı gelişen intestinal epiteliyal patolojide hipotalamus-pituiter-adrenal (HPA) aksın ve kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF) etkileşiminin rol oynadığı

ileri sürülmüş olsa da (9), meydana gelen inflamatuvar değişikliklerin modülasyonu ile ilgili çelişki bulgular bulunmakta ve özellikle periferik mekanizmaların da artan bir şekilde önem kazandığı gözlenmektedir (10).

Stresin gastrointestinal kanalda tanımlanan etkileri, inflamatuvar değişiklikler ile karakterize hastalıklarda (örn; kolit, crohn, iskemi-reperfüzyon, ülser, vb.) patogenezin seyri açısından önemli olduğunu düşündürmektedir. İnflamatuvar süreçler sırasında meydana gelen önemli olaylardan birisi de doku kan akımında meydana gelen değişikliklerdir. Yapılan çalışmalar, stresin GİS dahil birçok vasküler yatakta önemli hemodinamik değişikliklere yol açtığını göstermektedir (11). Örneğin midede gastric mukozal kan akımı akut stres nedeni ile azalırken (12) bu azalış diğer patofizyolojik olaylarla birlikte gastrik mukozal erozyon ve ülserlerin oluşumuna katkıda bulunmaktadır (13,14). Benzer değişiklikler mezenterik kan akımı için de ileri sürülmekle beraber (15,16) akut ve kronik stres durumlarında mezenterik dolaşımda meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklerde rol oynayan olası aracı moleküller tam olarak bilinmemektedir.

Doku kan akımı üzerinde etkili olan önemli endojen moleküllerden birisi de endotelin (ET) peptidleridir (17). ET'ler ET-A ve ET-B reseptörleri aracılığıyla önemli biyolojik etkilere neden olmaktadır (18,19). Bu etkiler arasında mezenterik arter rezistansında artma, kan akımında azalma, epiteliyal geçirgenlikte, lökosit–endotel hücre adezyonunda artma ve ROM'nin salınımı sayılabilir (18, 20). ET antagonizması intestinal inflamasyonun çeşitli tiplerinde doku hasarını azaltırken, epiteliyal permeabilityi düzeltmekte ve doku kanlanmasını arttırmaktadır (21). Ayrıca GİS'in inflamasyon ile karakterize birçok hastalığının ET düzeylerinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (18). Stres ile ET peptidlerin salınımı arasında ise pozitif bir korelasyon olduğunu ileri süren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin deney hayvanlarının 12 saat süreyle gürültüye maruz kalması serum gastrin ve ET-1 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırmıştır (22). Başka bir çalışmada ise immobilizasyon stresinin ısı proteini 70 ile ilgili gen aktivasyonuna yol açarken dolaşımda fenilefrin, vazopressin, dopamin ve ET düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (23). İnsanlarda yapılan bir çalışmada ise 30 dakika süreli mental stres sempatik aktivasyona neden olurken buna renal kan akımında azalma ve ET-1'in üriner atılımında artma eşlik etmiştir (24). Her ne kadar bu çalışmaların sonuçları strese bağlı değişikliklerde ET 'lerin önemli

olabileceğini düşündürmüŖse de stresin ince barsak kan akımı üzerindeki etkilerinde ET'lerin olası rolü bilinmemektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Denekler:

Çalışmada her iki cins Wistar Albino sıçanlar (250-300 gr) kullanılmıştır. Bu çalışma Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul (26.6.2002/16.2002.mar) kararı ile onaylanmıştır. Hayvanlar 22 ± 2 ° C sıcaklığında, % 65-70 nem içeren ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık dönemleri sağlanan bir ortamda muhafaza edilmiş, standart laboratuvar yemiyle beslenmiştir. Deneylere başlanmadan önce hayvanlar bulundukları ortama en az bir hafta süreyle alıştıırılmışlardır.

Stres Yöntemleri:

- a) Akut Stres: Akut stres 90 cm çapında, 50 cm su derinliği olan ve ortasında 8x8 cm boyutlarında su seviyesinin 1 cm üzerinde platform bulunan bir havuzda deney hayvanlarının 2 saat süreyle tutulması ile gerçekleştirilmiştir.
- b) Kronik Stres: Kronik stres, akut stresin günün aynı saatlerinde ve aynı sürede (2 saat), 5 gün boyunca tekrar edilmesi ile uygulanmıştır. Ayrıca grupta yem tüketimi ve ağırlık takibi yapılmıştır.

Hemodinamik Ölçümler:

SMA kan akımı ultrasonik transit geçiş metodu ile ölçüldü. Buna göre 1 mm çapındaki 1RB akım probu (Transonic Systems Inc., Ithaca, NY) SMA'in izole edilmesini takiben damar çevresine yerleştirildi. Proben içinde iki adet transducer bulunmakta olup damar içinde meydana gelebilecek iki yönlü akıma hassas olacak şekilde tasarlanmıştır. Meydana gelen ultrasonik sinyallerin ölçümünden sonra probun yerleştirildiği yerden birim zamanda geçen net kan hacmi akım ölçer vasıtası ile hesaplanmaktadır (model T106; Transonic Systems). Ultrasonik akım ölçerden elde edilen değerler (ml/dk) daha sonra 100 gr ince barsak dokusu başına normalize edilmiştir (ml/dk/100 gr). Kan akımı değerlerinin ölçümü sırasında kan basıncı da eş zamanlı olarak, Nihon Kohden kayıt aracı kullanılarak (model AP-621G)

kaydedildi. SMA rezistansı (mmHg/ml/dk/100gr doku), ortalama arteriyel basıncın [(Sistolik Basınc + 2Diastolik Basınc / 3)], SMA akımına bölünmesi ile hesaplandı.

Doku Miyeloperoksidaz Aktivitesi (MPO) Ölçümü:

Doku MPO aktivitesi, dokuda nötrofil infiltrasyonunu gösteren biyokimyasal bir parametredir. Bu amaçla doku örnekleri % 0.5 'lik HETAP (50mM potasyum fosfat tamponu içinde; pH 6) ile homojenize edildikten sonra, 12000 rpm'de 10 dk , 4 °C 'de santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra, pellet aynı hacimde 50 mM K₂HPO₄ ile yeniden homojenize edildi. MPO aktivitesi o-dianisidin. 2HCl (20mg/ml)'in H₂O₂ (20 mM)'e bağlı oksidasyonunun spektrofotometrik ölçümüyle saptandı. Bir ünite enzim aktivitesi 37 ° C'de 460 nm absorbansta (1.0 ml/dak) meydana gelen değişik olarak değerlendirildi (27).

Protein Oksidasyonu (Karbonil Oluşumu) Ölçümü;

Protein oksidasyonu, 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNP)'in proteinlerin okside olması sonucu ortaya çıkan karbonil grupları ile etkileşip 2,4-dinitrofenilhidrazon oluşturması sonucunda 380 nm'de verdiği absorbans ölçülerek saptandı. Bu amaçla, dokular % 10'luk fosfat tampon çözeltisi ile homojenize edildikten sonra Lowry metodu ile doku protein miktarı tayin edildi (28). Daha sonra örnekler, 1-1.2 mg/ml protein içerecek şekilde fosfat tamponu ile sulandırıldı, belirli hacimdeki örnekler aynı hacimde % 20'lik triklor asetik asit (TCA) ile 14.000 devir/dak'da santrifüj edildi. Bu yolla çöktürülen proteinlerin üzerine 10 mM DNP eklenerek oda ısısında 1 saat bekletilecek ve yine % 20'lik TCA ile 3 dakika 14.000 devir/dak'da santrifüje edildi. Reaksiyona girmemiş DNP'yi uzaklaştırmak amacı ile, çöktürülen proteinler 1ml etanol:etilasetat (1:1) solüsyonu ile iki kez yıkandıktan sonra pellet 1 ml, 1N NaOH çözeltisi ile çözündürüldü ve spektrofotometre ile 380 nm'de verdiği absorbans okundu. (29).

Total Sülfidril Gruplarının Tayini:

Doku örnekleri % 10'luk triklor asetik asit çözeltisi içinde 10 kez sulandırıldıktan sonra homojenize edildi daha sonra 15 dakika süreyle santrifüje edildi (4 °C, 3000 rpm). Supernatant alındıktan sonra bir kez daha santrifüj edilip (15000 rpm, 8 dakika) glutatyon miktarı Ellman prosedürüne göre ölçüldü (30,31).

Mikroskopik Değerlendirme

İnce barsak segmentlerinden alınan yaklaşık 1 cm uzunluğundaki doku örnekleri % 10'luk formalin içinde 24 saat süre ile fikse edildi. Fikse edilen doku parçalarından parafin bloklaması ve rutin işlemleri takiben mikroskopik kesitler hazırlandı ve histolojik inceleme için Hematoksilen ve Eozin (H+E) ile boyandı. Tüm örnekler ışık mikroskobu altında, deney gruplarını bilmeyen bir gözlemci tarafından incelendi (Dr. Şule Çetiner), mukozal hasar parametreleri daha önce kullanılan yöntemlerden faydalanılarak değerlendirildi (Tablo 1).

Skor	Histolojik Değerlendirme kriterleri
0	Normal histoloji
1	Yüzey epitelinde hafif bozulma
2	Villüslerin tepelerinde epitel hücre kaybı
3	Mukozal vazokonjesyon, kanama ve fokal nekroz ile villüsün yarısından azının hasara uğraması
4	Villüsün yarısından fazlasının hasar görmesi

Tablo 1. İnce barsak hasarının mikroskobik skorlamasında kullanılan kriterler (20)

Deney Protokolü:

Akut stres uygulamasından hemen sonra veya kronik stresi takip eden 3. ve 5. günlerde ve 5 günlük kronik stres sonrasındaki 1. ve 3. günlerde deney hayvanları ürethan anestezi altında (1.2 g/kg, i.p.) ameliyata alındı, sağ karotid arter ve juguler ven kanüle edildi. Laparatomiyi takiben SMA izole edilerek, SMA kan akımı uygun damar probu (Transonic 0.7 VB156) ve ultrasonik akım ölçer (Model T106; Transonic Systems) kullanılarak ölçüldü. Eş zamanlı olarak karotid arterden arteriyal basınç kayıtları alındı ve SMA rezistansı hesaplandı. Hemodinamik ölçümlere 20 dakikalık dengelenme sürecini takip eden 50 dakika boyunca devam edildi. Deney sonunda ince barsak dokusunun tamamı temizlenip tartıldıktan sonra elde edilen doku örnekleri (duodenum, jejunum ve ileum) histolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için kullanılmak üzere saklandı.

ET reseptör antagonistleri ile tedavi edilen gruplarda ET-A (BQ485, 60 µg/kg/gün, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/kg/gün, i.p.) reseptör antagonistleri stres uygulanmasından 20 dakika önce seçilen stres grubuna göre günde bir kez olmak üzere uygulandı. ET-reseptör antagonistlerinin bu dozları daha önce yapılan çalışmalarda doku da meydana gelen inflamatuvar değişiklikleri inhibe eden dozlardır (20, 26).

İstatistiksel Değerlendirme:

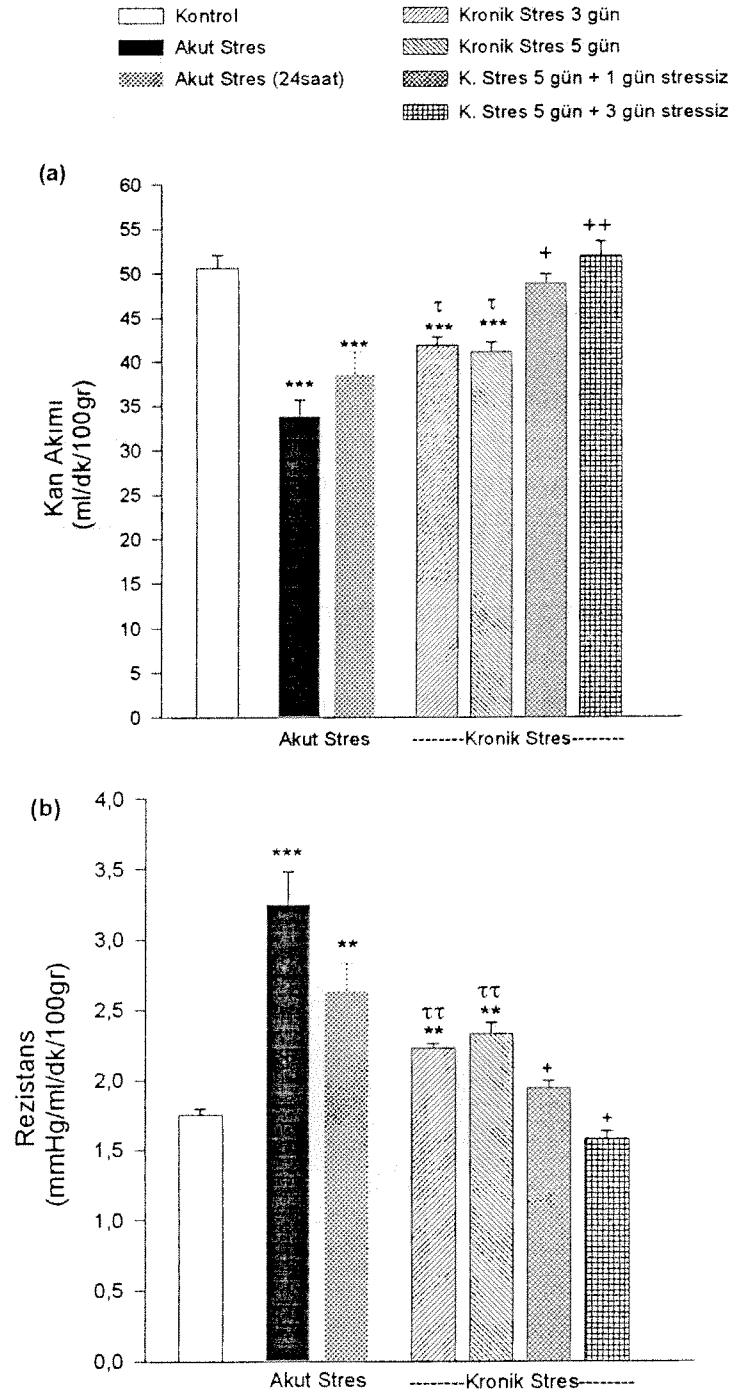
Tüm veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde ifade edildi. İki grup arasındaki farklılık Student'ın t testi ile karşılaştırıldı, ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ise varyans analizi (ANOVA) ve sonrasında Tukey-Kramer çoklu test kullanıldı. P değerinin 0.05'den küçük olması ($p<0.05$) halinde veriler istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi.

BULGULAR:

Hemodinamik Değişiklikler

Akut stres (2 saat sudan kaçınma stresi) uygulamalarının SMA kan akımında kontrole (50.6 ± 1.5 ml/dk/100gr) göre anlamlı bir düşüşe sebep olduğu (33.8 ± 1.8 ml/dk/100gr, $p<0.001$) (Şekil 1a) ve bu düşüşün 24 saate kadar devam ettiği tespit edilmiştir. Akut stres ortalama kan basıncını kontrole (85.9 ± 1.2 mmHg) göre anlamlı olarak artırırken (104.12 ± 1.4 mmHg, $p<0.01$) (Tablo 2), SMA kan akımını azaltmış, rezistansta ise belirgin bir artışa sebep olmuştur (Şekil 1b).

Kronik stresin 3 veya 5 gün süreyle uygulanmasını takiben SMA kan akımı azalmıştır (41.9 ± 0.9 ve 41.1 ± 1.1 ml/dk/100gr, $p<0.001$) (Şekil 1a). Bununla birlikte, kronik stres SMA rezistansını, akut stresteki kadar olmasa da, arttırmıştır (Şekil 1b). Ortalama kan basıncı ise, 3 günlük stres grubunda kontrole yakın değerlerde (88.2 ± 0.7 mmHg) bulunmuş, ancak 5 günlük stres ile kan basıncı yine yükselmiştir (92.6 ± 1.1 mmHg, $p<0.05$) (Tablo 2). Bu yükseliş 5 günlük stres bittikten 24 saat sonra bile gözlenmekte ve stresten ancak 3 gün sonra, yükselen kan basıncı normale dönmektedir. Sonuçlarımız, hemodinamik parametrelerde meydana gelen değişikliklerin 5 günlük kronik stres uygulamasını takip eden birinci günden itibaren eski durumuna gelmeye başladığını, kronik stres uygulamasından 3 gün sonra ise akım ve rezistans değişikliklerinin tamamen kontrol değerlerine geri döndüğünü göstermektedir. Gruplar arasında kalp hızı ve hematokrit değerleri açısından anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır. Ayrıca kronik stres gruplarında yapılan vücut ağırlık takibinde, 3 günlük stres grubunda kontrole göre anlamlı bir değişiklik bulunmazken, sadece 5 günlük kronik stres grubunda anlamlı bir azalma gözlenmektedir. Bu azalma stresin bitiminden 3 gün sonra anlamlı bir şekilde geriye dönmektedir (Şekil 2).



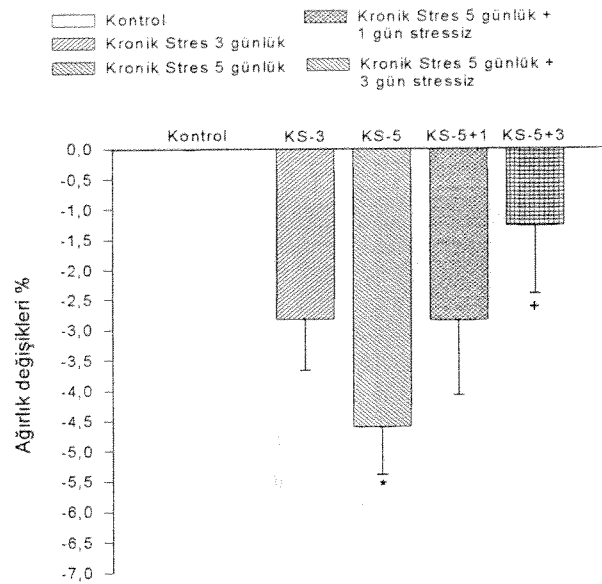
Şekil 1. Akut ve kronik stres uygulamalarının süperiyor mezenterik arter (SMA) kan akımı (a) ve rezistansı (b) üzerine etkileri.

*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, kontrol grubuna göre; τ $p < 0.05$, $\tau\tau$ $p < 0.01$, akut stres grubuna göre; ++ $p < 0.01$, + $p < 0.05$, 5 günlük kronik stres grubuna göre.

Gruplar	Kalp Hızı (/dk)	(OAB) (mmHg)	Hematokrit (%)
Kontrol	359 ±11.0	85.9 ±1.2	52.0 ±3.2
Akut Stres	359 ±11.4	104.1 ±1.4**	55.7 ±2.3
Akut Stres (24 saat sonra)	391 ±7.0	96.6 ±0.1**	55 ±1.1
Kronik Stres (3 gün)	376 ±4.6	88.2 ±0.7ττ	59.7 ±3.6
Kronik Stres (5 gün)	393.6 ±7.0	92.6 ±1.1*/ττ	56.8 ±2.8
Kronik Stres (5 gün + 1 gün stressiz)	395.5 ±0.5	93.5 ±1.1*/τ	51 ± 1.1
Kronik Stres (5 gün + 3 gün stressiz)	374.4 ±10.3	79.5 ±0.7 ++	53.4 ±2.5

Tablo 2. Akut ve kronik stres gruplarında kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değışiklikleri.

**p<0.01, *p<0.05, kontrol grubuna göre; τ p<0.05, ττ p<0.01, akut stres grubuna göre; ++p<0.01 5 günlük kronik stres grubuna göre.



Şekil 2. Kronik stresin sıçanlarda vücut ağırlığına etkisi.

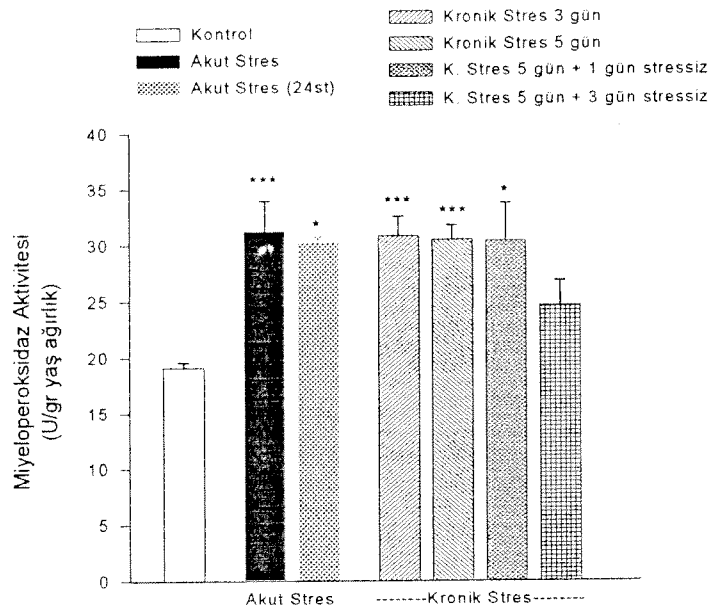
* p<0.05, kontrol grubuna göre; + p<0.05, 5 günlük kronik stres grubuna göre.

İnce Barsak Dokusunda Biyokimyasal Parametrelerdeki Değişiklikler

Gereç ve yöntem bölümünde anlatıldığı gibi deney hayvanlarının ince barsak (duodenum, jejunum, ileum) segmentleri ayrı ayrı çalışıldı. Ancak segmentler arasında istatistiksel bir fark olmadığı için her bir deney hayvanı için bütün segmentler bir grup olarak toplanıp sonuçlar buna göre sunulmaktadır.

Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi: Akut stres, ince barsağın MPO aktivitesinde kontrole göre (19 ± 0.5 U/gr) anlamlı bir artışa neden olmaktadır (31.3 ± 2.6 U/gr, $p < 0.001$). Bu artış akut stres bittikten 24 saat sonra devam etmektedir (Şekil 3).

Kronik stres grubunda ise, 3 günlük ve 5 günlük stresi takiben ince barsak MPO aktivitesi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla, 30.7 ± 1.7 ve 30.5 ± 1.2 U/gr, $p < 0.001$). Ayrıca 5 günlük stres bittikten 24 saat sonra bu artış devam etmektedir. Ancak 5 günlük stres bittikten 3 gün sonra MPO aktivitesindeki yükselmenin normale döndüğü gözlenmektedir (Şekil 3).



Şekil 3. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinin miyeloperoksidaz (MPO) aktivitelerindeki değişiklikler.

* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre.

Lipit peroksidasyonu (LP) ve glutatyon (GSH) düzeyleri: Tiyoarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşikler (TBARB), LP şiddetini yansıtan bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Diğer taraftan glutatyon düzeyleri (GSH) bir koruyucu savunma göstergesi olarak bilinmektedir.

Akut stres ince barsakta ölçülen TBARB düzeyini kontrole göre (6.79 ± 0.38 nmol/gr) anlamlı bir şekilde arttırdı (13.71 ± 0.8 nmol/gr, $p < 0.001$, Şekil 4a). Diğer taraftan akut stres ince barsağın doku glutatyon düzeylerinde anlamlı bir azalmaya sebep olmuştur. (Şekil 4b). Akut stres sonrası gözlenen bu etkiler akut stresten 24 saat sonra da devam etmektedir.

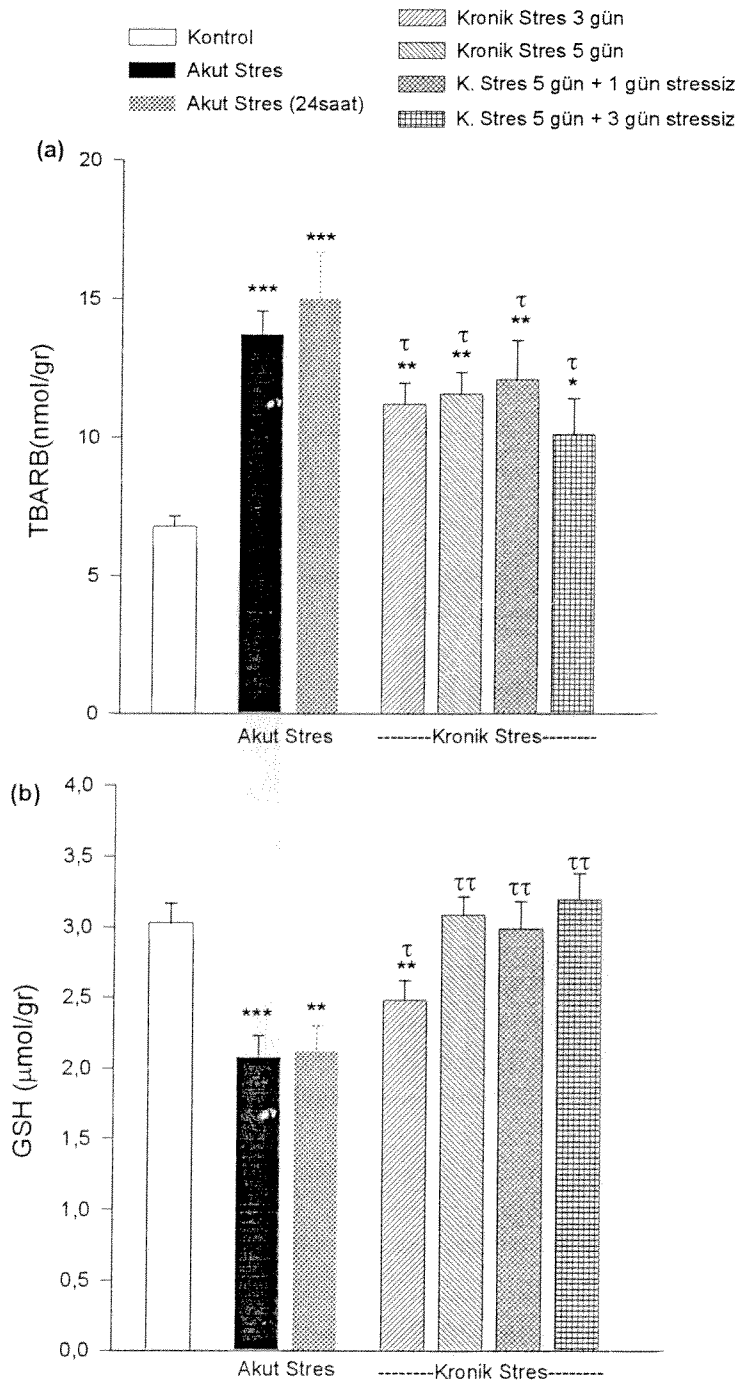
Kronik stres gruplarında ise stresten 3 veya 5 gün sonra ince barsak TBARB düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (sırasıyla, 11.2 ± 0.7 ve 11.5 ± 0.1 nmol/gr, $p < 0.01$). TBARB düzeylerinde gözlenen artış 5 günlük stres bittikten 1 veya 3 gün sonra da devam etmektedir (Şekil 4a). Diğer taraftan 3 günlük stres grubunda ince barsak glutatyon düzeyleri akut stres grubu kadar olmasa da kontrol değerlerine göre anlamlı bir şekilde azalmıştır. Ancak 5 günlük stres grubunda ince barsak glutatyon düzeyleri kontrol değerlerine geri dönmekte ve glutatyon miktarı 5 günlük stresten 1 veya 3 gün sonra da benzer düzeylerde seyretmektedir (Şekil 4b).

Protein Oksidasyonu Ölçümleri: Protein oksidasyonu düzeyini araştırmak için elde edilen doku örneklerinde karbonil grupları ölçülmüş ancak gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmadığı için veriler gösterilmemiştir.

Histolojik Skorum

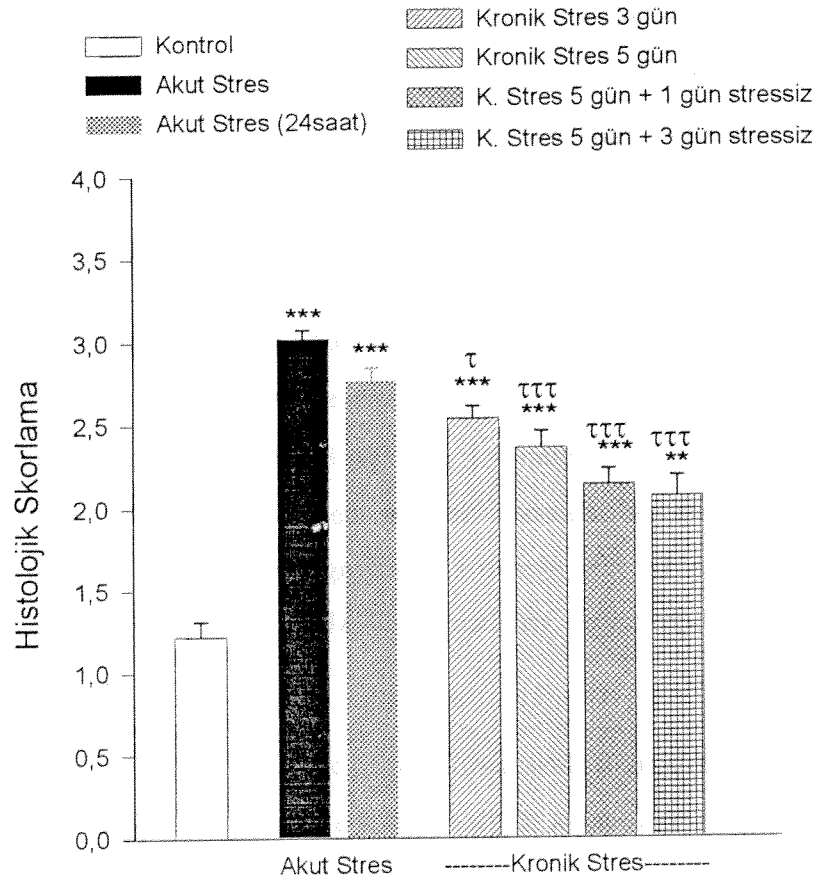
Histolojik incelemelerde, kontrol grubunda ince barsak villuslerinin epitel tabakası düzgün ve belirgin lökosit infiltrasyonu gözlenmeyen normal bir histolojik yapıya sahiptir. Akut stres grubunda ise ince barsak villus uçlarında ve yanlarında epitel dökülmesi gözlenmektedir. Ayrıca bu grupta belirgin bir polimorfonükleer lökosit (PMN) infiltrasyonu ve lamina propriada inflamasyon bulguları tesbit edilmiştir.

Akut stres ile karşılaştırıldığında daha az olmakla beraber 3 ve 5 günlük kronik stres gruplarında da villus tepelerinde epitel dökülmesi ve lamina propriada inflamasyon ve PMN infiltrasyonu gözlenmiştir. Ancak 5 günlük stres bittikten 1 ve 3 gün sonra villus tepelerindeki seyrek epitel dökülmesi ve hafif inflamasyon gözlenmektedir. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinin histolojik skorlamasındaki değişiklikler Şekil 5'te özetlenmiştir.



Şekil 4. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinde tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşiklerin (TBARB) miktarındaki (a) ve glutatyon (GSH) düzeylerindeki (b) değişiklikler.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, kontrol grubuna göre; τ p<0.05, ττ p<0.01, akut stres grubuna göre.



Şekil 5. Akut ve kronik stresi takiben ince barsak segmentlerinin histolojik skorlamasındaki değişiklikler.

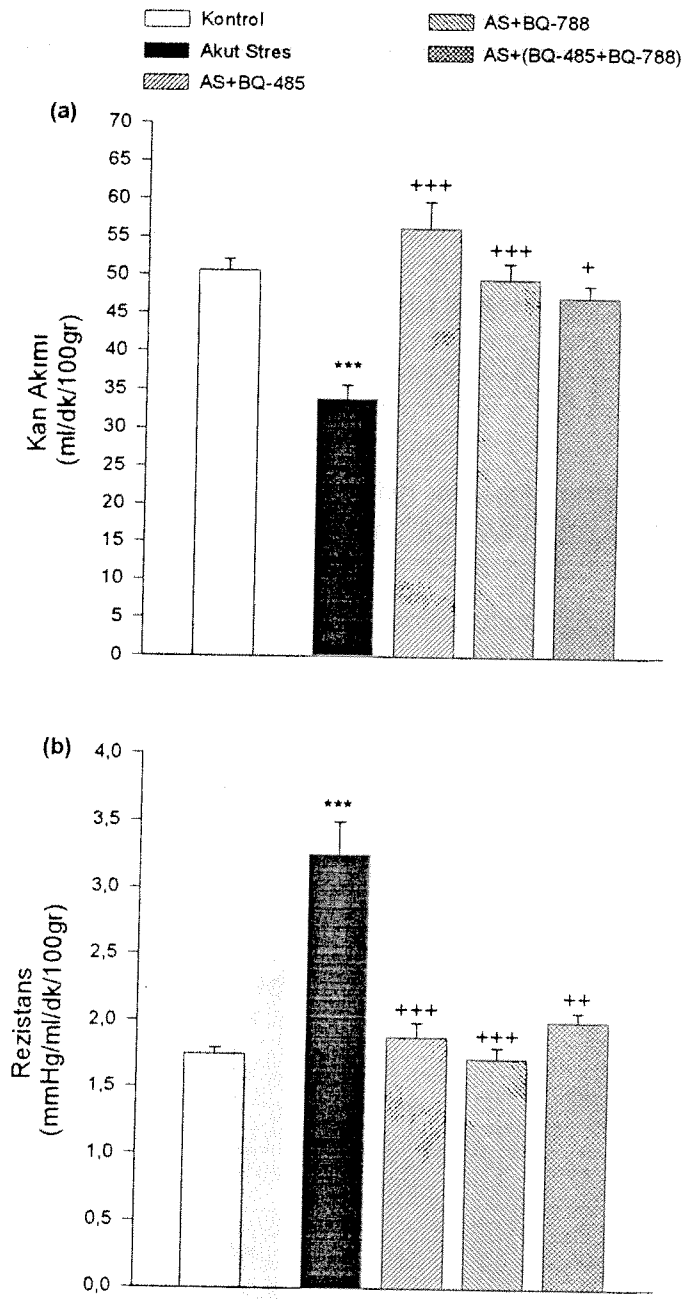
p<0.01, *p<0.001, kontrol grubuna göre; τ p<0.05, τττ p<0.001, akut stres grubuna göre.

Akut Stres ve ET Reseptör Antagonistleri ile Tedaviler

Akut stresi takiben azalan SMA kan akımı (33.8 ± 1.8 ml/dk/100gr) ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan, i.p.) veya ET-B reseptör antagonistleri (BQ-788, 60 µg/sıçan, i.p.) ile tedavi sonrası normale dönmektedir (sırasıyla, 56.3 ± 3.5 ve 49.6 ± 2.1 ml/dk/100gr, $p < 0.001$, Şekil 6a). Ayrıca ET-A ve ET-B reseptör antagonistlerinin beraber uygulanması da akut stres sonrası azalan SMA kan akımını düzeltmiş görülmektedir. Buna paralel bir şekilde akut strese bağlı artan SMA rezistansı (3.2 ± 0.2 ml/dk/gr) ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri ile ön tedavi yapılmasını takiben kontrol değerlerine geri dönmektedir (BQ-485: 1.9 ± 0.1 ml/dk 100 gr, BQ-788: 1.7 ± 0.1 ml/dak/100gr, BQ-485 + BQ-788: 2 ± 0.1 ml/dk/100gr, $p < 0.01$, Şekil 6b).

Akut stres grubunda yükselen ortalama kan basıncı (104.1 ± 1.4 mmHg) ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri ile normale dönmektedir (BQ-485: 91.6 ± 1.1 mmHg, BQ-788: 81.5 ± 1.4 mmHg, BQ-485 + BQ-788: 87.9 ± 1.4 mmHg, $p < 0.01$, Tablo 3). Ayrıca ET reseptör antagonistleri ile tedavi edilen gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark gözlenmemiştir. Kontrol ve akut stres gruplarında olduğu gibi ET reseptör antagonistleri ile tedavi edilen gruplarda da kalp hızında ve hematokrit değerlerinde anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (Tablo 3).

Miyeloperoksidaz Aktivitesi: İnce barsak MPO aktivitesinde akut stresin yol açtığı artış (31.3 ± 2.7 U/gr) hem ET-A (BQ-485) hem de ET-B reseptör antagonisti (BQ-788) ötedavileri ile engellenmektedir (sırasıyla, 18.5 ± 1.0 U/gr, 18.3 ± 1.3 U/gr, $p < 0.001$). Aynı şekilde, her iki antagonist beraber verildiğinde akut strese bağlı artan MPO aktivitesi azalmaktadır (Şekil 7).



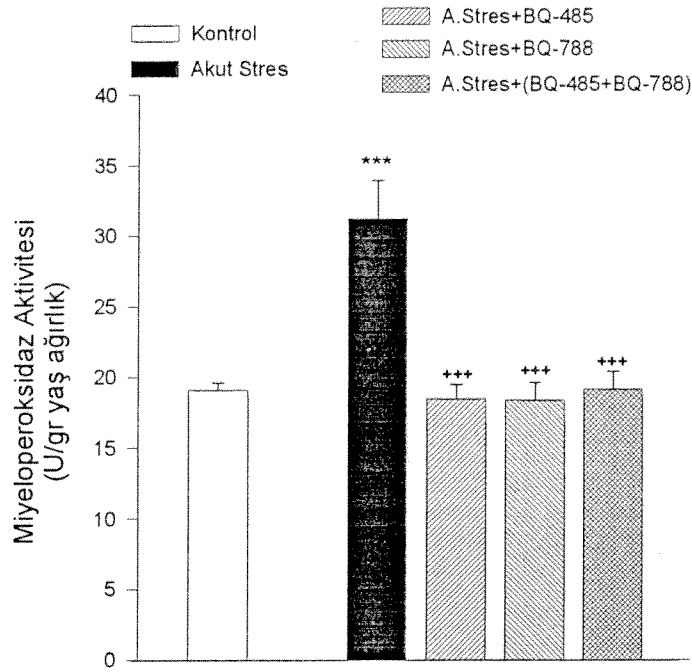
Şekil 6. Akut strese (AS) bağlı superiyor mezenterik arter (SMA) kan akımı (a) ve rezistansı (b) değişikliklerinde ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/sıçan, i.p.) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.

***p<0.001, kontrol grubuna göre; +p<0.05, ++p<0.01, +++p<0.001, akut stres grubuna göre.

Gruplar	Kalp Hızı (/dk)	(OAB) (mmHg)	Hematokrit (%)
Kontrol	359 ±11.0	85.9 ±1.2	52.0 ±3.2
Akut Stres	359 ±11.4	104.12 ±1.4**	55.7 ±2.3
AS+BQ-485	345 ±15.7	91.6 ±1.1++	52.5 ±3.1
AS+BQ-788	312 ±16.2	81.5 ±1.4++	55.2 ±1.8
AS+(BQ-485+BQ-788)	341 ±16.2	87.9 ±1.4++	54.7 ±1.7

Tablo 3. Akut stres ve ET reseptör antagonistleri ile tedavi gruplarında kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değışiklikleri. AS: Akut stres, BQ-485: ET-A reseptör antagonisti, BQ-788: ET-B reseptör antagonisti.

**p<0.01, kontrol grubuna göre; ++p<0.01, akut stres grubuna göre.

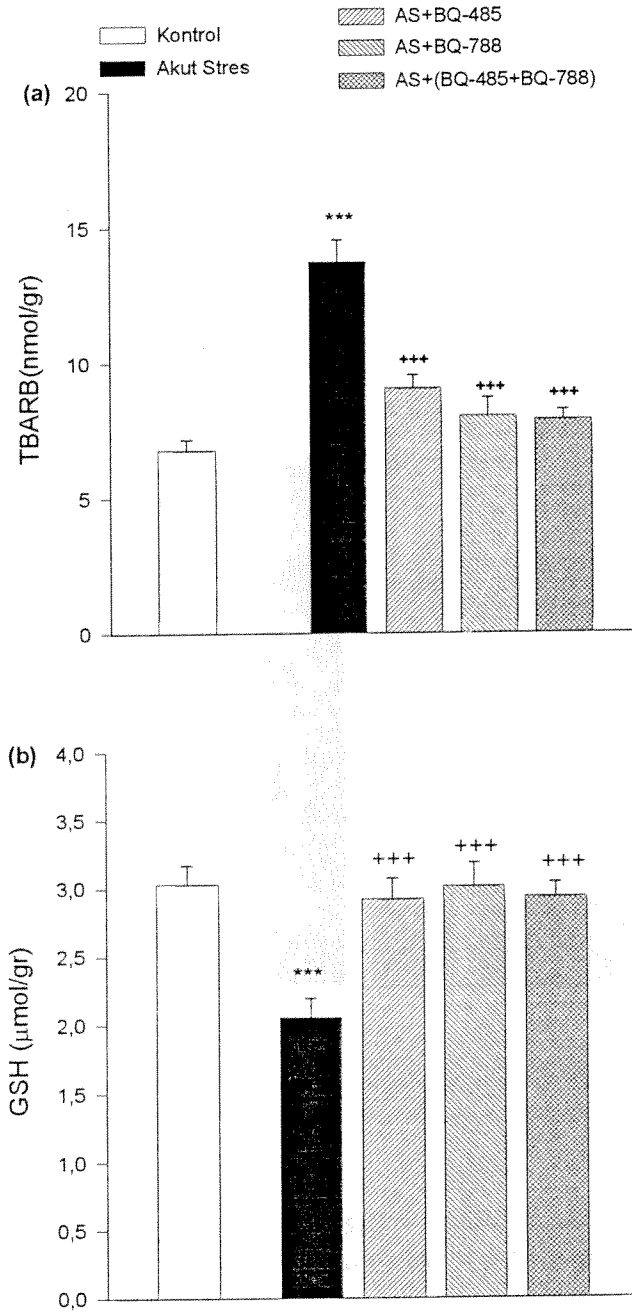


Şekil 7. Akut strese (AS) bağılı artan ince barsak miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi üzerine ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/sıçan, i.p.) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.

***p<0.001, kontrol grubuna göre; +++p<0.001, akut stres grubuna göre.

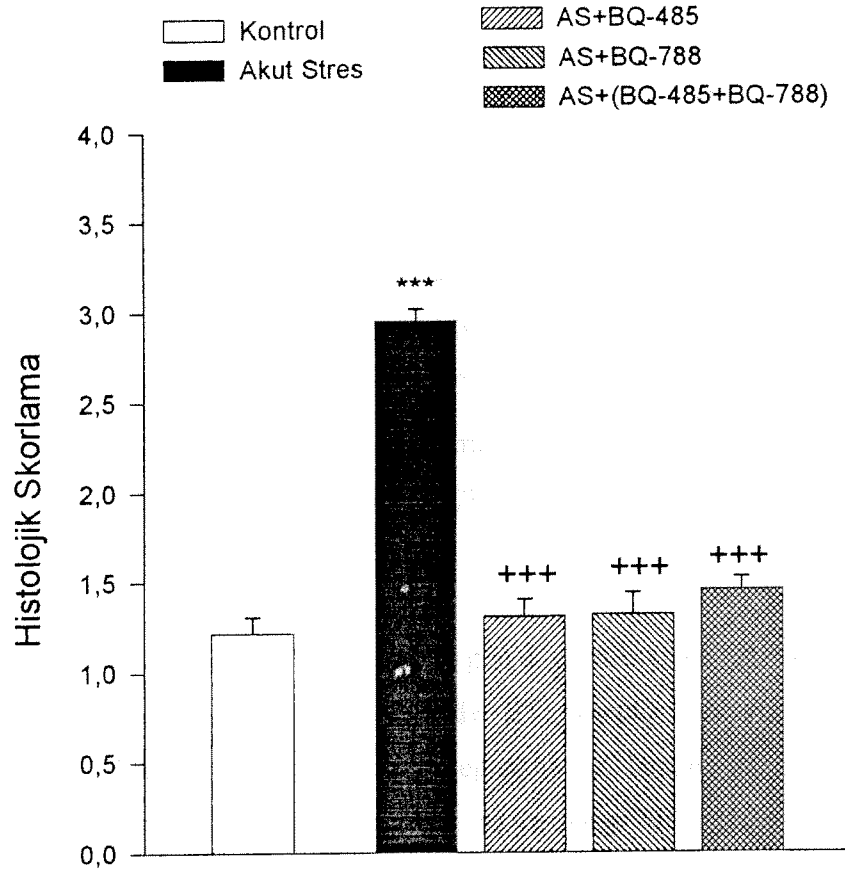
Lipit peroksidasyonu (LP) ve glutatyon (GSH) düzeyleri: İnce barsakta akut stresi takiben artan TBARB düzeyi (13.7 ± 0.8 nmol/gr) ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri ön tedavi sonrası azalmaktadır (BQ-485: 9.1 ± 0.5 nmol/gr, BQ-788: 8.0 ± 0.7 nmol/gr, BQ-485 + BQ-788: 7.9 ± 0.4 nmol/gr, $p < 0.001$, Şekil 8a). Ayrıca akut stres gruplarında ince barsakta azalan glutatyon düzeyleri (2.1 ± 0.1 μ mol/gr), her iki ET reseptör antagonisti ile normale dönmektedir ($p < 0.001$, Şekil 8b).

Histolojik skorelama: Histolojik incelemelerde, daha önce belirttiğimiz gibi, akut stres grubunda ince barsak villus uçlarında belirgin epitel dökülmesi, PMN infiltrasyonu ve lamina propriada inflamasyon gözlenmiştir. Tedavi gruplarında ise, ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri akut strese bağlı gözlenen hasarı belirgin bir şekilde engellemiştir (Şekil 9).



Şekil 8. Akut streste ET reseptör antagonistleri ile tedavilerin doku tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşikler (TBARB) (a) ve glutatyon (GSH) (b) düzeyleri üzerine etkisi. AS: Akut stres; BQ-485: ET-A reseptör antagonisti; BQ-788: ET-B reseptör antagonisti.

*** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre; +++ $p < 0.001$ akut stres grubuna göre.



Şekil 9. Akut strese (AS) bağlı ince barsağın histolojik skorlamasına ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/sıçan, i.p.) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.

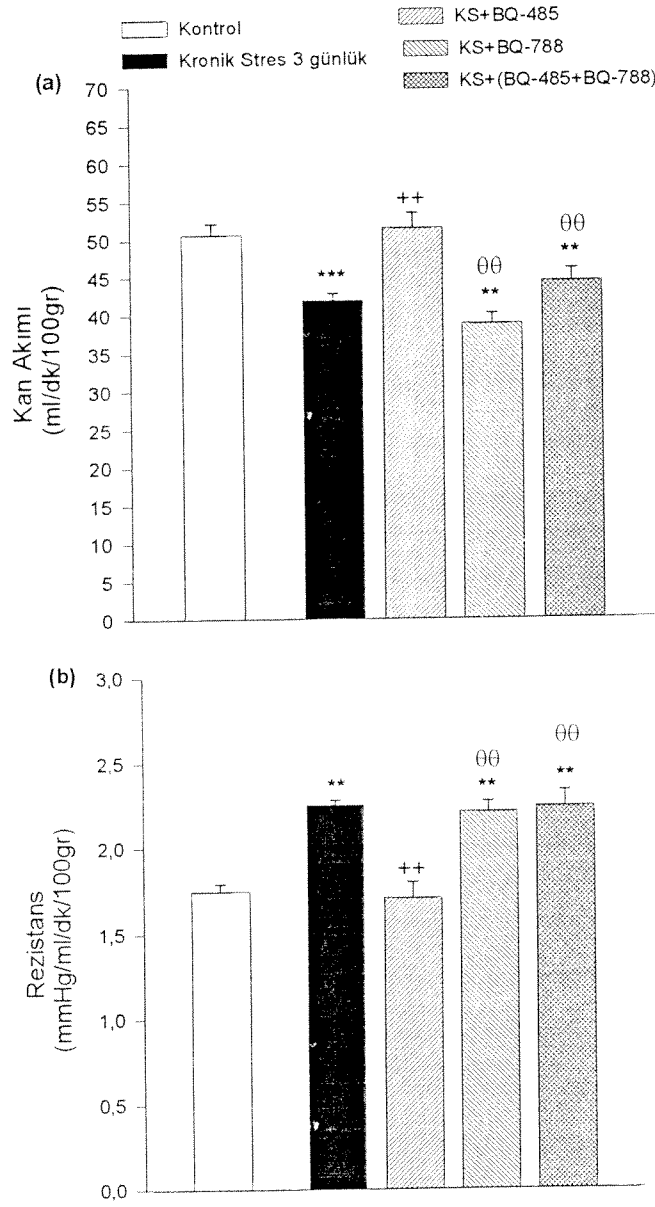
***p<0.001, kontrol grubuna göre; +++p<0.001, akut stres grubuna göre.

Kronik Stres ve ET Reseptör Antagonistleri ile Tedaviler

Üç günlük kronik stresi takiben azalan SMA kan akımı (41.9 ± 0.9 ml/dk/100gr) ET-A reseptör antagonistinin (BQ-485, 60 µg/sıçan/gün, i.p.), her gün stresten 20 dakika önce uygulanması ile engellenmektedir (51.5 ± 2.0 ml/dk/100gr, $p < 0.001$, Şekil 10a). Ancak ET-B reseptör antagonisti (BQ-788, 60 µg/sıçan/gün, i.p.) veya her iki ET reseptör antagonistinin birlikte uygulanması, 3 günlük kronik strese bağlı SMA kan akımının azalışını etkilememektedir (sırasıyla, 38.8 ± 1.4 ve 44.3 ± 1.6 ml/dk/100gr, $p < 0.01$ kontrole ve ET-A reseptör antagonisti grubuna göre, Şekil 10a). Benzer bir şekilde, kronik stres ile artan SMA rezistansı (2.3 ± 0.1 mmHg/ml/dk/100gr) sadece ET-A reseptör antagonisti ile kontrol değerlerine geri dönmektedir (1.7 ± 0.1 mmHg/ml/dk/100gr, $p < 0.01$). Ancak kronik strese bağlı SMA rezistansında gözlenen artış ET-B reseptör antagonisti veya her iki ET reseptör antagonisti beraber uygulandığında değişmemektedir (sırasıyla, 2.2 ± 0.1 ve 2.2 ± 0.1 mmHg/ml/dk/100gr, $p < 0.01$ kontrole ve ET-A reseptör antagonist ile tedavi grubuna göre, Şekil 10b).

Daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi 3 günlük kronik stres sıçanların ortalama kan basıncını etkilememektedir. Benzer şekilde ET reseptör antagonistleri ile tedavi edilen grupların kan basınçlarında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca bütün grupların hematokrit değerlerinde ve kalp hızlarında da herhangi bir anlamlı değişiklik bulunmamıştır (Tablo 4).

Miyeloperoksidaz Aktivitesi: Üç günlük kronik strese bağlı ince barsak MPO aktivitesinde gözlenen artış (30.79 ± 1.76 U/gr) ET-A reseptör antagonisti ön tedavisi ile engellenmektedir (19.13 ± 1.57 U/gr, $p < 0.01$, Şekil 11). Ancak ET-B reseptör antagonisti veya her iki ET reseptör antagonistinin birlikte verilmesi kronik strese bağlı artan MPO aktivitesini değiştirmemiştir (sırasıyla, 33.63 ± 2.23 ve 28.11 ± 2.73 U/gr, $p < 0.01$ kontrole ve ET-A reseptör antagonisti gruplarına göre, Şekil 11).

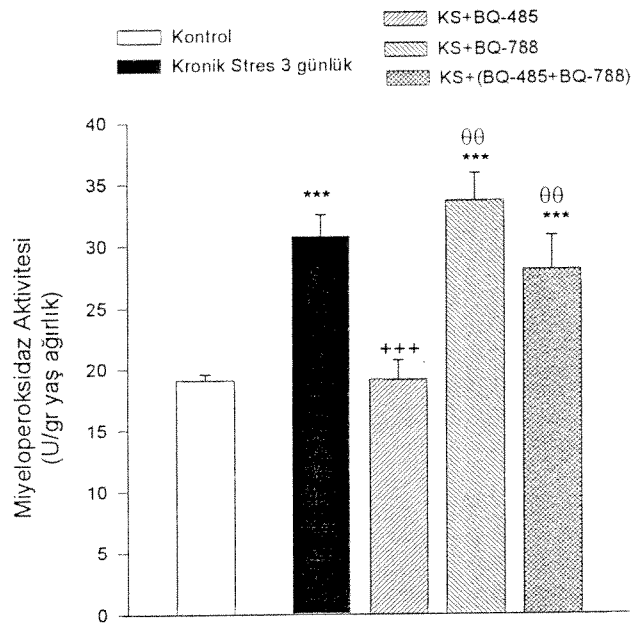


Şekil 10. Üç günlük kronik strese (KS) bağıli superiyor mezenterik arter (SMA) kan akımı (a) ve rezistansı (b) değışikliklerinde ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan/gün, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/sıçan/gün, i.p.) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.

p<0.01, *p<0.001, kontrol grubuna göre; ++p<0.01, akut stres grubuna göre; 00 p<0.01, ET-A reseptör antagonisti tedavi grubuna göre.

Gruplar	Kalp Hızı (/dk)	(OAB) (mmHg)	Hematokrit (%)
Kontrol	359 ±11.0	85.9 ±1.2	52 ±3.2
3 Günlük Kronik Stres	376 ±4.7	88.2 ±0.7	59.7 ±3.6
KS+ BQ-485	327 ±17.2	82.6 ±1.9	53 ±0.9
KS+ BQ-788	324 ±18.3	84.2 ±1.9	55 ± 2.1
KS+ (BQ-485+ BQ-788)	330 ±34.1	85.1 ±1.3	54.2 ±1.1

Tablo 4. Üç günlük kronik stres ve ET reseptör antagonistleri ile tedavi edilen grupların kalp hızı, ortalama arter basıncı (OAB) ve hematokrit değişiklikleri. KS: 3 günlük kronik stres, BQ-485: ET-A reseptör antagonisti, BQ-788: ET-B reseptör antagonisti.

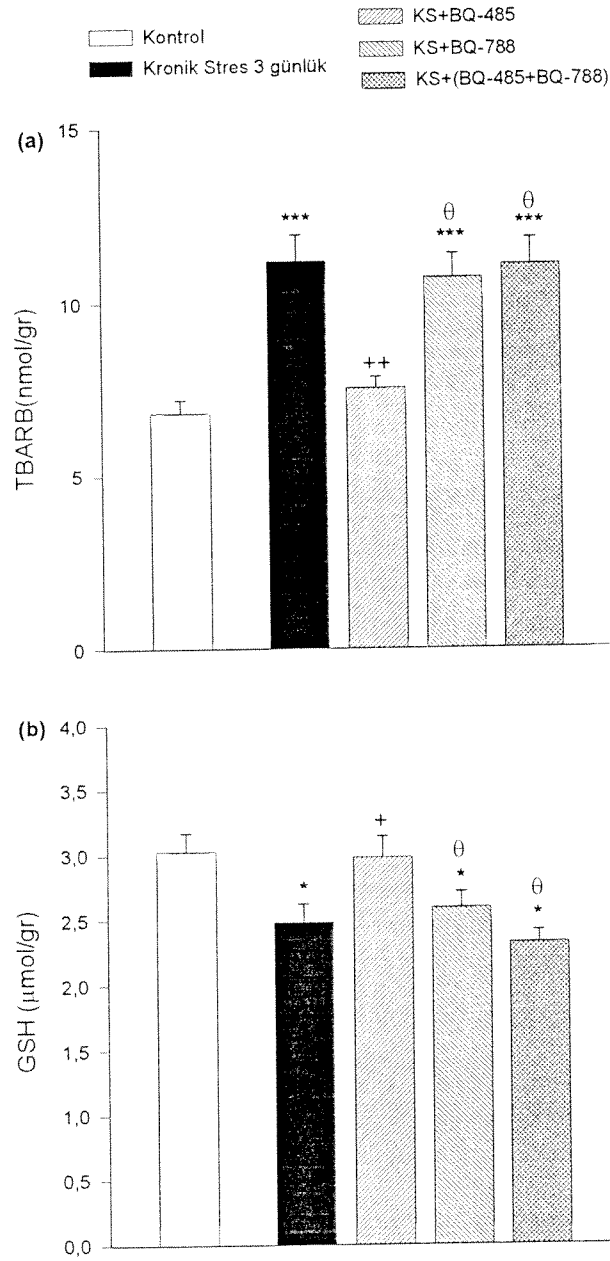


Şekil 11. Üç günlük kronik strese (KS) bağlı ince barsak miyeloperoksidaz aktivitesinde meydana gelen değişikliklerde ET-A (BQ-485, 60 µg/sıçan/gün, i.p.) ve/veya ET-B (BQ-788, 60 µg/sıçan/gün, i.p.) reseptör antagonistleri ile tedavilerin etkileri.

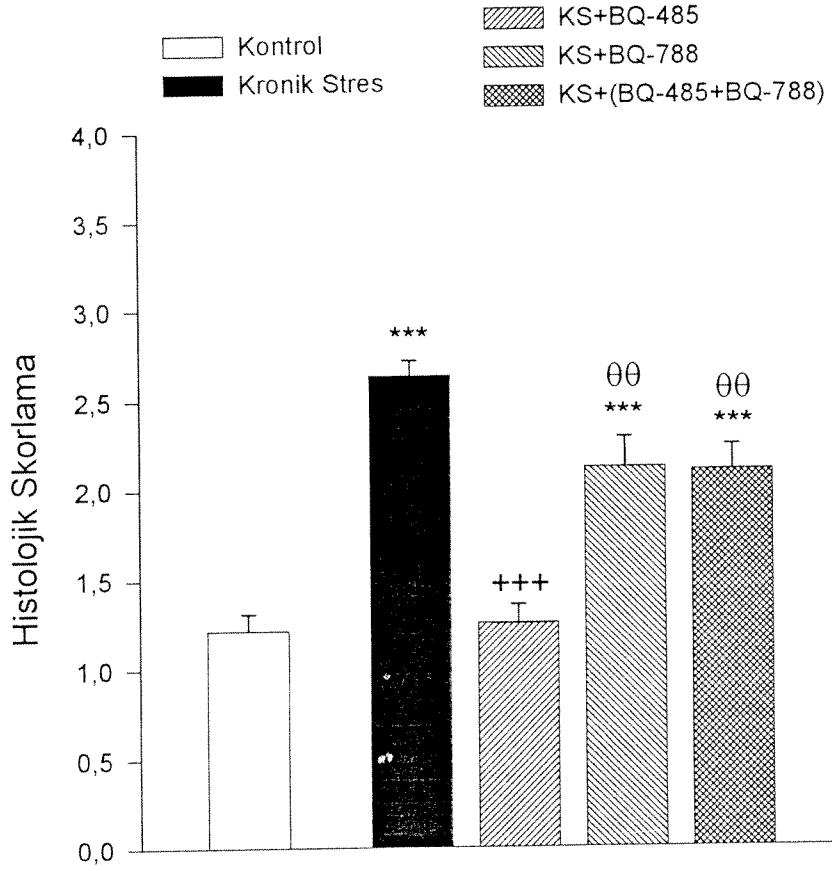
***p<0.001, kontrol grubuna göre; +++p<0.001, akut stres grubuna göre; 00 p<0.01, ET-A reseptör antagonisti tedavi grubuna göre.

Lipit peroksidasyonu (LP) ve glutatyon (GSH) düzeyleri: İnce barsakta 3 günlük kronik stres ile artan TBARB düzeyi (11.2 ± 0.8 nmol/gr), ET-A reseptör antagonisti ön tedavisi ile anlamlı olarak azalmaktadır (7.5 ± 0.3 nmol/gr, $p<0.001$, Şekil 12a). Ancak ET-B reseptör antagonisti veya her iki ET reseptör antagonistinin beraber (BQ-485+BQ-788) verilmesi kronik strese bağlı artan TBARB'ı etkilememektedir (sırasıyla, 10.7 ± 0.7 ve 11.1 ± 0.8 nmol/gr, $p<0.01$ kontrole ve ET-A reseptör antagonist tedavi grubuna göre, Şekil 12a). Ayrıca kronik stres gruplarında ince barsakta azalan glutatyon düzeyleri (2.5 ± 0.1 μ mol/gr) sadece ET-A reseptör antagonisti ön tedavisi ile düzelmektedir (3 ± 0.2 μ mol/gr, $p<0.05$). Benzer şekilde ET-B reseptör antagonisti veya her iki ET reseptör antagonistinin beraber uygulanması glutatyon düzeyleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır (Şekil 12b).

Histolojik skorlama: Histolojik incelemelerde 3 günlük kronik stres grubunda gözlenen villus uçlarında epitel dökülmesi ve PMN infiltrasyonu, ET-A reseptör antagonisti ön tedavisi ile belirgin bir şekilde engellenmiştir. ET-B reseptör antagonisti veya her iki antagonistin beraber verilmesi kronik strese bağlı hasarı anlamlı olarak etkilememiştir. Histolojik skorlar Şekil 13'te özetlenmiştir.



Şekil 12. Üç günlük kronik streste ET reseptör antagonistleri ile ön tedavilerin doku tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşikler (TBARB) (a) ve glutatyon (GSH) (b) düzeyleri üzerine etkisi. KS: 3 günlük kronik stres; BQ-485: ET-A reseptör antagonisti; BQ-788: ET-B reseptör antagonisti. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre; + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ kronik stres grubuna göre; □ $p < 0.05$, ET-A reseptör antagonisti tedavi grubuna göre.



Şekil 13. Üç günlük kronik strese (KS) bağlı ince barsak histolojik skorlamasında ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri ön tedavilerinin etkileri.

*** $p < 0.001$, kontrol grubuna göre; +++ $p < 0.001$, akut stres grubuna göre; 00 $p < 0.01$, ET-A reseptör antagonisti tedavi grubuna göre.

TARTIŞMA / SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan sudan kaçınma stresi psikolojik bir stres modeli olarak kabul edilmektedir. Bu stres orta şiddetli bir stres olup, diğer stresörler gibi plazma kortizol seviyelerini arttırmaktadır (37). Önceki çalışmalarda bu stres modelinin GIS'de kolonik transiti hızlandırdığı (38), viseral hiperaljeziye neden olduğu (39), ince ve kalın barsaklarda permeabiliteyi arttırdığı (10,11,14), mukozal mast hücrelerinin sayıca artışına ve aktivasyonuna neden olduğu (2,5), mide boşalmasını azalttığı (25) ve inflamasyonu şiddetlendirdiği (33,34) gösterilmiştir. Ancak sudan kaçınma stresi çalışmalarının çoğunluğunda GIS motor fonksiyonları ve mukozal permeabilite-mast hücre ilişkileri araştırılmış, SMA hemodinamiği ve ince barsak inflamatuvar parametrelerinde meydana gelen değişiklikler netlik kazanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada sudan kaçınma stresi sonrasında SMA hemodinamiğinin ve ince barsak inflamatuvar parametrelerinin nasıl değiştiğini araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada akut stres 2 saatlik sudan kaçınma stres uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik akım ölçer ile yaptığımız ölçümler sonucunda bu stres türünün sıçanlarda SMA kan akımını belirgin bir şekilde azalttığını, rezistansı ise arttırdığını göstermiş bulunmaktayız. Bu bulgular akut stres sonrasında SMA'da belirgin bir vazokonstriksiyon oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca SMA kan akımında azalış ve rezistansta artış stresten 24 saat sonra bile gözlenmektedir. Daha önce Murakami (35) ve Zhang (13) tarafından yapılan araştırmalarda sıçanlarda soğuk su ve kısıtlama stresi uygulanmasını takiben gastrik mukozal kan akımının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca Zukowska-Grojec ve arkadaşları (15) soğuk su stresi uygulayarak mezenterik yatakta vazokonstriksiyon meydana geldiğini göstermişlerdir. Ancak bu çalışmalarda şiddetli bir fiziksel-psikolojik stres türü uygulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise sıçanlara ilk defa fiziksel bir kısıtlama getirmeksizin psikolojik bir stres uygulanmış ve SMA'da meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır.

Stresin hemodinamik etkileri birçok farklı sistemde çalışılmıştır. Yapılan araştırmalarda stresin arteriyel kan basıncını arttırdığı, santral venöz basıncı yükselttiği (40) ve sempatik sinir sistemini aktive ettiği (41) gösterilmiştir. Çalışmamızda da akut stres takiben ortalama kan basıncı değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Zukowska-Groje ve grubu yaptıkları deneylerde mezenterik arter dallarına doppler akım probu yerleştirerek soğuk stres uygulamasından önce, stres sırasında ve sonrasında ölçüm almışlardır (15). Bu çalışmalarda

mezenterik kan akımında azalma, OAB, kalp hızı ve mezenterik rezistansında ise stresin ilk dakikalarından itibaren artış kaydetmişlerdir. Ayrıca bu değişikliklerin (kalp hızı dışında) stres bittikten 2 saat sonra da anlamlı bir şekilde devam ettiğini gözlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise SMA kan akımında azalma ve OAB ile SMA rezistansında artmanın stresten hemen sonra ve 24 saat sonra devam ettiği gözlenmiştir. Ayrıca kalp hızında ne stresten hemen sonra ne de 24 saat sonra bir değişiklik gözlenmemiştir. Aynı zamanda hematokrit değerlerinde herhangi bir değişiklik bulunmaması ölçülen hemodinamik değişikliklerin sıvı kaybı veya hemokonsantrasyona bağlı olmadığını göstermektedir.

Değişik gastrointestinal hastalıklarda, PMN lökositlerin mukozal hasarda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Doku MPO aktivitesi ölçümü, doku nötrofil infiltrasyon düzeyini yansıtan biyokimyasal bir ölçüm yöntemidir (42). İskemi-reperfüzyon (42, 43) ve kolit (44) gibi, çeşitli inflamatuvar durumlarda, ince barsak ve kolonda MPO aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda akut stres uygulamasının midede MPO aktivitesini arttırırken (36,45), ince barsak ve kolonda ise MPO aktivitesini değiştirmeden mukozal permeabilite artışına ve morfolojik değişikliklere neden olduğu ileri sürülmüştür (1). Çalışmamızda 2 saatlik sudan kaçınma stresi uygulanması ile ince barsağın bütün segmentlerinde (duodenum, jejunum ve ileum) MPO aktivitesinde artış gözlenmiştir. Bu bulgular psikolojik stres modelinin ince barsakta PMN infiltrasyonuna yol açabildiğini göstermektedir. Doku PMN infiltrasyonunda gözlenen artışlar vazokonstriksiyona bağlı oluşan iskemi ve ardından meydana gelen inflamatuvar değişiklikler ile veya doğrudan stres ile indüklenen inflamatuvar değişikliklerinden kaynaklanmış olabilir.

Dokudaki lipid peroksidasyon düzeyinin artması doku hasarının indirek bir göstergedir. Diğer taraftan hücre içinde antioksidan bir molekül olan glutatyon, glutatyon peroksidaz ve NADP yardımı ile hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya dönüştürerek ROM'lerini etkisizleştirmektedir (46). Yeğen ve grubu tarafından yapılan bir araştırmada akut soğuk-immobilizasyon stresi uygulamasının karaciğer ve midede lipid peroksidasyonunda artış, glutatyon seviyelerinde ise azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (47). Bu bulgular Brzozowski ve arkadaşları tarafından da desteklenmiş suya-batırma ve immobilizasyon stresi uygulanan deney hayvanlarında mide mukozal hasarının yanısıra doku malondialdehid (MDA) miktarında (lipit peroksidasyonun bir göstergesi) artma meydana gelmiştir (48). Çalışmamızın sonuçları literatürdeki mevcut bulgular ile paralellik göstermiş, psikolojik stres uygulamasının ince barsakta TBARB düzeylerinde anlamlı bir artışına neden olduğu

gösterilmiştir. Ayrıca doku glutatyon seviyelerinde de belirgin bir azalma tesbit edilmiştir. Bu bulgular doku MPO ölçümleri ile elde edilen bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde artmış oksidan streten aktive olmuş nötrofillerin sorumlu olduğu düşünülebilir. Histolojik incelemelerde akut stresin ince barsağın villüs uçlarında ve yanlarında epitel dökülmesine, submukoza ve lamina propriada ise PMN infiltrasyonu ve inflamatuvar bulgulara yol açmış olması bu olasılığı desteklemektedir. Ancak diğer hücre tiplerinin de (örn. endotel hücreleri, mast hücreleri v.b.) ROM'lerinin üretimine katkıda bulunabileceği unutulmamalıdır.

Kronik stres akut streten farklı ve uzun süren bir olaydır. Ayrıca kronik stres, ülseratif kolit gibi çeşitli inflamatuvar hastalıkları kötüleştirme olasılığı nedeniyle de önem taşımaktadır (33,39). Daha önceki çalışmalarda kronik stresin hemodinamik etkileri genel olarak çalışılmıştır. Knardahl ve arkadaşları zihinsel karmaşa (conflict) yaratılarak oluşturulan kronik stresin (2 saat/gün, 5 gün/hafta, 12 hafta süreyle) SMA kan akımında düşüş ve rezistansında artışa neden olduğunu göstermişlerdir (49). Çalışmamızda ise, kronik sudan kaçınma stresi uygulaması ile SMA kan akımının azaldığı ve rezistansının arttığı gözlenmiştir. Bu bulgular kronik stresin SMA vazokonstriksiyonuna yol açtığını göstermektedir. Ayrıca gözlenen vazokonstriksiyon, stresin 3. ve 5. günlerinde de devam etmektedir. Akut stresin etkilerinin 24 saat sonra devam ettiğinden daha önce bahsetmiştik. Ancak kronik stresin SMA üzerine etkisi stres bittikten 24 saat sonra düzelmeye başlamakta ve streten 3 gün sonra tamamen normale dönmektedir. Ortalama kan basıncı değerleri ise 3 günlük stres grubunda normal iken 5 günlük stres grubunda ve 24 saat sonra yapılan ölçümlerde hafif yükselme göstermekte, streten 3 gün sonra ise OAB normale dönmektedir. Bu sonuçlar, Muller ve arkadaşlarının yaptığı kronik stres çalışmasının sonuçları ile karşılaştırılabilir. Muller ve arkadaşları 4 haftalık kronik soğuk stres uygulaması yapmış, OAB'nın ilk haftadan itibaren yükseldiğini ve stres bittikten sonra 2 hafta süre ile yüksek kaldığını göstermişlerdir (32). Kronik strese bağlı kan basıncındaki bu artış, akut streten farklı olarak sistemik damarların duvarlarındaki düz kas yapısında değişikliğe yol açmakta ve buna bağlı uzun süreli etkiler meydana gelmektedir (50). Çalışmamızda uyguladığımız stres daha kısa süreli olduğu için bu değişikliklerin 5 günlük stres sonrası başlayıp başlamadığı bilinmemekle beraber, 3 günlük stres sonrası OAB değişmez iken, 5 günlük stres sonrası artma eğilimi göstermesi uzun süreli olası etkilerin başladığını düşündürebilir. Diğer taraftan, kronik stres sırasında ve sonrasında sıçanların kalp hızında ve hematokrit değerlerinde herhangi bir değişiklik bulunmamıştır.

Çalışmamızda kronik stres gruplarında kilo kaybı olduğu tespit edilmiştir. Bu kayıp en çok 5. günde belirgin olup, stresten 3 gün sonra toparlanma gözlenmektedir. Bu bulgular Santos ve arkadaşlarının (2,5) yaptığı çalışmanın bulguları ile desteklenmektedir. Santos ve grubu 5 gün süre ile 1 saatlik sudan kaçınma stresi uygulamasının sıçanlarda kilo kaybına yol açtığını ve stresten 3 gün sonra ise toparlanmanın başlayıp, stresten 7 gün sonra sıçanların normal ağırlıklarına döndüklerini gözlemişlerdir.

Kronik stres ince barsakta inflamasyonu tetiklemektedir. Kronik stres ince barsak permeabilitesini arttırdığı gibi, mast hücreleri, nötrofiller ve mononükleer lökositlerin infiltrasyonuna ve mukozal MPO aktivitesinde artmaya neden olmaktadır (9,50). Çalışmamızda da kronik stresin ince barsak mukozasında MPO aktivitesini arttırdığı görülmüştür. Doku PMN infiltrasyonundaki artış stresin 3. ve 5. günlerinde ve stres bittikten 3 gün sonra devam etmektedir. Bu bulgular kronik stres sonrasında hemodinamik değişiklikler normale döndükten sonra da inflamatuvar değişikliklerin en az 3 gün daha devam ettiğini göstermektedir. Bu sonuçlara benzer bir şekilde Santos ve arkadaşları (2) 5 günlük kronik stresten 3 sonra, ince barsakta mast hücre infiltrasyonu ve mukozal permeabilitede gözlenen artışların devam ettiğini göstermişlerdir.

Kronik stres ince barsağın permeabilitesini ve lökosit infiltrasyonunu arttırdığı gibi oksidan hasarı da arttırmaktadır. Kronik stresin çeşitli dokularda (beyin, karaciğer, gastrointestinal sistem, kalp ve akciğer gibi) TBARB ve MDA düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir (51,52). Çalışmamızda kronik stres ince barsak mukozasında TBARB düzeylerini arttırmıştır. Bu bulgu kronik stresin ince barsak mukozasında lipid peroksidasyonuna yol açtığını göstermektedir. Ayrıca lipid peroksidasyonunda gözlenen artışlar kronik stresten 3 ve 5 gün sonra da devam etmektedir. Diğer taraftan, glutatyon düzeyleri kronik stresin 3. gününde düşük olduğu halde stresin 5. gününde ve stresten sonraki günlerde normale dönmektedir. Kronik strese bağlı ince barsak lipid peroksidasyonu stres sırasında ve sonrasında devam ettiği halde glutatyonun stresin 3. gününden sonra normal düzeylerine dönmesi antioksidan koruyucu mekanizmaların günler içinde etkinliğinin arttığını düşündürmektedir. Hücre mitokondrisinde yoğun olarak bulunan glutatyonun (46) akut ve subakut oksidan hasarda hızlı bir şekilde tüketildikten sonra stres devam ederken adaptasyona bağlı tekrar yapımın hızlandığı düşünülebilir.

Kronik stresin gastrointestinal inflamatuvar olayları kötüleştirdiği ileri sürülmektedir. Gue ve arkadaşları yaptıkları araştırmada kronik stresin deneysel kolit modelinde meydana gelen histolojik hasarı daha da arttırdığını göstermişlerdir (33). Ayrıca kronik stresin tek başına mukozal permeabiliteyi arttırdığı ve mikroskopik hasara neden olduğu ileri sürülmektedir (2). Bizim çalışmamızda ise 3 ve 5 günlük kronik stres sonrasında ince barsak villüs uçlarında epitel dökülmesi, submukoza ve lamina propria lökosit infiltrasyonu ve inflamasyon gözlenmiştir. Mikroskopik hasar daha az olmakla beraber, stresten 1 ve 3 gün sonra da devam etmektedir. Bu bulgular MPO ve diğer biyokimyasal ölçümler (lipit peroksidasyonu ve glutatyon) ile elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir.

Endotelin bugüne kadar tanımlanmış en güçlü vazokonstriktör ajandır. Endotelin strese benzer şekilde birçok sistem üzerinde çeşitli hemodinamik ve inflamatuvar etkilere yol açmaktadır (17,18,19). Oktar ve arkadaşları ET-1'in SMA'ye infüzyonu sonucunda ince barsak mukozal permeabilitesi ve MPO aktivitesinde artma meydana geldiğini göstermişlerdir (20). Laboratuvarımızda yapılan başka bir çalışmada ET-3'ün SMA'ye infüze edilmesinin vazokonstriksiyona yol açtığı ve ince barsak permeabilitesi, MPO aktivitesi ve histolojik hasarında artışa neden olduğu gösterilmiştir (53). Söz konusu inflamatuvar değişiklikler ET reseptör antagonistleri ile (BQ-485, BQ-788 ve Bosentan) anlamlı bir şekilde engellenmiştir. Diğer taraftan, akut stresin plazma ET seviyelerini arttırdığı da bilinmektedir. Davydova ve arkadaşları, 1 saatlik immobilizasyon stresinin ET düzeylerini, OAB'nı ve kalp hızını arttırdığını göstermişlerdir (54). Bu çalışmada, stres uygulanan grubun spesifik olmayan bir ET-reseptör antagonisti (PD-142893) ile tedavi edilmesi sonucunda kan basıncı anlamlı olarak düzelmiştir. Ancak bu etkilerin mekanizmaları bilinmemektedir ve aynı etki Wistar sıçanlarında gözlenmemiştir (54). Başka bir çalışmada ise suya batırma stresine bağlı mide mukozal kanaması, lezyon oluşumu ve artan asit salgılanmasında non-spesifik ET reseptör antagonisti bosentan koruyucu bir etki göstermiştir (55). Ayrıca yanığa bağlı oluşan gastrik mukozal hasar ve azalan gastrik mukozal kan akımında ET'in önemli bir rol oynadığı gözlenmiştir (56). Çalışmamızda ise, 2 saatlik sudan kaçınma stresinden 20 dakika önce verilen ET-A ve/veya ET-B reseptör antagonistleri, SMA kan akımındaki azalışı ve rezistansındaki artışı engellemişlerdir. Bu bulgular, strese bağlı oluşan SMA vazokonstriksiyonunda ET-A ve ET-B reseptörlerinin aracılık ettiğini düşündürmektedir. Ayrıca akut streste yükselen OAB, ET reseptör antagonistleri ile engellenmiştir. Bu bulgular

ET reseptör antagonistlerinin sadece barsak hemodinamiğine değil, sistemik hemodinamiğe de etkili olduğunu göstermektedir.

Gastrointestinal sistemin akut inflamatuvar değişiklikler ile karakterize hastalıklarında (örn iskemi-reperfüzyon, kolit) doku PMN infiltrasyonunda gözlenen artışlar ET reseptör antagonistleri ile engellenebilmektedir (21,44). Padol ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada akut strese bağlı artan gastrik mukozal hasar ve MPO aktivitesinin nonspesifik ET reseptör antagonistleri olan bosentan veya Ro48-5695 uygulaması ile engellendiği gösterilmiştir (57). Bulgularımız 2 saatlik sudan kaçınma stresinin yol açtığı ince barsak MPO aktivitesi artışında hem ET-A (BQ-485) hem de ET-B (BQ-788) reseptör antagonistlerinin etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca akut strese bağlı artan lipid peroksidasyon düzeylerindeki artış ve glutatyon miktarındaki azalış her iki ET reseptör antagonisti ön tedavileri ile düzeltilmektedir. Bu bulgular, akut strese bağlı oluşan ince barsak oksidan hasarı ve PMN infiltrasyonunda ET-A ve ET-B reseptörlerinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Çalışmamızda, 3 günlük kronik sudan kaçınma stresi SMA kan akımında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. ET-A reseptör antagonistinin her gün stresten 20 dk önce uygulanması strese bağlı meydana gelen hemodinamik değişiklikleri anlamlı bir şekilde düzeltmiştir. Bu bulgular, kronik strese bağlı SMA vazokonstriksiyonunda ET-A reseptörlerinin önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak ne ET-B ne de her iki antagonist beraber verildiğinde kronik stresin etkileri düzelmemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda ET reseptörleri arasında karmaşık etkileşimlerin meydana geldiği, çapraz-konuşma "cross-talk" adı da verilen bu mekanizmaya göre bir reseptör tipinin aktif hale gelmesinin diğer reseptör üzerinde inhibitör veya stimülatör etki meydana getirebileceği ileri sürülmüştür (58). Adner ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada mezenterik arterlerde ET-B reseptörlerinin desensitizasyonunun ET-1 ve FR139317 (ET-A reseptör antagonisti) potensini arttırdığı ileri sürülmüştür (59). Mickley ve arkadaşları (60) in vitro mezenterik arter preperatlarında ET-B reseptör agonisti sarafotoksin 6C ile gözlenen vazokonstriksiyonun ancak ET-A ve ET-B reseptör antagonistlerinin beraber inkübasyonu ile engellendiğini göstermişlerdir. Ayrıca bazı araştırmacılar ET-B reseptörlerinin bloke edilmesinin ET-1'in pulmoner klirensini engelleyeceği için ET-1 düzeylerinde artma meydana getireceğini ileri sürmüşlerdir (58,61). Bu olasılığın çalışmamızda elde edilen sonuçları ne kadar etkilediği tam olarak bilinmemekle beraber ET-B reseptör blokajını takiben artan ET-1

konsantrasyonunun ET-A aracılı vazokonstriksiyonu daha da arttıracakı düşünülürse, bu olasılığın az olduğu söylenebilir. Sonuç olarak ET reseptörlerinin in vivo şartlarda birbirleri ile nasıl etkileştikleri gelecekte planlanan çalışmalarla araştırılması gereken bir konudur. Ayrıca çalışmamızda uygulanan stres modelinin ET düzeylerinde değışikliğe yol açıp açmadığı da bilinmemektedir. Son olarak olası ET düzey değışikliklerinin hangi mekanizmalar ile gerçekleştiğı, sistemik ve parakrin etkilerinin neler olduğu net değildir.

Çalışmamızda kronik sudan kaçınma stresi ince barsağın bütün bölümlerinde MPO aktivitesinde artışa sebep olmuştur. Bu artışlar sadece ET-A reseptör antagonisti tedavisi ile düzelmiştir. Ne ET-B ne de her iki antagonistin beraber verilmesi doku MPO aktivitesinde gözlenen artışı engileyememiştir. Bu bulgular, 3 günlük kronik strese bağı artan ince barsak PMN infiltrasyonunda endotelinlerin ET-A reseptör aracılığıyla rol oynadığını düşündürmektedir. Benzer bulguların lipit peroksidasyonu ve glutatyon ölçümleriyle de desteklenmesi ET-A reseptörlerinin patogenezdaki rolünü desteklemektedir. Diğer taraftan çalışmamızda kronik stres grubunda ET-A antagonisti ile gözlenen iyileştirici etkilerin ET-A ve ET-B reseptör antagonistleri ile tedavi edilen deney grubunda ortadan kalmış olması oldukça ilgi çekicidir. Bu sonuçlar ET'nin ET-A reseptörleri üzerinden hasarı arttırıcı etki gösterirken ET-B reseptörleri aracılı antiinflamatuvar bir etki meydana getirdiğini düşündürebilir. Bu hipotez ET-B antagonisti tedavisinin ince barsak hasarında etkili olmaması, hem ET-A hem de ET-B reseptör antagonistlerinin beraber uygulandığında ise intestinal hasarın devam etmesi bulgularıyla desteklenmektedir. Ancak çalışmanın bu kısmından elde edilen bulgular ile net bir sonuca varılması mümkün olmadığı gibi, her iki reseptör arasında literatürde belirtilen fakat özellikle invivo koşullarda tanımlanmamış bir çapraz-konuşma olup olmadığı belli değildir. Mevcut cevapların anlaşılmasında yeni ET reseptör alt tiplerinin tanımlanması, değışik dozlarda spesifik ve nonspesifik ET antagonistlerinin de benzer çalışmalarda denenmesi ve ET-B agonistlerinin kullanılması katkıda bulunacaktır. Sonuç olarak elde edilen bulgular kronik streste, ET-A reseptör aracılı hasar meydana getirici etkileri desteklerken, ET-B reseptörlerinin etkileri ile ilgili olarak yeni çalışmalar yapılması gerektiğinin altını çizmektedir.

REFERANSLAR

- 1- Saunders P.R., Kosecka U., McKay D.M., Perdue M.H. Acute stressors stimulate ion secretion and increase epithelial permeability in rat intestine. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 1994 ; 267: G486-90.
- 2- Santos J., Benjamin M., Yang P.C., Prior T., Perdue M.H. Chronic stress impairs rat growth and jejunal epithelial barrier function: role of mast cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2000 ; 278: G847-54.
- 3- Santos J., Saperas E., Nogueiras C., Mourelle M., Antolin M., Cadahia A., Malagelada J.R. Release of mast cell mediators into the jejunum by cold pain stress in humans. *Gastroenterology* 144: 1999; 640-48.
- 4- Castagliuolo I., Wershil B.K., Karalis K., Pasha A., Nikulasson S.T., Pothoulakis C. Colonic mucin release in response to immobilization stress is mast cell dependent. *Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 274: 1998; G1094-100.
- 5- Santos J., Yang P.C., Söderholm J.D., Benjamin M., Perdue M.H. Role of mast cells in chronic stress induced colonic epithelial barrier dysfunction in the rat. *GUT* 48: 2001; 630-36.
- 6- Wilson L.M., Baldwin A.L. Environmental stress causes mast cell degranulation, endothelial and epithelial changes and edema in the intestinal mucosa. *Microcirculation*; 6: 1999; 189-98.
- 7- Alptekin N., Seçkin S., Doğru-Abbasoğlu S., Yelkenci F., Kocak-Toker N., Toker G., Uysal M. Lipid peroxides glutathione, γ -glutamylcysteine synthase and γ -glutamyltranspeptidase activities in several tissues of rats following water-immersion stress. *Pharmacol. Res.* 1996; 34:167-69.
- 8- Spitz J.C., Ghandi S., Taveras M., Aoye E., Alverdy J.C. Characteristics of the intestinal epithelial barrier during dietary manipulation and glucocorticoid stress. *Crit. Care Med.* 1996; 24:635-41.
- 9- Söderholm J.D., Perdue M.H. Stress and the gastrointestinal tract II. Stress and intestinal barrier function. *Am. J. Physiol. (Gastrointest Liver Physiol)*; 2001; 280: G7-G13.
- 10- Stephen M. C. Stress and the gastrointestinal tract IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: Basic mechanisms and clinical relevance. *Am. J. Physiol. (Gastrointest Liver Physiol)*; 2001; 280: G315-G318.
- 11- Knuepfer M.M., Purcell R.M., Gan Q.I., Le K.M. Hemodynamic response patterns to acute behavioral stressors resemble those to cocaine. *Am J Physiol. (Regulatory Integrative Comp Physiol)* 2001; 281: R1778-R1786.
- 12- Kitagawa A., Fujinara M., Osumi Y. Effect of water immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. *Gastroenterology* 1979; 77: 298-302.
- 13- Zhang L.I., Colony P.C., Washington J.H., Seaton J.F., Kauffman G.L. Central neurotensin affects rat gastric integrity, prostaglandin E_2 , and blood flow. *Am J Physiol. (Gastrointest Liver Physiol)* 1989; 256: G226-G232.
- 14- Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J., Taut A., Sliwowski Z., Stachura J., Hahn E.G. Activation of genes for growth factors and cyclooxygenase in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *Eur J. Pharmacol.* 1998; 342(1): 55-65.
- 15- Zukowska-Grojec Z., Dayao E.K., Karwatowska-Prokopeczuk E., Hauser G.J., Doods H.N. Stress-induced mesenteric vasoconstriction in rats is mediated by neuropeptide YY1 receptors. *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.* 1996; 270: H796-800.
- 16- Forsyth R.P. Regional blood flow changes during 72 hours avoidance schedules in the monkey. *Science Wash DC*, 1971; 173: 546-48.
- 17- Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S., Tomobe, Kobayashi Y., Mitsui M., Yasaki Y., Goto Y., Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-15.
- 18- Kurtel H., Ghandour S. Endothelins and inflammation: the gastrointestinal system. *Pathophysiology*, 1999; 6: 77-89.
- 19- Inoue A., Yanagisawa M., Takawa Y., Mitsui Y., Kobayashi M., Masaki T. The human preproendothelin-1 gene. *J Biol Chem* 1989; 264: 14954-59.
- 20- Oktar B.K., Coşkun T., Bozkurt A., Yeğen B.Ç., Yüksel M., Haklar G., Bilsel G., Aksungar F.B., Çetinel Ş., Granger D.N., Kurtel H. Endothelin-1 induced PMN infiltration and mucosal dysfunction in the rat small intestine. *Am J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol.* 42) 2000; 483-491.

- 21- Oktar, B.K., M.A. Gülpınar, A. Bozkurt, S. Ghandour, Ş. Çetinel, H. Moini, B.Ç. Yeğen, S. Bilsel, D.N. Granger, H. Kurtel. Endothelin receptor blockers reduce ischemia-reperfusion induced intestinal mucosal injury in the rat: role of blood flow. *Am J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol.)* 2002; 282: G647-G655.
- 22- Liu G.S, Huang Y.X., Li S.W., Pan B.R., Wang X., Sun D.Y., Wang Q.L. *Experimental study on mechanism and protection of stress ulcer produced by explosive noise.* World J Gastroenterol 1998; Dec;4(6):519-523.
- 23- Xu Q., Li D.G., Holbrook N.J., Udelsman R. Acute hypertension induces heat-shock protein 70 gene expression in rat aorta. *Circulation* 1995; Sep 1;92(5):1223-9.
- 24- Castellani S., Ungar A., La Cava G., Cantini C., Stefanile C., Camaiti A., Messeri G., Coppo M., Vallotti B., Di Serio C., Brocchi A., Masotti G. Renal adaptation to stress: a possible role of endothelin release and prostaglandin modulation in the human subject *J Lab Clin Med*, 1997; Apr;129(4):462-469.
- 25- Taché Y., Martinez V., Million M., Wang L. Stress and the gastrointestinal tract III. Stress-related alterations of gut motor function: role of brain corticotropin-releasin factor receptors. *Am J Physiol. (Gastrointest Liver Physiol)* 2001; 280: G173-G177.
- 26- Brunner F., Kukovetz R. Postischemic antiarrhythmic effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors : role of suppression of endogenous endothelin secretion. *Circulation*, 1996; 94: 1752-61.
- 27- Bradley P.P., Priebat D.A., Christensen R.D., Rothstein G. Measurment of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. *J Invest Dermatol* ; 1982;78: 206-209.
- 28- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 183, 265-278.
- 29- Levine R.L., Garland D., Oliver C.N., Amirci A., Climent I., Lenz A., Ahn B., Shaltiel S., Stadtman E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol* , 1990; 186: 464-78.
- 30- Aykaç G., Uysal M., Yalçın A.S., Koçak-toker N., Sivas A., Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic glutathione transferase in rats. *Toxicol* 1985; 36: 71-76.
- 31- Casini A., Ferrali M., Pompella A.S., Maellaro E., Campori M. Lipid peroxide and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene intoxicated mice. *Am J Pathol* 1986; 123: 520-31.
- 32- Muller J.R., Le K.M., Haines W.R., Gan Q.I., Knuepfer M.N. Hemodynamic response pattern predicts susceptibility to stress-induced elevation in arterial pressure in the rat. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, 2001; 281:R31-R37.
- 33- Gue M., Bonbonne C., Fioramonti J., More J., Rio-Lacheze C.D., Comera C., Bueno L. Stress-induced enhancement of colitis in rats: CRF and arginine vasopressin are not involved. *Am. J. physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 1997; 272:G84-G91.
- 34- Million M., Taché Y., Anton P. Susceptibility of Lewis and fischer rats to stress-induced worsening of TNB-colitis: protective role of brain CRF. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 1999; 276:G1027-G1036.
- 35- Murakami M., Lam S.K., Inada M., Miyake T. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology*, 1985; 88:660-665.
- 36- Coşkun T., Yeğen B., Alican İ., Peker Ö., Kurtel H.: Cold restraint stress-induced gastric mucosal dysfunction: Role of nitric Oxide. *Dig. Dis. Sci.*, 1996; 41:956-963.
- 37- Kresse A.E., Million M., Saperas E., Taché Y. Colitis induces CRF expression in hypothalamic magnocellular neurons and blunts CRF gene response to stress in rats. *Am. J. Physiol.*, 2001; 281: G1203-G1213.
- 38- Bonaz B., Taché Y. Water avoidance stress-induced c-fos expression in the rat brain and stimulation of fecal output: role of corticotropin releasin factor. *Brain Res.*, 1994; 64:21-28.
- 39- Million M., Grigoriadis D.E., Sulliva S., Crowe P.D., McRoberts J.A., Zhou H., Saunders P.R., Maillot C., Mayer E.A., Taché Y. A novel water-soluble selectif CRF1 receptor antagonist, NBI 35965, blunts stress-induced viseral hyperplasia and colonic motor functions in rats. *Brain Res.*, 2003; 984:32-42.
- 40- Schadt J.C., Hasser E.M. Hemodynamic effects of acute stressors in the conscious rabbit. *Am. J. Physiol.*, 1998; 274:R814-R821.

- 41- Goldstein D.S. Stress-induced activation of the sympathetic nervous system. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.*, 1987; 1: 253-278.
- 42- Grisham M.B., Benoit J.N., Granger D.N. Assesment of leukocyte involvment during ischemia and reperfusion of intestine. *Methods Enzymol.*, 1990; 186:729-741.
- 43- Alican İ., Yeğen C., Olcay A., Kurtel H., Yeğen B.Ç. Ischemia-reperfusion-induced delay in intestinal transit: role of endothelins. *Digestion*, 1998; 59:343-348.
- 44- Deniz M., Çetinel Ş., Kurtel H. Blood flow alterations in the TNBS-induced colitis: role of endothelin receptors. *Inflamm. Res.*, 2004; 53:01-08.
- 45- Qui B.S., Mei Q.B., Liu L., Tchou-wong K.M. Effects of nitric oxide on the gastric ulceration induced by nicotine and cold-restraint stress. *World J. Gastroenterol.*, 2004; 10:594-597.
- 46- Reed D.J.: Glutathione. Toxicological implication. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1990; 30:603-31.
- 47- Yeğen B., Dedeoğlu A., Aykaç İ., Oktay S., Yalçın A.S. The effect of cold-restraint stress on glutathione and lipid peroxide levels in the liver and glandular stomach of rats. *Pharmacol. Res.*, 1990; 22:45-48.
- 48- Brzozowski T., Konturek P.Ch., Konturek S.J., Kwiecien S., Sliwowski Z., Pajdo R., Duda A., Ptak A., Hahn E.G. Implication of reactive oxygen species and cytokines in gastroprotection against stress-induced gastric damage by nitric oxide releasing aspirin. *Int. J. Colorectal Dis.*, 2003; 18:320-329.
- 49- Knardahl S., Sanders B.J., Johnson A.K.. Haemodynamic responses to conflict stress in borderline hypertensive rats. *J. Hypertens.*, 1989; 7:585-93.
- 50- Söderholm J.D., Yang P.C., Ceponis P., Vohra A., Riddell R., Sherman P.M., Perdue M.H. Chronic stress induces mast cell-dependent bacterial adherence and initiates mucosal inflammation in rat intestine. *Gastroenterol.*, 2002; 123: 1099-1108.
- 51- Bondarenko N.A., Deviatkina T.A., Voskresenskii O.N., Valdman A.V. Effect of chronic emotional stress on lipid peroxidation in the tissues and blood of emotional and nonemotional rats. *Biull. Eksp. Biol. Med.*, 1985; 100:12-14.
- 52- Kovacheva S., Ribarov S.R. Lipid peroxidation in lung of rat stressed by immobilization: effects of vitamin E supplementation. *Lung*, 1995; 173:255-263.
- 53- Ghandour S., Çetinel Ş., Kurtel H. Endothelin-3 induced mesenteric vasoconstriction and PMN infiltration in the rat small intestine: role of endothelin receptors. *Regul. Pept.*, 2004; 119:125-131.
- 54- Davydova M.P., Tolordava I.A., Volkov V.N., Grafov M.A., Medvedeva N.A. Altered endothelin-dependent regulation of blood pressure and vascular tone in stress-sensitive august rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2000; 36:S124-S127.
- 55- Said S.A., El-Mowafy A.M. Role of endogenous endothelin-1 in stress-induced sgastric mucosal damage and acid secretion in rats. *Regul. Pept.*, 1998; 73:43-50.
- 56- Battal N.M., Hata Y., Ito O., Matsuda H., Yoshida Y., Kawazoe T., Nagao M. Reduction of burn-induced gastric mucosal injury by an endothelin receptor antagonist in rats. *Burns*, 1997; 23:295-299.
- 57- Padol I., Huang J.Q., Hunt R.H. Anti-ulcerogenic properties of endothelin receptor antagonists in the rat. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 1999; 13:537-544.
- 58- Fukuroda T., Ozaki S., Ihara M., Ishikawa K., Yano M., Miyauchi T. Necessity of dual blockade of endothelin ETA and ETB receptor subtypes for antagonism of endothelin-1-induced contraction in human bronchi. *Br. J. Pharmacol.*, 1996; 117:995- 999.
- 59- Adner M., Shankley N., Edvinsson L. Evidence that ET-1, but not ET-3 and S6b, ETA-receptor mediated contractions in isolated rat mesenteric arteries are modulated by co-activation of ETB receptors. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 133:927- 935.
- 60- Mickley E.J., Gray G.A., Webb D.J.. Activation of endothelin ETA receptors masks the constrictor role of endothelin ETB receptors in rat isolated small mesenteric arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 1997; 120:1376 -1382.
- 61- Dupuis J, Steward DJ, Cernacek P, Gosselin G. Human pulmonary circulation is an important site for both clearance and production of endothelin-1. *Circulation*, 1996; 94:1578- 1584.

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Kodu: sbag-2605
Proje Başlığı: AKUT VE KRONİK STRESİN BARSAK HEMODİNAMİĞİNE ETKİSİ: ENDOTELİN RESEPTÖR BLOKERLERİNİN ROLÜ
Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Prof. Dr. Hızır Kurtel, Yrd. Doç. Dr. Şule Çetiner, Dr. Salah Ghandur (Gandur)
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Hastahaneler Cad. 34668, Haydarpaşa-İSTANBUL
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: ---
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 1 Eylül 2002-1.06.2004
Öz (en çok 70 kelime): Çalışmanın amaçları akut ve kronik strese bağlı barsak hemodinamiği ve inflamatuvar parametrelerde meydana gelen değişiklikleri karakterize etmek ve endotelin (ET) reseptörlerinin bu değişikliklerdeki rolünü araştırmaktır. Akut ve kronik stres uygulamaları SMA kan akımında azalışa ve ince barsağın MPO aktivitesinde, lipid peroksidasyonunda ve mikroskopik hasarında artışa neden olmuştur. Akut strese bağlı meydana gelen değişiklikler her iki ET reseptör antagonistinin uygulanması ile düzelmiş, kronik stresin etkilerinde ise sadece ET-A antagonisti etkili olmuştur.
Anahtar Kelimeler: psikolojik stres, endotelin, barsak, mezenterik, inflamasyon.
Projeden Kaynaklanan Yayınlar: 2004 APS Intersociety Meeting, The Integrative Biology of Exercise, October 6-9, 2004, Hilton Austin Hotel, Austin, TX. Effects of Acute Exhausting Exercise and Acute Psychological Stress on the Hemodynamics of the Rat Small Intestine: Role of Endothelin-A (ET-A) and Endothelin-B (ET-B) Receptors Salah Gandur, Berrak Yegen, Hızır Kurtel. 2003, Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 29. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 1-5 Eylül, Ankara. Ghandour S., Kurtel H. Akut ve kronik strese bağlı intestinal hemodinamik değişikliklerde endotelin reseptörlerinin rolü.
Bilim Dalı: Fizyoloji ☐ ☐ Doçentlik Bilim Dalı Kodu: 1023