

# Tıkanma sarılığında E vitamini ve urso deoksi kolik asid'in immün sistem üzerine etkisi

Ersin ÇİFTÇİ\*, Mustafa ŞAHİN\*, Serdar YOL\*, İlhami ÇELİK\*\*, Yüksel TATKAN\*

\*S.Ü.T.F.Genel Cerrahi Anabilim Dalı, \*\*S.Ü.V.F. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, KONYA

## ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanlarda; UDKA ve vitamin E'nin lökosit sayısı, T, B ve null lenfosit oranları ve floresans boya ile işaretli E.coli translokasyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. **Gereç ve Yöntem:** Araştırmada 70 Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Tıkanma sarılığı oluşturulan sıçanlar 15'erli dört gruba ayrıldı. Birinci grup sadece tıkanma sarılığı oluşturulan gruptu. İkinci gruba 8-14. günler arası 25mg/kg oral UDKA verildi. Üçüncü grup, aynı günler arasında bir haftalık süre içinde günde 500 mg/kg intramüsküler (toplam 3 kez) vitamin E verilen deney grubuydu. Dördüncü gruba UDKA ve vitamin E, yukarıda belirtilen süre ve dozda birlikte verildi. Geriye kalan 10 denekte (5. grup) sham işlemi uygulandı. 14. günde tüm sıçanlara, ml'sinde  $10^9$  bakteri içeren floresans boya ile işaretli E.coli 2 ml olarak nazo-gastrik tüp ile verildi. Bir gün sonra steril şartlarda sakrifiye edilen sıçanlardan, histopatolojik inceleme için MLN, karaciğer, dalak, ince barsak ve kan örnekleri alındı. Kan yaymalarında May-Grünwald-Giemsa yöntemi ile lökosit formülü, ANAE enzimi ile T, B ve null lenfosit oranları saptandı. Bilirübin, SGOT, SGPT ve alkalen fosfataz çalışıldı. Barsak duvarı, MLN, karaciğer, kan ve dalakta floresans mikroskopta işaretli E.coli'ler belirlendi. **Bulgular:** Lökosit formülünde 1 ve 2. grupta lenfosit oranlarında azalma vardı ( $p<0.05$ ). E vitamini verilen gruplarda ise lenfosit oranları sham grubu ile benzerdi. T ve B lenfosit oranları ise tüm tıkanma sarılıklı gruplarda azalmıştı. Bu azalma 3 ve 4. gruplarda daha belirgindi ( $p<0.05$ ). Null lenfositlerin oranı ise tüm tıkanma sarılıklı gruplarda artmış, E vitamini verilen gruplarda ise daha belirgin olarak artmıştı ( $p<0.05$ ). İşaretli E.coli'lerin birinci grupta anlamlı yükseklik gösterdiği, diğer gruplar arasında fark olmadığı belirlendi. **Sonuç:** Tıkanma sarılıklarında E vitamininin lenfoproliferatif etkiyle Null lenfositlerde anlamlı bir artış sağladığı, UDKA'nın immün sistem üzerine direkt bir etkisinin olmadığı, ancak işaretli E. coli'lerin dokulara geçişini E vitaminine eşdeğer oranda azalttığı tesbit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Tıkanma sarılığı, immün sistem, lökosit, lenfosit, E vitamini ve ursodeoksikolik asit.

## SUMMARY

**The effect of vitamine E and ursodeoxycholic acid on immune system in obstructive jaundice**

**Purpose:** The aim of this study is to investigate the effect of Vitamine E and Ursodeoxycholic acid (UDCA) on the leucocyte count, the ratio of T, B and Null lymphocyte and translocation of E. coli labelled with flourescein in an experimental obstructive jaundice model in rats. **Material and Methods:** Seventy male Wistar-albino rats were used in this study. The animals were divided into four groups including 15 rats and obstructive jaundice were performed in all rats. In the first group; obstructive jaundice was performed only. In the second group; 25 mg/kg UDCA was given orally between 8-14 days. In the third group; 500 mg/kg/im Vitamine E was given in every two days between 8-14 days (three times). In the fourth group Vitamine E and UDCA were given together as mentioned above. In the left ten rats; sham procedure was performed (fifth group). Two ml solution including  $10^9$  E. coli labelled with flourescein was given via a naso-gastric tube at 14th day. All rats were sacrificed at 15th day and mesenteric lymphatic nodules (MLN), liver, spleen, small bowel tissue samples and one ml blood samples were taken. Leucocyte types were detected by May-Grünwald-Giemsa method and T, B and Null lymphocyte ratio were found by ANAE enzyme. Serum Bilirubine, SGOT, SGPT and Alkaline phosphatase levels were measured. Translocated E. coli number detected in bowell wall, MLN, liver, spleen and blood samples by flourescein microscopy. **Findings:** There was a significant decrease of lymphocyte ratio in group I and II ( $p<0.05$ ). The lymphocyte ratio of groups II and III was similar with control group. T and B lymphocyte ratio decreased in all jaundiced groups. The decrease was significant in third and fourth groups ( $p<0.05$ ). Null lymphocyte ratio increased in all groups, but the differences was significant in groups III and IV ( $p<0.05$ ). E.coli translocation was significant in group I, and there was no differences in other groups. **Conclusion:** Vitamine E caused Null lymphocyte proliferation. UDCA has no direct effect on immune system, but it prevented the labelled E.coli translocation.

**Key Words:** Obstructive jaundice, Immune system, Leucocyte, Lymphocyte, Vitamine E and UDCA.

Tıkanma sarılıklı hastalarda cerrahi girişimlerden sonra morbidite ve mortalite yüksek seyretmektedir. Çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarda tıkanma

sarılığında safranin barsak lümenine akmaması ve safra yollarında basınç artışı sonucu immün sistemin ve özellikle RES'in baskılandığı, bu nedenle gelişen

septik komplikasyonların morbidite ve mortalitenin artmasına katkıda buldukları bildirilmektedir (1-3). Safranın barsağa akamadığı durumlarda lümendeki bakterilerin aşırı çoğaldığı ve bakteriyel translokasyon yoluyla sistemik dolaşıma geçerek septik komplikasyonlara neden olduğu çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarla ortaya konmuştur (4-6).

İmmün sistemin komponentleri olan makrofajlar, lenfositler, Peyer plakları, mezenter lenf nodları ve karaciğerdeki Kupffer hücreleri, bakteri ve endotoksinler için filtre görevi görürler (7). RES, karaciğer, akciğer ve kemik iliğinde özellikle bakteri, endotoksin, immün kompleks ve hücre debrislerinin temizlenmesinde görevlidir (8,9). Tıkanma sarılıklarında radyoaktif partiküller ve E.coli kullanılarak yapılan çalışmalarda; kan, karaciğer akciğer gibi organların bu bakterileri temizleme kapasitesinin (3,10-12), peritoneal nötrofil kemotaksisinin (13), karaciğer fagositozunun azaldığı gösterilmiştir (2,14).

Tıkanma sarılığında immün depresyonun kaybolmasının safranın barsak lümenine akmasıyla mümkün olduğu bildirilmektedir. Çeşitli girişimlerle hastanın kendi safrasının barsağa akıtılmadığı durumlarda eksojen safra asitlerinin verilmesinin immün sistemi düzeltereği ileri sürülmektedir (6). Anti-oksidan ve membran stabilizatörü olarak bilinen E vitamininin RES fonksiyonlarını (15), humoral immün cevabı (16,17) ve T helper hücre aktivitesini de artırdığı bilinmektedir (18).

Bu deneysel çalışma eksojen safra asitleri ve E vitamininin tıkanma sarılığında immün sistem üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla planlandı.

### **GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışma, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nde ve Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

Araştırmada ağırlıkları 180-270 g arasında değişen Wistar-Albino cinsi 70 erkek sıçan kullanıldı. Çalışma boyunca sıçanlar standart hayvan yemi ve su ile beslendi. Sıçanlar'ın 60'ına eter anestezi altında orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Koledok karaciğer hilusundan bulunarak 4/0 ipekle iki yerden bağlanarak ligatürlerin arasından kesildi. Sıçanlar 15'erli 4 gruba ayrıldı. Geriye kalan 10 sıçan sham grubunu oluşturdu. Bu grupta da eter

anestezi altında mediyan laparotomi yapıldıktan sonra koledok izole edildi ve arkasından döndü. Fakat tıkanma sarılığı oluşturmak amacıyla koledok bağlanıp kesilmedi.

Grup I: Tıkanma sarılığı oluşturuldu.

Grup II: Tıkanma sarılığı + UDKA verildi.

Grup III: Tıkanma sarılığı + E vitamini verildi.

Grup IV: Tıkanma sarılığı + UDKA + E vitamini verildi.

Grup V: Sham grubu.

Ursodeoksikolik asit 8-14. günlerde 25 mg/kg/gün (Ursofalk, Dr.Falk Pharma GmbH Germany) gavaj yoluyla verildi. E vitamini aynı günler arasında bir haftalık sürede gün aşırı 500 mg/kg intramüsküler (toplam üç kez) verildi. İlk dört gruptaki sıçanlara 14. günde, hazırlanışı aşağıda belirtilen ve mililitresinde 10<sup>9</sup> bakteri içeren, floresans boya ile işaretli E.coli süspansiyonu, 2 ml dozda, 8 F feeding bir tüp ile nazo-gastrik yolla verildi.

15. günde steril şartlarda sakrifiye edilen sıçanlarda relaparotomi ve torakotomi yapılarak kardiyak ponksiyonla 4 ml kan ve immün floresan inceleme için ince barsak, karaciğer, MLN ve dalaktan doku örnekleri alındı.

### **Kandaki Lökosit Sayısı ve Nötrofil, Lenfosit, Monosit Oranlarının Belirlenmesi**

Deneklerin herbirinden kardiyak ponksiyonla alınan sitratlı kanın 1 ml'sinden Technicon H-1 cihazı ile lökosit sayımı yapıldı. Ayrıca alınan kan örneklerinden her hayvan için ikişer yayma hazırlanarak, oda sıcaklığında havada kurutuldu. Kurumayı takiben, May-Grünwald-Giemsa (19) yöntemi ile boyanan yaymalarda değişik alanlarda 200 lökosit sayılarak nötrofil, lenfosit ve monosit oranları belirlendi. Sonuçlar her hücre tipi için % olarak ifade edildi.

### **Kanda B, T ve Null Lenfositlerin Oranlarının Belirlenmesi**

Alınan kan örneklerinden hazırlanan yaymalar havada 30 dakika süreyle kurutulmayı takiben -10°C'deki glutaraldehit-aseton tespit sıvısında 3 dakika tespit edildi. Tespit süresi sonunda iki kez distile suyla yıkanan yaymalar 30 dakika oda sıcaklığında tutulduktan sonra T-lenfositlerine özgü bir enzim olan a-naftil asetat esteraz (ANAE)'nin demonstrasyonu amacıyla Higgy ve ark.'nın (20) bildirdiği şekilde hazırlanan inkübasyon solüsyonunda,

oda sıcaklığında (20°C) 4 saat inkübe edildi.

Bu amaçla:

Eşit hacimdeki %5'lik pararozanilin (Sigma) solüsyonu ile %4'lük sodyum nitrit (Merck) solüsyonu karıştırılarak hekzazotize pararozanilin hazırlandı. Bu solüsyonun 2,4 ml'si, 40 ml'lik 0,067 M fosfat tamponu (pH:5,0)'na ilave edildi. Bu karışıma 0,4 ml asetonda (Merck) çözödürölen 10 mg a-naftil asetat (Sigma) damla damla ilave edildi. Elde edilen solüsyonun pH'sı 1 N sodyum hidroksit ile 5,8'e ayarlanarak, adi süzgeç kağıdından süzöldü ve inkübasyon solüsyonu olarak kullanıldı.

Inkübasyon sonunda yaymalara iki kez distile su ile yıkandıktan sonra 0,1 M asetat tamponu (pH.4,2) içinde hazırlanmış olan %1'lik methyl green (Merck) ile çekirdek boyaması uygulandı. Distile su ile iki kez yıkanan yaymalar dereceli alkollerden geçirilerek, su giderme işlemleri gerçekleştirildi. Takiben ksilol serisinden geçirilerek Entellan (Merck) ile kapatıldı. Bu şekilde hazırlanan her preparatta, immersiyon objektifi (x100) ile yapılan incelemelerde 1-3 arasında kiremit kırmızısı-kahverengi granöle sahip olan lenfositler T-lenfositleri, çok sayıda ve küçük granöle sahip olan (diffüz granöler pozitive gösteren) lenfositler null hücreleri, enzimatik reaksiyon göstermeyen hücreler ise B-lenfositleri olarak kabul edildi.

Her preparatta 200 lenfosit sayılarak pozitif ve negatif hücrelerin oranları hesaplanarak, (%) olarak ifade edildi.

#### **E.coli'nin Floresans Boyayla İşaretlenmesi ve Histopatolojik olarak değerlendirilmesi**

Bu amaçla buyyonda çoğaltılarak, 10 ml'lik cam tüplere alınan bakteri suspansiyonundaki bakteri sayısı, tamponlu serum fizyolojik ile 10<sup>9</sup>/ml adet bakteri olacak şekilde ayarlandı. Elde edilen suspansiyonun her ml'sine 0,5 ml Acridine orange solüsyonu (14 mg Acridine orange (Sigma), 100 ml fosfat buffer solüsyonu (PBS)'nda eritildi) ilave edildi. Su banyosunda 37°C yarım saat tutulan hücre süspansiyonlarındaki fazla Acridine orange'ın alınması için hücre süspansiyonları 3 kez PBS ile yıkandı ve deneklere verildi. Karaciğer, dalak ve mezenterik lenf nodu örnekleri metil butan (Merck) içine alınarak -70°C'deki derin dondurucuya yerleştirildi. Bu doku örneklerinden kriyostat (Slee London) ile alınan 9 mm, kalınlığındaki kesitler %0,1'lik Evans

blue ile 10 dakika süreyle boyandı. Boyanan kesitlerin üzerine %50 PBS ve %50 Gliserol (Merck) karışımı damlatılarak lamelle kapatıldı. Lamelin kenarları tırnak cilası ile kaplanarak kesitlerin kurumaması engellendi (21).

Hazırlanan preparatlar, Leitz Ortholux-2 model floresans mikroskopunda incelendi. Acridin orange ile boyanan bakteriler Evans blue'nun oluşturduğu koyu kırmızı zeminde parlak yeşil-sarı floresans veren basiller halinde gözlemlendi.

#### **İstatistiksel Analiz**

Lökosit, nötrofil, lenfosit, monosit, T lenfosit, B lenfosit ve null lenfosit değerleri önce varyans analizi ile karşılaştırıldı, anlamlı çıkması halinde Tukey testi ile çoklu karşılaştırmalar yapıldı. Dokularda tespit edilen işaretli E.colilerin oranları Ki-kare testi ile değerlendirildi.

#### **BULGULAR**

Çalışma süresince birinci ve ikinci gruptan 3, üçüncü ve dördüncü gruptan da 2 denek öldü. Bunlar çalışmadan çıkarılarak yerlerine grubun özelliğini taşıyan başka denekler eklenmek suretiyle grup sayıları tamamlandı.

#### **Lökosit Sayısı**

Koledok ligasyonu ve kesilmesinden sonra 15. günde ölçölen lökosit sayıları sırasıyla (ortalama±SD); 11946 ± 1135, 10966 ± 1260, 19860 ± 2916, 20280 ± 2566 ve 6630 ± 1767 olarak belirlendi.

Tıkanma sarılığı oluşturulan 1, 2, 3 ve 4. gruplarda lökosit sayısı sham grubu ile karşılaştırıldığında artmıştı ve farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edildi (p<0,05). Bu gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında E vitamininin verildiği üç ve dördüncü gruplarda lökosit sayısının ilaç verilmeyen birinci ve sadece UDKA verilen ikinci gruplara göre arttığı ve istatistiksel açıdan fark olduğu gözlemlendi (p<0.01). Birinci grup, ikinci grup ile karşılaştırıldığında, üçüncü grup ise dördüncü grup ile karşılaştırıldığında aralarında fark gözlemlenmedi.

#### **Nötrofil, Lenfosit, Monosit Oranları**

Tıkanma sarılığı oluşturulduktan sonra 15. günde yapılan yaymada tüm gruplardaki deneklerde nötrofil, lenfosit, monosit oranları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Birinci ve ikinci grupta nötrofil oranları 3, 4 ve 5. grupla karşılaştırıldığında yükselmişti ve istatistiksel

**Tablo 1.** Tüm gruplarda ortalama  $\pm$ SD % nötrofil, lenfosit, monosit değerleri ve gruplar arası karşılaştırmaları.

	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1. grup	29,2 $\pm$ 2,8	44,4 $\pm$ 3,3	6,6 $\pm$ 1,7
2. grup	48,2 $\pm$ 3,9	44,8 $\pm$ 4,9	7,0 $\pm$ 1,7
3. grup	25,9 $\pm$ 3,9	65,1 $\pm$ 3,7	6,8 $\pm$ 1,7
4. grup	25,3 $\pm$ 3,6	66,9 $\pm$ 3,2	6,8 $\pm$ 1,7
Sham grubu	24,4 $\pm$ 5,2	70,8 $\pm$ 4,9	4,5 $\pm$ 1,5
Karşılaştırma:	1 ve 2 ile 3,4,5 : p<0,05 1 ile 2: p>0,05 3,4,5 kendi aralarında p>0,05	Nötrofil gibi	1,2,3,4 ile 5:p<0,05 Diğer gruplar arasında farklılık p>0,055

açından anlamlı fark vardı (p<0.05). Üçüncü ve dördüncü grupta, nötrofillerin yüzdesi sham grubuna yakındı ve aralarında istatistiksel açıdan fark yoktu. Birinci ve ikinci grup arasında da fark bulunamadı.

Lenfosit oranlarının 1 ve 2. grupta; 3, 4 ve 5. gruba göre azalmış olduğu tesbit edildi. (p<0.05). Üç, dört ve beşinci gruplar arasında fark bulunamadı.

Monosit oranları tıkanma sarılığı oluşturulan dört grupta da artmıştı ve sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark tespit edildi (p<0.05). Kendi aralarında karşılaştırıldığında E vitamini verilen üçüncü grupta monosit yüzdesinin en yüksek olduğu gözlemlendi. Bir, iki ve dördüncü gruplar arasında ise farklılık tespit edilmedi.

E vitamini alan gruplarda total lökosit sayısı ve monosit oranını artarken, nötrofil ve lenfosit oranları sham grubu ile aynı düzeyde kaldı. Sadece UDKA verilen grubun lökosit sayısı birinci gruba aynı kalırken, nötrofil ve monosit oranlarının arttığı, lenfosit oranlarının azaldığı belirlendi.

#### T, B ve Null Lenfosit Değerleri

Yaymalarının ANAE enzim boyamasıyla ortaya konan T, B, null lenfositlerin tüm gruplardaki oranları Tablo 2'de gösterilmiştir. Şekil 1'de B ve T lenfosit, şekil 2'de null lenfosit görülmektedir.

T lenfositlerin oranı E vitamini verilen 3 ve 4.

grupta azalmıştı. Birinci, ikinci ve sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan fark tesbit edildi (p<0.05). Birinci ve ikinci grup sham grubu ile karşılaştırıldığında T lenfosit oranının azalmış olduğu görüldü (p<0.05). Üçüncü ve dördüncü gruplar arasında fark yoktu. Birinci ve ikinci gruplar arasında da fark tesbit edilmedi.

E vitamini verilen 3 ve 4. gruplarda B lenfosit oranları azalmıştı. Birinci, ikinci ve sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark vardı (p<0.05). Birinci ve ikinci gruplar sham grubu ile karşılaştırıldığında B lenfosit oranı azalmıştı (p<0.05). Üçüncü ve dördüncü gruplar arasında fark tesbit edilmedi. Birinci ve ikinci gruplar arasında da fark yoktu.

Null lenfositler tüm tıkanma sarılıklı gruplarda artmıştı. Sham grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark tesbit edildi (p<0.05). Bu gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında E vitamini verilen 3 ve 4. grupta null lenfositlerin birinci ve ikinci gruba göre daha da arttığı tesbit edildi (p<0.05). Üçüncü ve dördüncü gruplar arasında fark tesbit edilmedi. Birinci ve ikinci gruplar arasında da fark yoktu.

#### Floresans Boya ile İşaretli E.coli'lerin Translokasyonu

Tıkanma sarılığı oluşturulduktan 14 gün sonra nazo-gastrik yolla verilen floresans boya ile işaretli

**Tablo 2.** Tüm gruplarda ortalama % T, B, null lenfosit değerleri ve gruplar arası karşılaştırmaları.

	Nötrofil	Lenfosit	Monosit
1. grup	49,3±3,1	21,5±4,3	29,1±4,6
2. grup	51,2±3,2	18,9±2,1	29,8±3,3
3. grup	42,8±2,1	15,8±4,2	41,3±3,3
4. grup	43,6±2,2	14,8±2,0	41,5±3,1
Sham grubu	64,4±3,4	27,2±1,9	8,4±1,7
Karşılaştırma:	3 ve 4'deki azalma 1,2 ve 5'e göre p<0,05 1 ve 2'deki azalma 5'e göre p>0,05 Diğerleri anlamsız.	T lenfosit gibi	1,2,3,4 deki artış sham'e göre p<0,05 3 ve 4'deki artış 1 ve 2'ye göre p<0,05 Diğerleri anlamsız.

E.colilerin, bir gün sonra sıçanların sakrifikasyonunda alınan doku örneklerinin ve kan yaymalarının floresans mikroskopta incelenmesiyle; barsak duvarı, MLN, karaciğer, dalak ve kanda görülme oranları Tablo 3'de gösterilmiştir. Şekil 3'te MLN'da sarı floresans renk veren E.coli'ler görülmektedir.

### TARTIŞMA

İmmün sistemin savunma görevinde esas rol lenfositleridir. Monosit/makrofaj sistemi ise lenfositleri desteklemektedir. Lenfositlerin kök hücreleri timus ve bursa eşdeğeri olan merkezi lenfoid organlarda herhangi bir antijenik uyarım olmaksızın gelişirler. Kan, dalak, lenf nodları, tonsiller ve barsakla ilişkili

**Tablo 3.** Tüm gruplarda barsak duvarı, MLN, karaciğer,dalak, kan ve toplam olarak dokulardaki işaretli E.coli'lerin % olarak translokasyon oranları.

	n	Barsak	MLN	Karaciğer	Dalak	Kan	Toplam
1. grup	15	12/15 (% 80)	10/15 (% 67)	10/15 (% 67)	8/15 (% 53)	5/15 (% 33)	45/60 (% 60)
2. grup	15	5/15 (% 33)	4/15 (% 27)	4/15 (% 27)	4/15 (% 27)	2/15 (% 13)	19/60 (% 25)
3. grup	15	6/15 (% 40)	4/15 (%27)	4/15 (% 27)	5/15 (% 33)	-	19/60 (% 25)
4. grup	15	4/15 (% 27)	5/15 (%33)7	3/15 (% 20)	4/15 (% 27)	-	16/60 (% 15)
Sham grubu	10	-	2/10 (% 0)7	-	-	-	2/40 (% 4)

lenfoid doku gibi periferik lenfoid organlarda depolanan olgun lenfositler herhangi bir antijenik uyarı olduğunda sistemik dolaşıma geçerler (22). Timusta olgunlaşan hücrelere T lenfosit, bursa fabricius ve eşdeğeri organlarda olgunlaşan hücrelere ise B lenfosit denilmektedir. Bu hücreler kazanılmış immüniteyi oluştururlar ve insan hayatının devamı için bunların varlığı zorunludur (23,24).

Lökosit yapımını akut enfeksiyonlar, yabancı proteinler, doku tahribi, kan kaybı, toksinler ve vücut sıvılarındaki değişiklikler uyarır (24). Çalışmamızda; sham grubu ile karşılaştırıldığında tıkanma sarılığı oluşturulan tüm gruplarda lökosit sayısı yüksek bulundu. Bu yükseliş E vitamini verilen gruplarda daha belirgin idi. Birinci grup ile UDKA verilen 2. Grup arasında anlamlı fark yoktu. Artış daha çok nötrofiller lehineydi ve lenfosit oranında azalma vardı.

İnsanlarda lökositlerin %60-70'ini nötrofiller, %30-35'ini lenfositler oluştururken sıçanlarda bu oran tamamen farklı olup, nötrofiller %18-36 ve lenfositler %62-75'dir (25). Lenfositlerin %70'ini T lenfositler, %25'ini B lenfositler ve geri kalan kısmını ise Null lenfositler oluşturmaktadır. Null lenfositler olgunlaşmamış genç lenfositlerdir ve çoğunlukla peyer plakları ve kemik iliği gibi merkezi lenfoid organlarda bulunurlar (22,23).

Çalışmamızda sham grubundaki nötrofil ve lenfosit oranlarının literatüre uygun olduğu belirlendi. Buna karşılık birinci ve ikinci grupta nötrofillerdeki artış ve lenfositlerdeki azalış sham grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulundu ( $p<0,05$ ). E vitamini verilen üçüncü ve dördüncü grupta ise nötrofil ve lenfosit oranları sham grubundaki oranlara yakındı, birinci ve ikinci grupta karşılaştırıldığında ise anlamlı fark vardı ( $p<0,05$ ). Lenfositlerdeki bu azalmanın immün sistemin baskılanması sonucu olduğu düşünülebilir. Nitekim yapılan deneysel çalışmalarda da tıkanma sarılığında, lenfosit fonksiyonlarının ve oranlarının azaldığı gösterilmiştir (26,27).

Sham grubuyla karşılaştırıldığında T lenfositler tıkanma sarılığı oluşturulan tüm gruplarda azalmıştı ( $p<0,05$ ). Bu azalma E vitamini verilen 3 ve 4. gruplarda daha belirgindi ( $p<0,05$ ). B lenfositler de sham grubuna oranla diğer gruplarda azalmıştı. Bu azalma T lenfositlerle benzer olarak 3 ve 4. grupta daha belirgindi ( $p<0,05$ ). Buna karşılık null lenfosit oranı tıkanma sarılığı olan tüm gruplarda artmıştı ( $p<0,05$ ).

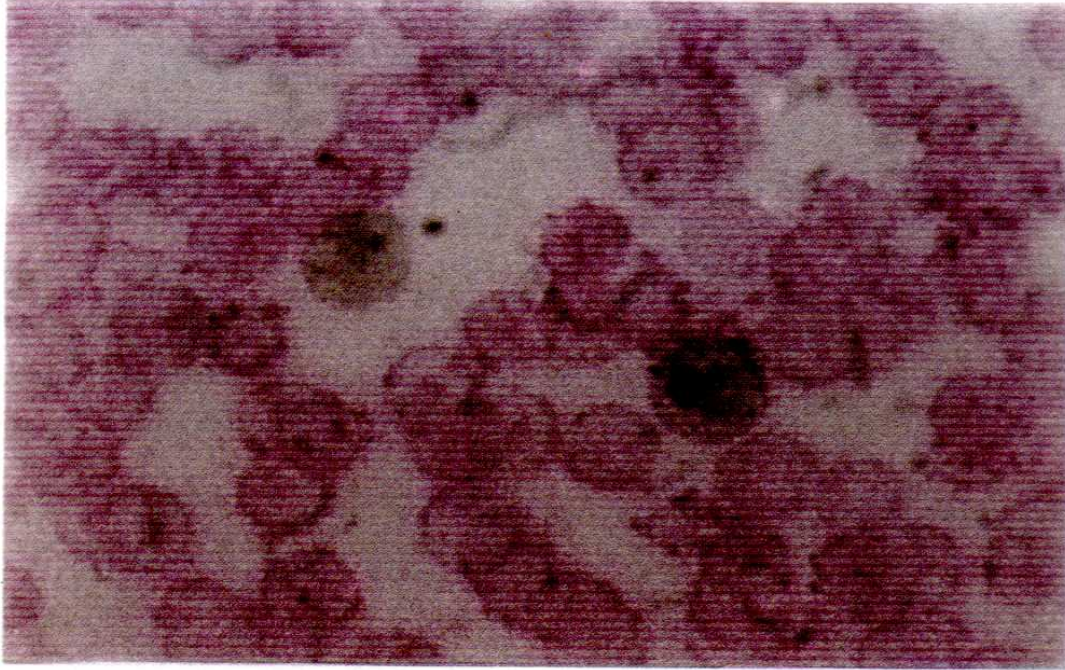
Lenfositlerin çoğunluğunu oluşturan T lenfositler peyer plaklarında çoğalıp gerekli durumlarda kana geçmektedir. Safranin barsakta bulunmamasının T lenfosit proliferasyonunu olumsuz yönde etkileyip azalmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz.

E vitamini verilen tıkanma sarılıklı 3 ve 4. grupta toplam dokulardaki lenfosit oranları sham grubuna yakın bulundu ve istatistiksel açıdan aralarında fark tesbit edilemedi. Bu durum vitamin E'nin depresyona uğrayan lenfosit üretimini uyararak veya lenfositlerin üretiminin baskılanmasını önleyerek onları koruduğu ve bu yolla da immün sistemin baskılanmasını önlediği veya azalttığı şeklinde yorumlanabilir. Null lenfositlerin oranının E vitamini alan gruplarda en yüksek olması bu düşüncemizi desteklemektedir. E vitamininin immün cevabı artırdığı deneysel çalışmalarla ortaya konulmuştur (16,17).

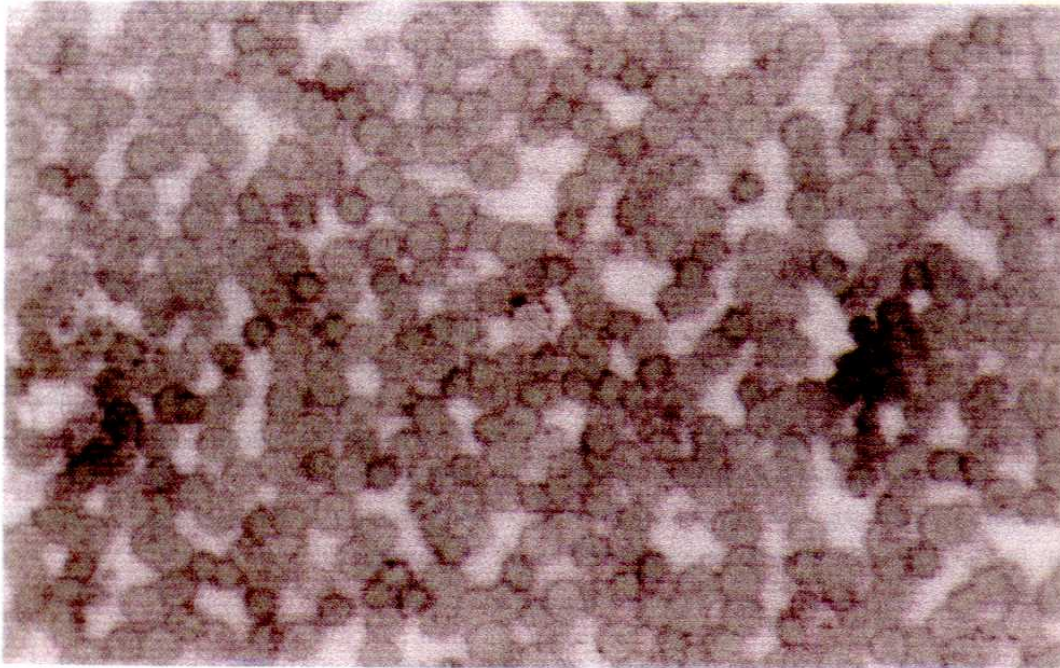
E vitamini, T ve B lenfositlerin proliferasyonunu artırmaktadır (28,29). Meydani ve arkadaşları (30) yaşlı sıçanlarda yaptıkları çalışmalarda, immün cevabın artışını (lenfosit proliferasyonu) E vitamininin prostaglandin sentezini azaltarak sağladığını göstermişlerdir. Moriguchi ve arkadaşları (15) da 100-2500 g/kg gibi yüksek dozlarda kullandıkları vitamin E'nin concanavalin A ve endotoksin ile uyarılan splenosit ve alveolar makrofaj sayısını artırdıklarını göstermişlerdir.

Tıkanma sarılığında immün sistem ve RES fonksiyonları azalmaktadır (2,3,14). Bu azalmanın sebebi tam olarak bilinmese de; kanda bilirübin, safra asitleri ve toksik maddelerin artışı sorumlu tutulmaktadır. Çalışmamızda floresans boya ile işaretli E.coli'lerin barsak duvarında, MLN'da, karaciğerde, kanda ve dalakta tespit edilen oranları birinci gruptaki deneklerde anlamlı şekilde yüksek bulundu. Her iki maddenin birlikte ve ayrı ayrı verildikleri gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.

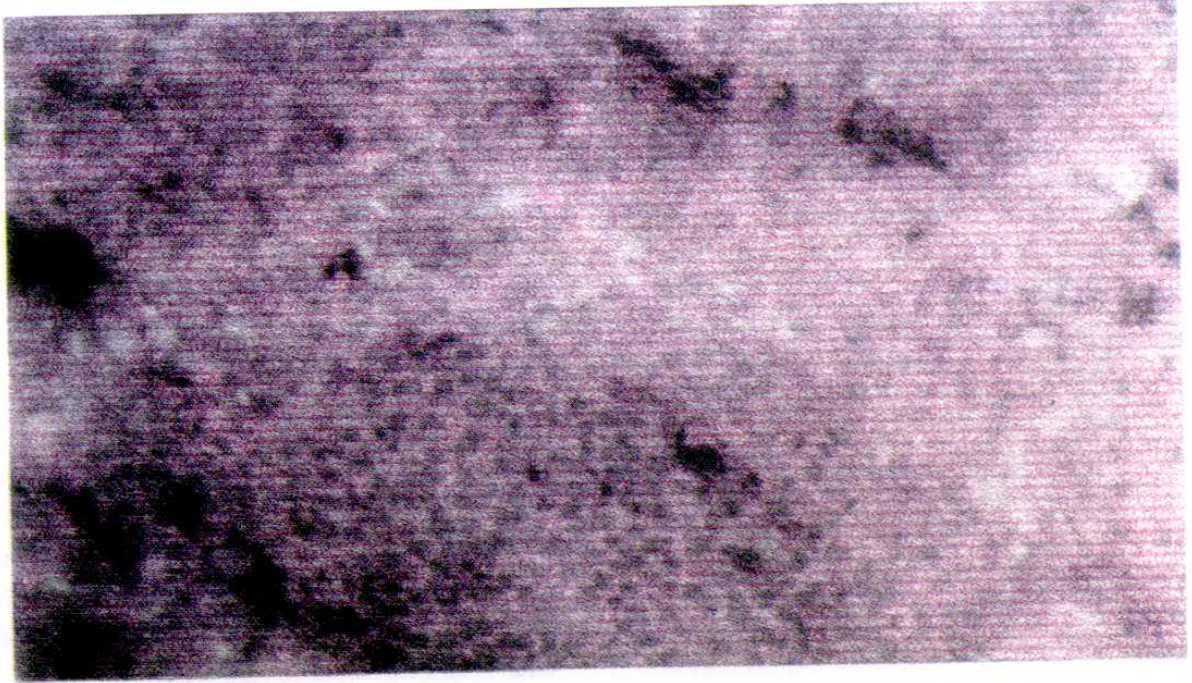
Tüm tıkanma sarılıklı gruplarda T ve B lenfositlerin azalmasına karşılık null lenfositlerin artması, T ve B lenfositlerin baskılanmasına bağlı olarak RES'de bulunan null lenfositlerin periferik dolaşıma geçmesi veya lenfosit proliferasyonu ile izah edilebilir. Nitekim vücuttaki toplam lenfositlerin ancak % 2-4'ü periferik dolaşımdadır. Geri kalanı dalak, lenf bezleri, kemik iliği gibi RES dokularında bulunmaktadır. Tıkanma sarılığında immün sistemin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda



Şekil 1. Granülsüz olan B lenfosit ve kırmızı-kahverengi granüller içeren T lenfosit görülmektedir.



Şekil 2. Çok sayıda granül içeren null lenfosit görülmektedir.



Şekil 3. MLN'da floresans boya ile işaretlenmiş E.coli'ler.

(26,27), T ve B lenfositlerinin depresyona uğradığı gösterilmiştir. E vitamini ve UDKA verilen gruplarda işaretli E.coli translokasyonunun daha düşük olması, bu maddelerin immün sistem üzerindeki olumlu etkilerine bağlanabilir.

E vitamini verilen tıkanma sarılığı gruplarında, T ve B lenfosit oranlarındaki azalmanın diğer gruplardakinden daha belirgin olmasına karşılık, null lenfositlerin artışı, E vitamininin immün cevabı null lenfositler aracılığıyla artırdığı şeklinde açıklanabilir. B ve T lenfositlerdeki düşüş ise Null lenfositlerdeki artışa bağlı olan oransal bir düşüştür. UDKA lenfosit oranlarında değişiklik yapmazken fonksiyonel olarak E vitamini verilen gruba eşdeğer oranda işaretli E.coli translokasyonunu engellemektedir. Bu etkiyi barsak lümeninde deterjan etki göstermesi ve barsak mukozası üzerindeki restoratif etkiyle açıklamak mümkündür(4-6).

### SONUÇ

Tıkanma sarılıklı sıçanlarda lenfosit sayısı ile T ve B lenfositlerde bir azalma, null lenfositlerde ise bir artış oldu. E vitamini ve E vitamini + UDKA verilen deneklerde diğer gruplara uygun olarak lenfosit sayısı azalmadı, ancak T ve B lenfosit azalışı ile null lenfosit artışı daha belirgin oldu. Sadece UDKA verilen grupta, beklenenin aksine hücre oranlarında anlamlı bir fark görülmedi. İşaretli E.coli translokasyonunu önlemede ise E vitamini ve UDKA aynı etkiyi gösterdiler. Bu bulgulara dayanarak vitamin E'nin tıkanma sarılığında immün sistemin baskılanmasını önlediği ve lenfoproliferatif etki gösterdiğini, UDKA'nın mukozal bariyeri güçlendirerek bakterilerin dolaşıma geçişini önlediğini ve her iki maddenin de tıkanma sarılığının tedavisinde kullanılabileceğini söyleyebiliriz.



## KAYNAKLAR

1. Pain JA. Reticuloendothelial function in obstructive jaundice. Br J Surg 1987;74:1091-4
2. Vane DW, Redlich P, Weber T, Leapman S, Siddiqui AR, Grosfeld JL. Impaired immune function in obstructive Jaundice. J Surg Res 1988;45:287-93.
3. Ding JW, Andersson R, Norgren L, Stenram U, Bengmark S. The influence of biliary obstruction and sepsis on reticuloendothelial function in rats. Eur J Surg 1992;158:157-64.
4. Slocum MM, Sittig KM, Specian RD, Deitch EA. Absence of intestinal bile promotes bacterial translocation. Am Surgeon 1992;58:305-10.
5. Çakmakçı M, Tırnaksız B, Hayran M, Belek S, Gürbüz T, Sayek I. Effects of obstructive jaundice and external biliary diversion on bacterial translocation in rats. Eur J Surg 1996;162:567-71.
6. Ding JW, Andersson R, Soltesz V, Willen R, Bengmark S. The role of bile and bile acids in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats. Eur Surg Res 1993;25:11-9.
7. Wilmore DW, Smith RJ, O'Dwyer ST, Jacobs DO, Ziegler TR, Wang, XD. The gut: A central organ after surgical stress. Surgery 1988;917-22.
8. Rogers DE. Host mechanisms which act to remove bacteria from the blood stream. Bacteriol Rev 1960;24:50-66.
9. Saba TM. Physiology and pathophysiology of the reticuloendothelial system. Arch Intern Med 1970;126:1031-2.
10. Katz S, Grosfeld JL, Gross K, Plager DA, Ross D, Rosenthal RS, et al. Impaired bacterial clearance and trapping in obstructive jaundice. Ann Surg 1984;14-20.
11. Tanaka N, Christensen P, Ryden S, Bengmark S. Decreased clearance of escherichia coli from the bile in rats with obstructive jaundice. Eur Surg Res 1985;17:281-5.
12. Carol EH, Grogan JB, Scher KS, Bernstein J. Impaired clearance of escherichia coli bacteremia in early biliary obstruction. Am J Surg;157:210-4.
13. Andy OJ, Grogan JB, Griswold JA. Peritoneal neutrophil chemotaxis is impaired in biliary obstruction. Am Surgeon 1992;58(1):28-31.
14. Ding JW, Andersson R, Stenram U, Lunderquist A, Bengmark S. Effect of biliary decompression on reticuloendothelial function in jaundiced rats. Br J Surg 1992;79:648-52.
15. Moriguchi S, Kobayashi N, Kishino Y. High dietary intakes of vitamin E and cellular immune functions in rats. J Nutr 1990;120:1096-102.
16. Tengerdy RP, Heinzerling RH, Nockels CF. The effect of vitamin E on the immun response of hydroxic and normal chickens. Infect Immun.1972;5:987-9.
17. Tengerdy RP, Heinzerling RH, Brown GL, Mathias MM. Enhancement of humoral immune response by vitamin E.1979; Int Arch Allergy Appl Immunol 44:221-32.
18. Tanaka J, Fujiwara H, Torisu M. Vitamin E and immun response, enhancement of helper T-cell activity by dietary supplementation of vitamin E in mice. Immunology 1979;38:727-34.
19. Konuk T. Pratik Fizyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yay; 378, A.Ü. Basımevi Ankara 1980.
20. Higgy KE, Burns GF, Hayhoe FGJ. Discrimination of B, T and Null lymphocytes by esterase cytochemistry. Scand J Haematol 1997;18:437-48.
21. Culling CFA, Allison RT, and Barr RT. Cellular pathology technique. Butterwarths Co. 4th. Edit. 1985.
22. Guillou PJ. Immunity and autoimmunity. In: Michael Hobsley and Fred J Imms editors. Physiology in surgical practice. Edward Arnold, London. 1992. P. 301-38.
23. Guyton AC. Resistance of the body to infection: Immunity and allergy. Textbook of Medical Physiology. 8th edition. WB Saunders Company. London, 1991. P.374-384.
24. Guyton AC. Resistance of the body to infection: Leukocytes, Granulocytes, the monocyte-macrophage system and inflammatio. Textbook of Medical Physiology. 8th edition. WB Saunders Company. London, 1991. P.365-73.
25. Yavru N, Yavru S. Deney hayvanları. Sayfa: 179-200. 1996 Konya
26. Feduccia TD, Scott- Conner CEH, Grogan JB. Profound suppression of lymphocyte function in early biliary obstruction. Am J Med Sci 1988;31:39-44.
27. Fraser IA, Krakowka S, Ringler S, Carey LC, Ellison EC. Lymphocyte function in obstructive jaundice. Am J Surg 1989;157:405-9.
28. Corwin LM, Shlos H. Influence of vitamin E on the mitogenic response of murine lymphoid cells. J Nutr 1980;110:916-923.
29. Corwin LM, Shlos H: Role of antioxidants on the stimulation of the mitogenic response. J Nutr 1980;110:2497-505.
30. Meydani SN, Meydani M, Verdon CP, Shapiro AA, Blumberg JB. Vitamin E supplementation suppresses, prostoglandin E1-2 synthesis and enhances the immune response of aged mice. Mec Ageint Develop 1986;34:191-201.