

# Deneyisel Karaciğer Hasarının Akciğer Dokusuna Etkisi ve Mast Hücrelerinin Rolü

## The Effect of Experimental Liver Injury on Lung and Role of Mast Cells

Tülin FIRAT,<sup>a</sup>  
Nilüfer ULAŞ,<sup>b</sup>  
E. Hakan TERZİ,<sup>a</sup>  
Fatma TÖRE,<sup>c</sup>  
Aysel KÜKNER<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Histoloji ve Embriyoloji AD,  
<sup>c</sup>Fizyoloji AD,  
Abant İzzet Baysal Üniversitesi  
Tıp Fakültesi, Bolu  
<sup>b</sup>Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,  
Medipol Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
İstanbul

Geliş Tarihi/Received: 16.01.2013  
Kabul Tarihi/Accepted: 04.05.2013

Yazışma Adresi/Correspondence:  
Aysel KÜKNER  
Abant İzzet Baysal Üniversitesi  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji AD, Bolu,  
TÜRKİYE/TURKEY  
akukner@hotmail.com

**ÖZET Amaç:** Deneyisel karaciğer hasarına bağlı oluşan akciğer dokusu ve mast hücre sayısındaki değişikliklerin ışık mikroskopik olarak incelenmesi. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada yetişkin Wistar albino ratlar kullanıldı. Ratlar rastgele, her grupta 6 hayvan olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, CCL<sub>4</sub> grubu ve ligasyon grubu. CCL<sub>4</sub> grubunda, CCL<sub>4</sub> (1 mL/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal), haftada 2 kez toplam 8 hafta uygulandı. Ligasyon grubu, ortak safra kanalı bağlanarak 3 hafta bekletildi. Karaciğer ve akciğer dokularından alınan örnekler hematoxilen-eozin ile boyandı. Akciğer kesitleri toluidin mavisi ile boyanarak parankim ve plevral mast hücreleri sayıldı. **Bulgular:** Kanal ligasyonu ve CCL<sub>4</sub> uygulanan grupların akciğer dokularında interalveolar septum kalınlaşması, kapiller konjesyon, ödem, artmış inflamatuvar hücreler ve degranüle mast hücresi tespit edildi. Ligasyon grubunda ise akciğer dokularında bu değişiklikler daha belirgindi. Parankimal ve plevral mast hücre sayısı ligasyon ve CCL<sub>4</sub> grubunda kontrole göre anlamlı olarak artmıştı. **Sonuç:** Hepatopulmoner sendrom olarak tanımlanan karaciğer hasarının neden olduğu akciğer hasarına, artmış mast hücrelerinin aracılık edebileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hepatopulmoner sendrom; akciğer; mast hücreleri

**ABSTRACT Objective:** To examine lung tissue and the number of mast cells related to experimental liver injury under the light microscope. **Material and Methods:** Adult male Wistar albino rats were used and they were divided into 3 groups with randomly dividing 6 animals in each group. The groups were control, CCL<sub>4</sub> and ligation groups. CCL<sub>4</sub> (1 ml/kg body weight, intraperitoneal) was administered twice per week, for 8 weeks. In ligation group, common bile duct was ligated with for 3 weeks. Liver and lung tissue samples were taken and stained with hematoxylin-eosin. Lung sections were stained with toluidine blue and parenchymal and pleural mast cells were counted. **Results:** In ligation and CCL<sub>4</sub> groups; interalveolar septal thickening, capillary congestion, edema, increased inflammatory cells and degranulated mast cells were observed in the lung tissues. In the ligation group, these changes were more pronounced than CCL<sub>4</sub> group. Parenchymal and pleural mast cell numbers were significantly increased in the ligation and CCL<sub>4</sub> groups when compared to the control group. **Conclusion:** Increased mast cell numbers could mediate lung injury induced by liver injury, which called as hepatopulmonary syndrome.

**Key Words:** Hepatopulmonary syndrome; lung; mast cells

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2013;33(4):1182-7

**E**n sık sirozda olmak üzere kronik karaciğer hastalıklarında, pulmoner vasküler bozukluklar ortaya çıkmakta, sistemik ve portal dolaşıma bağlı olarak alveollerde kısmi arteriyal oksijen basıncının artması sonucunda pulmoner kapillerlerde genişlemeler görülmektedir. Ortaya çıkan bu tablo hepatopulmoner sendrom (HPS) olarak tanımlanmakta ve hastalarda solunum zorluğu ve hipoksi görülmektedir.<sup>1-3</sup> HPS'nin fizyopatolojisi hala tam olarak açıklanamamıştır. Hepatik hasar sonrası proliferere

olan safra kanal epitelinden ve damar endotelinden salgılanan endotelin-1 akciğer dokusunda nitrik oksit sentetazı (NOS) artırmakta, bu da pulmoner nitrik oksit (NO), indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitelerini artırarak pulmoner damarların genişlemesine yol açmaktadır.<sup>4-6</sup> Son yıllarda HPS oluşmasında angiogenezin rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>7</sup> NOS ekspresyonunda rol oynayan hücrelerden birisi de mast hücreleridir. Mast hücrelerinin NO sentezini uyardığı ve az miktarda NO ürettiği tanımlanmakla birlikte, mast hücreleri ile NO arasındaki bu ilişki tam olarak anlaşılamamıştır.<sup>8</sup> Ayrıca mast hücrelerinden salgılanan histamin, lökotrien C4 ve prostaglandin D2'nin vasküler geçirgenliği artırdığı bilinmektedir.<sup>9</sup>

Mast hücreleri tüm vaskülarize dokularda, özellikle deri ve mukozal yüzeyler gibi dış çevre ile temas eden alanlarda çok sayıda bulunan, savunma sistemi ile ilişkili olan,<sup>10,11</sup> aşırı duyarlılıkta, otoimmün hastalıklarda, fibroziste, yara iyileşmesinde ve angiogeneziste artış gösteren hücrelerdir.<sup>9,12,13</sup> Mast hücrelerinden biyolojik olarak farklı aktivite gösteren interlekin (IL)-1, tümör nekrozis faktör (TNF)- $\alpha$  gibi sitokinler, kemokinler, histamin/serotonin, proteazlar, eikosanoidler ve lipid mediatörleri salgılanır.<sup>9,14</sup> Akciğerlerde bronş, bronşiol, alveol parankimi, pulmoner damarların çevresi ve plevrada mast hücreleri bulunur.<sup>15,16</sup> Mast hücreleri solunum yollarındaki inflamasyonun düzenlenmesinde, astım ve amfizemde önemli rol oynar.<sup>17-20</sup> Diyabetik nefropati<sup>21</sup>, renal fibrozis,<sup>22-24</sup> akciğer fibrozisi<sup>25-27</sup>, ateroskleroz<sup>28,29</sup> ve kanserlerde mast hücre sayısı artmaktadır.<sup>13,30,31</sup>

HPS ile ilişkili mast hücrelerini değerlendiren çalışmalar az sayıdadır. Bu çalışmada, pulmoner değişiklikler ile mast hücre sayısı arasında bir korelasyon olabileceği düşünülerek, ratlarda deneysel safra kanal ligasyonu ve CCl<sub>4</sub> ile karaciğer zedelenmesi sonucunda akciğer dokusunda ortaya çıkan yapısal değişiklikler ve mast hücrelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

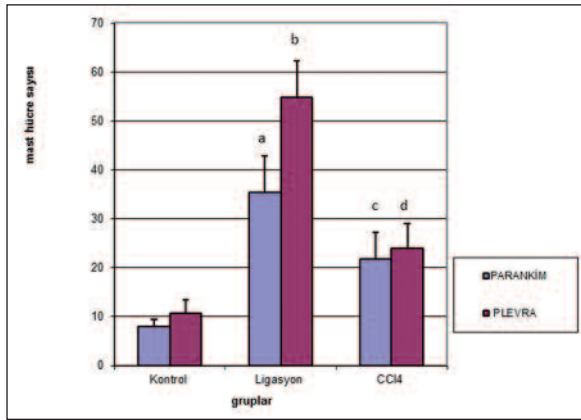
Bu çalışma Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı ile yapılmış olup, laboratuvar hay-

vayı kullanım prensiplerine uyulmuştur (2005/300-39). Çalışmada her grupta 6 adet olmak üzere 18 tane Wistar cinsi erişkin erkek rat kullanıldı. Kontrol grubuna herhangi bir işlem uygulanmadı. Anestezi altındaki ratlara; ligasyon grubunda orta hat kesisi yapılarak koledok kanalının distal kısmına ligasyon<sup>32</sup> uygulandı ve 3 hafta bekletildi. CCl<sub>4</sub> grubunda haftada iki kez 1mg/kg intraperitoneal CCl<sub>4</sub> verilerek 8 hafta bekletildi. Deney süreleri sonunda yüksek doz anestezi madde verilen deneklerin karaciğer ve akciğer doku örnekleri alındı ve %10 nötral formaldehit ile tespit edildi. Dereceli alkol serilerinden geçirilen dokulardan parafin bloklar hazırlandı ve 5  $\mu$ m kalınlığında kesitler alındı. Karaciğerdeki sirotik değişiklikler ve akciğer yapısının genel değerlendirmesi için hematoksilen-eozin boyaması, mast hücre dağılımını belirlemek için toluidin mavisi ile boyama yapıldı. Her deneğe ait akciğer parankiminde ve plevrada 10 ayrı alanda mast hücreleri sayıldı. Büyük bronş ve damarlar çevresindeki mast hücreleri sayıma katılmadı. Elde edilen veriler SPSS 17.0 programı ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov Lilliefors testi ile değerlendirildi. Parankim ve plevra değişkenlerinin normal dağılımından (p değerleri parankim için kontrol 0,2, ligasyon 0,062, CCl<sub>4</sub> 0,2, plevra için kontrol 0,2, ligasyon 0,151, CCl<sub>4</sub> 0,161) dolayı gruplar arası karşılaştırmalar Varyans Analizi (ANOVA) ile yapıldı. İki grup arasındaki farklar ise posthoc Tukey testi ile karşılaştırıldı. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarına ait akciğer dokularındaki mast hücre sayıları Şekil 1'de ve Tablo 1'de gösterilmiştir. Parankim ve plevral mast hücrelerinin ligasyon ve CCl<sub>4</sub> uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, bu artışın ligasyon grubunda CCl<sub>4</sub> grubuna göre daha fazla olduğu tespit edildi. Ligasyon yapılan grupta plevral mast hücrelerinin parankimal mast hücrelerine göre daha fazla olduğu, CCl<sub>4</sub> uygulanan grupta ise anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Şekil 1).

Sekiz hafta CCl<sub>4</sub> uygulanan ratların karaciğer dokusunda vena sentralis etrafında yaygın, portal



**ŞEKİL 1:** Mast hücrelerinin gruplara göre dağılımı. Kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı fark bulunmaktadır. Ligasyon grubunda parankimal ve plevral mast hücre sayılarının, CCl<sub>4</sub> grubuna göre arttığı görülmektedir. (sırasıyla; p=0,003, p<0,001, bar standart sapmayı göstermektedir.)

**a:** Parankimal mast hücreleri, ligasyon grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında (p<0,001),

**b:** Plevral mast hücreleri, ligasyon grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında (p<0,001),

**c:** Parankimal mast hücreleri, CCl<sub>4</sub> grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında (p=0,003),

**d:** Plevral mast hücreleri, CCl<sub>4</sub> grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında (p=0,005) istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

alanlara uzanan nekrotik değişiklikler görüldü (Şekil 2a). CCl<sub>4</sub> uygulanan akciğer dokusunda alveoller arası duvarın kalınlaştığı, kapillerlerde konjesyonun belirginleştiği (Şekil 2b) izlendi, damarlar çevresinde ödem, damar ve bronşiol çevresinde mononükleer hücre artışı (Şekil 2c) tespit edildi. CCl<sub>4</sub> verilen grupta mast hücrelerinin parankimde artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 2d). Safra kanalı ligasyonu yapılan grubun karaciğer dokusunda portal alanlar arasında köprüleşmelerin or-

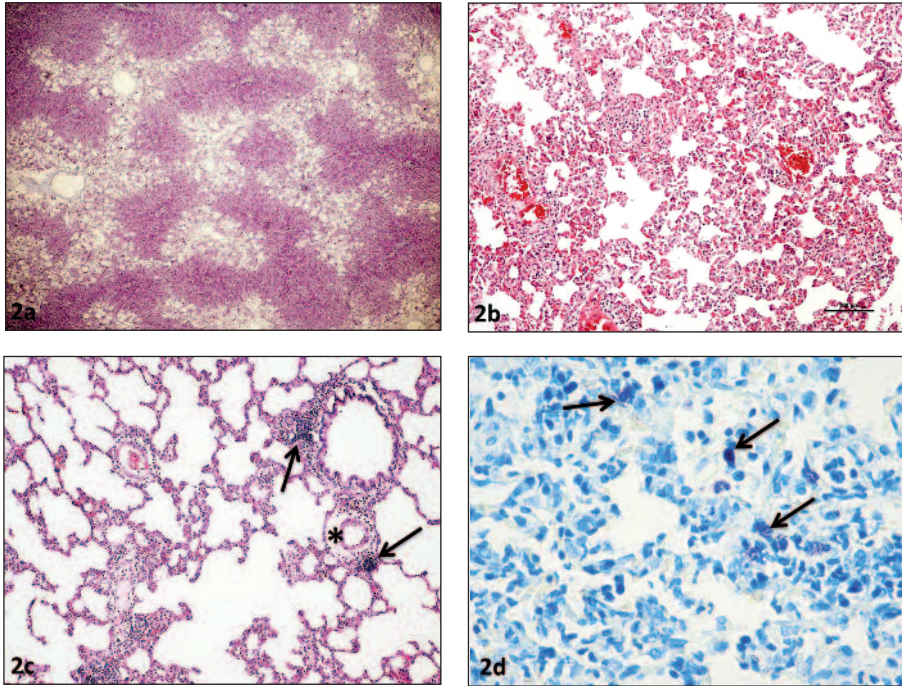
taya çıktığı, fibrotik değişikliklerin olduğu tespit edildi (Şekil 3a). Aynı grubun akciğer dokusunda kan damarlarında konjesyon, alveoller arası duvarda hücre artışına bağlı kalınlaşma ve mononükleer hücre artışı izlendi (Şekil 3b). Alveol boşluklarında çok sayıda makrofaj hücreleri (Şekil 3c) ve degranüle mast hücresi ayırt edildi (Şekil 3d).

## TARTIŞMA

Deneysel HPS oluşturmak için sıklıkla safra kanal ligasyonu kullanılmaktadır.<sup>6,33-35</sup> Cerrahi teknik uygulamadan da CCl<sub>4</sub> ve liposakkaritler gibi kimyasallar ile HPS oluşturulabilmektedir.<sup>7,36-39</sup> CCl<sub>4</sub> ün inhalasyon ve intraperitoneal olarak verilmesi ile, parsiyel ven ve safra kanal ligasyonu yapılmasıyla oluşturulan HPS sonuçları karşılaştırılmış, sonuçta akciğerlerde hipoksi ve intrapulmoner vazodilasyonun geliştiği tespit edilmiştir.<sup>40</sup> CCl<sub>4</sub> uygulanan ratların akciğer alveollerinde çok sayıda dev makrofajlar, intertisyel ödem, jnflamatuvar hücre artışı, kan damarlarında genişleme.<sup>4,5,36,41,42</sup> alveolar, peribronşial ve perivasküler mast hücrelerinde artış olduğu tespit edilmiştir.<sup>37,43</sup> Mast hücre artışı CCl<sub>4</sub> verilen ratların karaciğer dokusunda da gözlenmiştir.<sup>44</sup> Ratlara 5 hafta süreyle intraperitoneal olarak CCl<sub>4</sub> verildiğinde; alveolar duvarların kalınlaştığı, mononükleer hücreler ve nötrofillerin çok artmış olduğu, alveol içinin eksuda ile dolduğu, alveolar ödem, makrofaj artışı, nekrotik odaklar, kollagen fibrillerde, fibroblastlarda ve miyofibroblastlarda artış olduğu görülmüştür. Safra kanalı ligasyonu yapılan ratların akciğer dokularında; kapiller konjesyon, perivasküler nötrofil artışı, bronşiol

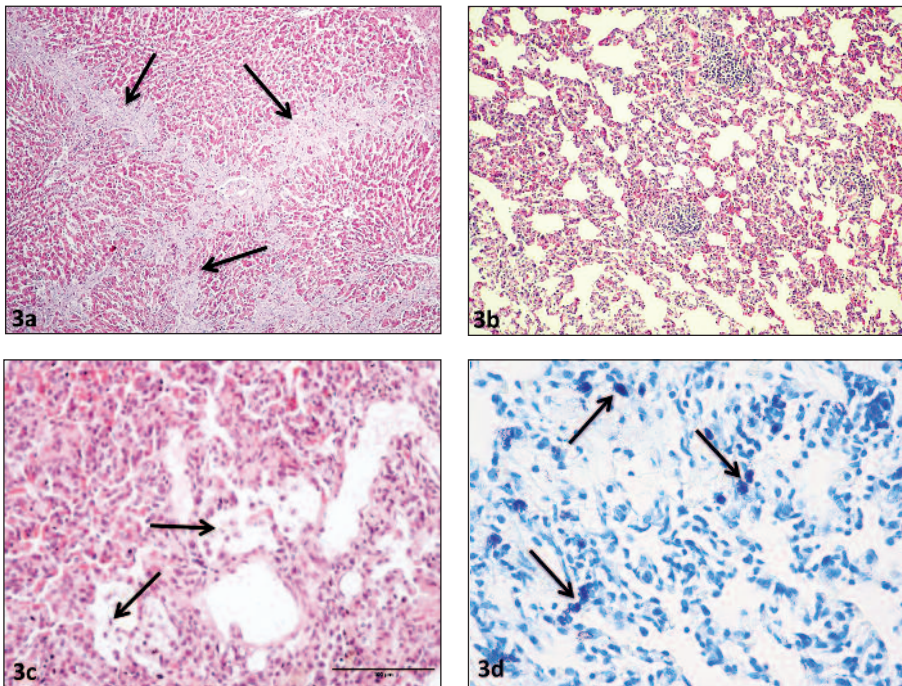
**TABLO 1:** Gruplara göre mast hücre sayılarının dağılımı.

Değişkenler	Kontrol Grubu	Ligasyon Grubu	CCl <sub>4</sub> Grubu	Anlamlılık (p)	
	(Ortalama± Standart sapma)	(Ortalama± Standart sapma)	(Ortalama± Standart sapma)		
Parankim Mast Hücreleri	8±1,4	35,33±7,6	21,8±5,5	p=0.003	Kontrol- Ligasyon p<0.001 Kontrol-CCl <sub>4</sub> p=0.003 Ligasyon-CCl <sub>4</sub> p=0.003
Plevra Mast Hücreleri	10,83±2,6	54,83±7,4	24±5	p<0.001	Kontrol- Ligasyon p<0.001 Kontrol-CCl <sub>4</sub> p=0.005 Ligasyon-CCl <sub>4</sub> p<0.001



**ŞEKİL 2:** CC14 uygulanan grubun karaciğer ve akciğer dokularının ışık mikroskopik görünümü. Karaciğerde vena sentralis etrafında portal alanlara uzanan nekrotik değişiklikler (\*) (2a) HE x40, CCl4 uygulanan deneklerin akciğer dokusunda alveoller arası duvarın kalınlaştığı, kapiller konjesyonun artmış olduğu (2b) HE x100, CCl4 uygulanan grubun akciğer dokusunda damarlar çevresinde ödem (\*), damar ve bronşiol çevresinde mononükleer hücre artışı (2c) HE x100 ve CCl4 verilen grupta mast hücrelerinin artmış olduğu görülmektedir (2d). Toluidin mavisi x400.

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



**ŞEKİL 3:** Safra kanalı ligasyonu yapılan grubun karaciğer ve akciğer dokuları. Karaciğerde portal alanlar arasında köprüleşmelerin ortaya çıktığı, fibrotik değişikliklerin (→) olduğu (3a) HE x40, akciğer dokusunda kan damarlarında konjesyon, alveollerarası duvarda hücre artışına bağlı kalınlaşma görülmektedir (3b) HE x100. Ligasyon grubunda alveol boşluklarında çok sayıda makrofaj hücreleri (→) (3c) HE x400 ve degranüle mast hücreleri (→) görülmektedir (3d). Toluidin mavisi x 400

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

epitellerinde dejenerasyon tanımlanmıştır.<sup>45</sup> Safra kanalı ligasyonuna bağlı olarak akciğerlerde alveolar septaların kalınlaşması, mikro damarlarda artış ve dilatasyon yanında, küçük pulmoner arterlerin media tabakalarının kalınlaştığı, damar içinde ve alveoller arası septumda makrofajların artmış olduğu görülmüştür.<sup>46</sup> Çalışmamız sonucunda safra kanal ligasyonu ve intraperitoneal CCl<sub>4</sub> verilen deneklerin akciğer dokularında intraalveolar septum kalınlaşması, kapiller konjesyon, inflamatuvar hücre artışı tespit edilmiştir. Ligasyon yapılan grupta kapiller konjesyon ve vazodilatasyonun daha belirgin olduğu, alveol boşluklarında çok sayıda makrofajın yer aldığı, kapillerler içinde nötrofil ve lenfosit hücrelerinin arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgular HPS'yi desteklemektedir. Thenappan ve ark. pulmoner değişikliklerde makrofajların rol oynadığını bildirmişlerdir.<sup>46</sup> Mizuguchi ve ark. ise intraperitoneal olarak CCl<sub>4</sub> uygulandığında, akciğerlerde fibrozis geliştiğini bildirmişlerdir.<sup>47</sup> Akciğer fibrozisinde mast hücrelerinin arttığı,<sup>48</sup> mast hücrelerinden salgılanan mediatörlerin fibrozise yol açtığı<sup>49</sup>, histaminin fibroblast migrasyonunu etkilediği tanımlanmıştır.<sup>11</sup> Yapılan çalışmaların bir bölümünde mast hücrelerinin antifibrotik olarak

davrandığı,<sup>23,50,51</sup> bazı çalışmalarda ise profibrotik olarak etki yaptığı ve mast hücrelerinden salgılanan profibrotik etkili TGF- $\beta$  ve triptazın etkili olduğu bildirilmiştir.<sup>52</sup> Çalışmamızda akciğer dokusunda fibrotik değişiklikler gözlenmemiştir. Parankimal ve plevral mast hücrelerinin deney gruplarında anlamlı olarak artmış olduğu, artışın ligasyon grubunda daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu, mast hücrelerinden açığa çıkan histamin, NO ve diğer mediatörlerin kapiller geçirgenliğinin artışında etkili olduğu şeklinde yorumlandı. Ligasyon grubunda karaciğer değişiklikleri siroz tablosu ile uyumlu olup, bağ doku artışı bulunmaktaydı. CCl<sub>4</sub> verilen grupta bağ doku artışı çok azdı. CCl<sub>4</sub> uygulamasının daha uzun sürede yapılması sonucunda sirotik değişikliklerin daha belirgin olacağı, CCl<sub>4</sub> grubundaki mast hücre artışında maddenin toksik etkisinin olabileceği göz önüne alınmalıdır. Ligasyon grubunda HPS'nin akciğer bulgularının belirgin olduğu ve HPS'nin fizyopatolojisinde rol oynayan hücrelerden birisinin de mast hücreleri olabileceği düşünüldü. Yapılacak moleküler çalışmalar, HPS'nin fizyopatolojisinde mast hücrelerinin rolü konusunda daha kesin bilgilerin elde edilmesini sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Palma TD, Fallon MB. [The hepatopulmonary syndrome]. *Journal of Hepatology* 2006;45(4): 617-25.
- Ceylan E, Gencer M, Bölükbaşı F. [Hepatopulmonary syndrom]. *Türkiye Klinikleri Arch Lung* 2006;7(1):40-4.
- Kochar R, Fallon MB. Pulmonary diseases and the liver. *Clin Liver Dis* 2011;15(1):21-37.
- Luo B, Tang L, Wang Z, Zhang J, Ling Y, Feng W, et al. Cholangiocyte endothelin 1 and transforming growth factor beta1 production in rat experimental hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology* 2005;129(2):682-95.
- Liu L, Liu N, Zhao Z, Liu J, Feng Y, Jiang H, et al. TNF- $\alpha$  neutralization improves experimental hepatopulmonary syndrome in rats. *Liver Int* 2012;32(6):1018-26.
- Machicao VI, Fallon MB. Hepatopulmonary syndrome. *Semin Respir Crit Care Med* 2012;33(1):11-6.
- Zhang J, Luo B, Tang L, Wang Y, Stockard CR, Kadish I, et al. Pulmonary angiogenesis in a rat model of hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology* 2009;136(3):1070-80.
- Sekar Y, Moon TC, Slupsky CM, Befus AD. Protein tyrosine nitration of aldolase in mast cells: a plausible pathway in nitric oxide-mediated regulation of mast cell function. *J Immunol* 2010;185(1):578-87.
- Gillfillan AM, Beaven MA. Regulation of mast cell responses in health and disease. *Crit Rev Immunol* 2011;31(6):475-529.
- Taube C, Stassen M. Mast cells and mast cell-derived factors in the regulation of allergic sensitization. *Chem Immunol Allergy* 2008;94: 58-66.
- Kohyama T, Yamauchi Y, Takizawa H, Kamitani S, Kawasaki S, Nagase T. Histamine stimulates human lung fibroblast migration. *Mol Cell Biochem* 2010;337(1-2):77-81.
- Stone KD, Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2 Suppl 2):S73-80.
- de Souza DA Jr, Toso VD, Campos MR, Lara VS, Oliver C, Jamur MC. Expression of mast cell proteases correlates with mast cell maturation and angiogenesis during tumor progression. *PLoS One* 2012;7(7):e40790.
- Heib V, Becker M, Taube C, Stassen M. Advances in the understanding of mast cell function. *Br J Haematol* 2008;142(5):683-94.
- Andersson CK, Mori M, Bjermer L, Löfdahl CG, Erjefält JS. Novel site-specific mast cell subpopulations in the human lung. *Thorax* 2009;64(4):297-305.
- Meyerholz DK, Rodgers J, Castilow EM, Varga SM. Alcian Blue and Pyronine Y histochemical stains permit assessment of multiple parameters in pulmonary disease models. *Vet Pathol* 2009;46(2):325-8.
- Waern I, Jonasson S, Hjöberg J, Bucht A, Abrink M, Pejler G, et al. Mouse mast cell protease 4 is the major chymase in murine airways and has a protective role in allergic airway inflammation. *J Immunol* 2009;183(10):6369-76.

18. Pae S, Cho JY, Dayan S, Miller M, Pemberton AD, Broide DH. Chronic allergen challenge induces bronchial mast cell accumulation in BALB/c but not C57BL/6 mice and is independent of IL-9. *Immunogenetics* 2010;62(8):499-506.
19. Kearley J, Erjefält JS, Andersson C, Benjamin E, Jones CP, Robichaud A, et al. IL-9 governs allergen-induced mast cell numbers in the lung and chronic remodeling of the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(7):865-75.
20. Mortaz E, Givi ME, Da Silva CA, Folkerts G, Redegeld FA. A relation between TGF- $\beta$  and mast cell tryptase in experimental emphysema models. *Biochim Biophys Acta* 2012;1822(7):1154-60.
21. Zheng JM, Yao GH, Cheng Z, Wang R, Liu ZH. Pathogenic role of mast cells in the development of diabetic nephropathy: a study of patients at different stages of the disease. *Diabetologia* 2012;55(3):801-11.
22. Summers SA, Chan J, Gan PY, Dewage L, Nozaki Y, Steinmetz OM, et al. Mast cells mediate acute kidney injury through the production of TNF. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(12):2226-36.
23. Summers SA, Gan PY, Dewage L, Ma FT, Ooi JD, O'Sullivan KM, et al. Mast cell activation and degranulation promotes renal fibrosis in experimental unilateral ureteric obstruction. *Kidney Int* 2012;82(6):676-85.
24. Veerappan A, Reid AC, O'Connor N, Mora R, Brazin JA, Estephan R, et al. Mast cells are required for the development of renal fibrosis in the rodent unilateral ureteral obstruction model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;302(1):F192-204.
25. Andersson CK, Bergqvist A, Mori M, Mauad T, Bjerner L, Erjefält JS. Mast cell-associated alveolar inflammation in patients with atopic uncontrolled asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(4):905-12.e1-7.
26. Cha SI, Chang CS, Kim EK, Lee JW, Matthay MA, Golden JA, et al. Lung mast cell density defines a subpopulation of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Histopathology* 2012;61(1):98-106.
27. Mekori YA. The mastocyte: the "other" inflammatory cell in immunopathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(1):52-7.
28. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis (\*). *Annu Rev Immunol* 2009;27:165-97.
29. Ramalho LS, Oliveira LF, Cavellani CL, Ferraz ML, de Oliveira FA, Miranda Corrêa RR, et al. Role of mast cell chymase and tryptase in the progression of atherosclerosis: study in 44 autopsied cases. *Ann Diagn Pathol* 2013;17(1):28-31.
30. Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Chemokine receptor expression in tumour islets and stroma in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2010;10:172.
31. Conti P, Castellani ML, Kempuraj D, Salini V, Vecchiet J, Tetè S, et al. Role of mast cells in tumor growth. *Ann Clin Lab Sci* 2007;37(4):315-22.
32. Fallon MB, Abrams GA, McGrath JW, Hou Z, Luo B. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 1):G779-84.
33. Ozturk H, Terzi EH, Ozturk H, Kukner A. The effects of N-acetylcysteine and vitamin C on liver and pulmonary tissue damage in rats following bile duct ligation. *Saudi Med J* 2008;29(11):1580-4.
34. Zhang ZJ, Yang CQ. Progress in investigating the pathogenesis of hepatopulmonary syndrome. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010;9(4):355-60.
35. Melo-Silva CA, Gaio E, Trevizoli JE, Souza CS, Gonçalves AS, Sousa GC, et al. Respiratory mechanics and lung tissue remodeling in a hepatopulmonary syndrome rat model. *Respir Physiol Neurobiol* 2011;179(2-3):326-33.
36. Zhang HY, Han DW, Zhao ZF, Liu MS, Wu YJ, Chen XM, et al. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: a new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia. *World J Gastroenterol* 2007;13(25):3500-7.
37. Jeong DH, Lee GP, Jeong WI, Do SH, Yang HJ, Yuan DW, et al. Alterations of mast cells and TGF-beta1 on the silymarin treatment for CCl(4)-induced hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2005;11(8):1141-8.
38. Chong LW, Hsu YC, Chiu YT, Yang KC, Huang YT. Anti-fibrotic effects of thalidomide on hepatic stellate cells and dimethylnitrosamine-intoxicated rats. *J Biomed Sci* 2006;13(3):403-18.
39. Tanaka H, Ueda H, Fukuchi H, Ichinose M. Antifibrotic effect of edaravone in rat liver cirrhosis induced by dimethylnitrosamine. *Clin Exp Med* 2009;9(3):229-33.
40. Vercellino R, Tieppo J, Forgiarini Junior LA, Dias AS, Marroni CA, Marroni NP. [Experimental models for assessment of pulmonary alterations in hepatopulmonary syndrome]. *J Bras Pneumol* 2008;34(7):453-60.
41. Domenicali M, Caraceni P, Giannone F, Baldassarre M, Lucchetti G, Quarta C, et al. A novel model of CCl4-induced cirrhosis with ascites in the mouse. *J Hepatol* 2009;51(6):991-9.
42. Zhou L, Yao X, Chen Y. Dexamethasone pretreatment attenuates lung and kidney injury in cholestatic rats induced by hepatic ischemia/reperfusion. *Inflammation* 2012;35(1):289-96.
43. Kalin TV, Meliton L, Meliton AY, Zhu X, Whittsett JA, Kalinichenko VV. Pulmonary mastocytosis and enhanced lung inflammation in mice heterozygous null for the Foxf1 gene. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008;39(4):390-9.
44. Kukner A, Tore F, Firat T, Terzi EH, Oner H, Balaban YH, et al. The preventive effect of low molecular weight heparin on CCL4-induced necrosis and apoptosis in rat liver. *Ann Hepatol* 2010;9(4):445-54.
45. Erkol H, Kahramansoy N, Kordon O, Büyükaşık O, Serin E, Kükner A. Effect of beta-glucan in lung damage secondary to experimental obstructive jaundice. *Turk J Gastroenterol* 2012;23(1):38-45.
46. Thenappan T, Goel A, Marsboom G, Fang YH, Toth PT, Zhang HJ, et al. A central role for CD68(+) macrophages in hepatopulmonary syndrome. Reversal by macrophage depletion. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(8):1080-91.
47. Mizuguchi S, Takemura S, Minamiyama Y, Kodai S, Tsukioka T, Inoue K, et al. S-allyl cysteine attenuated CCl4-induced oxidative stress and pulmonary fibrosis in rats. *Biofactors* 2006;26(1):81-92.
48. Andersson CK, Andersson-Sjöland A, Mori M, Hallgren O, Pardo A, Eriksson L, et al. Activated MCTC mast cells infiltrate diseased lung areas in cystic fibrosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res* 2011;12:139. doi: 10.1186/1465-9921-12-139.
49. Zhang K, Gharaee-Kermani M, McGarry B, Remick D, Phan SH. TNF-alpha-mediated lung cytokine networking and eosinophil recruitment in pulmonary fibrosis. *J Immunol* 1997;158(2):954-9.
50. Miyazawa S, Hotta O, Doi N, Natori Y, Nishikawa K, Natori Y. Role of mast cells in the development of renal fibrosis: use of mast cell-deficient rats. *Kidney Int* 2004;65(6):2228-37.
51. Holdsworth SR, Summers SA. Role of mast cells in progressive renal diseases. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(12):2254-61.
52. Andersson CK, Mori M, Bjerner L, Löfdahl CG, Erjefält JS. Alterations in lung mast cell populations in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181(3):206-17.