

Epinefrin Ve Soğuk Stresi Uygulamasının Bazı Serum Biyokimya Parametreleri Üzerine Etkileri⁺

Şengül Yüksel*, Muhittin Yürekli**

* İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD, Malatya

**İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD, Malatya

Bu çalışmada gerek akut soğuk stresi uygulamasının gerekse tedavi amaçlı olarak da kullanılan epinefrin uygulamasının bazı serum bileşenleri üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Analiz sonuçlarına göre; hem epinefrin uygulama grubu sıçanların hemde soğuk stresine maruz bırakılan sıçanların serumlarında total protein ve kolesterol seviyesinde azalma, glukoz ve trigliserit seviyesinde ise artış kaydedildi. Sıçanlara eksojen epinefrin verilmesi (1mg/kg; ip) ve 48 saat 8°C soğuk stresi uygulamasının karbohidrat ve lipit metabolizmasını etkilediği böylece homeostazisin korunmaya çalışıldığı anlaşıldı.

Anahtar kelimeler: Epinefrin, Soğuk Stresi, Serum, Sıçan

Effects Of Epinephrine And Cold Stress On Some Serum Biochemical Parameters

In this research, effects of not only acute cold stress treatment but also epinephrine administration, used as a treatment peptide, on some serum components were investigated comparatively. According to the analysis results, it was measured that there was a decrease in the level of serum total protein and cholesterol but there was an increase in the level of triglyceride and glucose in rat groups that were exposed to cold stress and epinephrine administration. Therefore, exogenous epinephrine treatment (1 mg/kg) and cold stress application in 48 hours at 8 °C effect carbohydrate and lipid metabolism on rats. Thus, this can be evaluated as an implication that homeostatic balance might be conserved.

Key words: Epinephrine, Cold Stress, Serum, Rat

+ Bu çalışma İnönü Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 97/06 nolu proje kapsamında desteklenmiş ve 2-5 Kasım 2000 tarihleri arasında Denizli’de düzenlenen 6. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresinde poster bildiri olarak sunulmuştur.

Epinefrin’in [R-1-(3,4-dihidroksifenil)-2-metilamino etanol] bir stres hormonu olarak homeostazisin korunması amacıyla organizmada fizyolojik fonksiyonları düzenlemenin yanısıra temel biyokimyasal mekanizmalarda etkilediği bilinmektedir. Epinefrinin belirli dozlarda organizmaya verilmesi sonucu karbohidrat ve yağ metabolizması etkilenmektedir. Epinefrin glikojenoliz ve lipolizi artırarak plazma glukoz ve serbest yağ asiti düzeyini artırır. Epinefrinin plazma protein düzeyine etkisi çok belirleyici olmamakla birlikte total protein miktarını nisbi olarak yükseltici etkisi vardır¹

Fizyolojik stres, fiziksel aktivite ve genel alerjik reaksiyonlar organizmada katekolamin sentezini uyarmaktadır². İstirahat halinde insanda epinefrin’in plazma (bazal) konsantrasyonu 0.15 nMdir, stres yaratan durumlarda bu değer 0.8 nM’e kadar çıkabilir. Uzun süreli soğuğa maruz kalma adrenal medulla ve sempatik nöronlarda katekolamin biosentezinin ilk basamağını katalizleyen tirozin hidroksilaz enzim aktivitesini artırmaktadır.³⁻⁵ Soğuk stresine maruz bırakılan sıçanlarda insülin miktarı artıp glukoz miktarı azalmaktadır. Yine soğuk stresi sıçanlarda kara ciğer trigliserit birikimini uyurup plazma serbest yağ asiti konsantrasyonunun artışı sağlayan mekanizmaları indüklemekte ve plazma trigliserit seviyesini artırmaktadır.⁶

Bu çalışma ile 48 saat soğuk stresine maruz bırakılan ve epinefrin uygulanan sıçanlarda dolaşım kanında glukoz, kolesterol, trigliserit, total protein değerlerindeki değişikliklerin karşılaştırmalı olarak saptanması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneylerde Kullanılan Sıçanlar: Deneylerde İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezince üretilen 150-250 gr ağırlığında, üç aylık, toplam 20 adet Sprague-Dawley sıçanı kullanıldı. Sıçanlar 12 saat aydınlık/karanlık, havalandırmalı, sabit ısılı odalarda ve özel kafeslerde barındırıldı.

Epinefrin (Adrenalin) Uygulaması: Altı adet sıçana epinefrinin (Drogsan) ticari preparatından hazırlanan solüsyon 1 mg/kg dozda intraperitoneal olarak enjekte edildi. Uygulamadan sonra hayvanlar bir saat süre ile dinlenmeye bırakıldı bu süreden sonra diseksiyon işlemine geçildi.

Soğuk stresi uygulaması: Soğuk stresi uygulaması için sekiz adet sıçan 48 saat süre ile +8 °C'de soğuğa maruz bırakıldı. Her kafeste bir hayvan olacak şekilde sıçanlar 30 dakika ara ile buzdolabına yerleştirildi. Kontrol grubunu oluşturan 6 adet sıçan ise oda sıcaklığında muhafaza edildi. Hayvanlara yeterli miktarda yem ve su verildi.

Diseksiyon işlemi ve kanın alınması: Tüm uygulama ve kontrol grubu sıçanlara ketamin 75 mg/kg (ip) olacak şekilde verilerek anesteziyeye edildi. Hayvanların abdomenlerine bir kesik yapılarak vücudun iç kısmı yukarı doğru göğüs kafesine kadar açıldı. Kalbin sağ ventrikülüne bir enjektör ile girilerek 2 ml kan alındı.

Biyokimyasal analizler: Kontrol ve uygulama grubu sıçanlardan alınan kan örnekleri 12.000 g'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra kanın serum kısmı alınarak Olympus AU 600 marka otoanalizer cihazında total protein, glukoz, kolesterol ve trigliserit miktar analizleri yapıldı.

İstatistiksel Yöntem: İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS for Windows programı kullanıldı. İstatistiksel analizler her bir dokuda ölçülen parametrelerin uygulama gruplarında, gruplar arası ile kontrol grubu değerleri arasında farkın önemlilik derecesi ANOVA ve Least Significant Differences Testi (LSD) ile

yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak gösterildi.

BULGULAR

Total protein seviyesi: Kontrol grubu sıçanların serum total protein miktarı 7.23 \pm 1.01 mg/dl olarak ölçüldü. Epinefrin uygulama grubunda serum total protein miktarının azaldığı (6.08 \pm 0.19 mg/dl) ancak gruplar arası farkın önemli olmadığı saptandı. Soğuk stresi grubunda ise serum total protein miktarı 5.82 \pm 0.19 mg/dl olarak ölçüldü ve kontrolden farkı önemli bulundu (P<0.05) (Tablo 1, Şekil 1).

Glukoz seviyesi: Epinefrin uygulaması ile serum glukoz seviyesi 197.00 \pm 33.82 mg/dl olarak kaydedildi ve kontrol grubuna kıyasla (158.66 \pm 19.35 mg/dl) önemli artış gösterdiği belirlendi (P<0.05). Soğuk stresi uygulaması ile de serum glukoz miktarı artmasına karşın (168.62 \pm 9.34 mg/dl) kontrolden farkı önemli bulunmadı (Tablo 1, Şekil 1).

Kolesterol seviyesi: Kontrol grubu sıçanlarda serum kolesterol miktarı 216.66 \pm 64.71 mg/dl, epinefrin grubunda 44.40 \pm 1.24 mg/dl ve soğuk stresi grubunda 59.37 \pm 4.01 mg/dl olarak ölçüldü ve uygulama gruplarının kontrolden farkı önemli bulundu (P<0.05) (Tablo 1, Şekil 1).

Trigliserit seviyesi: Epinefrin uygulama grubunda serum trigliserit miktarı 34.40 \pm 5.11 mg/dl olarak ölçülürken kontrol grubunun trigliserit miktarı 28.00 \pm 2.48 mg/dl olarak belirlendi ve gruplar arası fark önemli bulunmadı. Soğuk stresi uygulaması ile serum trigliserit miktarı 52.16 \pm 3.64 mg/dl olarak bulundu. Bu değer kontrol grubundan fazla olduğu ve gruplar arası farkın önemli olduğu saptandı (P<0.05) (Tablo 1, Şekil 1).

TARTIŞMA

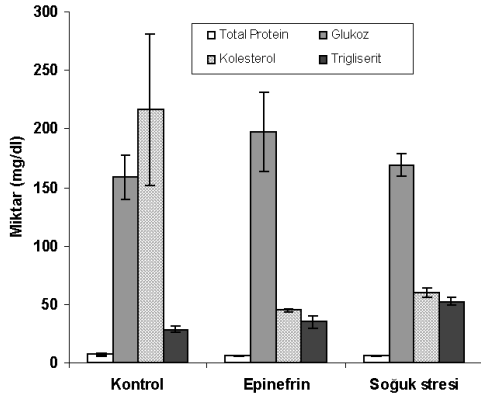
Homeostazisinin korunmasında etkin rol oynayan katekolaminler, nörotransmitter madde olarak hem

Tablo 1. Epinefrin ve soğuk stresi uygulamasının serum total protein, glukoz, kolesterol ve trigliserit seviyesine etkisi (Sonuçlar mg/dl olarak verilmiştir)

Grup	Total protein	Glukoz	Kolesterol	Trigliserit
Kontrol	7.23 \pm 1.02	158.6 \pm 19.3	216.6 \pm 64.7	28.00 \pm 2.48
Epinefrin	6.08 \pm 0.35	197.0 \pm 33.8 *	44.40 \pm 1.25 *	34.40 \pm 5.11
Soğuk stresi	5.82 \pm 0.20 *	168.6 \pm 9.35	59.37 \pm 4.02 *	52.16 \pm 3.65 *

* : Kontrolden anlamlı farklılık

Epinefrin Ve Soğuk Stresi Uygulamasının Bazı Serum Biyokimya Parametreleri Üzerine Etkileri



Şekil 1. Epinefrin ve soğuk stresi uygulamasının serum total protein, glukoz, kolesterol ve trigliserit seviyesine etkileri

sinirsel hem de hormonal fonksiyona sahip bileşiklerdir. Epinefrin'in metabolik etkileri çok yönlüdür. Genellikle uygulama dozuna bağlı olarak glikojenolizisi hızlandırarak plazma glukoz seviyesini artırır. Yine yağ dokusu hücrelerini etkileyerek lipolizisi hızlandırıp kanda serbest yağ asidi düzeyini yükseltir. Yağ dokusu hücrelerindeki bu etkiler hücre membranındaki β_1 ve β_3 reseptörlerinin aktive edilmesi sonucu adenilil siklaz-cAMP sistemi üzerinden, hormona-duyarlı tri-gliserid lipaz enziminin stimüle edilmesine bağlıdır. Epinefrin plazma suyunun kapillerden ekstraselüler aralığa sızmasını artırarak dolaşım plazma hacmini azaltır; kanda alyuvar sayısını ve plazma protein düzeyini nisbi olarak yükseltir.¹

Bir araştırmada epinefrinin adipöz dokusu alınmış diyabetik sıçanlara uygulanması sonucu cAMP seviyesinin arttığı, glukoz seviyesinin yükseldiği, total protein miktarının ise azaldığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada epinefrin uygulaması ile doza bağlı olarak sıçanlarda plazma kolesterol seviyesinin arttığı, adrenolektomi yapılan hayvanlarda ise epinefrinin bu etkisinin ortadan kalktığı dolayısıyla epinefrinin β -adrenerjik reseptörler aracılığı ile plazma kolesterol seviyesini artırdığı rapor edilmiştir.⁷

Bir stres hormonu olarak epinefrinin sıçanlara i.v. uygulanması sonucu karaciğer ve plazmada esasi trigliseritlerden olan linoleik asit miktarını artırırken arakidonik asit seviyesini baskıladığı bildirilmiştir.^{8,11}

Yaptığımız çalışmada epinefrin uygulamasının plazma total protein miktarını etkilemediği, kan glukoz seviyesini artırdığı, kolesterol seviyesini önemli ölçüde

düşürdüğü, trigliserit seviyesini ise değiştirmedeği saptanmıştır.

Soğuk stresi ise fiziksel bir stres faktörü olup organizmada fizyolojik ve biyokimyasal adaptasyon mekanizmalarının düzenlenmesini gerektirmektedir. Soğuk stresinin minarellerin metabolizmasında rol oynayan bazı enzimlerin aktivitesini azalttığı, mitokondride solunum enzimlerinin aktivitesini ise artırdığı bildirilmiştir.^{9,10} Soğuk stresinin plazma trigliserit seviyesine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise soğuk uygulamasından 1-3 saat sonra trigliserit seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada soğuk stresine maruz kalıp yağ ile beslenen ve norepinefrin uygulanan sıçanların karaciğer trigliserit miktarının arttığı rapor edilmiştir⁶. Soğuk stresinin rat beyinde gangliosit yağ asidi kompozisyonunu etkileyerek sialik asit ve stearik asitte artış, palmitik asitte azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.¹¹ Bir çalışmada soğuk stresine maruz bırakılan sıçanlarda plazma lipoprotein ve kolesterol konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir¹². Bir başka çalışmada taban ısı 0 °C olan kafeslerde bir hafta süreyle soğuk stresine maruz bırakılan sıçanlarda, plazma katekolamin, glukoz ve insülin miktarının arttığı ve kronik soğuk stresinin deneysel hipertansiyon nedenlerinden biri olduğu rapor edilmiştir¹³. Ratlarda norepinefrinin karaciğer yağ asidi metabolizmasına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, norepinefrinin özellikle uzun zincirli yağ asitlerinden ketogenezisi inhibe ettiği bildirilmiştir.¹⁴

Çalışmamızda soğuk stresi uygulamasına bağlı olarak serum glukoz seviyesinin biraz yükseldiği, kolesterol ve total protein miktarının önemli ölçüde azaldığı, trigliserit miktarının ise arttığı belirlenmiştir.

Sonuçlar literatür verileri ile büyük ölçüde uyum göstermektedir. Ancak hem epinefrin hemde soğuk stresi uygulama gruplarında kolesterol seviyesinin belirgin şekilde azalması düşündürücüdür. Sonuç olarak hem epinefrinin dışarıdan organizmaya verilmesi hemde akut soğuk stresine maruz kalma sonucu karbohidrat ve lipit metabolizmaları etkilenmekte ve dolaşım kanında bu metabolizma ürünlerinin miktarında değişiklik olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp S.O., Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Basımevi. Ankara 2000 (2): 1185-1187.
2. Noyan A., Fizyoloji Ders Kitabı; Anadolu Üniversitesi Yayınları; No 2 Ankara; 1989: 1083-1094.

Yüksel ve Yüreklî

3. Baruchin A., Weisberg E.P., Ennis D., Nisenbaum L.K., Noylor E., Stricker E.M., Zigmönd M.J., Kaplan B.B.; Effects Of Exposure On Rat Adrenal Tyrosine Hydroxylase: An Analysis Of RNA, Protein, Enzyme Activitiy, And Cofactor Levels; *J. Neurochemistry* 1990; 54: 1769 – 1775
4. Tümer N., Iarochelle J.S.; Tyrosine Hydroxylase Expression In Rat Adrenal Medulla: Influence Of Age And Cold; *Pharmacology Biochemistry And Behavior* 1995; 51(4): 775 – 780
5. Richard F., Biguet N., Labatut R., Rollet D., Mallet J., Buda M.; Modulation Of Tyrosine Hydroxylase Gene Expression In Rat Brain And Adrenals By Exposure To Cold; *J.Neuroscience Research* 1988; 20:32-37
6. Gorski J., Gorska M., Hryniewicz A.; Effect of Cold Exposure on the Concentration of Triglyceride in the Liver of the Rat; *Acta Physiol Pol*; 1988; 39(2) 136-142.
7. Yamatani K., Saito K., Ohnumo H., Ikezawa Y., Seino T., Manaka Y., Daimon M., Takahashi K., Sasaki H.; Increased Epinephrine-Induced cAMP Response in Severely Diabetic BB/W Rat Liver; *Endocr.*; 1997; 44(5): 725-732.
8. Mills DE., Huang YS., Narce M., Poisson JP.; Psychosocial Stress, Catecholamines and Essential Fatty Acid Metabolism in Rats; *Proc. Soc. Exp. Med.*; 1994; 05(1): 56-61.
9. Izgut uysal VN, Derin N., Agac A; Effect of Cold-Restraint Stress On the Distribution of Trace Elements in Rat Tissues; *Biol. Trace Elem. Res.*; 2000, 78(1-3) 149-55.
10. Sämmut IA., Jayakumar J., Latif N., Rothery S., Severs NJ., Smolenski RT., Betes TE., Yacoub MH.; *Am. J. Pathol.* 2001, 158 (5): 1821-31.
11. Zakharova IO, Avrova NF; The Effect of Cold Stress on Ganglioside Fatty Acid Composition and Ganglioside-Bound Sialic Acid Content of Rat Brain Subcellular Fractions, *J. Ther. Biol.*, 2001 26(3): 215-222
12. Olubadewo JO., Wingard M., Washington B, Tsai CS., Robinson TJ, Ochillo RF; The Effects of Stress on Lipoproteins and Catecholamines in Rats; *Cell Mol Biol*; 1994; 40(8): 1201-1206.
13. Kanayama N., Khatun S., Belayet H., She L., Terao T.; Chronic Local Cold Stress to the Soles Induces Hypertension in Rats; *Am. J. Hypertens.* 1999; 12 (11pt1): 1124-1129.
14. Isshii-Iwamoto EL., Ferrarese ML., Constantin J., Salgueiro-Pagadigorria L., Bracht A.; Effects of Norepinephrine On the Metabolism of Fatty Acids With Different Chain Lengths In The Perfused Rat Liver, *Mol. Cell Biochem.*; 2000 205 (1-2): 13-23.

Yazışma Adresi:

Dr. Şengül Yüksel

İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD

44069 MALATYA

Tel: 422 341 0660/1324

E-mail: syuksel@inonu.edu.tr