

SOĞUK STRESİ, ADRENOMEDULLİN ve METİLE ADRENOMEDULLİN UYGULAMALARININ BAZI SIÇAN DOKULARINDA TOPLAM RNA MİKTARLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

The Effects of Cold Stress, Adrenomedullin and Methylatedadrenomedullin Treatments on Total RNA Levels of Some Rat Tissues

Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM ¹
Muhittin YÜREKLİ ²
Numan YILDIRIM ³

Özet

Bu çalışmada bazı sıçan dokularında soğuk stresi, adrenomedullin (AdM) ve metile-adrenomedullin (met-AdM) uygulamalarının total RNA miktarları üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmış olup, stres hormonlarının kontrolünde ve salınmasında etkili enzimler ve bunların regülasyonu hakkında ön bilgi verebileceği düşüncesi ile total RNA miktarları saptanmıştır. Deney esnasında soğuk stresi uygulama grubunda sıçanlar bir hafta boyunca + 10°C sıcaklığa maruz bırakılmışlar ve AdM ve met- AdM uygulamaları 2000 ng/kg olarak i.p olarak günde bir kez olmak üzere 1 hafta süre ile yapılmıştır. Toplam RNA analizinde ise Tümer ve ark., (1997) tarafından kullanılan metottan yararlanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS for Windows Version 12.0 paket program ile yapılmış olup, sonuçlar ortalama ± standart hata ile verilmiştir. Soğuk stresi uygulama gruplarında total RNA seviyeleri tüm dokularda kontrolle kıyaslandığında azalmıştır. Kontrol ile soğuk stresi uygulama grubu arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$). AdM uygulama gruplarında total RNA seviyeleri kontrol ile kıyaslandığında ise azalma görülmüştür. Total RNA seviyelerindeki bu azalma istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Met-AdM uygulama grubunda ise, total RNA seviyeleri kontrol ile kıyaslandığında azalmıştır ve kontrol ile met-AdM uygulama grupları arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Soğuk stresin yanı sıra AdM veya Met-AdM uygulanan gruplarda ise total RNA seviyelerinde istatistiksel olarak önemli bir azalma bulunmuştur ($p<0.05$). Sonuçlar AdM'in strese adaptasyonda rol oynayabileceğini göstermektedir. Protein metilasyonun da anahtar hücresel olaylarda rol oynadığı bilinmekte olup, bu nedenle metillenmiş adrenomedullin'in stresin düzenlenmesinde muhtemel rolü olabileceği sonucuna varılmıştır. Metile adrenomedullin'in farklı dokulardaki yanıtlarını yorumlayabilmek için ise daha ileri düzeyde çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Adrenomedullin, metile-adrenomedullin, soğuk stresi, total RNA, sıçan

¹ Dr.; Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM; İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Malatya, nuran@inonu.edu.tr

² Prof. Dr.; Muhittin YÜREKLİ; İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Malatya, myurekli@inonu.edu.tr

³ Arş. Gör. Dr.; Numan YILDIRIM; Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Diyarbakır, numan@dicle.edu.tr

Abstract

In this study it was aimed to investigate the effects of cold stress, adrenomedullin and methylated adrenomedullin treatments on total RNA levels of some rat tissues. Total RNA levels were determined for being able to get introductory information about the enzyme levels which play a central role in control and secretion of stress hormones. During experimental process in cold stress treatment, rats were exposed +10 °C temperature for a week. In AdM and met-AdM treatment groups, animals received intraperitoneal (i.p) injection of AdM and met-AdM (2000ng/kg body weight) once a day during a week. Total RNA analysis was determined according to Tümer et.al. (1997). Statistical analysis were performed using SPSS version 12.0. Results were shown as mean± standart deviation. In cold stress treatment groups total RNA levels were decreased in all tissue compared to controls. The differences of between control and cold stress treatment groups were significant ($p<0.05$). In AdM treatment groups total RNA levels were decreased compared to control. The decrease in total RNA levels were found to be statically significant ($p<0.05$). In met-AdM treatment groups total RNA levels were decreased compared to control. The differences of between control and met-AdM treatment groups were significant ($p<0.05$). In total RNA level of group which was exposed to cold stress accompanied to AdM or met-AdM a statically significant decrease was found ($p<0.05$). The results suggested that AdM may play a possible role in adaptation to stress. It is known that methylation of proteins plays important roles in key cellular events therefore we can suggest that methylated adrenomedullin has possible roles in regulation of stress but we need further studies reveal responses of met-AdM in different tissues.

Key words: Adrenomedullin, methylated-adrenomedullin, cold stress, total RNA, sıçan

GİRİŞ

Stres, organizmanın fiziksel ve davranışsal uyum cevaplarının çok yönlü ve düzenli ifade edilmiş şekli olup, homeostazisin bozulması olarak bilinir (Şahin ve Gümüşlü, 2004) ve soğuğa karşı stres; metabolik, dolaşım sal veya hormonal şekilde ortaya çıkabilir. Organizmalar farklı fizyolojik stres etkenlerine karşı özgün nöroendokrin cevap oluştururlar (Yüksel ve ark., 2002). Uzun süre soğuğa maruz kalma; mitokondriyal hacim yoğunluğuna, damar çapında değişikliğe, aerobik enzim aktivitesinde değişime ve doku oksijen tüketiminde artışlara neden olabilir (Selman ve ark., 2000).

Yeni bir düzenleyici peptid olarak bilinen adrenomedullin; bazı peptidlerin, trombosit-siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeyleri üzerine etkisi araştırılırken feokromositoma hücrelerinden elde edilmiştir. Rat adrenal medullasından salgılanan adrenomedullin ile yapılan ilk çalışma 1993 yılında dolaşımdaki adrenomedullin etkisinin radyoimmünassay yöntemi ile ölçülmesi suretiyle yapılmıştır (Hinson ve ark., 2000). Adrenomedullin'in pek çok biyolojik olayda otokrin-parakrin veya endokrin olarak rol oynadığına dair kanıtlar mevcuttur. Bu biyolojik fonksiyonlar arasında kan basıncının endotelial düzenlenmesi, sepsis veya oksijen azlığında organ hasarına karşı koruma ve susamanın düzenlenmesi yolu ile kan hacminin kontrolü sayılabilir (Bunton ve ark., 2004).

Adrenomedullin bir dolaşım hormonu olarak görev yapabilir ve kardiyovasküler sistem, böbrek fonksiyonları ve kan basıncının düzenlenmesinde otokrin-parakrin olarak görev yapabilir (Balat ve ark., 2000a). Adrenomedullin endotelial hücrelerce nitrik oksit (NO) üretimini arttıran ve adrenal bezlerde potasyum ve angiotensin-II ile uyarılan aldosteron salınmasını engeller. Adrenomedullin'in natriüretik ve diüretik hareketi peptid'in tübüler fonksiyon ve renal kan basıncı üzerine etkilerini yansıtır (Balat ve ark., 2000b). Adrenomedullin in damar yapısı üzerine vazodilasyon, vasküler düz kas hücre çoğalmasının düzenlenmesi, endotelial hücre apoptozisinin inhibisyonu, anjiyogenezin ilerletilmesini içeren önemli etkileri vardır (Nikitenko ve ark., 2002). Adrenomedullin ve proadrenomedullin-N terminal-20 peptid dolaşım hormonu olarak rol oynar ve insanda düşük düzeyde (pg/mL) oranlarında bulunur. Adrenomedullin'in plazma yarı ömrünün yaklaşık olarak 22 dakika olduğu tahmin edilmekte olup, hastalık durumlarında adrenomedullin'in plazma seviyesinin arttığı bilinmektedir (Samson, 1999).

Adrenomedullin, kanser, diyabet, inflamasyon, sepsis, kardiyovasküler ve renal bozukluklar gibi pek çok patolojilerin bir aracısı olarak rol oynar (Zudaire ve ark., 2003).

Protein sentezi sonrası proteinlerin ve nükleik asit gibi önemli biyolojik moleküllerin fonksiyonel hale gelmesinde fosforillenme ve metillenme gibi reaksiyonlar önemli derecede rol oynamaktadır. Proteinlerin sentez sonrası modifikasyonları onların sinyal iletiminde önemli olmasını ve hücre dışı olaylara hızlı ve organize bir şekilde ardışık olarak toplu cevap verilmesini mümkün kılar. Proteinlerin sentez sonrası modifikasyonları, proteinlerin serin, treonin ya da tirozin amino asitlerinden fosforillenmesi ya da arjinin gibi aminoasitlerden metillenmesi ile olur (Michael, 2008).

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneylerde Kullanılan Sıçanlar

Deneylerde İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Birimi tarafından üretilen Wistar ırkı erkek sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma öncesi İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan rapor alınmıştır. Sıçanlar; kontrol, adrenomedullin (AdM); metile adrenomedullin (met-AdM), soğuk stresi, stres+AdM ve stres+ Met-AdM grubu olmak üzere altı gruba ayrılmıştır. Her bir grupta 6 adet sıçan bulunmaktadır. Sıçanlar deney gününe kadar 12 saat aydınlık/karanlık, havalandırılmalı, sabit ısı odada, özel kafeslerde barındırılmıştır. Sıçanların ağırlıkları 190-250 g arasında olup, sıçanlara standart sıçan yemi ve içebildikleri kadar su verilmiştir. Soğuk stresi uygulaması için hayvanlar bir hafta süre ile +10 °C ' de soğuğa maruz bırakılmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 6 adet sıçan ise oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. Adrenomedullin uygulama gruplarına bir hafta boyunca her gün aynı saatte 2000ng/kg vücut ağırlığı olacak şekilde günde bir kez intraperitoneal (*i.p*) enjeksiyon ile serum fizyolojik içerisinde çözündürülen AdM (Calbiochem

Adrenomedullin-1-50 Rat) uygulanmıştır. Adrenomedullin metilasyon kiti kullanılarak metile edilmiş ve metilasyon FTIR analizi ile belirlenmiştir. Metile-adrenomedullin deney gruplarına bir hafta boyunca her gün aynı saatte 2000ng/kg vücut ağırlığı olacak şekilde günde bir kez intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Stres+AdM uygulama gruplarında ise, Bir hafta boyunca +10°C soğuğa bırakılan sıçanlara aynı zamanda hafta boyunca hergün aynı saatte 2000ng/kg vücut ağırlığı olacak şekilde günde bir kez intraperitoneal olarak adrenomedullin uygulaması yapılmıştır. Stres ve metile-adrenomedullin uygulamasında ise +10°C soğuğa bırakılan sıçanlara aynı zamanda bir hafta boyunca her gün aynı saatte 2000ng/kg vücut ağırlığı olacak şekilde günde bir kez intraperitoneal olarak metile-adrenomedullin uygulaması yapılmıştır. Uygulamalardan sonra sıçanlara ağırlıklarına göre 75 mg/kg'lık dozda anestezi madde olan ketamin verilmiş ve anesteziden sonra sıçanlardan diseksiyon ile karaciğer, akciğer, böbrek ve kalp dokuları alınmıştır.

Toplam RNA Analizi

Toplam RNA analizi Tümer ve ark., (1997)'e göre yapılmıştır. Karaciğer, akciğer, böbrek ve kalp dokuları, taraları alınmış deney tüplerine alınarak herbir dokudan 0.2g olacak şakilde tartıldı. Tartım işleminden sonra tüpe (pH 7.2 % 0.2 triton x-100) fosfat tamponu eklenerek, buz içerisinde (PVC, Kinematica, homojenizatör Statu) ile tüm doku rneği paralanıncaya kadar homojenize edilmiştir. Bu homojenatlardan 100µl alınmış ve daha sonra 800µl RNAzol (Sigma, Inc.) zltisi ile 80µl kloroform eklenerek tp kapatılmıştır. 15 sn vorteksle karıştırılıp 5 dakika buz üzerinde bekletilmiştir. 12000g'de 4°C'de 25 dakika Ole Dich 157.MP mikro santrifüj cihazı ile santrifüj edilip üstteki renksiz sıvı yeni bir tüpe alınmıştır. Daha sonra 400µL izoproponol (Sigma, Inc.) karıştırılıp 4°C'de 15 dakika bekletilmiştir. 12000g'de 4°C'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı dökülüp pelete 800µL 575'lik etanol eklenip vorteksle karıştırılmıştır. Daha sonra 8 dakika 10000g'de 4°C'de santrifüj edilip üstteki sıvı dökülmüş ve tp kurutulmuştur. Sonra 15µl distile su ilave edilerek 1000µl'ye tamamlanmıştır. Son olarak 260 nm'de spektrofotometrik olarak absorbans değerleri belirlenmiştir.

İstatistiksel Analiz

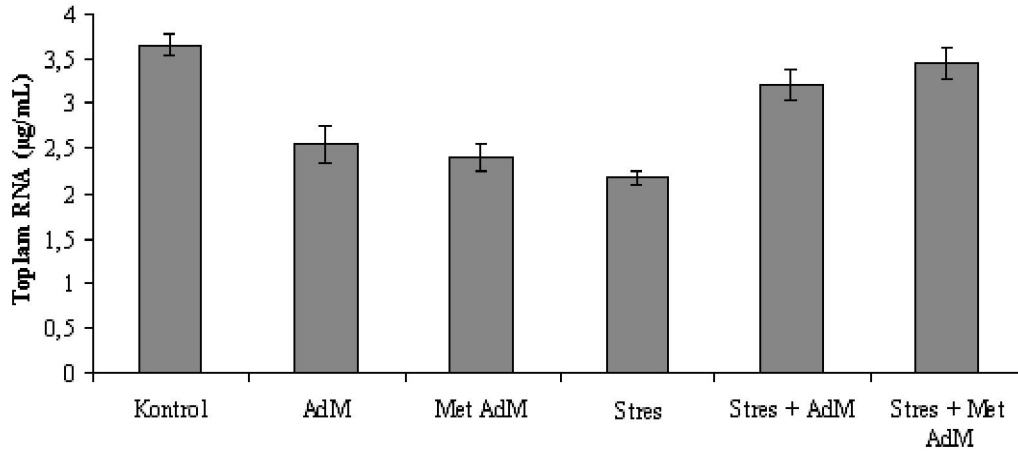
Soğuk stresi, AdM ve met-AdM uygulamalarının total RNA miktarları üzerindeki etkilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde, "SPSS 12.0" Windows paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler her bir dokuda ölçülen parametrelerin uygulama gruplarında gruplar arası ile kontrol grubu değerleri arasında farkın önemlilik derecesi "ANOVA" ve Least Significant Differences (LSD) testi" ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir.

BULGULAR

Tablo 1. Adrenomedullin ve metile adrenomedullin uygulamasına bağlı olarak dokulardaki toplam RNA miktarlarındaki değişimler.

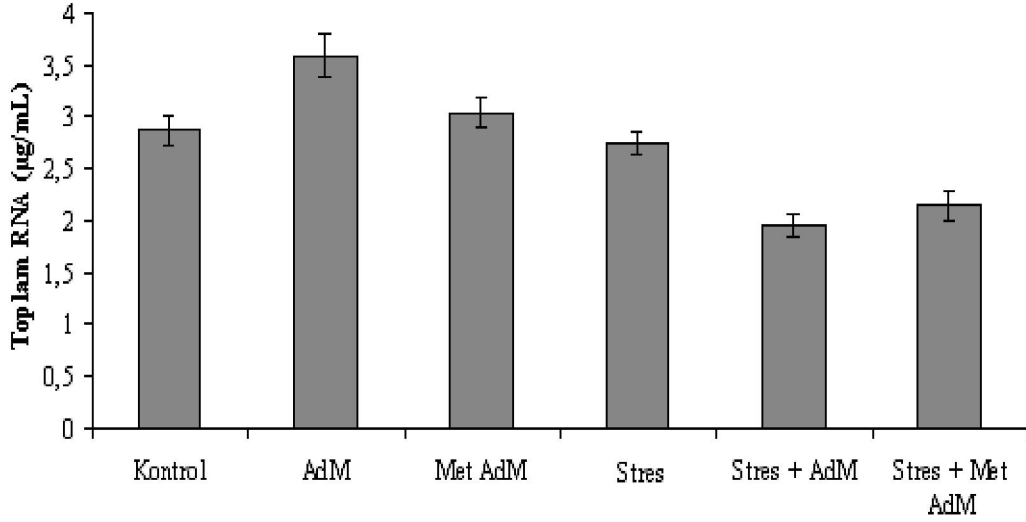
Uygulama	Toplam RNA($\mu\text{g}/\text{mL}$) \pm SD			
	Karaciğer	Akciğer	Böbrek	Kalp
Kontrol	3,66 \pm 0,11	2,87 \pm 0,13	4,45 \pm 0,18	4,54 \pm 0,12
AdM	2,55 \pm 0,21	3,58 \pm 0,20	4,16 \pm 0,17	3,45 \pm 0,20
Met-AdM	2,39 \pm 0,16	3,05 \pm 0,15	3,45 \pm 0,11	3,71 \pm 0,25
Stres	2,18 \pm 0,08	2,75 \pm 0,11	3,57 \pm 0,18	3,15 \pm 0,12
Stres + AdM	3,21 \pm 0,18	1,94 \pm 0,11	3,48 \pm 0,10	2,32 \pm 0,08
Stres+Met- AdM	3,45 \pm 0,17	2,15 \pm 0,15	3,04 \pm 0,14	2,67 \pm 0,18

Karaciğer dokusunda, kontrol grubunda total RNA miktarı 3.66 \pm 0.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunurken, AdM uygulaması yapılan deney grubunda total RNA seviyesi 2,55 \pm 0,21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak elde edilmiştir. AdM uygulama grubunda ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Met-AdM uygulama grubunda total RNA düzeyleri ise; 2,39 \pm 0,16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak bulunmuştur. Soğuk stresi uygulaması sonucunda ise total RNA seviyesi 2,18 \pm 0,08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak ölçülmüştür. Soğuk stresinin yanı sıra AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı 3,21 \pm 0,18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak elde edilmiştir (Şekil 1; Tablo 1). Soğuk stresinin yanı sıra Met-AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı 3,45 \pm 0,17 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olarak elde edilmiştir. Ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).



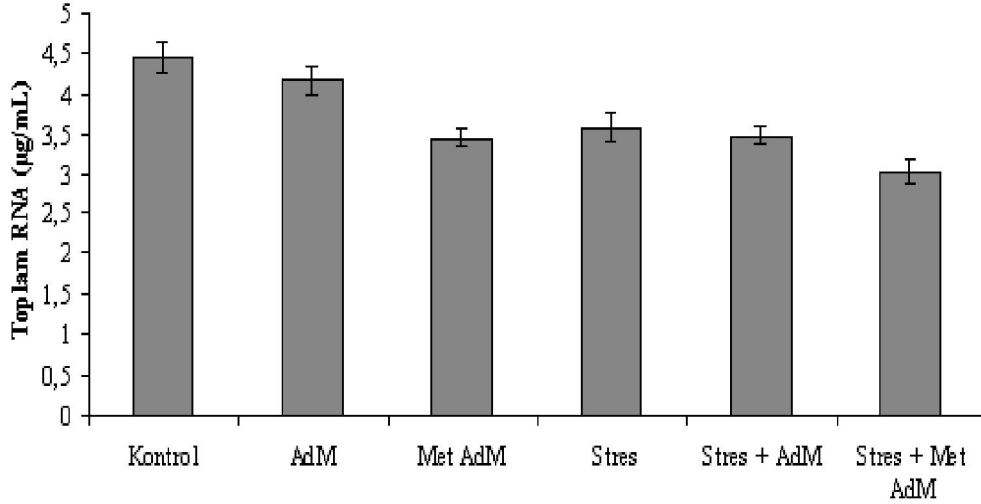
Şekil 1. Karaciğer dokusundaki toplam RNA miktarlarındaki değişiklikler.

Akciğer dokusunda, kontrol grubunda total RNA miktarı $2,87\pm 0,13\mu\text{g/mL}$ olarak bulunurken, AdM uygulaması yapılan grubunda total RNA seviyesi $3,58\pm 0,20\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. AdM uygulama grubunda ortaya çıkan bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Met-AdM uygulama grubunda total RNA düzeyleri ise; $3,05\pm 0,15\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Soğuk stresi uygulaması sonucunda ise total RNA seviyesi $2,75\pm 0,11\mu\text{g/mL}$ olarak ölçülmüştür. Soğuk stresinin yanı sıra AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $1,94\pm 0,11\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. Soğuk stresinin yanı sıra Met-AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $2,15\pm 0,15\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir (Şekil 2; Tablo 1). Ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).



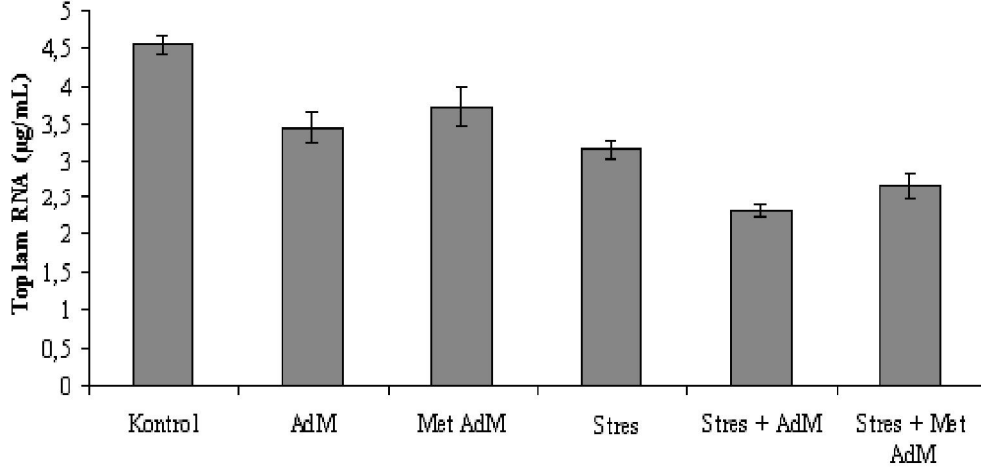
Şekil 2. Akciğer dokusundaki toplam RNA miktarındaki değişiklikler.

Böbrek dokusunda, kontrol grubunda total RNA miktarı $4,45\pm 0,18\mu\text{g/mL}$ olarak bulunurken, AdM uygulaması yapılan grubunda total RNA seviyesi $3,45\pm 0,20\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. AdM uygulama grubunda ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Met-AdM uygulama grubunda total RNA düzeyleri ise; $3,45\pm 0,11\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Soğuk stresi uygulaması sonucunda ise total RNA seviyesi $3,57\pm 0,18\mu\text{g/mL}$ olarak ölçülmüştür. Soğuk stresinin yanı sıra AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $3,48\pm 0,10\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. Soğuk stresinin yanı sıra Met-AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $3,04\pm 0,14\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir (Şekil 3; Tablo 1). Ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 3. Böbrek dokusundaki toplam RNA miktarlarındaki değişiklikler.

Kalp dokusunda, kontrol grubunda total RNA miktarı $4,54\pm 0,12\mu\text{g/mL}$ olarak bulunurken, AdM uygulaması yapılan grupta total RNA seviyesi $4,16\pm 0,17\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. Met-AdM uygulama grubunda total RNA düzeyleri ise; $3,71\pm 0,25\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Met-AdM uygulama grubunda ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Soğuk stresi uygulaması sonucunda ise total RNA seviyesi $3,15\pm 0,12\mu\text{g/mL}$ olarak ölçülmüştür. Soğuk stresinin yanı sıra AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $2,32\pm 0,08\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir. Soğuk stresinin yanı sıra Met-AdM uygulaması yapılan grupta total RNA miktarı $2,67\pm 0,18\mu\text{g/mL}$ olarak elde edilmiştir (Şekil 4; Tablo 1). Ortaya çıkan bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4. Kalp dokusundaki toplam RNA miktarlarındaki değişiklikler.

TARTIŞMA

Stres organizmanın dışsal değişikliklere ve uyarılara karşı bir cevabı olarak kabul edilmektedir. Bütün stres etkenleri simpato-adrenal medullar sistem (SAS) ve hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) sistemi uyarmasına rağmen aktivasyonun derecesi stresin tipine, yoğunluğuna ve derecesine bağlıdır. Akut stresin HPA aktivitesinin yanı sıra simpatik aktiviteyi uyararak, katekolamin biyosentezini sağlayan enzimlerin ve nöropeptidlerin aktivasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Soğuğa karşı stresin fizyolojik bileşenleri metabolik, dolaşımsal ve hormonal işlemleri içerir ancak bu cevaplara aracılık eden hücrel ve moleküler mekanizmalar tamamiyle bilinmemektedir (Yüksel ve Asma, 2006).

Stres, organizmanın çevresel değişimlerle başa çıkabilmesi için uyumsal değişiklikleri meydana getirmekte, periferde adrenerjik/noradrenerjik sistem ve beyin hepsi birlikte hipotalamus-hipofiz-adrenokortikal eksen strese cevapta anahtar rol oynamaktadır. Uzun süren ve tekrar eden stres hipertansiyon, kalp krizi, depresyon gibi psikiyatrik ve kardiyovasküler hastalıkları içeren pek çok bozukluklar için önemli bir risk faktörü olarak bilinir. Bunun yanı sıra stres diyabet ve kanser gibi diğer ciddi hastalıkların ilerleme sürecini de değiştirir (Liu ve ark., 2005).

Akut fiziksel ya da fizyolojik stres, hipotalamus başta olmak üzere diğer beyin bölgelerinde ve adrenal medullada total RNA düzeylerinde artışlara yol açmaktadır (Devlin, 1986). Soğuğa maruz bırakılma ile oluşturulan fizyolojik stres beyin, kalp ve adrenal medullayı harekete geçirecek bu bölgelerde öncelikle total RNA düzeylerini artırmakta buna bağlı olarak bu bölgelerden stres hormonlarının sentez ve salınımı hızlanmaktadır. Artan total RNA düzeyleri, stres hormonlarının sentezinde görevli olan enzimlerin aktivitesinin de artışını yansıtmaktadır (Roberts ve Tumer, 1987). Artan stres

hormonları kan basıncının artışı ve buna bağlı olarak hipertansiyon gibi fizyolojik durumların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır (Axelrod, 1970).

Yapılan çalışmada soğuk stresine bağlı olarak total RNA miktarları azalmıştır. AdM ve met-AdM uygulamasına bağlı olarak da akciğer dokusu hariç tüm dokularda total RNA miktarlarının azaldığı saptanmıştır. Hipotansif bir peptit olan AdM'in total RNA seviyelerinde azalmaya yol açması ve böylece organizmayı stres sonrası meydana gelen bu olumsuz etkilere karşı koruyucu rol oynayabileceğinin göstergesidir. Adrenomedullin'in strese karşı koruyucu etkisinin sınırlı ve belirli düzeyde olduğunu söyleyebiliriz. Bu etkilerin sınırlı olması AdM'in miktarı, uygulama süresi, şekli ve doku farklılıklarından kaynaklanabileceğini kaanatindeyiz. Örneğin adrenomedullin'in intravenöz veya intraarteriyel uygulanması intraperitoneal verilmesinden daha etkili olabilmektedir. Yine doku özgülüğü önemli bir faktördür ve farklı sonuçlar ortaya çıkmasına neden olabilir. Adrenomedullin'in biyolojik cevaplarının oldukça yavaş geliştiği göz önüne alınırsa daha uzun süreli adrenomedullin uygulamasında farklı sonuçlar doğuracağı açıktır.

Protein metilasyonu protein-protein etkileşimi, transkripsiyonun regulasyonu (Clarke, 2003) hücrel stres cevabı, proteinlerin tamiri ve yaşlanması (Kujubu ve ark., 1993) T hücre aktivasyonu (Cimato ve ark., 1997), nükleer transport (Vemuri ve Philipson, 1988), nöronal farklılaşma iyon kanalı fonksiyonu, sitokin sinyalinini içeren pek çok anahtar hücrel olaylarda işe karışmaktadır (Chen ve ark., 2004). Yapılan bu çalışmada total RNA seviyelerinin soğuk stres uygulamasına bağlı olarak azalması, strese cevapta rol oynayan yapılarda transkripsiyonel düzeyde bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Bundan dolayı metile-adrenomedullinin stres cevabının regulasyonunda muhtemel roller oynayabileceğini önerebiliriz. Fakat metile-adrenomedullin'in farklı dokulardaki yanıtlarını görebilmek için daha ileri düzeyde çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Axelrod, J. Mueller, R.A. Henry, J.P. (1970). Changes in enzymes involved in the biosynthesis and metabolism of noradrenaline and adrenaline after psychosocial stimulation. *Nature*, 225, 1059-60.
- Balat, A. Çekmen, M. Yürekli, M. Gülcan, H. Kutlu, O. Türköz, Y. ve Yoloğlu, S. (2000a). Adrenomedullin and nitrite levels in children with minimal change nephrotic syndrome, *Pediatric Nephrology*, 15, 70-73.
- Balat, A. Çekmen, M. Yürekli, M. Kutlu, O. İlek, İ. Sönmezgöz, E. Çakır, M. Türköz, Y. and Yoloğlu, S. (2000b). Adrenomedullin and nitrite levels in children with Bartter syndrome, *Pediatric Nephrology*, 15, 266-270.
- Bunton, D.C. Petrie M.C. Hillier, C. Johnstone, F. McMurray, J.V. (2004). The Clinical Relevance of Adrenomedullin: a promising profile, *Pharmacology & Therapeutics*, 103(3), 179-201.
- Clarke, S. (2003). Aging as war between chemical and biochemical processes: protein methylation and the recognition of age-damaged proteins for repair. *Ageing Research Reviews*, 2(3), 263-285.

- Chen, Y.F. Zhang, A.Y. Zou, A.P. Campbell, W.B. Li, P.L. (2004). Protein methylation activates reconstituted ryanodine receptor-ca release channels from coronary artery myocytes. *Journal of Vascular Research*, 41(3), 229-240.
- Cimato, T.R. Ettinger, M.J. Zhou, X. Aletta, J.M. (1997). Nerve growth factor-specific regulation of protein methylation during neuronal differentiation of PC12 cells. *Journal of Cell Biology*, 138(5), 1089-1103.
- Devlin, T.M. (1986). Teztbook of Biochemistry. Hahnemann Univercity School of Medicine A. Wiley Medical Publication. New York,.16.
- Hinson, J.P. Kapas, S. Smith, D.M. (2000). Adrenomedullin, a multifunctional regulatory peptide. *Endocr Rev*, 21, 138-67.
- Kujubu, D.A. Stimmel, J.B. Law, R.E. Herschman, H.R. Clarke, S. (1993). Early responses of PC-12 cells to NGF and EGF: effect of K252a and 5'-methylthioadenosine on gene expression and membrane protein methylation. *Journal of Neuroscience Research*, 36(1), 58-65.
- Liu, X. Kvetnansky, R. Serova, L. Sollas, A. Saban E.L. (2005). Increased susceptibility to transcriptional changes with novel stressor in adrenal medulla of rats exposed to prolonged cold stres. *Molecular Brain Research*, 141, 19-29.
- Michael, W. K. (2008). IU School of Medicine <http://themedicalbiochemistrypage.org/> adresinden 21 ekim 2008 tarihinde indirilmiştir.
- Nikitenko, L.L. Smith, D.M. Hague, S. Wilson, C.R. Bicknell, R. ve Rees, M.C.P. (2002). Adrenomedullin and The Microvasculature. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23(3), 101-103.
- Noyan, A. ,(1980). Fizyoloji ders Kitabı,8. baskı, Ankara: Anadolu Üniversitesi Yayınları. No: 2 Meteksan.
- Roberts, J & Tumer, N. (1987). Age related changes in autonomic function of catecholamines. *Rewiew of Biological in Aging*; 3, 257-98.
- Selman, C. McLaren.S.J. Hımanka J.M.. ve Speakman R.J. (2000). Effect of Long –Term Cold Exposure on Antioxidant Enzyme Activities İn Small Mammal, *Free Radical Biology&Medicine*, 28(8), 1279-1285.
- Samson, W. K. (1999). Adrenomedullin and the control of fluid and electrolyte homeostasis, *Annual Review of Physiology*, 61, 363-389.
- Şahin, E. & Gümüşlü, S. (2004). Cold-stress-induced modulation of antioxidant defence: role of stressed conditions in tissue injury followed by protein oxidation and lipid peroxidation, *Int J.Biometerol*, 48, 165-171.
- Tümer, N. La Rochelle, J.S. and Yürekli, M. (1997). Exercise training reverses the age-related decline in tyrosine hydroxylase expression in rat hypothalamus. *Journal of Gerontology: Biological Science*, 52A (5), 255-259.
- Vemuri, R. & Philipson, K.D. (1988). Protein methylation inhibits Na⁺-Ca²⁺ exchange activity in cardiac sarcolemmal vesicles. *Biochimica et Biophysica Acta*, 939(3), 503-508.
- Yüksel, Ş. Akbay, A. & Yürekli, M. (2002). Contribution of Adrenomedullin to homeostatic response to cold Stress in rat model, *Pathophysiology* 8, 243-247.
- Yüksel, Ş. Asma, D. (2006). Effects of extended cold exposure on antioxidant defense system of rat hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Journal of Thermal Biology* 31, 313–317.
- Zudaire, E. Martínez, A. Cuttitta, F. (2003). Adrenomedullin and cancer, *Regul Pept. Apr* 15;112(1-3), 175-83.