

Sıçanlarda İmmobilizasyon Stresinin Çeşitli Biyokimyasal Parametrelere Etkisi

Sibel Taş*, Melahat Dirican**, Behzat Noyan***, Nevzat Kahveci***,
Kasım Özlük****, Asuman Güler*****

ÖZET. Bu çalışmada 30 gün immobilizasyon stresi uygulanan Wistar türü sıçanların biyokimyasal parametreleri incelendi. Sıçanlar 3 gruba ayrıldı. Kontrol (grup 1), grup 2 ve 3. Her grup 8 hayvandan oluşmaktaydı. Grup 2 ve 3'teki sıçanlara 30 gün süresince günde 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulandı.

Grup 2 kontrol grubuyla kıyaslandığında, glukoz, üre, ürik asit, aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), total protein, albumin, globulin ve kortikosteron değerlerinde anlamlı değişimler gözlemlendi.

Grup 3'te yalnız üre, ürik asit, total protein, albumin ve globulin değerlerinde kontrole göre anlamlı değişimler gözlemlendi.

Grup 2 ve 3 birbirleriyle kıyaslandığında grup 2'de yalnız ürik asit ve ALT düzeylerinin daha düşük olduğu saptandı. Kortikosteron düzeyinde grup 2 ve 3 birbirleriyle kıyaslandığında anlamlı fark görülmedi.

Sonuçta, stres süresinin uzamasıyla organizmada adaptasyon geliştiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler .İmmobilizasyon stresi .biyokimyasal parametreler .sıçan.

Effects of Immobilization Stress on Various Biochemical Parameters in Rats

SUMMARY. In this study the effects of thirty-day-immobilization stress on various biochemical parameters in plasma have been investigated in three groups of male Wistar-strain rats, each of which is composed of eight animals. They are as follows: Control (group 1), group 2 and group 3. Group 2 and 3 have been subjected to five to sixteen-hour-immobilization stress a day respectively for thirty days.

Following the experimental period, we have observed significant differences in the levels of glucose, urea, uric acid, aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), total protein, albumin, globulin and corticosterone in group 2 when compared to control group's values.

However, in group 3 only urea, uric acid, total protein, albumin and globulin values have been found to be much more different than control values.

When we have compared group 2 with group 3, only the levels of uric acid and ALT have been observed to be significantly lower in group 2. As a result, finding corticosterone levels almost similar in both of the experimental groups has given us the idea that, as the duration of stress increases, a kind of adaptation develops in the organism.

Key Words. Immobilization stress .biochemical parameters .rat.

Stres, organizmanın herhangi bir etkiye karşı gösterdiği tepki olarak tanımlanmış olup bu tepkilerin özgün olmadığı belirtilmiştir¹. Çeşitli fiziksel ve çevresel uyarılar strese neden olabilir. Bu uyarılara yanıt olarak da organizmada hormonal ve metabolik bazı değişiklikler meydana gelir. Yapılan çalışmalarda akut streste öncelikle adrenal medulla'da noradrenalin ve adrenalin sentezinde rol oynayan bazı enzimlerin

aktivitesinde ve salınımında artış bulunmuştur. Stres kronikleştikçe adrenal medulla hormonları yanında adrenal korteks hormonu olan kortikosteron'un düzeyinin arttığı bulunmuştur²⁻⁶. Yine yapılan çalışmalarda stres sonucu growth hormon (GH), prolaktin (PR), tiroid stimulan hormon (TSH), antidiüretik hormon (ADH) ve aldosteron gibi hormonların yükseldiği gözlemlenmiştir⁷⁻⁹. Bu nöroendokrinolojik tepkilerin yanında organizmada metabolik yanıtlar da oluşur. Örneğin karbonhidrat metabolizmasının bozulması, protein yıkımında artış, oksidatif yakıt olarak lipitlerin kullanımında artma ve enerji kullanımında artış gibi değişimler görülür. Bu değişimler genellikle insülin direnciyle birliktedir^{10,11}. Stres uzun süre devam edecek

* Araş. Gör.; U.Ü. Tıp Fak. Fiziyojji ABD
** Uzm. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Biyokimya ABD
*** Araş. Gör. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Fiziyojji ABD
**** Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Fiziyojji ABD
*****Prof. Dr.; U.Ü. Tıp Fak. Biyokimya ABD
Geliş Tarihi : 22.11.1994
Kabul Tarihi: 17.4.1995

olursa organizmada kalıcı patolojik değişiklikler meydana gelebilir¹².

İmmobilizasyon orta derecede stres yaratan bir durumdur¹³. Deerwater ve arkadaşları yaptıkları çalışmada feçli hastalarda zorunlu olarak hareketsiz kalma sonucu çeşitli metabolik değişikliklerin oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir¹⁴. Bu görüşle, sıçanlarda immobilizasyon stresinin çeşitli biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda ağırlıkları 260-280 gr arasında değişen Wistar Albino türü erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney süresince su ve gıda alımları için gerekli ortam sağlandı. Deney her grupta 8 sıçan olmak üzere 3 gruba ayrıldı:

Grup 1: Kontrol grubu: 30 gün boyunca stres uygulanan gruplarla aynı diyetle beslenen ve stres uygulanmayan grup.

Grup 2: 30 gün süresince her gün 5 saat immobilizasyon stresi uygulanan grup.

Grup 3: 30 gün süresince her gün 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grup.

İmmobilizasyon stresi uygulamak için sıçanlar bükülebilir bir tel içine konulup hareketlerini engellemek amacıyla telin her tarafı zımbalandı. Stres süreleri bitiminde sıçanlar stres kafesinden çıkarılarak serbest bırakıldı. 30 gün sonunda sıçanlar dekapite edilerek antikoagülanlı (EDTA) kan örnekleri alındı. Dax 72 otoanalizöründe (Technicon Ins. ABD) plazma glukoz, üre, ürik asit, aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT), total protein, albumin ve kortikosteron düzeyleri ölçüldü. Ölçülen parametrelerin kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde "Student-t" testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi: 0.05 olarak kullanıldı.

Bulgular

Kontrol grubuna ve immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait çeşitli biyokimyasal parametreler Tablo I'de verilmiştir.

Günde 5 saat stres uygulanan grup, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında:

- Glukoz, üre, ürik asit, ALT, AST, total protein, albumin ve globulin değerleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu.
- Kortikosteron düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı derecede artış saptandı.
- Albumin/globulin oranında anlamlı bir fark saptanmadı.

Tablo: I- Kontrol grubu ve stres uygulanan gruplarda ölçülen çeşitli biyokimyasal parametreler

		Kontrol Grubu (n = 8)	5 saat Immob. Stresi Uyg. Grup (n = 8)	16 saat Immob. Stresi Uyg. Grup (n = 8)
GLUKOZ (mg/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	164.63 ± 49.04	104.5 ± 22.63**	127.63 ± 42.4
	EKD-EBD	59-231	61-137	80-214
	% D.K	29.8	21.7	33.2
ÜRE (mg/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	54.63 ± 4.81	43.50 ± 5.73*	47.13 ± 8.04**
	EKD-EBD	46-62	22-71	37-59
	% D.K	8.8	13.2	17.1
ÜRİK ASİT (mg/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	3.23 ± 0.64	1.10 ± 0.28*	2.23 ± 0.72**
	EKD-EBD	2.4-4.2	0.8-1.7	0.9-3.2
	% D.K	19.9	25.5	32.3
AST (U/L)	$\bar{x} \pm S.S$	165.25 ± 39.94	127.63 ± 22.73**	139.88 ± 29.66
	EKD-EBD	122-232	97-157	106-189
	% D.K	24.2	17.8	21.2
ALT (U/L)	$\bar{x} \pm S.S$	96.75 ± 18.64	54.63 ± 17.35*	96.13 ± 14.55
	EKD-EBD	76-136	34-82	72-125
	% D.K	19.3	31.8	15.1
T. PROTEİN (g/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	10.31 ± 0.86	8.61 ± 0.22*	8.29 ± 0.92*
	EKD-EBD	8.8-11.3	8.2-8.8	6.7-9.7
	% D.K	8.3	2.6	11.1
ALBUMİN (g/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	4.79 ± 0.54	4.21 ± 0.34**	4.09 ± 0.41**
	EKD-EBD	3.8-5.4	3.8-4.7	3.5-4.6
	% D.K	11.3	8.1	10
GLOBULİN (g/dl)	$\bar{x} \pm S.S$	5.53 ± 0.59	4.40 ± 0.27*	4.20 ± 0.54*
	EKD-EBD	4.4-6.2	4.1-4.9	3.2-5.1
	% D.K	10.7	6.1	12.9
Alb/Glob.	$\bar{x} \pm S.S$	0.87 ± 0.12	0.96 ± 0.12	0.98 ± 0.07
	EKD-EBD	0.63-1	0.77-1.14	0.89-1.09
	% D.K	13.8	12.5	7.1
KORTİKOST. (ng/ml)	$\bar{x} \pm S.S$	400.20 ± 174.3	812.91 ± 146.3*	603.16 ± 228.9
	EKD-EBD	108.1-677.4	594.1-980.2	143.2-919.6
	% D.K	43.6	18	38

*: p < 0.001, **: p < 0.05 EKD-EBD: En küçük ve en büyük değerlerdir. % D.K: Değişim Katsayısı

Günde 16 saat stres uygulanan grup, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında:

- Üre, ürik asit, total protein, albumin ve globulin değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı derecede azalma olduğu gözlemlendi.

- Glukoz, ALT, AST, albumin/globulin ve kortikosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmedi.

5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplar birbirleriyle kıyaslandığında ise:

- 16 saat stres uygulanan grupta ürik asit ve ALT düzeylerinde 5 saat stres uygulanan gruba göre anlamlı bir yükselme saptandı.

- Glukoz, üre, AST, total protein, albumin, globulin ve albumin/globulin oranında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlemlenmedi.

Tartışma

Sıçanlara immobilizasyon uygulanarak stres oluşturulması onların çeşitli biyokimyasal parametrelerinde değişikliklerle sonuçlandı. Çeşitli stres türlerinin organizma üzerine etkisini araştıran pek çok çalışma olmasına rağmen immobilizasyon stresinin biyokimyasal parametreler üzerine etkisiyle ilgili bir çalışmaya rastlanmadı.

Akut streste öncelikle adrenal medulla hormonu olan adrenalin'in etkileri görülürken olay kronikleştikçe adrenal kortekse ait hormonların (özellikle glukokortikoidlerin) etkileri bariz olarak görülür. Çalışmamızda uygulanan 30 gün süreli immobilizasyon stresi kronik bir strestir. Kronik stres durumunda kan kortizol düzeyinin yanısıra GH, glukagon, katekolaminler, ACTH gibi hormonların düzeyinde artış olur^{7-9,12}. Bütün bu hormonlar glikoneogenezi artırarak kan glukoz düzeyini yükseltirler¹⁵. Kan glukoz düzeyinin artmasına neden olan diğer faktör de stres durumunda gelişen insülin direncidir¹⁰. Oysa çalışmamızda günde 5 saat stres uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı hipoglisemi saptanmıştır. Bizim bu bulgumuzu destekleyen bir çalışma Deerwater ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar omurilik zedelenmesi sonucu felç olan kişilerde kan glukoz düzeyinin sağlıklı kişilere göre daha düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır¹⁴. Felçli kişiler de zorunlu olarak hareketsiz kalmaktadır ve bu durum çalışmamızda sıçanlara uygulanan immobilizasyon stresiyle benzer şiddette stres yaratan bir durum olarak kabul edilebilir. Dolayısıyla bu hastalarda ve çalışmamızda stres uygulanan sıçanlarda gözlenen hipoglisemiden benzer mekanizmalar sorumlu olabilir. Yine sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada kısıtlama ve hareketsizlik stresinin beyin bazı bölgelerinde serotonin düzeyinde artışa yol açtığı saptanmıştır¹⁶⁻¹⁹ ve beyinde serotonin düzeyinde artış olması iştah duygusunun baskılanmasına

neden olur²⁰. Çalışmamızda saptanan hipoglisemi bulgusundan bu mekanizma sorumlu olabilir. Aynı şekilde total protein, albumin ve globulin düzeylerinde anlamlı azalmaların saptanması da bu görüşü destekler gibi görünmektedir. Stres durumunda protein katabolizmasının artması da bu sonucun gelişmesine katkıda bulunmuş olabilir^{11,12}.

Ürik asit düzeyleri her iki stres grubunda da kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuca muhtemelen ürik asit ekskresyonundaki artış neden olmuştur¹⁵.

Protein katabolizmasındaki artışla birlikte kan üre seviyesinde artma beklenmesine karşın çalışmamızda stres gruplarının üre düzeylerinde açıklayamadığımız bir nedenden dolayı azalma bulunmuştur. Açıklayamadığımız bir diğer bulgu da günde 5 saat stres uygulanan grupta saptanan transaminazların aktivitelerindeki düşüklüktür. Çünkü glukokortikoidlerin beklenen etkisi transaminasyon reaksiyonlarının artışı yönündedir. Fakat günde 16 saat stres uygulanan grubun AST ve ALT düzeylerinin ve bunların yanısıra glukoz düzeyinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı görüldü. Bu bulgumuz günde 16 saat stres uygulanan sıçanlarda strese karşı bir adaptasyon olduğu şeklinde yorumlandı. Bulgu ve görüşümüzü destekleyen bu çalışma Armario ve Castellanos tarafından yapılmıştır²¹. Bu çalışmada immobilizasyon stresi sonucunda sıçanlarda oluşan kortikosteron cevabının uyarının devam etmesiyle beraber azaldığı saptanmıştır. Bu uzun süren stres yaratan durumlara karşı azalmış kortiko adrenal cevabın nedenleri stres durumuna karşı gelişen davranışsal adaptasyon ya da kortikosteron'un hipotalamus -hipofiz- adrenal eksen üzerine feed-back etkisinden dolayı olduğu ileri sürülmüştür.

Gözönünde bulundurulması gereken diğer bir husus da aldosterondur^{1,11}. Bir stres hormonu sayılan aldosteron artışı hemodilüsyona yol açabilir ve buna bağlı olarak stres gruplarımızda yukarıda bahsedilen bazı parametrelerde saptanan azalmaya neden olmuş olabilir.

Araş. Gör. Sibel TAŞ
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji ABD
Tel: 442 82 00 / 21067
16059 Görükle / BURSA

Kaynaklar

1. Mills FJ, Chir B: The endocrinology of stress. British AME Symposium Aviation Space and Environmental Medicine, 1985.
2. Paul MI, Kwetnansky R, Cramer H, Silbergeld S: Immobilization stress induced changes in adrenocortical and medullary cyclic AMP content in the rat. Endocrinology 88(2):338-344, 1971.
3. Sapolsky R, Meaney MJ: Stress down-regulates corticosterone receptors in a site specific manner in the brain. Endocrinology 114:278-292, 1984.

4. Young AE, Susana A, Dalman H: Decreased sensitivity to glucocorticoid fast feed-back in chronically stressed rats. *Neuroendocrinology* 51:536-542, 1990.
5. Dimsdale JE, Moss J: Plasma catecholamines in stress and exercise. *J Amer Med Ass* 243:340-342, 1980.
6. Torneillas A, Guaza C, Bornei I: Adrenal hormones and brain catecholamines to morning and afternoon immobilization stress in rats. *Physiol and Behav* 26:129-133, 1981.
7. Young EA, Akill H: Corticotrophin releasing factor stimulating of ACTH and β -endorphin release effect of acute and chronic stress. *Endocrinology* 117:23-30, 1985.
8. Myabos S, Ascot H, Mizashima N: Prolactin and growth hormone responses to psychological stress in normal and neurotic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 44:947-951, 1977.
9. Stone EA, Carty R: Adaptation to stress. Tyrosine hydroxylase activity and catecholamine release. *Neuro Sci Bio Behav Rev* 729-734, 1983.
10. Brandi LS, Santano D, Natali A, Thomson A, Baldi S: Insuline resistance of stress and mechanisms. *Clin Sci* 85(5):525-535, 1993.
11. Guyton AC: *Tıbbi Fizyoloji*. 7. Baskı. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1986, 1312-1331.
12. Litwack G: *Biochemistry of Hormones II: Steroid hormones*. In: *Textbook of Biochemistry with clinical correlations* (ed. Devlin TM). Second publ. Willey-Liss Pub. New York, 1992, 901-925.
13. Nemeth S, Viscupic E, Kwetnansky R, Kolena J: Effect of epinephrine infusions imitating plasma epinephrine levels in immobilization stress and of fasting on the activity of key enzymes of liver glycogen metabolism. *Physiol Bohe Moslov* 36(6):487-493, 1987.
14. Deerwater SR, La Porte RE, Robertson RJ, Brenes G, Adams L: Activity in the spinal cord injured patient and epidemiologic analysis of metabolic parameters. *Med Sci Sports Exerc* 18(5):541-544, 1986.
15. Liddle GR, Melmon KL: The adrenals. In: *Textbook of endocrinology* (ed. Williams RH). Fifth ed. WB Saunders Co. Philadelphia, 1974, 233-283.
16. Roth KA, Mefforol IM, Barchas JD: Epinephrine, norepinephrine, dopamine and serotonin differential effects of acute and chronic stress on regional brain amines. *Brain Res* 239:417-424, 1982.
17. Culman J, Kiss A, Kwetnansky R: Serotonin and tryptophan hydroxylase in isolated hypothalamic and brain stem nuclei of rats exposed to acute and repeated immobilization stress. *Exp Clin Endocrinol*, 63:28-36, 1984.
18. Kennet GA, Dickinson SL, Curzon G: Enhancement of some 5-HT dependent behavioural responses following repeated immobilization in rats. *Brain Res*, 330:253-263, 1988.
19. Adell A, Garcia C, Armario A, Gelgi E: Chronic stress increases serotonin and noradrenaline in rat brain and sensitizes their responses to a further acute stress. *J Neurochem* 50(6):1678-1681, 1988.
20. Blundell JE: Serotonin and appetite. *Neuropharmacology* 23:1537-1551, 1984.
21. Armario A, Castellanos JM: A comparison of corticoadrenal and gonadal responses to acute immobilization stress in rats and mice. *Physiology and Behavior* 32:517-519, 1984.