

# Adrenokromun Mide Asit Salgısına Etkisi

Gülşen ÖNER  
Nimet İZGÜT

THE EFFECT OF ADRENOCROME  
ON GASTRIC ACID SECRETION IN THE FROG

Akdeniz üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, ANTALYA

Geliş Tarihi: 2 Eylül 1987

## ÖZET

*Epinefrinin bir oksidasyon ürünü olan Adrenokromun. asit salgısına etkisini incelemek amacı ile kurbağa gastrik mukozası izole edildi.*

*28 adet kurbağa gastrik mukozasında yapılan çalışmada, bazal asit cevabı,  $11.573 \pm 0.19$  pEq/cm<sup>2</sup>/saat olarak saptandı. Histamine bağlı asit stimülasyonu verapamil ilavesi ile kısmen inhibe oldu. Adrenokrom ile bazal ve şümule mide asit salgısı önemli azalış göstererek sırası ile,  $0.093 \pm 0.031$  ve  $0.156 \pm 0.048$  pEq/cm<sup>2</sup>/saat'e indi ve bu azalış verapamil ilavesi ile tersine çevrilererek asit cevabı  $1.023 \pm 0.10$  pEq/cm<sup>2</sup>/saat'e ulaştı.*

*Bu sonuçlar, mide asit salgısının düzenlenmesinde Adrenokromun rolü olabileceğini düşündürdü.*

Anahtar kelimeden Adrenokrom, gastrik asit salgısı, verapamil

## SUMMARY

*In order to investigate the effect of Adrenochrome—an oxidation product of Epinephrine—on gastric acid secretion, gastric mucosa was isolated from 28 frog according to the method of Ruiz and Mechelangeli.*

*In the basal conditions, acid output was found to be  $0.573 \pm 0.19$  pEq/cm<sup>2</sup>/hr in in-vitro isolated gastric mucosa. Histamine induced acid secretion was partially inhibited by the addition of  $10^{-6}$  M of calcium channel blocker. The basal and stimulated acid secretion significantly decline to  $0.093 \pm 0.031$  and  $0.156 \pm 0.048$  pEq/cm<sup>2</sup>/hr ( $p < 0.001$ ).*

*Respectively with the application of Adrenochrome into the serosal surface of the isolated mucosa. This inhibition reversed significantly with the addition of Adrenochrome and Verapamil together and acid secretion reached to  $1.023 \pm 0.10$  pEq/cm<sup>2</sup>/hr. This results suggested us that Adrenochrome may play a role in the regulation of acid secretion.*

Key words: Adrenochrome, gastric acid secretion, verapamil

T Kİ Tıp Bil Aras Dergisi C.6, S.3, 1988, 225-229

T J Research Mod Sci V.6, N.3, 1988.225-229

## GİRİŞ

Epinefrinin fizyolojik rolü ve organizmadaki kaynakları çok iyi bilinmesine karşın, bir oksidasyon metaboliti olan Adrenokromun etkisi yeterince incelenmemiştir.

Adrenalinin Catechol Oxydase enzimi ile oksitlenerek Adrenokroma dönüşmesi, dokuların içerdiği enzim düzeyi ile yakından ilgilidir. Kedilerde Catechol Oxydase enzim düzeylerini inceleyen Julius Axelrod (2), bu enzimin en fazla Parotid, Submaksillar glandında bulunduğunu, buna karşın kalp ve karaciğerde hiç

bulunmadığını, gastrointestinal sistem, beyin, ovarum ve testiste ise çok az olduğunu bildirmiştir.

Organizmada en yaygın transmitterlerden ikisi olan Epinefrin ve Norepinefrinin metaboliti olan Adrenokromun hücreler üzerine olumsuz etkisi kalp (4, 10, 21, 23, 24), böbrek ve karaciğer (11) hücrelerinde incelenmiş, kalpte nekroza yol açtığı ve myokard kontraktilesini azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (26). Rat kalp kası mitokondrilerinde yapılan çalışmada, Adrenokromun Ca<sup>++</sup> uptakeini önlediği ve mi-

tokondride kalsiyum birikimini azaltarak, sitozolde aşırı  $Ca^{++}$  yüklenmesine yol açtığı gösterilmiştir (8, 27).

Adrenokrom kalp kası üzerine olumsuz etkisini  $Ca^{++}$  aracılığı ile gösterdiğine göre, diğer hücrelerde de benzer şekilde olumsuz etkiler yapması doğal bir beklentidir.

Özellikle plazma adrenokrom düzeylerinin artması halinde pek çok hücrenin fonksiyonunun bozulması, tabii bir sonuç gibi görünmektedir.  $Ca^{++}$  iyonu ile çok sıkı fonksiyonel bağlantı gösteren pek çok hücre gibi, gastrik parietal hücrenin stimülasyona asit cevabının bozulması da, beklenen bu değişikliklerden birisi izlenimini vermektedir. Çünkü parietal hücrelerin hem *in vivo*, hem *in vitro* olarak kolinerjik, hormonal ve histaminerjik stimülasyona asit cevabında ekstrasellüler  $Ca^{++}$  iyonlarının rolü çok iyi (6, 7, 16, 20) incelenmiştir.

Bu çalışmalara göre, kalsiyumsuz ortamda muskarinik reseptörler aracılığı ile olan kolinerjik uyarılara parietal hücrenin asit cevabı anlamlı azalış göstermektedir (9). Gastrin ile stimüle asit cevabının ekstrasellüler kalsiyuma bağımlılığı da hem memeli, hem amfibi gastrik mukozasında rapor edilmiştir (20).  $Ca^{++}$  iyonu, parietal hücrenin verimli şekilde glukoz oksidasyonu için de gereklidir (6).

Normal asit salım için  $Ca^{++}$  iyonunun anahtar rol oynadığı oksintik hücrede Adrenokromun  $Ca^{++}$  birikimi yaparak asit salgısını değiştirebileceği çok tabii bir beklenti gibi görünmesine karşın, literatürde bunu destekleyecek herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Esasen plazmada Adrenokrom artışı ile seyreden klinikopatolojik bir vaka henüz tanımlanmamışsa da, indomethacin, sodium cyanide, catalase ve superoxide dismutasein oksitleyici enzimi inhibe ederek (8, 10). Phosphalypase A<sub>2</sub>, Arachidonic asit ve kalsiyum iyonunda enzimi aktive ederek plazma Adrenokrom düzeylerini yükseltebileceği yayınlanmıştır (10).

Lokal hormonların (5, 14, 17, 20) ve prostaglandinlerin (12, 14, 17) gastrik asit salgısına etkisi dikkate alınırsa organizmada asit salınımının düzenlenmesinde lokal olarak oluşan Adrenokromun da rol oynaması mümkün gibi görünmektedir.

Asit salgısına etkili bir ajanın klinikte gastrik ülser etyoloji ve tedavisindeki yeri düşünülerek, bu konunun incelenmesinin önemli olacağı kanısına ulaşıldı ve oluşturulan deneysel modelimizde doğrudan gastrik mukozaya Adrenokromun etkisi incelenerek, elde edilen bulguların, ilgili literatürün ışığı altında yorumu yapıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Laboratuvarlarında yapılan çalışmamızda 28 adet *Rana*

*Catesbeiana* (su kurbağası) türü kurbağa kullanıldı. Ruiz ve Michelangeli (20) yöntemine göre izole edilen kurbağa gastrik mukozasının mukozal yüzü 2 ml, pH: 7.056 olan 120 mM NaCl ile temas ederken, serozal kısmı pH'sı 7.20 olan 2 ml bileşimi, 85 mM NaCl, 4 mM KCl, 0.8 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.8 mM CaCl<sub>2</sub>, 25 mM Tris Buffer, 11 mM Glucose olan solüsyonla temas edecek şekilde yerleştirildi. İzole edilen 0.6361 cm<sup>2</sup> lik gastrik mukozanın salgıladığı HCl ile mukozal lumendeki sıvının pH'sında meydana gelen değişiklikler LD 102 Model, digital pH metre'ye takılı mikro elektrod yardımı ile ölçüldü.

Hazırlandıktan sonra gastrik mukoza preparatının dengeye ulaşması için, ortalama bir saat beklendi. Daha sonra bazal asit salgısı mukozal sıvıdaki pH değişikliğinden yararlanılarak hesaplandı. Çalışmanın kontrol kısmında 14 izole gastrik mukozanın bazal asit salgısının ölçülmesini takiben 10<sup>-5</sup> M Verapamil'in serozal sıvıya ilavesi ile bazal asit cevabındaki değişiklikler saptandı. Yıkama ile Verapamilin uzaklaştırılmasını takiben, serozal tarafa 10<sup>-4</sup> M Histamin ilave edilerek bir saat süre ile histaminle stimüle asit cevabı elde edildi. Histaminin ortamdaki uzaklaştırıldığına tekrar bazal asit cevabı elde edilerek karar verildikten sonra 10<sup>-5</sup> M Verapamilin serozal yüzey sıvısı ile hazırlanmış çözeltisinden ilave edilip, aynı doz histaminle stimülasyona cevaptaki inhibisyon ölçüldü. Böylece kalsiyum kanal blokörü olan Verapamilin histaminle stimüle asit salgısını azaltıcı etkisi tespit edildikten ve preparatımızın 7 saat sonra bile canlı kaldığı kanıtlandıktan sonra, tekrar bazal asit cevapları elde edilinceye kadar yıkamaya devam edildi ve deneye son verildi.

Diğer 14 kurbağanın gastrik mukozası ise Adrenokromun, asit salgısına etkisi olup olmadığını incelemek amacı ile kullanıldı.

Bazal asit salgısı ölçüldükten sonra, serozal yüzey sıvısı içinde 5.6 x 10<sup>-4</sup> M olacak şekilde dilüe edilen Adrenokrom (Sigma Cat. A 5752) serozal sıvıya ilave edilerek bir saat süre ile bazal asit salgısındaki değişiklikler incelendi. Adrenokrom ve Histaminin ortama birlikte ilavesi ile histaminle stimüle asit cevabına Adrenokromun etkisi gözlemlendi. Adrenokromun, asit salgısı üzerine etkisinde kalsiyum iyonlarının rolü olup olmadığını saptamak amacıyla 5.6 x 10<sup>-4</sup> M Adrenokrom ve 10<sup>-5</sup> Verapamil serozal sıvıya birlikte eklendi. Serozal yüzey defalarca yıkanarak Verapamil ve Adrenokrom uzaklaştırıldıktan sonra, bazal asit salgısı yeniden elde edildi ve deneye son verildi.

Sonuçlar pH+ —log[H<sup>+</sup>] olduğu dikkate alınarak cm<sup>2</sup> gastrik mukozadan saatte salgılanan hidrojen iyon miktarı olarak hesaplandı ve istatistiksel değerlendirilmede student "t" testinden yararlanıldı.



## TARTIŞMA

Deneyin başlangıç ve bitişinde ölçülen bazal asit cevapları arasındaki farkın önemli olmayışı, çalışmamızda invitro deney süresi olan, ortalama 7 saatlik zaman zarfında kurbağa gastrik mukozasının canlı olup, fizyolojik stimülöslere beklenen cevabı verdiğini göstermektedir.

İzole kurbağa gastrik mukozasından elde ettiğimiz bazal asit cevapları, aynı yöntemi kullanarak kurbağada çalışan Chacin ve ark. (6)'nm sonuçları ve kobayda çalışan Rutten ve ark. (21) bulguları ile tam uyum içindedir. İzole gastrik mukozanın histamin ile stimülasyonuna gözlediğimiz 10 misli cevap artışının Ruiz ve Michelangeli'nin (20) ve Starlinger ve ark. (24) bulguları ile benzer oluşu aynı deney hayvanını ve histamin dozunu kullanmamızdan ileri gelmektedir.

Bazal asit cevabının ortama ilave edilen verapamil ile inhibe olması, Sewing ve Hannemann (22)'in izole kobay midesinden, Koç ve ark. (13)'m invivo koşullarda, rattan elde ettikleri sonuçlarla tam uyum sağlamıştır. Parietal hücreden kolinerjik ve gastrin ile stimüle asit salgısı ekstrasellüler kalsiyuma bağımlı iken histamin ile stimüle asit salgısının dış ortamdaki kalsiyuma bağımlılığı memeli ve amfibi parietal hücrelerinde farklılık göstermektedir (16, 20). Bizim çalışmamızda ortama  $10^{-5}$  M Verapamil ve  $10^{-4}$  M histaminin birlikte ilavesi ile stimüle asit cevabı anlamlı olarak inhibe olmuşsa da, tamamen bazal değerleri dönülmemiştir. Bu inhibisyon eksikliği amfibi parietal hücrelerinin histamine cevaplılığının ekstrasellüler kalsiyuma kısmen bağımlı olmasından ileri gelmektedir (16, 20). Kurbağa parietal hücrelerinde histamine bağılı asit cevabının dış ortam kalsiyumundan kısmen etkilenmesi, bizim verapamilli ortamda histamine az, fakat hâlâ önemli asit cevabı alışımını açıklamaktadır. Çalışmamızda kullanılan Adrenokrom dozu Takeo ve ark. (26) ve ile Hems ve Rodrigues'in (11) çalışmalarında kullanılanlara eş olup, kalp kasma toksik etkisi kanıtlanmıştır.

Adrenokromun oksintik hücrenin hem bazal, hem stimüle asit cevabını anlamlı şekilde inhibe etmesi oldukça orijinal bir bulgudur.

Adrenokrom gastrik asit salgısı üzerindeki inhibisyonu, doğrudan parietal hücreye etki ederek yapabileceği gibi, dolaylı olarak prostaglandin benzeri inhibitör maddelerin (17) açığa çıkmasını sağlayarak veya her iki etkiyi birlikte göstererek de yapabilir. Adrenokromun komşu hücrelerden prostaglandin yapımını hızlandırarak dolaylı yoldan asit salgısını inhibe edebileceği görüşü, hücre içi kalsiyumunda aşırı artış yapan her etkenin prostaglandin biyosentezini hızlandırdığı bulgusu ile desteklenmektedir (3).

Sitotoksik ajanların nonfizyolojik porlar aracılığı ile sebep olduğu kalsiyum artışı ile arachidonic asit

yapımının hızlanması (25) hücre içi kalsiyumu ile prostaglandin biyosentezi arasındaki yakını ilişkiyi teyid etmektedir.

Adrenokromun mitokondriyel kalsiyumu serbestleştirerek veya mitokondrinin kalsiyum bağlamasını engelleyerek hücre içi kalsiyumunu artırdığı dikkate alınırsa (8, 26) artmış kalsiyumun sebep olduğu fosfolipaz A<sub>2</sub> aktivasyonunun prostaglandin biyosentezini hızlandırması çok doğal bir beklentidir (3, 18, 19). Esasen Adrenokromun etkisini bloke eden sulfinpyrazonun bu özelliği prostaglandin biyosentez inhibisyonuna bağlanmaktadır (1). Bir başka ifade ile Adrenokrom ile prostaglandin biyosentezi arasındaki yakını ilişki daha önce de dikkati çekmiş bir bulgudur. Bu bilgilere istinaden çalışmamızda Adrenokromun prostaglandin sentezini artırarak dolaylı yoldan asit cevabını azaltabileceği düşünülmüştür.

Hücre içi kalsiyum artışı ile asit salgısı arasındaki pozitif ilişki dikkate alındığında (16), Adrenokromun parietal hücreye doğrudan etkisine asit salgısının artışı şeklinde bir cevap gözlenmelidir. Çalışmamızda elde edilmesi gereken bu cevabın prostaglandinlerin inhibitör etkisi ile maskelendiği düşünülmektedir.

Adrenokrom ile Verapamilin birlikte verilmesine neden, artmış salgı cevabı elde edildiğine tam olarak açıklama imkânına sahip değiliz. Ancak Verapamil ile Adrenokromun birlikte verilmesine cevaben asit salgısının anlamlı artışı bu maskelenmenin ortadan kalkmış olması ile açıklanabilir kanısındayız.

Son yıllarda değişen bilgilerimiz dikkate alınacak olursa, Prostaglandin biyosentezinin kalsiyuma bağımlı olarak artabilmesi için, hücre içi kalsiyum mobilizasyon mekanizmasının sağlam olması gerekmektedir (25). Hücre içi kalsiyum mobilizatörü Inozital trifosfat oluşumu için tetiği çeken mekanizma membrandaki Protein Kinaz C'nin aktivasyonudur. Protein Kinaz C'nin, membran kalsiyum kanallarının açılarak transmembran kalsiyum miktarının artması ve Phosphadityl serin mevcudiyetinde aktive olduğu dikkate alınırsa (15, 19) neden Adrenokromun hücre kalsiyumunu artırmasına karşın, Verapamil ile kanalların kapalı tutulmasına bağılı prostaglandin yapılamayışı kolayca açıklanabilecektir. Prostaglandinlerin olmadığı ortamda parietal hücrenin Adrenokroma doğrudan etkisinin ön plana çıkışı artmış asit cevabının sorumlu olarak düşünülmektedir.

Şüphesiz bu görüşün, prostaglandin sentezi önlenmiş gastrik mukozal preparatlarında incelenerek teyid edilmesi gerekmektedir ve bu amaçla çalışmalarımıza devam edilmektedir. Ancak sonuç olarak diyebiliriz ki, tabii bir metabolit olan Adrenokrom güçlü asit inhibitörüdür ve bu etkinin asit salgı regülasyonundaki önemi araştırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Ali M, JWD Donald: Effects of sulfinpyrazone on platelet prostaglandin synthesis and platelet release of serotonin. *J.Lab.Clin.Med.* 89(4):868-875, 1977.
2. Axelrod J: Enzymic oxidation of epinephrine to adrenochrome by the salivary gland. *Biochim.Biophys. Acta.* 85:247-254, 1964.
3. Ballo LR, WY Cheung: Human platelet phospholipase A<sub>2</sub>, an enigma. *Adv.Inflam.Res.* 10:37-51, 1986. Russo-Marie F, J Mencia-Huerta, M Chiggard (eds.), Raven Press, New York.
4. Beamish RE, KS Dhillon, PK Singal, NS Dhalla: Protective effect of sulfinpyrazone against catecholamine metabolite adrenochrome induced arrhythmias. *American Heart Journal* 102(2):149-152, 1981.
5. Berglinth T, G Sachs: Emerging strategies in ulcer therapy. *Pumps and Receptors. Scand.J.Gastroenterol.* 20 (Suppl. 108):7-14, 1985.
6. Chacin J, P Cardena, P Lobo, O Subero: Role of calcium in secretory and metabolic effects of substrates in the gastric mucosa. *Am.J.Physiol.* 251 (Gastrointestinal Liver Physiol. 14):161-168, 1986.
7. Donowitz M: Ca<sup>2+</sup> in the control of active intestinal Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> transport: Involvement in neurohumoral action. *Am.J.Physiol.* 245 (Gastrointest.Liver Physiol. 8):G 165-177, 1983.
8. Georgounteos A, C Ventura, C Guarnieri: Stimulation by doxorubicin of adrenochrome formation by bovine heart sarcolemma. *Biochemical Pharmacology* 33(22):3707-3709, 1984.
9. Gilbert JR, WJ Doods: Effect of selective muscarinic antagonists on peristaltic contractions in opussum smooth muscle. *Am.J.Physiol.* 250 (Gastrointest.Liver Physiol. 13):G 50-59, 1986.
10. Guarnieri C, C Ventura, A Georgountzos, C Muscari, R Budini: Involvement of superoxide radicals on adrenochrome formation stimulated by arachidonic acid in bovine heart sarcolemmal vesicles. *Biochemica et Biophysica Acta.* 838:355-360, 1985.
11. Hems DA, LM Rodrigues: Inhibition of kidney cortex gluconeogenesis by adrenochrome and indole 2-carboxylic acid. *Biochemical Pharmacology* 25:2285-2289, 1976.
12. Johansson C, A Aly, R Befrits, B Smedfords, A Uribe: Protection of the gastroduodenal mucosa by prostaglandins. *Scand.J.Gastroenterol.* 20(Suppl. 11):41-48, 1985.
13. Koç M, A Özenç, G Oner, E Hersek: Verapamilin mide asit sekresyonuna etkisi. *T.Kli.Tıp Bil.Araşt.Dergisi* 3(2):156-158, 1985.
14. Konturek JS: Gastric cytoprotection. *Scand.J.Gastroenterol.* 20:543-553, 1985.
15. Kuo JF, RS Turner: Phospholipid/Ca<sup>2+</sup> dependent protein kinase (Protein Kinase C) as effector and modulator for membrane signals (an overview). *Adv. Inflam.Res.* 10:63-71, 1985. F Russo-Marie, JM Mencia-Huerta, M Chignard (eds.). Raven Press, New York.
16. Logsdon CD, TF Machen: Involvement of extracellular calcium in gastric stimulation. *Am.J.Physiol.* 241 (Gastrointest.Liver Physiol. 4):365-375, 1981.
17. Nylander O, T Berglinth, KJ Obrink: Prostaglandin interaction with histamine release parietal cell activity in isolated gastric glands. *Am.J.Physiol.* (Gastrointest.Liver Physiol. 13):G 607-616, 1986.
18. Prentki M, CB Wollheim, PD Lew: Intracellular calcium transport in human neutrophils and the action of Inositol 14 Striposphate. *Adv.Inflam.Res.* 10:237-239, 1986. F Russo-Marie, JM Mencia-Huerta, M Chignard (eds.). Raven Press, New York.
19. Putney JVV Jr: Formation and actions of calcium mobilizing messenger, inositol I, 4,5-triphosphate. *Am J. Physiol.* 252 (Gastrointest.Liver Physiol. 15):G 149-157, 1987.
20. Ruiz MC, F Michelangeli: Stimulation of oxyntic and histaminergic cells in gastric mucosa by gastrin C-terminal tetrapeptide. *Am.J.Physiol.* 251 (Gastrointest. Liver Physiol. 14):G 529-537, 1986.
21. Rutten MJ, S Ito: Structural and functional changes by ethanol invitro guinea pig gastric mucosa. *Am.J.Physiol.* 251 (Gastrointest.Liver Physiol. 14):G 518-528, 1986.
22. Sewing KF, H Hannemann: Calcium channel antagonists verapamil and gallopamil are powerful inhibitors of acid secretion in isolated and enriched guinea pig parietal cells. *Pharmacology* 27:9-14, 1983.
23. Singal PK, JC Yates, RE Beamish, NS Dhalla: Influence of reducing agents on adrenochrome induced changes in the heart. *Arch.Pathol.Lab.Med.* 105:664-669, 1981.
24. Starlinger MJ, MJ Hollands, PH Rowe, JB Mathews, W Silen: Chloride transport of frog gastric fundus: Effects of omeprazole. *Am.J.Physiol.* 250 (Gastrointest. Liver Physiol. 13):G 118-126, 1986.
25. Suttorp N, W Seeger, J Zucker, RF Lutz, S Bhakdi: Stimulation of leukotriene B<sub>4</sub> and prostacyclin formation in granulocytes and cultured endothelial cells by channel forming bacterial toxins. New aspect of stimulus response coupling. *Adv.Inflam.Res.* 10:333-335, 1985. F Russo-Marie, JM Mencia Huarte, M Chignard (eds.), Raven Press, New York.
26. Takeo S, GML Taam, RE Beamish, NS Dhalla: Effect of adrenochrome on calcium accumulation by heart mitochondria. *Biochemical Pharmacology* 30:157-163, 1981.
27. Yates JC, ML Taam, PK Singal, RE Beamich, NS Dhalla: Modification of adrenochrome-induced cardiac contractile failure and cell damage by changes in cation concentrations. *Lab.Invest.* 43(4):316-326, 1980.