

## Kronik İmmobilizasyon Stresi Uygulanan Sıçanlarda Hematolojik Değişiklikler

Behzat Noyan\*, Kasım Özlük\*\*, Sibel Taş\*, Nevzat Kahveci\*

**ÖZET.** Çalışmamızda 30 gün süre ile günde 5 saat ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan sıçanların hematolojik parametreleri incelendi. Bu amaçla eritrosit sayısı, Hgb, Hct, MCV, MCH, lökosit sayısı ve trombosit sayısı ile lökosit formülü tayinleri yapıldı. Ayrıca sıçanların kortikosteron seviyeleri de tayin edildi.

Hem 5 saat hem de 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupların kortikosteron düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı seviyede artışlar görüldü. 5 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta kontrol grubuna göre eritrosit sayısı, Hgb, Hct, lökosit sayısı, monosit, lenfosit ve eozinofil sayısında anlamlı değişimler görüldü. Bu gruptaki sıçanların MCV, MCH, trombosit sayısı, nötrofil ve bazofil sayısındaki değişimler anlamlı bulunmadı. 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta kontrol grubuna göre eritrosit, nötrofil, monosit, bazofil ve lenfosit sayıları anlamlı bir şekilde değişirken, Hgb, Hct, MCV, MCH, trombosit, lökosit ve eozinofil sayısında anlamlı değişimler görülmedi.

**Anahtar Kelimeler .İmmobilizasyon Stresi .Hematolojik Parametreler.**

### Hematological Changes in the Chronic Immobilization Stressed Rats

**SUMMARY.** In this study the hematological parameters of the rats have been investigated, after chronic immobilization stress which have been lasted for 5 hours for the first group and 16 hours for the second one per day along 30 days. RBC, Hgb, Hct, MCV, MCH, WBC, platelet and percentage of leukocytes subtypes were determined. The corticosterone levels of rats have been also measured.

The corticosterone levels of rats indicated significant increases in both of 5 and 16 hours immobilization stressed groups. RBC, Hgb, Hct, WBC, monocyte, lymphocyte, eosinophyl numbers indicated significant increases at the 5 hours immobilization stressed group as comparing to control group. MCV, MCH, platelet, neutrophyl, basophyl changes of this group weren't significant. While RBC, neutrophyl, monocyte, basophyl, lymphocyte numbers indicating significant changes after 16 hours immobilization stress, Hgb, Hct, MCV, MCH, platelet, leukocyte and eosinophyl numbers didn't change significantly.

**Key Words .Immobilization Stress .Hematological Parameters.**

Organizmanın maruz kaldığı birçok stres türleri, hipotalamusun uyarılması ile vücudun defans mekanizmalarını faaliyete geçirir<sup>1</sup>. Kalp hızında, kalp debisinde ve kan basıncında artış ile karakterize olan değişimler ortaya çıkar. İskelet kasında vazodilatasyon görülürken, diğer damar yataklarında vazokonstriksiyon oluşur. Aynı zamanda nörojenik ve humoral değişimler ortaya çıkar<sup>1,2</sup>. Christina ve arkadaşları<sup>3</sup> yaptıkları çalışmada mental stresin periferik kan hücreleri,

hemoglobin ve hematokrit üzerine etkili olduğunu göstermişlerdir. Stresin, özellikle mental stresin kardiyovasküler sistem üzerinde etkili bir risk faktörü oluşturduğu bilinmektedir. Bu alanda çoğu deneysel çalışmalar hemodinamik ve hormonal faktörler üzerinedir. Ayrıca stresin koagülasyon, fibrinolizis ve trombosit aktivitesi üzerine etkisi olduğunu gösteren çalışmalar da vardır<sup>3,6</sup>.

Yapılan çalışmaların çoğunda egzersizin ve mental stresin hematolojik parametreler üzerine etkisi araştırılmıştır. Bizim bu çalışmamızda ise kronik immobilizasyon stresinin hematolojik parametreler üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

\* Araş. Gör.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Fizyoloji ABD

\*\* Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Fizyoloji ABD

Geliş Tarihi: 16.2.1994

Kabul Tarihi: 13.10.1994

## Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan Wistar albino erişkin erkek sıçanlar kullanıldı. Standart sıçan diyeti ile beslenen hayvanların deney süresince serbestçe su ve gıda alabilmeleri için gerekli ortam sağlandı.

Deney, her biri 10 sıçan olmak üzere üç gruba ayrıldı.

**Kontrol Grubu:** Stres uygulanmayan ve 30 gün boyunca deney grupları ile aynı diyetle beslenen grup.

### Deney Grubu:

- 30 gün süresince hergün 5 saat immobilizasyon stresi uygulanan grup.

- 30 gün süresince hergün 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grup.

İmmobilizasyon stresi uygulamak için sıçanlar hareket edemeyecekleri derecede, ancak beslenmelerine imkan verecek şekilde örgülü bir telle sıkıca sarılıp bağlandılar. Hergün stres süreleri bitiminde hayvanlar stres kafeslerinden çıkarılarak serbest bırakıldılar.

30 günlük süreler sonunda sodyum tiopental (Sodyum Pentotal-Abbott) anestezisi altında (50 mg/kg) sıçanların kalplerinden ponksiyonla antikoagülanlı kan örnekleri alındı. Sysmex NE 8000 Cell-Counter kullanılarak Eritrosit, Lökosit, Trombosit sayımları ve Hemogloblin (Hgb), Hematokrit (Hct), Tek Eritrosit Ortalama Hacmi (MCV), Tek Eritrosit Ortalama Hemogloblin Değeri (MCH), Lökosit Formülü tayinleri yapıldı. Klasik yöntemlerle testler tekrarlanarak sonuçların doğruluğu kontrol edildi. Ayrıca sıçan kortikosteron kiti (Rat-Corticosterone, DPC) kullanılarak radioimmunoassay yöntemiyle sıçanların Kortikosteron düzeyleri de ölçüldü.

## Bulgular

Kontrol grubu, 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait hematolojik parametreler Tablo 1'de her grubun ortalaması olarak gösterilmiştir.

Sıçanların kortikosteron düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış görüldü (Şekil-1).

Eritrosit sayısında kontrol grubuna göre 5 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta anlamlı derecede bir artış, 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta anlamlı derecede bir azalma görüldü (Şekil-2). Hemoglobin ve hematokrit değerlerinde 5 saatlik grupta anlamlı bir artış varken, 16 saatlik grupta ise anlamlı bir değişim görülmedi (Şekil-2, Şekil-3). Tek eritrosit ortalama hacminde her iki deney grubunda da anlamlı bir değişim görülmedi. Tek eritrosit ortalama hemogloblin miktarında yalnız 16 saatlik grupta anlamlı bir artış görüldü (Şekil-4).

Lökosit sayısında 5 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta anlamlı bir artış, 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan grupta anlamsız bir azalma görüldü (Şekil-3). Bu grupların lökosit formülü değerlendirildiğinde ise her iki grupta da lenfosit sayısında anlamlı bir artış ve monosit sayısında da anlamlı bir azalma görüldü. Diğer yandan nötrofillerde ise 16 saatlik grupta anlamlı değişim gözlemlendi. 5 saatlik grupta ise anlamlı bir değişim gözlemlenmedi. Eozinofillerde 5 saatlik stres sonucu anlamlı bir artış varken, 16 saatlik grupta anlamlı değişim yoktu. Yine 5 saatlik grupta bazofillerde anlamlı bir değişim yoktu. 16 saatlik grupta ise anlamlı derecede azalma görüldü (Şekil-3).

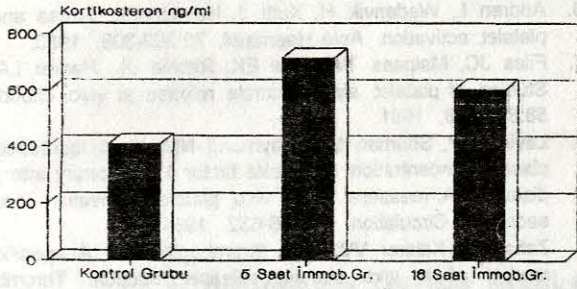
Trombosit sayısında gruplarda görülen farklar anlamlı değildi (Şekil-2).

**Tablo 1-** Kontrol grubu ve 30 gün süresince günde 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait sıçanların hematolojik parametrelerinin ortalamaları (n = 10)

Hematolojik Parametreler	Kontrol Grubu	5 Saat Immobilizasyon Grubu		16 Saat Immobilizasyon Grubu	
	x ± SD	x ± SD	% Fark	x ± SD	% Fark
Kortikosteron ng/ml	407 ± 159	713 ± 246	75.1***	603 ± 228	48.1**
Er. Say. x1000 mm <sup>3</sup>	7979 ± 419	8502 ± 500	6.5**	7416 ± 688	7.8**
Hemoglobin gr/dl	14.06 ± 1.1	15.7 ± 0.7	11.6****	14.06 ± 1	
Hematokrit %	45.98 ± 3.1	49.2 ± 2.2	7***	44.24 ± 3.4	3.8*
MCV fl	57.82 ± 3.3	57.93 ± 1.8	0.1*	60.4 ± 2.3	4.4*
MCH pg	17.58 ± 1.2	18.49 ± 0.6	5.1*	19.3 ± 1.0	9.7****
Lök. Say. mm <sup>3</sup>	3352 ± 958	4537 ± 714	35.5**	2840 ± 445	15.3*
Nötrofil %	20.12 ± 4.8	19.3 ± 3.9	4.1*	15.6 ± 2.9	22.5**
Eozinofil %	3.49 ± 0.8	4.92 ± 1.6	40.9**	3.3 ± 0.9	5.5*
Bazofil %	0.33 ± 0.2	0.18 ± 0.2	45.5*	0.03 ± 0.01	91****
Monosit %	17.26 ± 2.3	2.47 ± 0.6	85.7****	2.9 ± 0.8	83.2****
Lenfosit %	58.76 ± 7.9	73.36 ± 4.4	24.8****	76 ± 5.5	29.3****
Trom. Say. x 100 mm <sup>3</sup>	8004 ± 129	9395 ± 188	17.3*	7332 ± 147	8.4*

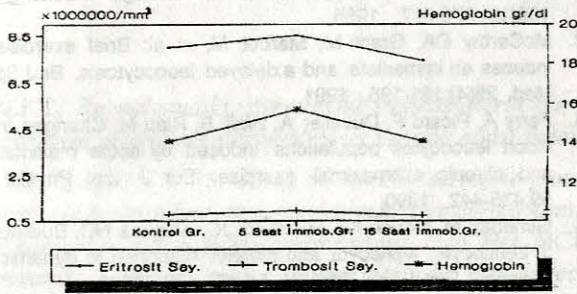
\* P > 0.05, \*\* P < 0.05, \*\*\* P < 0.002, \*\*\*\* P < 0.005, \*\*\*\*\* P < 0.001

% Farklar Kontrol Grubuna Göredir.



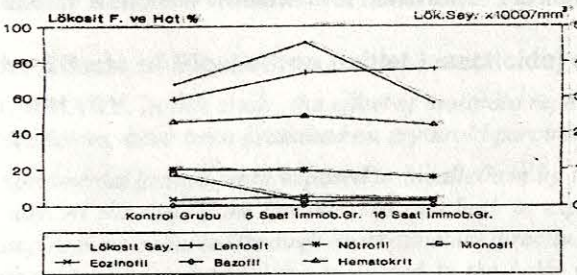
Şekil: 1

Kontrol grubu ve 30 gün süresince 5 ve 16 immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait sıçanların kortikosteron düzeyleri



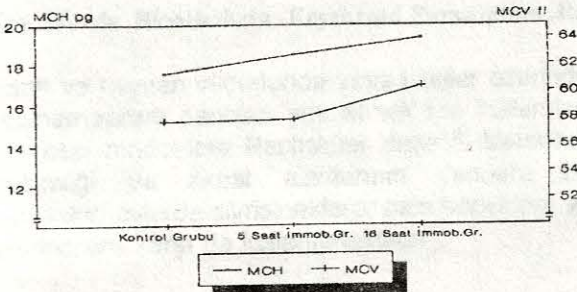
Şekil: 2

Kontrol grubu ve 30 gün süresince günde 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait sıçanların eritrosit, hemoglobin ve trombosit düzeyleri



Şekil: 3

Kontrol grubu ve 30 gün süresince günde 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait sıçanların formül lökosit, lökosit sayısı ve hematokrit düzeyleri



Şekil: 4

Kontrol grubu ve 30 gün süresince günde 5 ve 16 saat immobilizasyon stresi uygulanan gruplara ait sıçanların MCH ve MCV düzeyleri

Bu çalışma kronik immobilizasyon stresinin kan parametreleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla planlandı. Tarayabildiğimiz literatürlerde direkt bu konuda yapılmış çalışmalara rastlanılmadı. Değişik stres türlerinin etkilerini inceleyen araştırmacılar, organizmanın her strese farklı cevap verdiğini görmüşlerdir. Bu arada sempato-adrenerjik sistemin aktivasyonu ile katekolamin seviyesindeki artış ve glikokortikoid sentezindeki artış, hemen her stres grubunda görülmektedir. Bizim çalışmamızda kortikosteron seviyesinde 5 saatlik immobilizasyon grubunda, kontrol grubuna göre % 75 gibi anlamlı bir artış görülürken, yine 16 saatlik immobilizasyon stresi uygulanan grupta da % 48 düzeyinde anlamlı bir artış görüldü. Kortikosteron seviyesindeki bu artışa paralel olarak eritrosit ve trombosit sayısında artış görüldü. 16 saat stres uygulanan grupta artışın daha az olması nöro-endokrin cevabın uyumu olarak düşünülmektedir.<sup>7-10</sup>

Çalışmamızda 5 saatlik stres grubunda hemoglobin ve hematokrit değerlerinde anlamlı artış görülmekteyken, 16 saatlik grupta görülmemiştir. Christina ve arkadaşları<sup>3</sup> yaptıkları çalışmada mental stres, egzersiz ve adrenalin infüzyonunun hematokritte anlamlı artışa neden olduğunu göstermişlerdir.

Witrichenco<sup>11</sup> emosyonel stresin eritrositler üzerine etkisi konulu araştırmasında, eritrosit sayısında anlamlı olmayan ama hemoglobin seviyesinde çok anlamlı bir artışın ortaya çıktığını, bu artışın stres süresi ile ilişkili olduğunu, stres-süresinin uzaması ile farkın azaldığını göstermiştir. Aynı zamanda eritrosit fonksiyonlarının da etkilendiğini bildirmiştir. Uzun süreli stres uygulamanın eritrosit sayısında artışa neden olmamasının hemodinamik düzenlemeler aracılığı ile olduğu ileri sürülmüştür.

Çalışmamızda 5 saatlik kronik immobilizasyon stresinden sonra total lökosit sayısında anlamlı bir artış görüldü. Bu artış kortikosteroid seviyesindeki artışa bağlı olarak gelişmiş olabilir. McCarty ve arkadaşları<sup>12</sup> yaptıkları akut egzersiz stresinde, gecikmiş lökositozu glikokortikoid seviyesindeki artışa bağlamışlardır. Bu bizim 5 saatlik bulgularımızla uyum göstermektedir ancak 16 saatlik stresi takiben total lökosit sayısındaki azalmanın nedeni yoruma açıktır. Lökosit tipleri incelendiğinde lenfosit sayısında hem 5 hem de 16 saatlik stres grubunda çok belirgin artış görüldü. Bu bulgularımız akut strese görülen lenfositoz bulgularına uymaktadır<sup>12-16</sup>. Monosit sayısında görülen çok belirgin azalma da diğer stres gruplarında görülen artışa uymamaktadır.

Diğer stres türleriyle yapılan çalışmalarda ve bizim çalışmamızda da stres süresinin kan parametre-

lerini önemli derecede etkilediği görülmüştür. Bu çalışmamızın en çarpıcı yanı kronik stres uygulanan gruplarda kortikosteron düzeyinin artmış olmasına karşın lenfopeni görülmemesidir. Bu konuda açıklayamadığımız hususları aydınlığa kavuşturabilmek için daha bir çok araştırma yapmaya ihtiyaç vardır.

Araş. Gör. Behzat NOYAN  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Fizyoloji ABD  
Tel: 4428200/21184  
16059 Görükle / BURSA

### Kaynaklar

1. Folkow B: Physiological aspects of primary hypertension. *Physiological Reviews*. 62:347-504, 1982.
2. Brod J: Hemodynamics and emotional stress, in Koster M, Musaph H, Visser P. (eds): *Psychosomatics in essential hypertension*. *Bibliotheca Psychiatrica*. 144:13-23, 1970.
3. Christina J, Wadenvik H, Mark H, Hallgren J, Sverker J: Haematological changes during acute mental stress. *Brit J Haematol*. 71:153-156, 1989.
4. Christina J, Eriksson E, Tengborn L, Risberg B, Wadenvik H, Sverker J: Changes of plasma coagulation and fibrinolysis in response to mental stress. *Thromb Haemost*. 62(2):767-771, 1989.
5. Kitahara Y, Imataka K, Nakaoka H, Ishibashi M, Yamaji T, Fuji J: Hematocrit increase by mental stress in hypertensive patients. *Jpn Heart J*. 29(4):429-435, 1988.
6. Andren L, Wadenvik H, Kutti J, Hansson L: Stress and platelet activation. *Acta Haematol*. 70:302-306, 1983.
7. Files JC, Malpass TW, Yee EK, Ritchie JL, Harker LA: Studies of platelet alpha granule release in vivo. *Blood*. 58:607-618, 1981.
8. Levine SP, Shuman MA, Raymond NM, et al: Increased plasma concentration of platelet factor 4 in coronary artery disease. A measure of in vivo platelet activation and secretion. *Circulation*. 64:626-632, 1981.
9. Zahavi J, Kakkar VV: Beta thromboglobulin. A specific marker of in vivo platelet release reaction. *Thromb Haemost*. 44:23-29, 1980.
10. Wadenvik H, Jern S, Hallgren J, et al: Plasma concentration of platelet factor 4 in acute myocardial infarction. *Scand J Haematol*. 26:359-363, 1981.
11. Vitrichenco EE: State of erythrocytes in rats with emotional stress. *Byulleten Eksperimental'noi Biologii Meditsiny*. 100(12):675-677, 1985.
12. McCarthy DA, Grant M, Marbut M, et al: Brief exercise induces an immediate and a delayed leucocytosis. *Br J Sp Med*, 25(4):191-195, 1991.
13. Ferry A, Picard F, Duvallet A, Weill B, Rieu M: Changes in blood leucocytes populations induced by acute maximal and chronic submaximal exercise. *Eur J Appl Physiol*. 59:435-442, 1990.
14. Gimenez M, Mohan KT, Humbert JC, Talance ND, Buisine J: Leucocyte, lymphocyte and platelet response to dynamic exercise. *Eur J Appl Physiol*. 55:465-470, 1986.
15. McCarty DA, Macdonald IA, Shaker HA, et al: Changes in the leucocyte count during and after brief intense exercise. *Eur J Appl Physiol*. 64:518-522, 1992.
16. Neumann JK, Marquez MM, Dubberly FA: Effects of acute stress on lymphocyte beta 2-adrenoceptors in white males. *J Psychosom Res*. 37(7):763-770, 1993.