

Octreotid ve interferon α -2b uygulamasının ratlarda bazı hormonal parametreler üzerine etkisi§

A. Kasım BALTACI*, Rasim MOĞULKOÇ**, Cem Şeref BEDİZ*, Halil SÜNLÜ***, Selim KUTLU**

* S.Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı, **Fırat Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı, *** S.Ü.T.F. Kan Merkezi

ÖZET

Çalışma, interferon alfa - 2b ve octreotid uygulamasının ratlarda bazı hormonal parametreleri nasıl etkilediğinin ortaya konulabilmesi amacıyla planlandı. Araştırma kontrol (n = 12), interferon alfa - 2b (n = 12) ve octreotid (n = 12) uygulanan toplam 36 adet Wistar - Albino cinsi erkek ratlar üzerinde gerçekleştirildi. Kontrol grubu hayvanlara herhangi bir uygulama yapılmazken, interferon grubundaki ratlara gün aşırı 250.000. IU interferon alfa - 2b, octreotid grubundaki ratlara da günde üç kez 7 gün boyunca 10 mikrogram octreotid deri altı olarak uygulandı. Çalışmanın bitiminde, bütün deney hayvanlarının kanında TSH, total T_4 , total T_3 , testosteron ve büyüme hormonu düzeyleri tayin edildi. Plazma TSH düzeylerinin interferon alfa - 2b grubunda kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğu görüldü ($P < 0.05$). T_3 - T_4 seviyelerinde istatistiksel olarak fark bulunmadı. Testosteron değerlerinin mukayesesinde interferon alfa - 2b ve octreotid uygulanan grupların kontrol grubuna oranla daha düşük değerlere sahip bulunduğu tespit edildi ($P < 0.05$). Deney gruplarının karşılaştırılması sonucunda interferon alfa - 2b grubunun octreotid uygulanan gruba oranla düşük testosteron seviyesine sahip bulunduğu gözlenirken ($P < 0.05$), total T_3 , total T_4 ve büyüme hormonu düzeylerinin gruplar arasında önemli bir farklılık göstermediği belirlendi. Gerçekleştirilen araştırmanın sonucunda elde edilen bulgular interferon alfa - 2b ve octreotid uygulamalarının ratlarda bazı hormonal parametreleri değişik şekillerde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler : Interferon alfa - 2b ve octreotid uygulaması, hormonal parametreler.

SUMMARY

This study was designed to determine the effects of interferon alpha - 2b and octreotide treatments on some hormonal parameters in rats. Total 36 Wistar - Albino male rates were used as control (n = 12), interferon alpha - 2b (n = 12) and octreotide (n = 12) groups. 250.000 IU of interferon alpha - 2b was introduced to interferon group rats at intervals of 48 hrs. To the octreotide group rats, 3 times in a day (8 hrs intervals) for 7 days, 10 mg octreotide was injected subcutaneously with a insulin injector. The levels of TSH, total T_4 , total T_3 , testosteron and growth hormone were determined in blood samples of the rats by RIA. Plasma TSH levels of interferon alpha-2b group was found lower than that of control group ($P < 0.05$). However, no significant difference in T_3 and T_4 levels were determined among control, octreotide and interferon treated groups. ($P < 0.05$). It was established that interferon alpha - 2b and octreotide treated groups have lower testosteron levels than that of control group ($P < 0.05$). Interferon alpha - 2b group had lower testosteron levels comparing to octreotide treated group ($P < 0.05$). Nevertheless, there was no significant difference in the growth hormone levels of the groups. The results of the study showed that the treatments of interferon alpha - 2b and octreotide can be affect some hormonal parameters in the rats.

Key Words : Interferon alpha - 2b, octreotide, hormonal parameters.

Yapı olarak proteinlerin bir serisinden ibaret olan interferon alfa-2b antiproliferatif etkiye sahiptir (1,2).

Bir somatostatin analogu olan octreotidinin büyüme hormonu salınımına somatostatin ile eşit düzeyde etki ettiği tespit edilmiştir (3). Doğal so-

matostatin vücutta çeşitli dokularda subnanomolar düzeyin altında kendine spesifik proteinlere çok yüksek affinite ile bağlanır. Octreotidinin de rat beyin korteksi membranlarına nanomolar düzeyde bağlandığı bilinmektedir (4). Bildirildiğine göre in vitro olarak octreotid uygulaması hipofiz

Haberleşme Adresi: **A. Kasım Baltacı**, S.Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı, KONYA.

§ Bu çalışma Türk Fizyolojik Bilimler Derneği 23. Ulusal Kongresinde (29 Eylül-4 Ekim 1997, Adana) sunulmuştur.

hücrelerinden büyüme hormonu salınımını inhibe etmektedir. Yine aynı çalışmada damar içi olarak uygulanan octreotidinin benzer şekilde büyüme hormonu salınımını baskıladığı da gösterilmiştir (5). Normal sağlıklı bireylerde ve akromegalik insanlarda yapılan klinik çalışmalarla somatostatin ve octreotid uygulamasının kandaki büyüme hormonu düzeyini azalttığı ortaya konulmuştur (3,6,7). Doğal somatostatin ve analogları aynı zamanda bir çok büyüme faktörlerinin ve ara maddelerinin salınımını da inhibe etmekte, ayrıca neoplazmların bir kısmında antiproliferatif etki göstermektedirler (8,9).

İnterferon ve octreotid uygulamasıyla ilgili gerçekleştirilen çalışmalar genellikle uzun bir deney süresini (3 - 6 ay) içermektedir. (1,2,3). Bu noktadan yola çıkarak kısa süreli (1 hafta) ineterferon alfa - 2b ve octreotid uygulamalarının ratlarda TSH (Tiroid stimulan hormon), T3 (Triiodotronin), T4 (Tiroksin), Testosteron ve Büyüme Hormonu salınımı üzerindeki etkilerinin ortaya konulabilmesi amacıyla planlanan çalışma, konuyla ilgili tartışmalara katkı sağlayabilecektir.

MATERYAL VE METOD

Araştırma Elazığ Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen 250-300 gr. ağırlığında, toplam 36 adet Wistar Albino cinsi erkek rat üzerinde, F.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deney hayvanları, yıkanmak suretiyle her gün temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda, su ise cam biberonlarda (çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri, Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Deney hayvanları 12 şer rattan oluşan 3 gruba ayrıldı.

1. Grup (Kontrol Grubu n=12): Bu gruba hiç bir uygulama yapılmadı.

2. Grup (İnterferon Grubu n=12): İnterferon alfa-2b uygulanan ratlardan oluşan bu gruptaki bütün hayvanlara gün aşırı (1, 3, 5, 7. gün) 250.000 IU İnterferon alfa - 2b (Intron A. Flakon 5 milyon IU. Seherin- Piough İnhisanon, Country Cork. Ireland), insülin enjektörü ile deri altı olarak uygulandı.

3. Grup (Octreotide Grubu n=12): Bu gruptaki ratlara günde 3 kez (8 saat arayla) 7 gün boyunca 10 mikrogram Octreotide (Sandostatin, 0.1 mg. Flakon

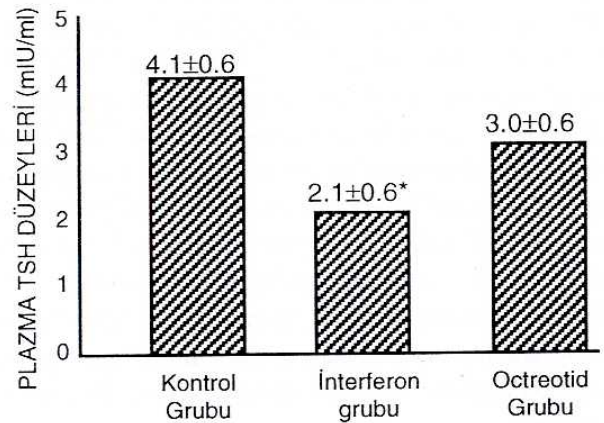
Sandoz-Pharma LTD. Basel - İsviçre), insülin enjektörü ile deri altı olarak uygulandı.

Çalışmanın bitiminde, dekapite edilen hayvanlardan hormon tayinlerinde kullanılmak üzere heparinli tüplere 4'er ml kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri soğutmalı santrifüjde, +4 C'de, 2500 devirde 10 dk. süreyle santrifüj edildikten sonra, F.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında RIA yöntemiyle hormon tayinleri (TSH, T3, T4, Testosteron, büyüme hormonu) gerçekleştirildi.

Çalışmada elde edilen bulguların aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Gruplar arasındaki farklılıkların tespiti için varyans analizi uygulandı. Grup ortalamaları arasındaki fark Asgari Önemli Fark Testi ile kontrol edildi (10).

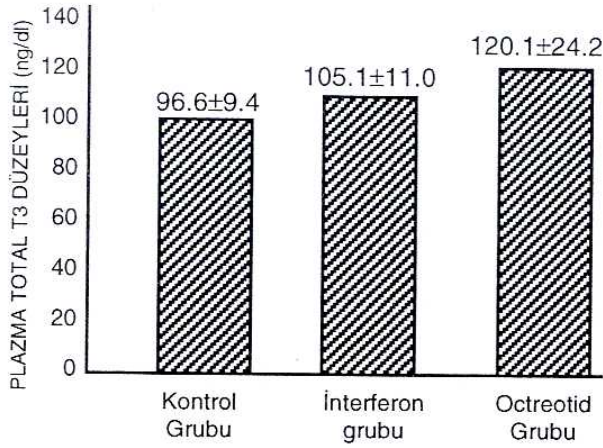
BULGULAR

Plazma TSH düzeyleri kontrol grubunda 4.11 ± 0.56 mIU/ml, interferon grubunda 2.07 ± 0.55 mIU/ml, Octreotid grubunda 3.00 ± 0.58 mIU/ml olarak tespit edildi. Bu değerlerin kontrol grubunda interferon grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenirken ($P < 0.05$), (Şekil 1), kontrol grubu ile octreotid grupları arasında anlamlı bir farklılık ortaya konulamadı.



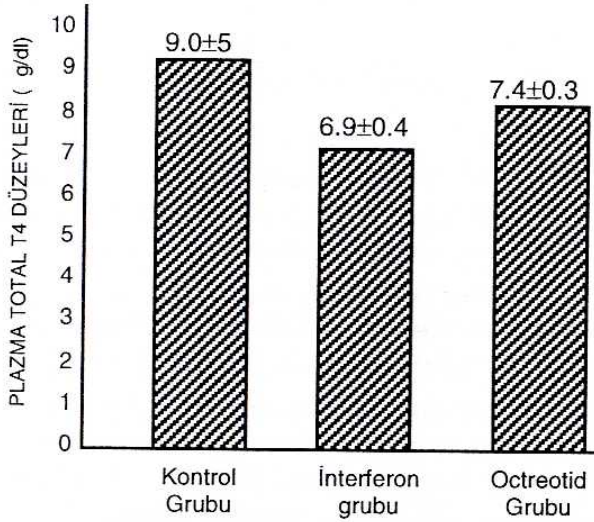
Şekil 1. Çalışma gruplarının plazma TSH düzeyleri (mIU/ml) * $P < 0.05$.

Total T3 seviyelerinin kontrol grubunda 96.6 ± 9.4 ng/dl, interferon grubunda 105.1 ± 11.0 ng/dl, octreotid grubunda 120.1 ± 24.2 ng/dl olduğu belirlendi. Çalışma gruplarına ait bu parametrelerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucu kontrol grubu ile interferon ve octreotid grupları arasındaki farklar anlamlı bulunmadı (Şekil 2).



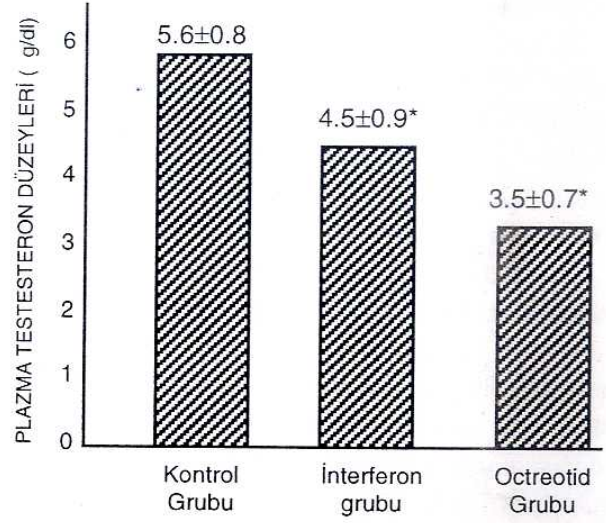
Şekil 2. Çalışma gruplarının plazma total T3 düzeyleri (ng/dl)

Total T4 parametresi kontrol ve deney gruplarında sırasıyla 9.0±0.5 µg/dl, 6.9±0.4 µg/dl, 7.4±0.3 µg/dl olarak tayin edilirken, gruplar arasında bahsedilen parametre yönünden anlamlı bir farklılığa rastlanmadı (Şekil 3).



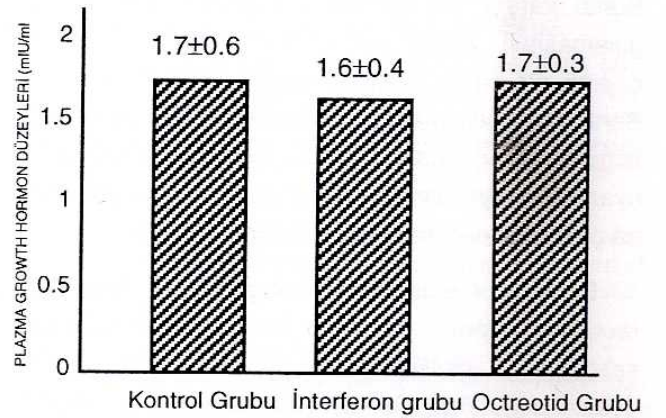
Şekil 3. Çalışma gruplarının plazma total T4 düzeyleri (µg/dl).

Ortalama testosteron değerleri kontrol grubunda 5.61±0.80 ng/ml, interferon grubunda 4.46±0.85 ng/ml, octreotid grubunda ise 3.46±0.71 ng/ml olarak bulunmuş olup, bu değerlerin mukayesesinde interferon ve octreotid gruplarının kontrol grubuna oranla daha düşük bir seviyede olduğu görüldü ($P < 0.05$), (Şekil 4).



Şekil 4. Kontrol, interferon ve octreotid gruplarında plazma testosteron düzeyleri (ng/ml) (* $P < 0.05$).

Büyüme hormonu düzeyleri kontrol grubunda 1.7±0.6 mIU/ml, interferon grubunda 1.6±0.5 mIU/ml, octreotid grubunda 1.7±0.3 mIU/ml olarak tespit edilirken, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın oluşmadığı belirlendi (Şekil 5).



Şekil 5. Çalışma gruplarının plazma büyüme hormonu düzeyleri (mIU/ml).

Deney grupları kendi aralarında, tayini yapılan bütün parametreler yönünden mukayese edilmiş, testosteron seviyelerinin interferon grubunda, octreotid grubuna oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir ($P < 0.05$). Diğer parametreler yönünden deney grupları arasında anlamlı bir farklılığa rastlanmamıştır.

TARTIŞMA

Yapı olarak proteinlerin bir serisinden ibaret olan interferon alfa-2b antiproliferatif bir etkiye sahiptir. İnterferonlar koloni uyarıcı faktör, epidermal büyüme

faktörü, interlökin-2, interlökin-4 gibi diğer büyüme faktörlerinin bir çoğuna benzer mitojenik aktiviteyle ilişkilidir. Konuyla ilgili olarak gerçekleştirilen bir çalışmada kısa süreli interferon alfa-2b uygulamasının insanlarda ACTH, kortizol ve prolaktin salınımı üzerine etkileri araştırılmış, sonuç olarak interferon alfa-2b uygulamasının ACTH ve kortizol düzeylerini artırdığı, ancak prolaktin sekresyonu üzerine kısa sürede etki göstermediği ortaya konulmuştur (1). Gerçekleştirilen bir başka çalışmada interferon alfa-2b uygulaması sonucu tiroid disfonksiyonu geliştiği, ancak bu fonksiyon bozukluğunun uygun bir tedaviyle tekrar düzeltildiği ileri sürülmüştür (11). İnterferon uygulamasının hipotalamik kortikotrop releasing hormon (CRH) ve rat adrenal kortikosteron üretimi için önemli bir stimülasyon oluşturduğu, ancak in-vitro durumda hipofiz ACTH sekresyonu üzerine direkt bir etki göstermediği belirlenmiştir (12). İnsanlar üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada interferon alfa-2b uygulamasının büyüme hormonu ve kortizol salınımı için güçlü bir uyarım oluşturduğu gözlenmiştir (13). Buna karşın 28 günlük interferon alfa-2b uygulamasının ACTH ve kortizol salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir (2). Bahsedilen çalışmaların sonuçları, interferon alfa-2b uygulamasının sınırlı sayıda hormonun salınımını uyarmasının yanısıra, bir çok araştırmacının bulgularında da çelişkili sonuçları beraberinde getirmektedir.

Doğal somatostatin analoglarından olan octreotidinin hipofiz hücrelerinde büyüme hormonu salınımını baskıladığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (5,6). Benzer çalışmalar normal sağlıklı bireylerde ve akromegalik insanlar üzerinde de yapılmış, octreotid uygulamasının kandaki büyüme hormonu düzeylerini azalttığı ortaya konulmuştur (1,3,7). Baudin ve ark.'nın (11) bildirdiğine göre octreotid uygulaması kandaki kalsiyum ve osteokalsin düzeyleri üzerinde önemli bir etki göstermezken, parathormon seviyelerinde bir artış eğilimi oluşturmaktadır. Gerçekleştirilen bir çalışmada, octreotid uygulamasının büyüme hormonu, TSH, prolaktin ve ACTH sekresyonunu azalttığı gösterilmiştir (14).

Gerçekleştirdiğimiz çalışmada interferon alfa-2b uygulanan deney grubunda TSH düzeylerinin kontrol grubuna oranla $P<0.05$ seviyesinde daha düşük

olduğu tespit edildi. Elde ettiğimiz sonuç interferon alfa-2b uygulamasının tiroid fonksiyonlarında azalma oluşturduğunu ileri süren araştırmacıların görüşleriyle paralellik arz etmektedir (11,15). Octreotid grubunda aynı değerlerin istatistiksel açıdan önemli olmamakla beraber, kontrol grubuna oranla daha düşük bulunması dikkat çekicidir. Bu grupta TSH parametresi ile ilgili elde ettiğimiz sonuçlar, octreotid uygulamasının TSH salınımını azalttığını ileri süren çalışmaları desteklemektedir (1,14).

T3 - T4 düzeyleri incelendiğinde, octreotid ve interferon uygulanan grupların değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. Elde ettiğimiz T3 - T4 değerleri, başka araştırmacıların yaptığı çalışmaların sonuçlarıyla çelişkili görülmektedir (8,9,15). Ancak gerçekleştirdiğimiz çalışma kısa süreli interferon alfa-2b ve octreotid uygulamalarını kapsamaktadır. Oysa, bahsedilen araştırmacıların çalışmaları uzun süreli (3-6 ay) uygulamaların sonuçlarını içermektedir. Aradaki çelişkinin muhtemelen ilaç uygulamalarındaki süre farklılığından kaynaklanabileceği söylenebilir.

İnterferon ve octreotid gruplarının testosteron değerleri $P<0.05$ derecesinde kontrol grubuna oranla daha düşük bulundu. Bu olay uygulanan her iki ilacın metabolizma hızını yavaşlatmasına paralel olarak, testosteron parametresinde de bir azalmaya yol açması şeklinde açıklanabilir (1). İnterferon alfa-2b grubunun testosteron seviyesinin octreotid grubundan da daha düşük bulunması ($P<0.05$), bu hormonun salınımının baskılanması üzerinde interferon alfa-2b'nin octreotide göre daha kuvvetli bir etkiye sahip bulunabileceğini ortaya koymaktadır.

Büyüme hormonu değerlerindeki değişiklikler incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılığın oluşmadığı tespit edildi. Elde ettiğimiz sonuçlar, literatür bilgilerle çelişkili görülmektedir. Zira konuyla ilgili yapılan çalışmalar octreotid uygulamasının büyüme hormonu salınımını baskıladığını göstermektedir (1,3,5-7). Buna karşın intravenöz alfa-2b uygulamasının büyüme hormonu salınımı için güçlü bir uyarım oluşturduğu belirlenmiştir (13). Aradaki farklılığın bu çalışmadaki kısa süreli (haftalık) ilaç uygulamalarından kaynaklanabileceği düşünülebilir.

Konunun değişik yönleriyle açıklanabilmesi için, bundan sonraki yapılabilecek çalışmalarda, daha uzun süreli bir araştırmanın yapılması ve bahsedilen hormonal parametrelerin haftalık değişimlerinin ortaya konulabilmesi bir öneri olarak ileri sürülebilir.

Kısa süreli (1haftalık) interferon alfa-2b ve octreotid uygulamalarının büyüme hormonu salınımı

üzerindeki etkilerinin ortaya konulabilmesinde yeterli bir zaman dilimi oluşturmadığı kanaatine varılırken, genel olarak çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular interferon alfa-2b ve octreotid uygulamalarının ratlarda bazı hormonal parametreleri değişik şekillerde etkileyebileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kutz K, Nüsch E, Rosenthaler J. Pharmacokinetics of SMS 201-995 in healthy subjects. *Scand J Gastroenterol*, 1996; 21:65-72.
2. Muller H, Hiemke C, Hammes E, Hess G. Subacute effects of interferon alpha-2 on adrenocorticotrophic hormone, cortisol, growth hormone and prolactin in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 1992; 17:459-65.
3. Marbach P, Briner U, Lemaire M, Schweitzer A. From somatostatin to octreotide pharmacodynamics and pharmacokinetics. *Digestion*, 1993; 54:9-13.
4. Reubi JC, Kvols L, Krenning E. Distribution of somatostatin receptors in normal and tumor tissue. *Metabolism*, 1990; 39:78-81.
5. Hindmarsh PC, Pringle PJ, Stanhope R, Brook CG. The effect of a continuous infusion of somatostatin analogue (Octrotide) for two years on growth hormone secretion and height prediction in tall children. *Clin Endocrinol Oxf*, 1995; 42: 509-15.
6. Keitch AS, Sochor M, Kunjara S, Doepfner W, McLean P. The effect of a somatostatin analogue on the concentration of phosphoribosyl phyrophosphate and the activity of the pentose phosphate pathway in the early renal hypertrophy of experimental diabetes in the rat. *Biochem Med Metab Biol*, 1988; 39:226-33.
7. Klijn JGM, Setyono-Han B, Bakker GH, Wonderburg MEL, Bontenbal M. Growth factor receptor pathway interfering treatment by somatostatin analogues and suramin. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1990; 37:1089-95.
8. Parmar H, Bogken A, Mollard M. Somatostatin and somatostatin analogues in oncology. *Cancer Treat Rev*, 1989; 16:95-115.
9. Evers BM, Parekh D, Townsend MD. Somatostatin and analogues in the treatment of cancer. *Ann Surg* 1991; 213:190-8.
10. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. *Biyoistatistik*. Çağ Matbaası Ankara 1987; 114-27.
11. Baudin E, Marcelling P, Pouteu M, Colas LN, Le-Floch JP, Lemmonier C, Benhamou JP. Reversibility of thyroid dysfunction induced by recombinant alpha interferon in chronic hepatitis C. *J Clin Endocrinol Opf*, 1993; 39:657-61.
12. Gisslinger H, Svoboda T, Clodi M, Gilly B, Ludwig H, Havelec L, Luger A. Interferon-alpha stimulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in vivo and in vitro. *Neuroendocrinology*, 1993; 57: 489-95.
13. Barbarino A, Colasanti S, Corsello SM, Satta MA, Della-Casa S, Rota CA, Tartaglione R, Barini A. Dexamethasone inhibition of interferon -alpha2- induced stimulation of cortisol and growth hormone secretion in chronic myeloproliferative syndrome. *J Clin Endocrinol Metabol*, 1995; 80:1329-32.
14. Feng C, O'Doriso MS, Herman G, Hayes J, Malarkey WB, O'Doriso TM. Mechanisms of action of long of somatostatin. *Regulatory Peptides*, 1993; 44:285-95.
15. Tsukada K, Nomura T, Higashi K, Takeuchi T. Thyroid function abnormalities during interferon therapy. *Nippon-Rinsho*, 1994; 52:1895-900.