

Anna FRANKIEWICZ-JÓŹKO¹, Jerzy FAFF¹, Bożena ANTKOWIAK²

**WPŁYW GLUKOZY, EFEDRYNY I TEOFILINY NA
WSKAŹNIKI PEROKSYDACJI LIPIDÓW W WARUNKACH
HIPOTERMII WYWOŁANEJ ZANURZENIEM W ZIMNEJ
WODZIE**

AN EFFECT OF GLUCOSE, EPHEDRINE AND
THEOPHYLLINE ON LIPID PEROXIDATION INDICES IN
HYPOTHERMIA RESULTING FROM IMMERSION IN THE
COLD WATER

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Warszawa

¹ Zakład Higieny i Epidemiologii

² Zakład Farmakologii i Toksykologii

Military Institute of Hygiene and Epidemiology, Warsaw

¹ Department of Hygiene and Epidemiology

² Department of Pharmacology and Toxicology

STRESZCZENIE: Wstęp. Nasze wstępne badania wykazały, że wychłodzenie organizmu, wywołane zanurzeniem w zimnej wodzie, nie powoduje wzrostu wskaźników peroksydacji lipidów i całkowitej pojemności antyoksydacyjnej surowicy. Wyniki te były raczej nieoczekiwane ze względu na to, że zanurzenie w zimnej wodzie stwarza warunki do stresu oksydacyjnego ze względu na zwiększenie metabolizmu, okresowe niedotlenienia tkanek, wzrost katabolizmu amin katecholowych i puryn. **Celem** obecnych badań było ponowne przebadanie wpływu wychłodzenia w wodzie na wskaźniki peroksydacji lipidów oraz ocena wpływu efedryny z teofiliną na badane wskaźniki leków stymulujących termogenezę i metabolizm, podanych oddzielnie lub z substratem energetycznym glukozą. **Badani i metoda.** Badania wykonano u 12 młodych zdrowych ochotników podzielonych na dwie grupy. Badani dwukrotnie, w odstępie siedmiu dni, byli zanurzeni do poziomu barków w pozycji siedzącej w wodzie o temperaturze +12 °C na okres 45 minut. Przed zanurzeniem badanych w pierwszej grupie podano doust-

* Praca została przedstawiona jako poster na IV konferencji „Człowiek w ekstremalnych warunkach środowiska”, WIML, Warszawa 21-22 października 2010 r.

Adres do korespondencji: dr Anna Frankiewicz-Józko, Zakład Higieny i Fizjologii, Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, 01-163 Warszawa, ul. Kozielska 4, e-mail: ajozko@wihe.waw.pl

nie placebo (wodę) lub roztwór wodny 50 g glukozy. W grupie drugiej podano efedrynę (1 mg/kg m.c.) z teofiliną (3 mg/kg m.c.) lub glukozę z efedryną i teofiliną. Przed zanurzeniem w wodzie, a następnie po 20 i 45 min po zanurzeniu pobierano próbki krwi z żyły łokciowej. Określano zawartość wskaźnika peroksydacji lipidów TBARS oraz całkowitą pojemność antyoksydacyjną surowicy TAS. **Wyniki.** Zanurzenie w zimnej wodzie zarówno po podaniu placebo, jak i roztworu glukozy nie miało wpływu na badane wskaźniki. Podanie glukozy z efedryną i z teofiliną powodowało w dwudziestej minucie po zanurzeniu tendencję do wzrostu TBARS (różnice nie są istotne statystycznie) i wzrost stosunku TBARS do TAS ($p < 0,05$) jednak w znacznie mniejszym stopniu niż po podaniu efedryny z teofiliną bez glukozy. **Wnioski.** Uzyskane wyniki wskazują na korzystny wpływ glukozy na wzrost wskaźników peroksydacji lipidów wywołany podaniem efedryny z teofiliną w warunkach wychłodzenia organizmu w zimnej wodzie
SŁOWA KLUCZOWE: stres termiczny zimny, peroksydacja lipidów, efedryna, teofilina, glukoza

SUMMARY: Background. Our preliminary investigations have shown that hypothermia following an immersion in the cold water does not produce an increase in lipids peroxidation indices and total antioxidant capacity. These results were rather unexpected as immersion in the cold water may lead to oxidation stress due to accelerated metabolic rate, transitional tissue hypoxia, increased catabolism of catecholamines and purines. **Objectives.** Present study aimed at reassessment of hypothermia on lipids peroxidation indices and an effect of ephedrine with theophylline on examined drugs simulating thermogenesis and metabolism, administered separately or with glucose - energetic substrate. **Participants and methods.** The study involved 12 young, healthy volunteers divided into two groups. Volunteers were examined twice. Each time they were immersed in the cold water (12°C) in sitting position up to the shoulders for 45 minutes. Prior to immersion, the first group was given orally either placebo (water) or water solution of 50 g glucose. The second group was given ephedrine (1 mg/kg body weight) with theophylline (3 mg/kg) or glucose with ephedrine. Blood samples were drawn from basilic vein before, 20 minutes and 45 minutes after immersion. Lipid peroxidation indices TBARS and serum total antioxidant capacity TAS. **Results.** Immersion in the cold water after administration of both placebo and glucose solution did not exert any effect on the investigated indices. After 20 minutes, administered glucose with ephedrine and theophylline tend to increase TBARS (differences statistically insignificant) and TBARS/TAS ratio ($p < 0.05$) but to lesser degree than following administration of ephedrine with theophylline. **Conclusion.** The obtained results indicate beneficial effect on an increase in lipid peroxidation indices after immersion in the cold water
KEY WORDS: cold thermal stress, lipid peroxidation, ephedrine, theophylline, glucose

Wstęp

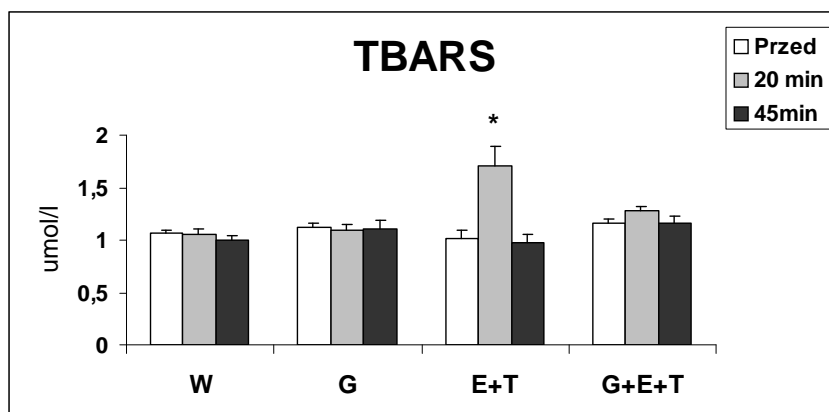
Zanurzenie w zimnej wodzie na kilkudziesiąt minut stwarza warunki, w których można oczekiwać zwiększonej peroksydacji lipidów. Wiąże się to z obserwowaną w wyniku stresu termicznego zimnego zwiększoną wentylacją płuc poprzedzoną okresem niedotlenienia [1], wzrostem stężenia amin katecholowych i wzrostem metabolizmu [2,3]. Zarówno wzrostowi metabolizmu, jak i degradacji amin katecholowych towarzyszy uwalnianie reaktywnych form tlenu (RTF) [4]. Innym źródłem RTF może być degradacja puryn w okresie niedotlenienia. We wstępnych badaniach nie obserwowaliśmy zmian stężenia wskaźników peroksydacji lipidów u mężczyzn zanurzonych w zimnej wodzie na 45 min [5]. Celem obecnej pracy było ponowne zbadanie wpływu stresu termicznego zimnego na wskaźniki peroksydacji lipidów oraz zbadanie wpływu na omawiane wskaźniki efedryny i teofiliny, leków stymulujących metabolizm i termogenezę [3,6,7] podanych oddzielnie lub z substratem energetycznym glukozą.

Badani i metody

W badaniach wzięło udział 12 zdrowych mężczyzn, ochotników, w wieku 18-25 lat. Przed doświadczeniem ochotnicy poddani byli ogólnym badaniom lekarskim. Program badań uzyskał pozytywną ocenę Komisji Etycznej d/s Badań na Ludziach przy Wojskowym Instytucie Medycyny Lotniczej. Badania nieprzerwanie nadzorowane były przez lekarza anestezjologa. Wszyscy uczestnicy poinformowani byli o celu i programie badań i wyrazili pisemną zgodę na uczestniczenie w badaniach. Badanych losowo podzielono na dwie grupy. Wszyscy badani, ubrani w kąpielówki, zanurzani byli dwukrotnie, w odstępie 7 dni, w pozycji siedzącej do wysokości barków, z wyjątkiem prawej kończyny górnej, przez 45 min w basenie z wodą o temperaturze $+12\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Na 30 min przed zanurzeniem badany w I grupie podawano do wypicia placebo (wodę, W) lub roztwór glukozy (G) (50 g). W II grupie podawano doustnie roztwór efedryny (1 mg/kg m.c.) z teofiliną (3 mg/kg m.c.) (E+T) lub roztwór glukozy z efedryną i teofiliną (G+E+T) w dawkach jak poprzednio. W drugiej grupie glukozę podawano na 2 godz przed podaniem leków. Przed podaniem badanych substancji oraz po 20 i 45 min po zanurzeniu pobierano próbki krwi z żyły łokciowej. W surowicy oznaczano stężenie TBARS (wskaźnik peroksydacji lipidów) według Ohkawa i wsp. [8] i całkowitą pojemność antyoksydacyjną surowicy (TAS) stosując testy firmy RANDOX (RANDOX LAB. L.T.D., Antrim, Wielka Brytania). Wyniki poddano analizie statystycznej testem t Studenta dla zmiennych powiązanych.

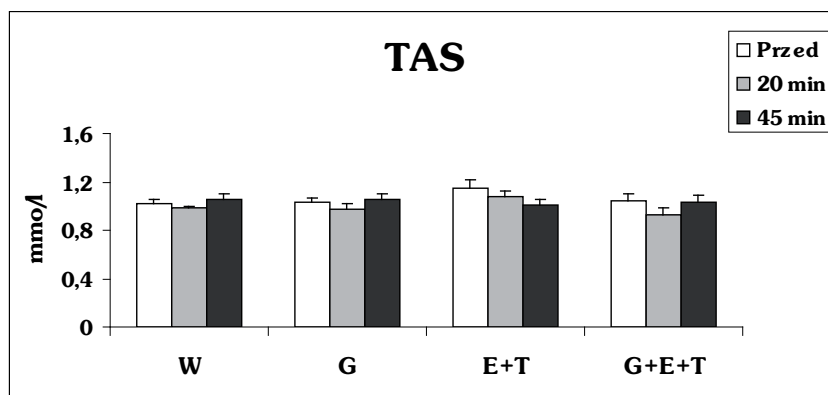
Wyniki

Jak wskazują wyniki przedstawione na ryc. 1, zanurzenie w zimnej wodzie przez 45 min po podaniu wody lub roztworu glukozy nie wpływało istotnie na stężenie TBARS w surowicy. Podanie efedryny z teofiliną zwiększało stężenie TBARS o około 70% ($p<0,01$) po 20 min zanurzenia w wodzie. Efekt ten był przemijający i w 45 min stężenie badanego wskaźnika nie różniło się od wartości wyjściowych. Podanie efedryny i teofiliny wraz z glukozą powodowało jedynie tendencję (o około 10%) do wzrostu stężenia TBARS w 20 min badania.



Ryc. 1. Stężenie wskaźnika peroksydacji lipidów (TBARS) w surowicy przed i po 20 i 45 minutach zanurzenia w zimnej wodzie po podaniu wody (W), glukozy (G), efedryny z teofiliną (E+T) lub glukozy z efedryną i z teofiliną (G+E+T). Na wykresie przedstawiono wartości średnie \pm SEM. * /istotnie różne od wartości wyjściowych ($p < 0,01$).

Fig. 1. Serum TBARS before and after 20 minutes and 45 minutes of immersion in the cold water, following administration of water (W), glucose (G), ephedrine with theophylline (E+T) or glucose with ephedrine and theophylline (G+E+T). Values are expressed as mean \pm SEM. * Differences statistically significant in comparison with baseline values ($p < 0.01$).

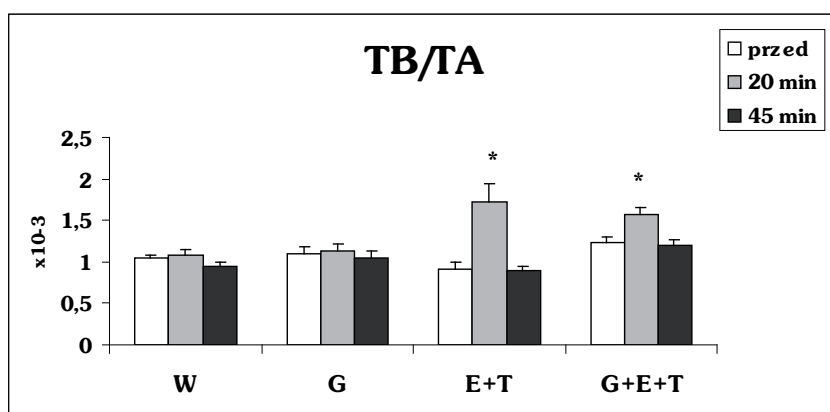


Ryc. 2. Całkowita pojemność antyoksydacyjna surowicy (TAS) przed i po 20 i 45 minutach zanurzenia w zimnej wodzie po podaniu wody (W), glukozy (G), efedryny z teofiliną (E+T) lub glukozy z efedryną i z teofiliną (G+E+T). Na wykresie przedstawiono wartości średnie \pm SEM.

Fig. 2. Serum TAS before and after 20 minutes and 45 minutes of immersion in the cold water, following administration of water (W), glucose (G), ephedrine with theophylline (E+T) or glucose with ephedrine and theophylline (G+E+T). Values are expressed as mean \pm SEM.

Jak pokazano na ryc. 2, w żadnej grupie nie stwierdzono istotnych zmian całkowitej pojemności antyoksydacyjnej surowicy (TAS) pod wpływem ekspozycji na zimną wodę, choć obserwowano tendencję do obniżania się w 20 min doświad-

czenia. Zmiany równowagi między procesami pro- i antyoksydacyjnymi w organizmie na podstawie wartości stosunku TBARS do TAS (TB/TA) przedstawia ryc. 3. Największy wzrost tego wskaźnika, o około 90% ($p < 0,05$), obserwowano 20 min po zanurzeniu w wodzie po podaniu efedryny z teofiliną. Podanie tych substancji wraz z glukozą również powodowało wzrost stosunku TBARS do TAS, ale tylko o około 27% ($p < 0,05$). W pozostałych grupach nie stwierdzono zmiany wartości badanego wskaźnika.



Ryc. 3. Zmiany stężenia wskaźnika peroksydacji lipidów TBARS do całkowitej pojemności antyoksydacyjnej surowicy TAS (TB/TA) przed i po 20 i 45 minutach zanurzenia w zimnej wodzie po podaniu wody (W), glukozy (G), efedryny z teofiliną (E+T) lub glukozy z efedryną i z teofiliną (G+E+T). Na wykresie przedstawiono wartości średnie \pm SEM. */istotnie różne od wartości wyjściowych ($p < 0,05$).

Fig. 3. Changes of serum TBARS/TAS ratio before and after 20 minutes and 45 minutes of immersion in the cold water, following administration of water (W), glucose (G), ephedrine with theophylline (E+T) or glucose with ephedrine and theophylline (G+E+T). Values are expressed as mean \pm SEM. * Differences statistically significant in comparison with baseline values ($p < 0,05$).

Omówienie

Wpływ warunków doświadczenia na czynność organizmu opisany został we wcześniejszej pracy [3,7]. Obserwowano obniżenie temperatury wewnętrznej ciała i temperatury skóry, zwiększoną utratę ciepła, wzrost wydatku energetycznego, wzrost stężenia amin katecholowych we krwi, wzrost stężenia glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych. Pomimo tych zmian, podobnie jak we wstępnych badaniach, również w obecnej pracy nie stwierdzono istotnych zmian wskaźników peroksydacji lipidów [5]. Przymyślnie obrona antyoksydacyjna organizmu była wystarczająco aktywna aby nie dopuścić do gromadzenia się RTF. Podanie efedryny z teofiliną powodowało znaczny wzrost stężenia TBARS i TB/TA w 20 minucie doświadczenia. Można to wiązać z pobudzeniem układu adrenergicznego i wzrostem metabolizmu. Wcześniejsze podanie łatwo wchłanialnego substratu energetycznego jakim jest glukoza ograniczyło zmiany stężenia TBARS i TB/TA. Wzrost wskaźników peroksydacji lipidów był krótkotrwały. Już w 45 minucie stężenia te powró-

ciły do wartości wyjściowych. Przymuszczało nastąpiło zahamowanie nadmiernego tworzenia się RTF i ich degradacja metaboliczna.

Wnioski

Zanurzenie w zimnej wodzie na 45 minut nie powoduje w warunkach doświadczenia zmian wskaźników peroksydacji lipidów. Efedryna podana wraz z teofiliną powoduje krótkotrwały wzrost stężenia wskaźnika peroksydacji lipidów. Podanie substratu energetycznego glukozy ogranicza działanie podanych leków termogenicznych.

Piśmiennictwo

1. Tipton M. J.: The initial responses to cold-water immersion in man. *Clin. Sci.* 1989, 77, 581-588.
2. Sramek P., Simeckova M., Jansky L., Savilikova J., Vybiral S.: Human physiological responses to immersion in cold water of different temperatures. *Eur. J. Appl. Physiol.* 2000, 81, 436-442.
3. Kowalczyk M., Antkowiak B., Antkowiak O., Brytan M., Zdanowski R., Kłos A., Frankiewicz-Józko A.: Ephedrine-caffeine mixture in wet-cold stress. *Pharmacol. Reports* 2006, 58, 364-372.
4. Boveris A., Oshino N., Chance B.: The cellular production of hydrogen peroxide. *Biochem. J.* 1972, 128, 617-630.
5. Frankiewicz-Józko A., Faff J., Antkowiak B.: Cold water immersion has no effect on the plasma levels of the biomarkers of lipid peroxidation. [W:] H. Lach (red.) *Molecular and physiological aspects of regulatory processes of the organism*. Ped. Acad. Cracov. 2007, 104-106.
6. Vallerand A. L.: Effects of ephedrine/xanthines on thermogenesis and cold tolerance. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Discord* 1993, Suppl.1, S53-S56.
7. Antkowiak B., Zdanowski R., Brytan M., Antkowiak O., Szarska E., Kowalczyk M.: Farmakologiczna modyfikacja fizjologicznej reakcji organizmu na wychłodzenie w środowisku wodnym. *Pol. Przegl. Med. Lotn.* 2009, 9(2), 127-141.
8. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979, 95, 351-358.

Nadesłano: 26.01.2011 r.

Zaakceptowano do publikacji: 10.03.2011 r.