

**SOĞUK STRESİ UYGULAMASININ VE HİPOTANSİF BİR İLAÇ OLAN ENALAPRİL MALEAT 'IN BAZI SIÇAN DOKULARINDA TOTAL RNA SEVİYELERİNE ETKİLERİ\***Zeliha SELAMOĞLU TALAS<sup>1</sup>Muhittin YÜREKLİ<sup>2</sup>**ÖZET**

Bu çalışmada kontrol grubu, soğuk stres, enalapril maleat ve soğuk stres ile beraber enalapril maleat uygulamalarının Fischer-344 sıçanlarının adrenal medulla, hipotalamus ve kalpte total RNA düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Stres hormonlarının kontrolünde ve salınmasında etkili enzimlerin düzeyleri hakkında ön bilgi sağlayacağı düşüncesi ile total RNA düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Soğuk stresi uygulamasında sıçanlar 48 saat süreyle +8°C'de soğuğa maruz bırakılmıştır. Enalapril maleat, 10 mg/kg olacak şekilde sıçanlara intraperitoneal olarak yapılmıştır. Soğuk stresi ile beraber enalapril maleat uygulamasında, sıçanlara 10 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak enalapril uygulandıktan sonra bu sıçanlar 48 saat +8°C'de soğuğa maruz bırakılmıştır. Uygulamalardan sonra sıçanlardan adrenal medulla, hipotalamus ve kalp doku örnekleri alınmıştır. Her üç organın doku örneğinde soğuk stresi uygulaması sonucu, total RNA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Enalapril maleate uygulamasında, adrenal medulla ve hipotalamusta total RNA seviyesindeki azalmalar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). Kalpte ise total RNA seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar gözlenmiştir (p<0.05). Üç organın doku örneğinde soğuk stres ile beraber enalapril maleate uygulanan grupta total RNA düzeyinde azalmalar saptanmıştır. Çalışma sonucu elde edilen bulgulara göre, hipotansif bir ilaç olan enalapril maleate'in, soğuk uygulamasının indüklediği total RNA'da meydana gelen artışı düşürerek, soğuk etkisi ile ortaya çıkabilecek strese bağlı olumsuz etkileri giderebileceği fikrini akla getirmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Soğuk stresi, enalapril maleat, total RNA, sıçan

**THE EFFECTS OF COLD STRESS TREATMENT AND ENALAPRİL MALEAT WHICH IS A HYPOTENSIVE DRUG ON TOTAL RNA LEVELS IN DIFFERENT RAT TISSUES****SUMMARY**

In this study, the effects of cold stress, enalapril maleat and enalapril maleate accompanied to cold stress treatments on total RNA levels of adrenal medulla, hypotalamus and heart tissues of Fischer -344 rats have been observed. Determination of total RNA levels was aimed for being able to get introductory information about the enzyme levels which play a central role in the control and secretion of stress hormones.

In cold stress treatment, rats were exposed to +8°C temperature during 48 hours. Enalapril maleate was injected intraperitoneally (10 mg/kg body weight). In cold stress accompanied to enalapril maleate treatment, enalapril maleate was injected in doses of 10 mg/kg per rat, after injection, rats were exposed to +8°C during 48 hours. After the treatments, tissue samples of adrenal medulla, hypotalamus and heart were taken.

In all three these tissues, elevations in total RNA levels were found to be statistically significant because of cold stress treatment (p<0.05). After enalapril maleate treatment, the decrease in total RNA levels of adrenal medulla and hypotalamus, were not found to be statistically significant (p>0.05). On the other hand, increase in total RNA levels of heart tissue had been found statistically significant (p<0.05). In the total RNA level of group which was exposed to enalapril maleate accompanied to cold stress a statistically significant decrease was found. As a result of this study, it was found that enalapril maleate which is a hypotensive drug was able to be eliminated negative effects of cold stress by lowering the increase of total RNA induced with cold stress treat.

**Key Words:** Cold stress, enalapril maleate, total RNA, rat

\*Bu çalışma XVII. Ulusal Biyoloji Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuş olup özet metni kongre kitapçığında yayınlanmıştır.

<sup>1</sup>Niğde Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Niğde

<sup>2</sup>Inönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MALATYA

Yazışma adresi: Dr. Zeliha SELAMOĞLU TALAS, Niğde Üniversitesi, Fen -Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 51100, Kampüs, Niğde

Tel: +90 388 225 21 26

Faks: +90 388 225 01 80

e-posta: ztalas@inonu.edu.tr

## GİRİŞ

Akut fiziksel ya da fizyolojik stres, hipotalamus başta olmak üzere diğer beyin bölgelerinde ve adrenal medullada total RNA düzeyinde artışlara yol açmaktadır (1). Fiziksel aktivite, fizyolojik stres organizmada adrenerjik sistemin uyarılmasını sağlar. Soğuğa maruz bırakılma ile oluşturulan soğuk stresi sonucu sıçanlarda kan basıncı ve kalp atımının arttığı bir çok çalışmada rapor edilmiştir (2, 3).

Organizmada kan basıncı, sıvı-elektrolit dengesi ve kan volümünün düzenlenmesinde rol oynayan başlıca sistemlerden biri; renin-anjiyotensin-aldosteron sistemidir. Renin-anjiyotensin sistemi (RAS), farklı dokularda geniş bir ifade alanına sahiptir. Aynı zamanda, kardiyovasküler homeostasisin düzenlenmesinde fizyolojik ve patolojik şartlarda, sıvı elektrolit dengesinde de önemli rol oynar (4, 5).

Renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminde etkiler anjiyotensin tarafından meydana getirilir. Anjiyotensin-II güçlü bir vazokonstriktör etkinin yanında, aldosteron salınımını da uyarak tuz ve su tutulumuna neden olmaktadır. Ayrıca RAS'ın aşırı aktivitesi hipertansiyon, sıvı ve elektrolit homeostasis bozukluklarıyla da sonuçlanabilir (5 - 7).

Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini etkileyen ilaçların en önemlileri, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE)'i inhibe ederek, anjiyotensin-II oluşumunu engelleyen ilaçlardır. ADE inhibitörleri, hipertansiyon tedavisinde antihipertansif etkilerinin yanı sıra kardiyovasküler sistemde de koruyucu etkilere sahiptir (4,5,7). ADE inhibitörlerinin önemli bir grubunu temsil eden enalapril sınıfı, periferik damar direncini azaltarak kan basıncının düşmesini sağlamaktadır (7 - 9).

Bu çalışmada, sıçan adrenal medulla, hipotalamus ve kalp dokularında soğuk stresi sonucu indüklenen stres hormonlarının (katekolaminlerin) salınımı ve sentezi ile beraber artan total RNA düzeyleri üzerine antihipertansif enalapril maleat'ın olası etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Çalışma Grupları

Deneylerde, ortalama 150-250 gram ağırlığında, üç aylık Fisher-344 (F-344) sıçanları kullanılmıştır. Sıçanlar çalışma boyunca 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda tutulup, su ve sıçan yemi verilerek beslenmiştir. Enalapril maleate ve soğuk stresi uygulamalarının oluşturduğu etkilerin enzimatik ifadesinde rol oynayan total RNA düzeyinin araştırılmasında kullanılan sıçanlar; her biri sekiz adet hayvan içeren kontrol, soğuk stres, enalapril maleat ve soğuk stres ile beraber enalapril maleat uygulama gruplarına ayrılmıştır. Kontrol grubunda yer alan hayvanlar oda sıcaklığında tutulmuşlardır. Soğuk stresi uygulamasında, sıçanlar 48 saat süreyle +8°C'de soğuk odada tutularak soğuğa maruz bırakılmışlardır. Enalapril maleat uygulama grubunda sıçanlara, serum fizyolojikte çözülen enalapril maleate, uygun doz olarak belirtilen miktarda, 10 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir. Soğuk stres ile birlikte enalapril maleat uygulamasında her bir sıçana 10 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak enalapril maleat verilmiştir. İlaç uygulamasından hemen sonra sıçanlar 48 saat +8°C'de soğuğa maruz bırakılmıştır. Uygulamalardan sonra sıçanlara ağırlıklarına göre anestezik madde olan sodyumpentobarbital 75 mg/kg olacak şekilde verilmiştir. Anesteziden sonra sıçanlardan diskeksiyon ile adrenal medulla, hipotalamus ve kalp organları bütün olarak alınmıştır.

### Total RNA Analizi

Alınan organlar homojenize edildikten sonra, doku homojenatlarında total RNA eldesi;

- özütleme,
- çöktürme ve daha sonra etanol ile yıkama,
- bidistile suda tekrar çözme olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerden sonra total RNA düzeyi 280 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak saptanmıştır (10).

### İstatistiksel Analiz

Soğuk stresi, enalapril maleat, soğuk stres ile beraber enalapril maleat uygulamalarının total RNA miktarı üzerine etkilerinin istatistiksel

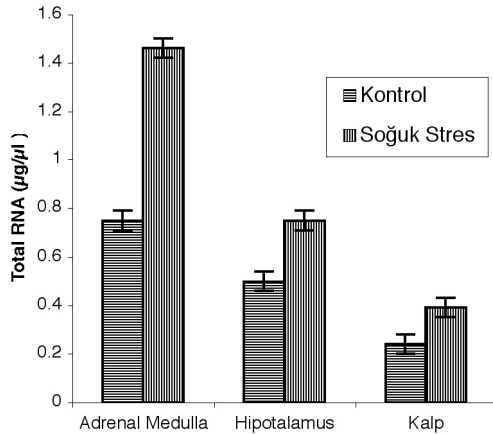
değerlendirmesinde, "SPSS 10.0" Windows paket programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler, her bir dokuda ölçülen parametrelerin uygulama gruplarında gruplar arası ile kontrol grubu değerleri arasında farkın önemlilik derecesi "ANOVA" ve "Least Significant Differences (LSD) testi" ile yapılmıştır. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir.

## BULGULAR

### Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Sıçanlar

Elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu F-344 sıçanlarının  $75 \mu\text{l}$  adrenal medulla doku homojenatındaki total RNA miktarı;  $0.75 \pm 0.07 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak bulunurken, soğuk stresi uygulanan grupta ise  $1.46 \pm 0.11 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak elde edilmiştir. Soğuk stresi uygulama grubunda ortaya çıkan bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Şekil 1).

$75 \mu\text{l}$  hipotalamus doku homojenatında ise kontrol grubunda total RNA seviyesi  $0.50 \pm 0.06 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak tespit edilmiştir. Soğuk stresi uygulama grubunda bu değer  $0.75 \pm 0.10 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak elde edilmiştir. Soğuk stresi uygulanan grupta total RNA miktarındaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Şekil 1).



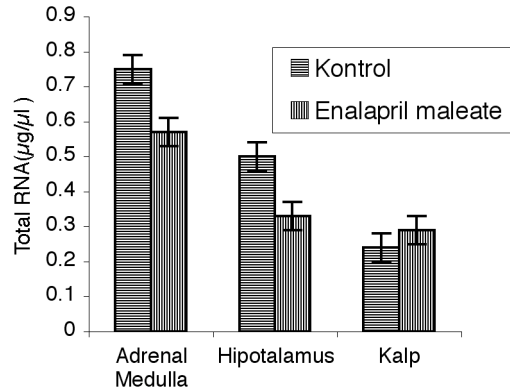
**Şekil 1.** Kontrol ve 48 saat soğuk stresine maruz kalan F-344 sıçanlarında adrenal medullada, hipotalamusta ve kalpte total RNA düzeylerini gösteren grafik \*( $P < 0.05$ ).

F-344 sıçanlarında  $75 \mu\text{l}$  kalp doku homojenatındaki total RNA miktarı üzerine 48 saat soğuk stresi uygulamasının etkileri incelenmiştir. Kontrol grubunda bu değer  $0.24 + 0.01 \text{ g/l}$  olarak hesaplanırken, 48 saat soğuk stresi uygulamasında total RNA miktarı;  $0.39 + 0.01 \text{ g/l}$  olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Şekil 1). 48 saat soğuk stresi uygulaması F-344 sıçanlarında kalpte total RNA miktarını arttırmıştır.

### Enalapril Maleat Uygulanan Sıçanlar

$75 \mu\text{l}$  adrenal medulla doku homojenatında; kontrol grubunun total RNA miktarı  $0.75 \pm 0.07 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak saptanırken, enalapril maleat uygulanan grupta,  $0.57 \pm 0.07 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında total RNA seviyesinde bir azalma olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı saptanmıştır ( $P > 0.05$ ) (Şekil 2).

$75 \mu\text{l}$  hipotalamus doku homojenatındaki; kontrol grubu total RNA seviyesi,  $0.50 \pm 0.06 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak bulunmuştur. Enalapril maleat uygulanan grupta ise,  $0.33 \pm 0.05 \mu\text{g}/\mu\text{l}$  olarak elde edilmiştir. Uygulama grubunda meydana gelen total RNA düzeyindeki azalma, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.05$ ) (Şekil 2).



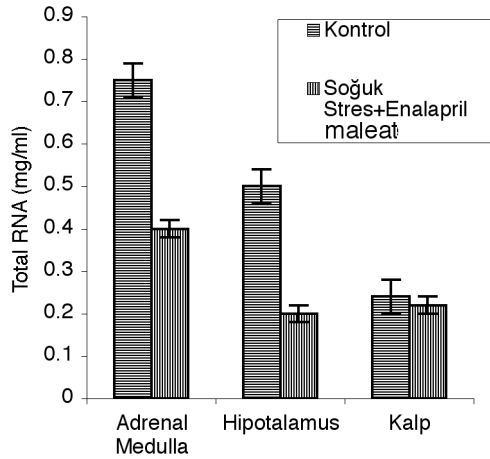
**Şekil 2.** Kontrol ve enalapril maleat uygulanan F-344 sıçanlarında adrenal medullada, hipotalamusta ve kalpte total RNA düzeylerini gösteren grafik \*( $P < 0.05$ ).

F-344 sıçanlarında 75  $\mu$ l kalp doku homojenatındaki total RNA miktarı üzerine enalapril maleat'nin etkileri incelenmiştir. Kontrol grubunda bu değer; 0.24 + 0.01  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak bulunurken, enalapril maleat uygulama grubunda total RNA miktarı; 0.29 + 0.01  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak hesaplanmıştır. Bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Şekil 2). Yapılan bu çalışmada enalapril maleat kalpte total RNA miktarını artırıcı etki göstermiştir.

#### Soğuk Stresi ve Enalapril Maleat Uygulanan Sıçanlar

Adrenal medulla kontrol grubu total RNA seviyesi 0.75 $\pm$ 0.07  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak bulunurken, soğuk stresiyle birlikte enalapril maleat uygulanan grupta total RNA seviyesi 0.40 $\pm$ 0.03  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak tespit edilmiştir. Soğuk stresi ve enalapril maleat uygulama grubunda meydana gelen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Şekil 3).

Hipotalamusta kontrol grubu total RNA miktarı 0.50 $\pm$ 0.06  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak elde edilmiştir. Soğuk stresi ve enalapril maleat uygulama grubunda ise bu değer 0.20 $\pm$ 0.02  $\mu$ g/ $\mu$ l olarak bulunmuştur. Uygulama grubunda gözlenen bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0.05$ ) (Şekil 3).



**Şekil 3.** Kontrol ve 48 saat soğuk stresi ile birlikte enalapril maleat uygulamasında F-344 sıçanlarında adrenal medullada, hipotalamusta ve kalpte total RNA düzeylerini gösteren grafik \*( $P<0.05$ ).

F-344 sıçanlarında kalpte total RNA miktarı kontrol grubunda; 0.24 + 0.01g /l olarak bulunurken, 48 saat soğuk stresiyle beraber enalapril maleat uygulama grubunda ise 0.22 + 0.01 g /l olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Şekil 3).

#### TARTIŞMA

Adrenerjik sistem, kalp kasılma gücünde etkili olup, kalp atımının ve kan basıncının düzenlenmesinde rol oynar (11). Benzer şekilde soğuğa maruz bırakılma ile oluşturulan fizyolojik stres beyin, kalp ve adrenal medullayı harekete geçirerek bu bölgelerde öncelikle total RNA düzeyini artırır (11). Buna bağlı olarak bu bölgelerden stres hormonlarının sentez ve salınımı hızlanır. Artan total RNA düzeyi, stres hormonlarının sentezinde görevli olan enzimlerin aktivitesinin de artışı yansıtmaktadır (11). Adrenerjik rol oynayan katekolaminler; beyinde, adrenal medullada ve kalpte sentezlenir (11). Ön maddesi tirozin aminoasidi olan bu katekolaminlerin sentezlendiği yolda, tirozin hidroksilaz anahtar enzimdir. Soğuğa maruz bırakılan beyin, adrenal medulla, kalp ve merkezi sinir sistemindeki katekolaminlerin salınma ve sentezinde artışla birlikte, bu hormonların sentezinde görevli olan enzimlerin gen ifadesinin bir göstergesi olan total RNA düzeyinde de artışlar meydana gelmektedir (12-15). Artan stres hormonları, kan basıncının artışı ve buna bağlı olarak hipertansiyon gibi fizyolojik durumların ortaya çıkmasında rol oynamaktadır. Hipertansiyon, kalp atım sayısı ve kan basıncındaki artış gibi olumsuz etkilerin giderilebilmesi için, organizma kendi düzenlemelerini yaparken, ek olarak dışsal düzenleyici faktörler olarak alınan ilaçlar da bu düzenlemelere yardımcı olmaktadır (6, 16).

Elde edilen bulgulara göre soğuk uygulaması sonucu oluşturulan fizyolojik stres, adrenal medulla, hipotalamus ve kalpte stres hormonlarının sentezinde görev alan enzimlerin aktivitesini ifade eden total RNA'yı arttırmıştır (12 - 14). Soğuk uygulamasıyla oluşabilecek hipertansiyon gibi olumsuz etkilerin meydana gelmesinin bir

göstergesi olarak total RNA düzeyinde artışlar saptanmıştır (1, 12). Antihipertansif bir ilaç olan enalapril maleat'ın total RNA seviyesinde azalmalara yol açması, bu olumsuz etkilerin giderilmesinde, adrenal medulla ve hipotalamusun strese karşı organizmayı koruyucu rolleri yönünden yararlı etkilerinin olabileceğini göstermektedir (4, 7, 9).

Kardiyovasküler sistemin strese karşı oluşturduğu cevapta; kalp atım sayısı, kalp atım gücü, kan basıncının arttığı bilinen bir durumdur (2, 3). Kalp dokusu sempatik ve parasempatik sinir sisteminin kontrolünde organizmanın ihtiyacına göre çalışmaktadır. Enalapril maleat uygulamasıyla meydana gelen kalp atım sayısında azalma ve kan basıncındaki düşüş, kalp dokusunun otonomik sinirlerle organizmanın durumuna ve ihtiyacına göre hareket etmesi ile açıklanabilir. Tarafımızdan yapılan çalışmada da enalapril maleat'ın kan basıncını düşürücü etkisine bağlı olarak kalp, otonomik sinirlerin etkisiyle bu duruma karşı kendi çalışma sistemini düzenleyerek, kan basıncının artırılmasına yönelik hareket ettiğini ve bunun bir ifadesi olarak da total RNA düzeyinde bir artış olduğu gösterilmiştir.

Enalapril maleat'ın kan basıncını düşürmede HPA (hipotalamik-pituitary-adrenal) ekseninde katekolamin sentezinde rol oynayan enzimlerin RNA düzeylerinde azalmalara neden olduğu, ancak kalp dokusunda farklı şekilde etkili olabileceği ve benzer nedenlerle kalp dokusunda total RNA düzeylerinde artış görülmesinin mümkün olabileceği gösterilmiştir (17). Kısaca kalp dokusunun soğuk strese sonucu enalapril maleat uygulamasına olumlu tepki gösterdiği söylenebilir. Kontrol, soğuk strese ve soğuk stres ile birlikte enalapril maleat uygulanan gruplarda elde edilen total RNA verileri beraber değerlendirildiğinde, soğuk stresine bağlı olarak Hipotalamus-hipofiz-adrenal medulla eksenindeki hipotalamus ve adrenal medullada total RNA miktarlarının artması strese cevapta rol oynayan bu yapılarda transkripsiyonel düzeyde etkileşim olduğunu göstermektedir (18-20). Enalapril maleat uygulanan grupta ise total RNA düzeylerindeki azalma, dönüştürücü enzimin inhibe edildiğini akla getirmektedir. Bu çalışma ile soğuk strese ve enalapril maleat uygulamasına bağlı olarak transkripsiyonel düzeyde bir yaklaşım sağlanmaya çalışılmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Devlin TM. Textbook of Biochemistry. Hahnemann University School of Medicine A. Wiley Medical Publication. New York ,1986.
2. Fregly MJ, Kikta DC, Threatte RM, Torres JL, Barney CC. Development of hypertension in rats during chronic exposure to cold. J Appl Physiol 1989; 66 (2): 741-9.
3. Sun Z, Cade JR, Fregly MJ. Cold-induced hypertension. A model of mineralocorticoid-induced hypertension. Ann N Y Acad Sci 1997; 813: 682-8.
4. Murat SN, Ececi ZA, Angiotensin Konverting Enzim İnhibitörleri ve Klinik Kullanımı. Türkiye Tıp Dergisi 1995; Sayı: 3, Cilt: 2
5. Birincioğlu M, Aksoy T, Ölmez E, et al. Protective Effect of ACE Inhibitors on Ischemia-Reperfusion-induced Arrhythmias in Rats: Is this Effect Related to the Free Radical Scavenging Action of these Drugs?. Free Rad Res 1997; 27 (4): 389-96.
6. Noyan A, Fizioloji Ders Kitabı. 8. Baskı, Ankara: Anadolu Üniversitesi Yayınları. No: 2 Meteksan, 1980.
7. Katzung BG. Temel ve Klinik Farmakoloji Cilt I, İstanbul : Barış Kitabevi, 1995.
8. Opie LH. Angiotensin- Converting Enzyme: Scientific Basis for Clinical Use. John Wiley& Sons's Pres, 1994.
9. Tümer N, and La Rochelle JS. Tyrosine Hydroxylase Expression in Rat Adrenal Medulla: Influence Influence of age and cold. Pharmacol Biochem Behave 1995; 51 (4): 775-80.

10. Chomzynski P, Sacchi N. Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanatephenol – Chloroform Extraction. *Anal Bio Chem* 1987; 162: 156-9.
11. Roberts J, Tümer N. Age related changes in autonomic function of catecholamines. *Review of Biological in Aging* 1987; 3: 257-98 .
12. Reynolds JEF, Martindale. *The Extra Pharmacopoeia*. Thirty first Edition. Pharmaceutical Society. London Royal, 1996.
13. Miner LL, Baruchin A, and Kaplan BB. Effect of Cold Stress on cholinergic receptors in the rat adrenal gland. *Neurosci Lett* 1989; 106(3): 339-44.
14. Fregly MJ, Rossi F, Sun Z, et al. Effect of Chronic Treatment with Prazosin and L- Arginine on the Elevation of Blood Pressure during Cold Exposure. *Pharmacol* 1994; 49(6): 351-62.
15. Tümer N, Bowman CJ, La Rochelle JS, et al. Induction of tyrosine hydroxylase by forskolin: Modulation with age. *Eur J Pharmacol* 1997; 324: 57-62.
16. Axelrod J, Mueller RA, Henry JP, et al. Changes in enzymes involved in the biosynthesis and metabolism of noradrenaline and adrenaline after psychosocial stimulation. *Nature* 1970; 225:1059-60.
17. Smith MA, Brady LS, Glowa J, Gold PW and Herkenham M. Effects of stress and adrenalectomy on tyrosine hydroxylase mRNA levels in the locus ceruleus by in situ hybridization. *Brain Res* 1991; 544: 26-32.
18. Stachowiak MK, Fluharty SJ, Stricker EM, Zigmund MJ, Kaplan BB. Molecular adaptations in catecholamine biosynthesis induced by cold stress and sympathectomy. *J Neurosci Res*. 1986; 16 (1): 13-24.
19. Baruchin A, Vollmer RR, Miner LL, Sell SL, Stricker EM, Kaplan BB. Cold-induced increases in phenylethanolamine N-methyltransferase (PNMT) mRNA are mediated by non-cholinergic mechanisms in the rat adrenal gland. *Neurochem Res*. 1993 Jul; 18 (7): 759-66.
20. Baruchin A, Weisberg EP, Miner LL, Ennis D, Nisenbaum LK, Naylor E, Stricker EM, Zigmund MJ, Kaplan BB. Effects of cold exposure on rat adrenal tyrosine hydroxylase: an analysis of RNA, protein, enzyme activity, and cofactor levels. *J Neurochem*. 1990 May; 54 (5): 1769-75.