

## KEDİLERDE MEYDANA GETİRİLEN AKUT DİĞİTAL TOKSİKASYONUN- DA ERİTROSİT KOLİNESTERAZ ENZİMİ DEĞİŞİKLİKLERİ

Uz. Y. Kesim xx

Dr. H. Gacar xxx

Uz.N. Gacar Bxxxx

Uz.N. Banođlu xxxxx

### ÖZET

*Digital glikozitleri, ikiyüz yıldan beri konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan kıymetli ilaçlardır. Araştırmamız, bu ilaçların kolinerjik sistem üzerine olan etkilerini gözönüne alarak yapılmıştır. Vagal tonüsü indirekt olarak etkileyen kolinesteraz enzimi üzerine digitalin etkileri incelendi.*

*Her iki cinsten 30 sıhhatli kedide anestezi altında artan dozlarda ouabain uygulandı. Arter ve ven kanı eritrositlerinde kolinesteraz enzimi tayini pH metrik metotla yapıldı.*

*Bulgular, artan digital dozlarında arter ve ven kanı eritrositlerinde kolinesteraz enzimi değerlerinin önemli ölçüde azaldığını gösterdi.*

### GİRİŞ VE AMAÇ

Digitalin etkilerinde, otonom sinir sisteminin kontrolü vardır. Otonom etkiler, kalbi dolaylı bir şekilde etkilerler (1,2) Parasempatik sistemin etkisi daha belirgin, sempatik sisteminki ise az belirgindir. Çünkü yetmezlikte ortaya çıkan sempatik hiperaktivite, digitalin yetmezliği düzeltilmesi ile ortadan kalkar ve ilacın sempatik etkisi maskelenir.

Bu ilaçlar, etkilerini kısmen vagal kismende ekstravagal yollarla gösterirler. Vagal yolla meydana gelen kalp atım sayısındaki azalma, kalbin diyastolde daha

x VI. Ulusal Farmakoloji kongresinde tebliğ edilmiştir.

xx Atatürk Üniv. Tıp Fak. Farmakoloji Ana Bilim Dalı Uzmanı

xxx " " " " " Profesörü

xxxx " " " " " Uzmanı

xxxxx

iyi dolmasını sağlar ve yetmezliğin düzelmesine katkıda bulunur. Negatif kronotrop etki, digitalin pozitif inotropik etkisinden sonra gelen ikinci önemli etkidir. Digital toksikasyonunda ortaya çıkan belirtiler, vagal tonüs artmasındaki belirtilere benzemektedir. Nitekim artan digital dozları ile ortaya çıkan bradikardi, atropin verilmesi ile kalkmaktadır (1,3,4,5,6,7).

Parasempatik etkinliği artırmaları şu şekilde olmaktadır.

1- Kalp ve dolaşım sisteminde direkt etkileri yanında endirekt etkileri ile baroreseptör ve kemoreseptörleri etkilerler. 1971 ve 1974 de Quest ve Gilles baroreseptörleri, 1958 de Smith ve arkadaşları kemoreseptörleri digitalin etkilediğini göstermişlerdir (1,6,8,9,10)

2- Beyin sapındaki vagus çekirdekerini uyarırlar. (1,9) Artan vagal tonüs ile kalp atım sayısında yavaşlama, uyarı oluşumunda azalma, atriyal refrakter periyodda kısalma, A-V düğümün refrakter periyodunda uzama meydana gelir ve ileti yavaşlar.

3-a) Sinüs düğümünün parasempatik sinir ucundan açığa çıkan asetilkoline duyarlılığı artırır. Digital aritmileri, menşeyini A-V düğümün asetilkoline duyarlı olan kısmında alır.

b) Digital, asetilkolinin etkisini potansiyalize eder.

c) Digitalin asetilkolin açığa çıkışını artırdığına dair önemli deliller mevcuttur. Bu etki direkt çalışmalarla gösterilmiş olup nöronal dokudan asetilkolin açığa çıkışı ölçülmüştür (4,5,7,11,12).

Parasempatik sistem mediatörü olan asetilkolini 30 saniyede hidrolizle parçalayan kolinesteraz enziminin kalpte özellikle sinüs düğümünde konsantre olduğunu histokimyasal lokalizasyon çalışmaları göstermiştir. Kalpte genellikle asetilkolinesteraz az miktarda da (% 7-15) psödokolinesteraz bulunmaktadır (13,14).

Yüz yıl kadar önce Lewi ve arkadaşları tarafından bulunan kolinesteraz enziminin 2 tipi vardır.

1- Hakiki kolinesteraz veya asetilkolinesteraz denilen birinci tipi eritrositlerde, beyinde, sinir dokusu, iskelet kasları, düz kaslar, kalp ve plasentada bulunur (E.C.: 3.1.1.7) (15,16)

2- Psödokolinesteraz veya nonspesifik kolinesteraz denilen diğer tipi ise plazma, karaciğer ve sinir sisteminin glia hücrelerinde bulunmaktadır (E.C.: 3.1.1.8) (15,16,18)

Digital toksikasyonuna sık rastlanılmaktadır. Dünyanın sayılı kardioloji merkezlerinde bile zehirlenme insidansının % 20 ye yakın olduğu bildirilmiştir. (4,9,20,21) Digital toksikasyonunun ana nedenlerini, ilacın tedavi edici ve toksik

dozunun birbirine çok yakın olmasının yanısıra ilaca sahiplerin verdikleri cevapların farklı oluşu, ilacın birikici özelliğinden dolayı bilincsiz ve kontrolsüzce yapılan digital kullanımı teşkil eder.

Digital toksikasyonu, kalp ve kalp dışı belirtilerle tesbit edilir. Ölüm oranı yüksek olan bu tabloyu, balangıçta tesbit etmek ve ilaca duyarlılığı saptamak için klinik bulguların yanısıra çeşitli labaratuvar yöntemlerine de ihtiyaç olabilir.

Deneyssel çalışmamızda, digital toksikasyonunun teşhisine yardımcı olmak amacıyla artan digital dozlarında arter ve ven kanında normale göre eritrosit kolinesteraz enzimi değişikliklerini saptayarak vagal aktiviteyi indirekt olarak yanıtan bu enzimin tayinini yaptık.

## MATERYAL VE METOD

Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı labaratuvarlarında, her iki cinsten 30 sıhhatli kedide anestezi altında akut digital toksikasyonu oluşturuldu.

Ağırlıkları 1400 ile 4000 g arasında değişen kediler 15 gün gözetim altında tutulduktan sonra 40 mg/kg Sodyum pentobarbital (Nembutal) anestesisine alındılar. Operasyon masasına tesbit edilip trakeostomi yapıldıktan sonra sağ femoral ven kanüle edildi. ve bir serum setine bağlandı. Pıhtılaşmayı önlemek amacı ile 500 I.Ü/kg heparin verildi. Kan örnekleri almak için sol femoral arter ve ven kanüle edildi. Tansiyon arteriyeli takip etmek için sağ karotis arter diseke edilerek civalı manometreye bağlandı. Sıfır seviyesi ayarlanıp kimoğrafta tesbit edilmiş isli kağıt üzerine vites 192, sec 5 de kayıt yapıldı. Santral ven basıncı, sol jugular venden serum setindeki bir göstergeden okundu.

Arter ve venden 4 er ml kan örnekleri alındıktan sonra 30 dakika 2000 devirde santrifüjlenerek kanın şekilli elemanları ayrıldı. Eritrositleri, trombosit ve lökositlerden ayırmak için vakumlu pompa kullanıldı. Ayrılan eritrositlerin üzerlerine hacimlerinin 5 katı % 0,9 luk serum fizyolojik ilave edilip 15 dakika 2000 devirde santrifüjlendi. Bu işlem 3 kez yapılarak eritrositler iyice ayrıldı. Deep freezer de saklanan eritrosilerin kolinesteraz enzimi değerleri bekletilmeden tesbit edildi.

İlk doz 40 gama/kg i.v. ouabain verildi. 20 dakikalık aralıklarla ilaç 20 gama/kg artırılarak digital verilmesi ölüme kadar sürdürüldü. Bu arada tansiyon arteriyel, ilacın kalpteki etkileri ve santral ven basıncı devamlı izlendi. Her ilaç dozundan 10 dakkika sonra arter ve venden alınan kan örneklerinde eritrosit kolinesteraz enzimi pH metrik metodla tayin edildi. (22) Her tayin iki kez yapıp ortalaması alındı.

Deneyin prensibi Asetilkolin, hidrolize kolin ve asetik asid meydana getirmektedir. Belirli pH da belirli miktar asetilkolin, kan plazması ve eritrositlerde

bulunan bilinmeyen miktardaki enzimle inhibe edilir. Hidrolizin derecesi, enzim konsantrasyonuna bağlıdır. Ortama verilen asidenden dolayı pH'nın düşmesi, mevcut kolinesteraz miktarı ile doğru orantılıdır.

Verilerimiz, sonunda normal ve artan dozlara göre bioistatistikî analize tabî tutuldu.

## BULGULAR

Kedilerde artan ouabain dozlarında arter ve ven kanı eritrositlerinde kolinesteraz seviyeleri ortalamaları normale göre anlamlı derecede düşük bulundu. (tablo 1).

(Tablo 1- Arter ve ven kanı eritrositlerinde normal ve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz enzimi değerleri ortalamaları ve standart sapmaları)

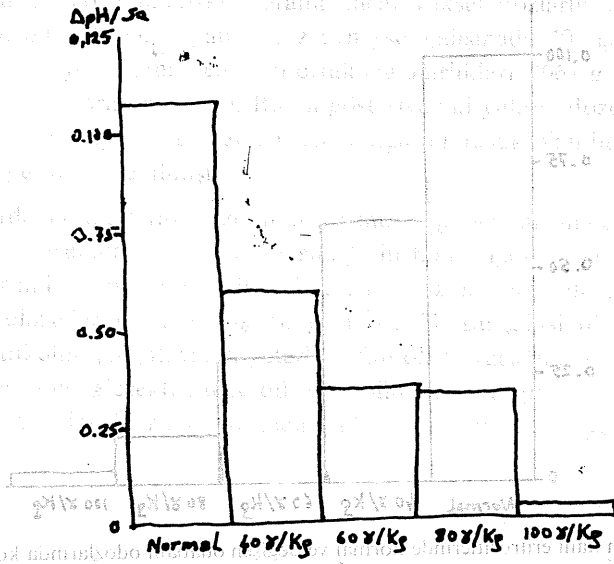
Arter ve ven kanı eritrositlerinde normal ve değişen Ouabain dozlarında kolinesteraz enzimi değerleri ortalamaları ve standart sapmaları  $\Delta pH/saat$

Parametreler		Değerler					
		NORMAL	40 $\gamma/kg.$	60 $\gamma/kg.$	80 $\gamma/kg.$	100 $\gamma/kg.$	
ERİTROSİT	ARTER	Ort.	0.110	0.068	0.043	0.039	0.007
		S.D.	$\pm 0.112$	$\pm 0.069$	$\pm 0.055$	$\pm 0.076$	$\pm 0.024$
	VEN	Ort.	0.100	0.058	0.028	0.011	0.008
		S.D.	$\pm 0.070$	$\pm 0.048$	$\pm 0.029$	$\pm 0.023$	$\pm 0.028$

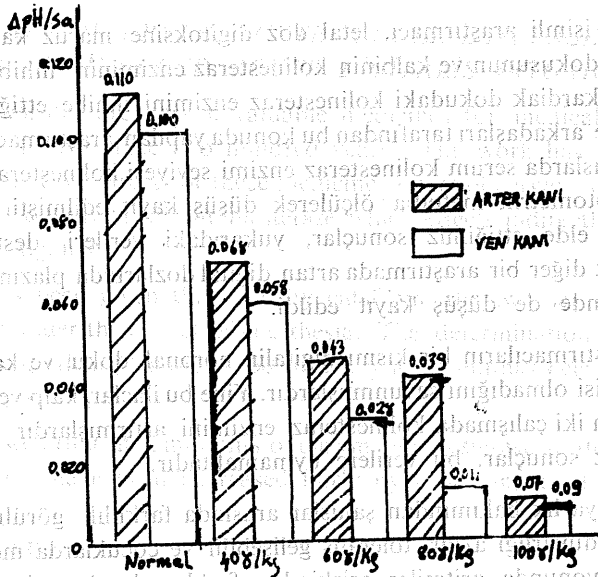
Bu azalma arter kanında 100  $\gamma/kg$  da % 93,6 ya ulaşırken (şekil 1) ven kanında % 91 re ulaştı. (şekil 2). Deney hayvanlarının arter ve ven kanı eritrositlerinde kolinesteraz enzimi değerleri arasında normale göre ve bütün dozlarda istatistikî anlamda fark görülmedi. ( $t = 2.0$   $p < 0,05$ )

## TARTIŞMA

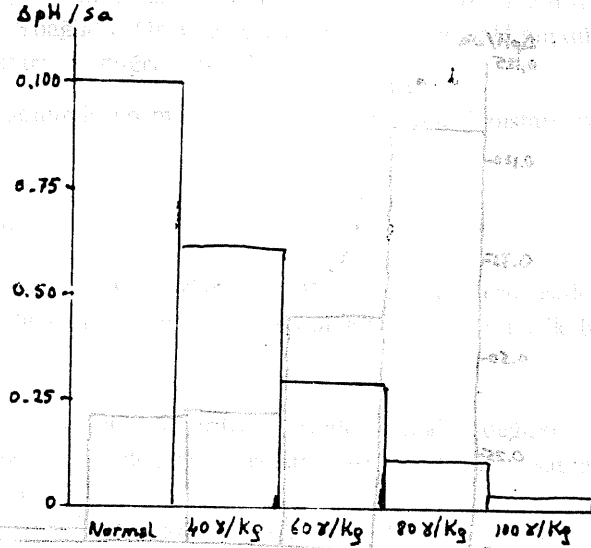
Digitalin serumda, beyinde, kardiak ve nöronal dokuda asetilkolini parçalayan kolinesteraz enzimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmalar in vivo ve in



Şekil 1- Arter kanı eritrositlerinde normalve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz enzimi değerleri ortalamaları.



Şekil 2- Ven kanı eritrositlerinde normal ve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz enzimi değerleri ortalamaları.



Şekil 3- Arter ve ven kanı eritrositlerinde normal ve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz enzimi değerleri.

vitro şartlarda yapılmış olup bir kısım araştırmacılar, etki olmadığını savunurken bir kısmı artırdığını bir kısmı ise azaltıp inhibe ettiğini bildirmişlerdir. (5)

Shinohara isimli araştırmacı, letal doz digitoksine maruz kalmış kedilerin beyin medüller dokusunun ve kalbinin kolinesteraz enziminin inhibisyonunu ayrıca ouabainin kardiyak dokudaki kolinesteraz enzimini inhibe ettiği saptanmıştır (5). Ekmekçi ve arkadaşları tarafından bu konuda yapılan araştırmada da klinikte digital alan şahıslarda serum kolinesteraz enzimi seviyesi, kolinesteraz kiti kullanılarak spektrofotometrik metodla ölçülerek düşüş kayıt edilmiştir. (4) Bizimde deneylerimizde elde ettiğimiz sonuçlar, yukarıdaki verileri desteklemektedir. Yine yaptığımız diğer bir araştırmada artan digital dozlarında plazma kolinesteraz enzimi seviyesinde de düşüş kayıt edildi.

Ancak araştırmacıların bir kısmı digitalin nöronal doku ve kalp kolinesterazı üzerine etkisi olmadığını savunmuşlardır. Yine bu ilaçlar, kalp ve beyin dokusu üzerinde yapılan iki çalışmada kolinesteraz enzimini artırmışlardır (5). Çalışmamızda aldığımız sonuçlar, bu verilere uymamaktadır.

Digitale duyarlılık bakımından şahıslar arasında farklılık görülmektedir. Ayrıca çocukların duyarlılığı azdır. tolerans gelişebilir ve çocuklarda meydana gelen digital toksikasyonunda aritmiler erişkinden farklı olarak atrium kaynaklıdır (1,13,14,22,23,24,25,26) Yapılan araştırmalarda bebek kalbinin kolinesteraz enziminin erişkinden fazla olduğu tesbit edilmiştir. Buna göre, digital, asetilkolin

salınımını indüklediğinde mediatörü parçalayacak yeterli enzim bulunduğundan vagal tonüs artışı, çocukta erişkine oranla ancak yüksek dozlarda ortaya çıkacaktır diye düşünülebilir. Nitekim yaptığımız deneysel çalışmada 40 gama/kg ouabain dozunda toksikasyona giren kedilerin ortalama ağırlıkları 2667 g iken 100 gama/kg dozda 1917 g olarak bulundu. Bu da gösteriyor ki yüksek dozda toksikasyona giren kediler daha zayıftı. Deney esnasında ağırlığı düşük olan bu kedilerin yavru kediler olduğu tesbit edilmişti.

İnsanlarda kolinesteraz enziminin normal değerleri arasında farklılık görülebilmektedir. Serumda bu enzimin eksikliğinin homozigot ressesif bir gene bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu şahıslarda kolinesteraz enzimi hem daha az-miktarda asetilkolini hidroliz eder hemde yavaş etki gösterir. (27) Bu şahıslarda digitalin etkisi ile artan asetilkolini parçalayarak yeterli enzim olamayacağından toksikasyon daha kolay meydana gelecektir. diye düşünülebilir. Bu azalışın mekanizması bilinmemektedir. Yapılan literatür taramalarında her hangi bir bilgiye rastlanamamıştır.

## SONUÇ

Bulgularımız, digitalin artan dozları ile kolinesteraz enzimi düzeyindeki düşüşün paralel gittiğini göstermektedir. Bu nedenle, digitalin uygulanırken kolinesteraz enzimi düzeyinin bilinmesinin yararlı olacağı kanısındayız.

## SUMMARY

### *THE VARIATION OF ERYTHROCYTE CHOLINESTERASE ACTIVITY-LEVELS -IN CATS INDUCED ACUTE DIGITALIS INTOXICATION.*

Digital glycosides are known valuable medicines for medical treatment of "cardiac insufficiency" since two hundred years. This work has been made by taking into account the effects of these medicines on cholinergic system. The effects of digitalis on enzyme of cholinesterase which effects indirectly. Vagal tonus have been investigated.

Ouabain has been given thirty healthy cats from the two sex with gradually increasing doses under the effect of anesthesia. The determination enzyme of cholinesterase in the erythrocytes the blood of artery and vein has been made by pH metric method.

Results showed that the amounts of enzyme cholinesterase in the erythrocytes of artery and vein have been decreased fairly by increasing digital doses.

## KAYNAKLAR

- 1- Kayaalp, O.: Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji. Nüve matbaası, Ankara, 1982 Cilt II, 927-968.

- 2- Ogden, P. C., Selzer, A., Cohn, K. E.: The relationship between the inotropic and dromotropic effects of digitalis: The modulation of these effects by autonomic influences. *Am. Heart. J.* 77: 628-635 1969.
- 3- Dökmeci, İ.: Farmakoloji, Diyarbakır Üniversitesi basımevi, Diyarbakır 1979, 518-535.
- 4- Ekmekçi, A., Eroiler, D., Danapulos, D., Meriç, M., Özkan, E., Güven, S., Eroğlu, L., Keyer, M., Canberk, A.: Digital zehirlenme tanısında serum kolineraz aktivite değişikliklerinin önemi. *Doğa.* cilt: 2, sayı: 3, 182-187, 1978.
- 5- Gillis, R. A., Cuel, J.A.: The role of the nervous system in the cardiovascular effects of digitalis.: *Pharmacological review.* 31: 19-97, 1979.
- 6- McLain, P.L., Kruse, T.K., Redick, T.F.: The effect of atropine on digitoxin bradycardia in cats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 126: 76-81, 1958.
- 7- Tavat, S., Garan, R., Artunkal, S., Akçasu, A.: Farmakoloji ve Tedavi Tatbiki. Milli Eğitim Basımevi, İstanbul, 1961. pp: 147-149, 223-252.
- 8- Gomes, J.A.C., Kang, F.P.S., El-Sherif, N.: Effects of digitalis on the human sick sinus node after pharmacologic autonomic blockade. *Am. J. Cardiol.* 38: 783-788, 1981.
- 9- Okutur, Y.: Digitalize hastalarda serum ve eritrosit içi  $Na^+K^+$  değerleri ve bunların tedavi açısından klinik önemleri üzerine bir çalışma. İhtisas tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1979, Erzurum.
- 10- Weaver, L. C., Akera, T., Brody, T.M.: Digoxin toxicity: Primary sites of drug act on on the sympathetic nervous system. *J. Pharmac. Exper. Therap.*, 197: 1-9, 1976.
- 11- Goldberg, L. I.: Pharmacology of cardiovascular drugs. Ed. Huist. J.W., Lague, R.B., Schlant, R.C., Wenger, N.K. The heart. Third ed. McGraw-hill book company. A. Blakiston Publication. New York 1974, 160-1697.
- 12- Urthaler, T.N.J. F., Lew s, R.K.: Termination of "ventricular" arrhythmias from digoxin by selective production of complete atroventricular block with physostigmine in the dog. *J. Phamac. Exper. Therap.* 211: 461-569, 1979.
- 13- Sinha, S.N., Keresztesnagy, S., Frankfater, A.: Studies on the distribution of cholinesterases: Activity in the human and dog heart. *Pediat. Res.* 10: 754-758, 1976.
- 14- Stephans, L.B., Greenberg, M.J.: The localization of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the heart, cardiac ganglion and the lateral and dorsal nerves of limulus polyphemus, *J. Histochem Cytochem.* 21: 923-931, 1973.



- 15- Hertz, F., Kaplan, E.: A Review: Human erythrocyte acetylcholinesterase. *Pediatr. Res.* 7: 204-214, 1973.
- 16- Koelle, G. B., Rickard, K. K., Ruch, G. A.: Interrelationships between ganglionic acetylcholinesterase and nonspecific cholinesterase of the cat and rat. *Neurobiology.* 76: 6012-6016, 1979.
- 17- Kobanođlu, M.: Akut bakteriyel menenjitli çocukların serum ve beyin omurilik sıvılarında kolinesteraz aktivitesi. İhtisas tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1976. Erzurum.
- 18- Tezcan, F.: İnsan serum psödokolinesterazının-alt birim yapısı. Doçentlik tezi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi. Ankara, 1974.
- 19- Beller, G. A. et. al.: Digitalis intoxication: A prospective clinical study with serum level correlations. *N. Engl. J. Med.* 284: 989-997, 1971.
- 20- Oparıl, S.: Digitalis assay and its clinical application. Symp. on cardiac rhythm disturbances I. 61: 193-205 1976.
- 21- Smith, T. W., Haber, E.: Digitalis intoxication: The relationship of clinical presentation to serum digitalis concentration. *J. Clin. Invest.* 49: 2377-2386, 1970.
- 22- Herz, F., Kaplan, E., Scheye, E. S.: Erythrocyte acetylcholinesterase and glucose 6-phosphatedehydrogenase in newborn and infants of low birth weight. *Clinica chemica acta.* 46: 147-152, 1973.
- 23- Sinha, S. N., Lyelich, M. R., Keresztesnagy, S., Frankfater, A.: Regional distribution of acetylcholinesterase in the right atria of humans and dogs. *Pediatr. Res.* 13: 1217-1221, 1979.
- 24- Kelliher, G. J., Roberts, J.J.: Effects of age on the cardiotoxic action of digitalis. *Jour. Pharm and exper. therap.* 197: 10-18, 1976.
- 25- Parlar, A. Ü.: Süt çocuklarında ve çocuklarda digoxin toksisitesinin tükürük elektrolitleri ile tayini. *Dihim.* 5-6: 131-140, 1978.
- 26- Toda, N.: Cardiotoxic and inotropic effects of ouabain on atria isolated from rabbits of different ages. *Br. J. Pharmac.* 72: 263-270, 1981.
- 27- Ekmekçi, A. Eroler, D., Danapulos, D., Korkut, F., Koyuncuođlu, H., Özkan, E., Özcan, R.: Kolinesteraz azlığına bağlı ağır ileti bozukluğu gösteren bir vaka. *Doğa.* I: 53-58, 1977.