

PLAZMA KOLİNESTERAZI ÜZERİNE OUABAİN'İN ETKİLERİ

Uz. Y. Kesim (x)

Dr. H. Gacar (xx)

Uz. N. Gacar (xxx)

Uz. N. Banoğlu (xxxx)

ÖZET

Digital glikozitlerinin kalp ve kalp dışı sistemlere olan etkileri, geniş bir şekilde araştırılmıştır. Bu çalışmalar halen önemini kayıp etmeden devam etmektedir. Bizde çalışmamızda, digitalin plazma kolinesterazı üzerine etkilerini inceledik.

Her iki cinsten 30 sıhhatli kediye anestezi altında artan dozlarda ouabain uygulandı. Arter ve ven kanı plazmalarında kolinesteraz tayini, pH metrik metoddla yapıldı.

Bulgular, artan ouabain dozlarında arter ve ven kanı plazmalarında kolinesterazın normale göre önemli ölçüde azaldığını gösterdi.

GİRİŞ VE AMAÇ:

Digital glikozitleri, etkilerini kısmen vagalkısmen de akstravagal yollarla gösterirler. Digital toksikasyonunda ortaya çıkan belirtiler, vagal tonüs artmasındaki belirtilere benzemektedir. Digital toksikasyonuna sık rastlanılmaktadır. Dünyada zehirlenme insidansının % 20 ye yakın olduğu bildirilmiştir. (1,2,3,4) Bunun nedenleri, ilacın emniyet alanının dar olması, ilaca şahısların cevaplarının farklı oluşu, ilacın birikici özelliğinden-dolayı bilinçsiz ve düzensiz digital kullanımlarıdır.

Digital toksikasyonu, kalp ve kalp dışı belirtilerle tesbit edilir. Ölüm oranı yüksek olan butabloyu, erken teşhiste ve ilaca duyarlılığı saptamada klinik bulgularla birlikte çeşitli labaratuvar yöntemlerinden de-yararlanılabilir. Bu yöntemler içinde-kan digital düzeyinin tayini başta gelmektedir. Ancak bu yöntemin gerek

x Atatürk Üniy. Tıp Fak. Farmakoloji Ana Bilim Dalı Uzmanı
xx " " " " " " Profesörü
xxx " " " " " " Uzmanı
xxxx " " " " " " "

uzun sürmesi ve pahalı oluşu gerekse tam sıhhatli olmayışı gibi sakıncaları vardır. Örneğin ağır digital zehirlenmesi olgularının bazılarında kan digital düzeyi normal sınırlar-içinde Diğer taraftan kan düzeyi normalin üzerinde olduğu halde toksikasyon belirtileri göstermeyen olgulara rastlanıldığı bildirilmiştir. (1,2,3,4,5)

Çalışmamızda vagal aktiviteyi indirekt olarak yansıtan kolinesteraz enzimi üzerine digitalin artan dozlarının etkilerini araştırdık.

MATERYAL VE METOD

Araştırmamız, Erzurum Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır. Her iki cinsten 30 sıhhatli kedide aku digital tol sikasyonu oluşturuldu.

Ağırlıkları 1400 ile 4000g arasında değişen kediler, 15 gün gözetim altında tutulduktan sonra 40 mg/kg Sodium pentobarbital (Nembutal) anestezi sine alındılar. Operasyon masasına tesbit edildikten sonra trakeostomi yapıldı. Sağ femoral ven kanüle edilip bir serum setine bağlandı. Pıhtılaşmayı önlemek amacı ile 500 I. Ü/kg Heparin, buradan verildi. Sonra kan örnekleri almak için sol femoral-arter ve ven kanüle edildi. Tansiyon arteriyel, sağ karotis arterin diseke edilerek civalı manometreye bağlanması ile izlendi. Kayıt, kimografa tesbit edilmiş isli kağıt üzerine vites: 192, sec: 5 de yapıldı.

Heparinli enjektörle arter ve venden 4 er ml kan örnekleri alınıp 30 dakika 2000 devirde santrifüj edildi ve plazmaları ayrıldı. Plazma elde etmek için kuru enjektör, Heparinden geçirildi. Heparin preparatı olarak Lique mine (Roche) kullanıldı. Heparini, üzerinde çalıştığımız kolinesteraza etki etmemesi ve azmiktarı ile istediğimiz kadar berrak bir plazma elde edebildiğimiz için tercih ettik. (6,7,8 8,9). Çabuk etki-eden bir digital preparatı ouabain (Arnaud) 0,25 mg lik ampullerini kullandık.

İlk doz, 40 gama/kg ouabain verildi (10). 20 dakikalık aralıklarla ilaç, 20 gama/kg artırılarak digital verilmesi ölüme kadar sürdürüldü. Bu arada ilacın kalpteki etkileri, tansiyon arteriyel üzerinden devamlı izlendi. İlk dozdan sonra atım amplitüdü büyüdü sonra bradikardi-daha sonra digital toksisitesinin kalpteki tipik bulguları bigemine ve trigemine ritimler görüldü. En son ventriküler taşikardi ve tansiyon sıfıra düştü. Her ilaç dozundan 10 dakika sonra arter ve venden alınan kan örneklerinde plazma kolinesterazı pH metrik. metodla tayin edildi. (11) Tayinler iki kez yapıp ortalaması alındı.

Digital toksikasyonu oluşturulan kediler, -öldükten sonra otopsi yapılarak kalpleri çıkarıldı ve normal kedi kalpleri ile karşılaştırılmak üzere patoloji laboratuvarına gönderildi. Deneyin prensibi: Asetikolin, hidrolizle kolin ve asetik asid meydana getirir. Belirli pH de belirli miktarda 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.

Deneylere başlamadan önce-10 insan ve kedi plazmasında kolinesteraz enzimi tayin edilerek ön çalışmalar yapıldı.

Çalışmamız, normal ve verilen dozlara göre değerlendirilerek bioistatistikî analize tabi tutuldu.

BULGULAR

Deneyssel çalışmamızda 30 kedinin ağırlıkları 1400-4000 g arasında değişmekte olup ortalama 2573 g olarak saptandı. Bunların % 30 unu oluşturan 9 hayvan erkek ve % 70 ini oluşturan 21 hayvan dişi idi.

Tablo: 1- Cinsiyetegöre arter ve ven kanı plazmalarında normal kolinesteraz değerleri ortalaması ve S. D.

Parametreler	ERKEK		DIŞI	
	Ort. Δ pH/saat	S.D.	Ort. Δ pH/saat	S. D.
Arter kanı	0.219	\mp 0.130	0.278	\mp 0.141
Ven kanı	0.233	\mp 0.095	0.273	\mp 0.095

Tablo 1 de görüldüğü gibi dişi kedilerin arter ve ven kanı kolinesteraz değerleri ortalamalar erkek kendilerden yüksek bulundu. Bu yükseklik oranı, arter kanında % 26,9, ven kanında % 17,2 olarak saptandı.

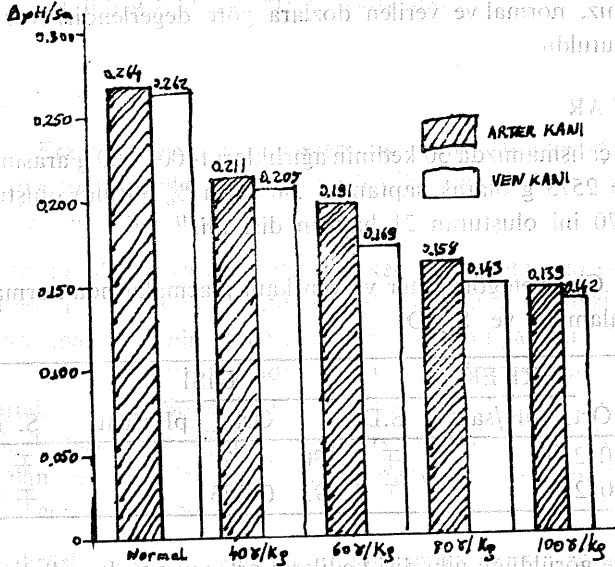
Artan Ouabain dozlarında arter ve ven kanı plazma kolinesteraz düzeyleri normale göre anlamlı derecede düşük bulundu. (Tablo: 2)

Tablo- 2: Arter ve ven kanı plazmalarında normal-ve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz değerleri ortalamaları ve S.D.

	Normal	40 gama/ kg	60 gama/ kg	80 gama/ kg	100 gama/ kg	
Arter k. ort:	0.264	0.211	0.191	0.158	0.139	Δ pH/saat
S.D.:	\mp 0.139	\mp 0.108	\mp 0.090	\mp 0,081	\mp 0.083	
Ven k. ort:	0.262	0.205	0.169	0.143	0.142	Δ pH/saat
S.D.:	\mp 0.097	\mp 0.111	\mp 0.088	\mp 0.080	\mp 0.090	

Bu azalma, arter kanı plazmasında normal değerlere göre 100 gama/kg dozda % 47,0 ye, ven kanı plazmasında % 46,0 ya ulaştı. Uygulanan istatistikî testtte normal değerlere göre arter ($t= 4,81$ ve $p < 0,01$) ve ven ($t= 7,7$ ve $p < 0,01$) kan

plazma kolinesteraz değerleri ortalamaları arasında azalma yönünden tüm dozlar da istatistiki anlamda fark görüldü. Deney hayvanlarının arter ve ven kanı plazmaları kolinesteraz düzeyleri arasında ise normalde ve bütün dozlarda istatistiki fark görülmedi. ($t = 2,0$ ve $-p < 0,05$), (Şekil 1).



Sekil 1- Arter ve ven kanı plazmalarında normal ve değişen ouabain dozlarında kolinesteraz değerleri.

Çalışmamızın sonunda Patoloji laboratuvarına gönderilen normal ve ouabain ile zehirlenmiş kedilerin kalpleri arasında histopatolojik yönden farklılık görülmediği bildirildi.

TARTIŞMA

Digitalin etkilerinde Otonom sinir sisteminin rolü önemlidir. Otonomik etkileri, kalbi dolaylı bir şekilde etkilerler (12,13)

Bu ilaçlar üzerine yapılan deneysel çalışmaların ilki parasempatomimetik etkileri üzerinde toplanmıştır. (14) Bu görüş, halen önemini sürdürmektedir. Digital glikozitleri, vagal merkezleri uyarırlar. (2,12,14,15) Vagal merkezlerin uyarılması ile açığa çıkan kolinesteraz üzerine digitalin etkilerini araştırmak amacıyla 30 kediye akut digital toksikasyonu oluşturup arter ve ven kanı plazma kolinesteraz düzeylerini ölçtük.

Çalışmamızda, digitale duyarlılık bakımından insana en yakın hayvan olan kediyi seçtik. Digitalin kalp atım sayısı ve aritmojen etkilerine yetmez kalp kadar

normal kalp de duyarlı olduğu için eksperimental bir kalp yetmezliđi meydana ge-
tirmedik. (12)

Dişi kedilerin plazma kolinesteraz düzeyi arter ve ven kanında erkek ke-
dilerden yüksek olarak saptandı. Bu durum, insanlarda zıt yönlü olarak bildiril-
miştir. İnsanlarda erkeklerin kolinesteraz düzeyi, dişilerden yüksek olarak bulun-
muştur. (12,16,17) Yaptığımız literatür taramalarında hayvanlarda cinsiyete göre
kolinesteraz düzeyi farklılıklarını gösteren her hangi bir deneysel çalışmaya rast-
layamadığımızdan bu bulgumuzu literatürle karşılaştırma olanağı bulamadık.

Digital glikozitleri:

1- Sinüs düğümünün parasempatik sinir ucundan açığa çıkan asetilkoline
duyarlılığı artırır. Digital aritmileri, menşeyini A-V düğümün asetilkoline du-
yarlı olan kısmından alır.

2- Asetilkolinin etkisini potansiyalize ederler.

3- Asetilkolin açığa çıkışını artırır. Bu hususta önemli deliller mevcuttur.
Direkt çalışmalarla etkileri gösterilmiş olup nöronal dokudan asetilkolin açığa
çıkışı ölçülmüştür (2,14,18)

Parasempatik sistem mediatörü olan asetilkolini 30 saniyede hidrolize parça-
layan kolinesterazın kalpte özellikle sinüs düğümünde konsantr olduğunu his-
tokimyasal lokalizasyon çalışmaları göstermiştir. Kalpte genellikle asetilkolines-
teraz azmiktarda da (% 7-15) psödokolinesteraz bulunmaktadır. (19 20)

Digitalin serumda beyinde, kardiak ve nöronal dokuda kolinesteraz üzerine
etkileri araştırılmış olup yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda bir kısım araşi-
macılar etkisiz derken bir kısmı artırdığını bir kısmı ise azaltıp inhibe ettiğini bil-
dirmişlerdir. (14)

Shinohara isimli araştırmacı, letal doz digitoksine maruz kalmış kedilerin
beyin medüller dokusunun ve kalbinin kolinesteraz enzimi inhibisyonunu ayrıca
ouabainin kardiak dokuda kolinesterazı inhibe ettiğini saptamıştır (15). Ekmekçi
ve arkadaşları tarafından bu konuda yapılan araştırmada da klinikte digital alan
şahıslarda serum kolinesterazında düşüş kayıt edilmiştir. Bizim bulgularımızda
yukarıdaki verileri desteklemektedir. Yaptığımız benzeri bir çalışmada da yine
artan digital dozları ile eritrosit kolinesterazında düşüş kayıt edildi.

Araştırmacıların bir kısmı ise digitalin nöronal doku ve kalp kolinesterazına
etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Yine bu ilaçlarla kalp ve beyin dokusunda yapı-
lan iki çalışmada kolinesteraz artışı gözlenmiştir. (14) Bizim sonuçlarımız, bu ve-
rilere uymamaktadır.

Digitalin duyarlılık bakımından şahıslar arasında farklılık görülebilmekte-
dir. Çocukların duyarlılığı azdır. tolerans gelişebilir ve çocuklarda digital toksis-

kasyonunda meydana gelen aritmiler, erişkinden farklı olarak atrium kaynaklıdır. (4,12,19,20,21,22,23) Yapılan araştırmalarda bebek kalbinin kolinesterazının erişkinden fazla olduğu tesbit edilmiştir. 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 da farklılık görülebilmektedir. Serumda bu enzimin eksikliğinin homozigot ressesif bir gene bağlı olduğu bildirilmiştir. Bu şahıslarda kolinesteraz, hem daha az miktarda asetilkolini hidroliz eder hem de yavaş etki gösterir. (24) Bu şahıslarda digitalin etkisi ile artan asetilkolini parçalayacak yeterince enzim bulunamayacağından toksikasyon daha kolay meydana gelecektir diye düşünülebilir. Ancak bu azalışın mekanizması bilinmemektedir. Yapılan literatür taramalarında her hangi bir bilgiye rastlanamamıştır.

Deneylerimizin sonunda ölen hayvanların kalpleri ile normal kedi kalplerinin patolojik incelenmesi sonunda fark görülmedi. Akut bir digital toksikasyonu meydana getirildiği için potasyum azalmasına bağlı kronik zehirlenmede görülen myofibriler dejenerasyon ve ödeme rastlanmamıştır. Lezyonlar, hafif olarak tesbit edilmiştir. (24)

SONUÇ

Digital toksikasyonunda klinik bulguların yanısıra çeşitli labaratuvar yöntemlerinden de yararlanılabilir. Plazma kolinesteraz seviyesinin saptanması bu yöntemlerden biridir. Araştırmamızda digitalin artan dozları ile plazma kolinesteraz düzeyinin paralel gittiği saptandı. Bu nedenle digital uygulanırken plazma kolinesteraz düzeyinin bilinmesinin faydalı olacağı kanısına varıldı.

SUMMARY

THE EFFECTS OF OUABAIN ON PLASMA CHOLINESTERASE

The effect of digitalis glycoosydes on heart and other systems have been widely investigated. These studies have on important investigation position. In present study, were tried to have some information of the effects of digitalis on plasma cholinesterase.

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

Results showed that the amaunts of enzym cholinesterase in the plasma of artery and vein have been decreased fairly by increasing digital does.

KAYNAKLAR

- 1- Beller, G.A. et. al.: Digitalis intoxication. A prospective clinical study with serum level correlations. N. Engl. J. Med. 284: 989-997/1971.
- 2- Ekmekçi, A., Eroler, D., Danapulos, Meriç, M., Özkan, E., Güven, S., Eroğlu, L., Keyer, M., Canberk, A.: Digital zehirlenme tanısında serum koliknesteraz aktivite değişikliklerinin önemi. Doğa. cilt: 2 sayı: 3 182-187 1978
- 3- Oparıl, S.: Digitalis assey and its clinical application. Symposium oncardia rhythm disturbances I. 61: 193-205, 1976.
- 4- Smith, T. W., Haber, E.: Digoxin intoxication: The relationship of clinical presentation to serum digoxin concentration, J. Clin Invest. 49: 2377-2386 1970
- 5- Parlar, A.Ü.: Süt çocuklarında ve çocuklarda digoksin toksisitesinin tükrük elektrolitleri ile tayini. Dirim. 5-6: 131-140, 1978
- 6- Canay, O.: Tıbbi Farmakoloji Yörük matbaası, İstanbul, 1975,132f42.
- 7- Önder, E.: Erzurum ve çevresindeki sağlam şahıslarda eritrosit glukoz 6- fosfat dehidrogenaz enziminin aktivite seviyeleri. İhtisas tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1981.
- 8- Yenson, M.: Genel insan Biokimyası dersleri. İsmail Akgün Matbaası İstanbul, 1964, 523.
- 9- Yenson, M.: Uygulamalı klinik Biokimya çalışmaları. Sulhi Garan matbaası koll. Şti. İstanbul, 1977. 449-450.
- 10- Yelnosky, J., Ervin, R.: The effect of ouabain on cardiac automaticity in reserpine-pretreated dogs. AM. Heart, J. 62: 687-689, 1961.
- 11- Speer, R.J., Rao, G.V.K. Porter, J. L., Denton, A. D. Jr.: Enzyme chemistry protocols. Ed/ Race B.J. Laboratory Medicine I. First edtion Harper Row, Publishers. New York. 1973, 9-10 .
- 12- Kayaalp, O.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi Farmakoloji. Nüve matbaası, Ankara, 1982 cilt II. 927-968.
- 13- Ogden P.C. Selzer A. Cohn K. E.: The relationship between the inotropic and dromotropic effectsof digitalis: The modulation of these effects by autonomic influences. Am. Hearty. J. 77: 628-635 1969.
- 14- Gillis R.A. Quest J.A.: The role of the nervous system in the cardiovascular effects of digitalis.: Pharmacological reviews. 31:19-97 1979.
- 15- Akçasu A.: Farmakoloji ve Tedavi. Kutulmuş matbaası. İstanbul. 1973 sayfa344-372, 226-229.

- 16- Aras, K. Erşen, G.: Klinik Biokimya, Ankara Üniversitesi basımevi Ankara. 1975, 316-367.
- 17- Kobanoğlu, M.: Akut bakteriyel menenjitli çocukların serumve beyin omurilik sıvılarında kolinesteraz aktivitesi. İhtisas tezi. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, 1976. Erzurum.
- 18- Goldberg, L. I.: Pharmacology of cardiovascular drugs. Ed. Hurst, J. W., La-
gue, R. B., Schlan, R. C., Wenger, N. K. The heart. third ed. McGraw-Hill
book company A. Blakistan Publication. New York, 1974, 1690-1697.
- 19- Sinha, S. N., Keresztesnag, S., Frankfater A.: Studies on the distribution of
cholinesterases: Activity in the human and dog heart. *Pediat. Res.* 10: 754-
758, 1976.
- 20- Stephans, L. B., Greenberg, M. J.: The localization of a cetylcholinesterase and
butyrylcholinesterase in the heart, cardiac ganglion and the lateral and dorsal
nerves of limulus polyphemus, *J. Histochem cytochem.* 21: 923-931, 1973.
- 21- Herz, F., Kaplan, E., Scheye, E. S.: Erythrocyte acetylcholinesterase and glu-
kose 6- phosphate dehydrogenase in newborn and infants of low birth weight
Clinica chemica acta. 46:147-152 1973.,
- 22- Sinha, S. N., Yelich, M. R., Keresztesnag, S., Frankfater A.: Regional dis-
tribution of acetylcholinesterase in the right atria of humans of dogs. *Pediat.*
Res. 13: 1217-1221, 1979.
- 23- Toda, N.: Cardiotoxic and inotropic effects of ouabain on atria isolated from
rabbits of different ages. *Br. J. Pharmac.* 72: 263-270, 1981.
- 24- Ekmekçi, A. Eroler, D., Danapulos, D., Korkut, F., Koyuncuoğlu, H., Özkan,
E., Özcan, R.: Kolinesteraz azlığına bağlı ağır ileti bozukluğu gösteren bir va-
ka. *Doğa.* 1: 53-58, 1977.
- 25- Henn, R. G.: Drug and chemical injury. Ed. Anderson, W. A. D. Pathology
6th edition. Mosby, St Louis 1971, 192-193.