

## İZOLE KOBAY İLEUMUNDA OUBAIN'İN KONTRAKSİYONLARI ÜZERİNE SEROTONİN ANTAGONSİTLERİNİN ETKİLERİ

Dr. Yüksel Kesim (xxx)  
Dr. Hasan Gacar (x)  
Dr. Nejat Gacar (xxx)  
Dr. Nur Banoğlu (xxx)  
Dr. Fatma Göçer (xx)  
Dr. İsmail Kara (xx)

### ÖZET :

*Bu araştırma, digitalis'in henüz aydınlığa kavuşmamış olan etki mekanizmasında serotonerjik sisteminde rolü olabileceği düşünülerek yapılmıştır. Deneyler in vitro gerçekleştirilmiş olup 27 sıhhatli kobayın izole ileumları kullanılmıştır. Preparatlarda ouabain'in kontraktıl etkisi saptandıktan sonra muhtelif dozlarda serotonin antganösitleri verilmiş ve beş dakika sonra aynı auabain dozu tekrarlanarak etkiler, kayıt edilmiştir.*

*Bulgularımız, uygulanan bu üç antagonistin (siproheptadin, metiserjid, sinanserin) ouabain'in kontraktıl etkisini inhibe ettiklerini göstermiştir.*

### GİRİŞ :

Digital ile serotonin'in etkileri arasındaki benzerlik, araştırmacıların dikkatlerini çekmiş ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır.

Serotonin'in sentezi, (1,2,3,4,5,6) yıkılması (3,5,7) ve antagonistleri (2,3,5,6) üzerini digitalin etkileri beyinde ve kalpde incelenmiştir. Apteayk çalışmalarında sıçan, kobay, tavşan, kedi (a) ve insan trombositleri sıçan, tavşan izole perfüze akciğerleri, izole kobay vasdeferensleri (9) izole yumuşakça subözofageal ganglionları doku olarak kullanılmıştır.

---

(x) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Prof.

(xx) Aynı dalın yardımcı doçentleri.

(xxx) Aynı dalın mütehasısları.

Biz de izole kobay ileumu üzerinde ouabain'in kontraktıl etkisinin serotonin antagonistlerinden sonra değiştiğine işaret ederek serotonerjik mekanizmanın digitalin etkisindeki rolünü vurgulamaya alıştik.

## MATERYAL VE METOD :

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakóltesi Farmakoloji Anabilim Dalı bakım ünitesinde yetiştirilen, her iki cinsten 27-sihhatli kobayın ileumları materyal olarak kullanılmıştır. Ağırlıkları 445-496 g arasında değişen, akşamdan a bırakılan kobaylar darbe ile öldürölmüşlerdir. Karın açılarak ileo-ekal bileşiminin 15 cm yukarındaki 4 cm lik ileum segmenti alınarak tyrod soüsyonun (NaCl 8 g. NaHCO<sub>3</sub> lg. % 20 KCl 1 ml. % 20 CaCl<sub>2</sub> 1 ml. % 10 MgCl<sub>2</sub> 1 ml. % 5 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 ml. glukoz lg. ad. su 1000 ml.) konulmuştur. Lümen içerisindeki barsak muhtevası temizlendikten-sonra preparat, besleyici solüsyon ihtiva-eden 60 ml lik izole organ banyosuna tesbit edilmiştir. Barsağın diğer ucu kayıt edici manivelaya bağlanarak izometrik kontraksiyonlar, kimoğrafda isli kağıda vites: 6 sec: 60" de kayıt edilmişlerdir. Ortamın harareti 37°C de tutulup preparat devamlı oksijen temasında bırakılmıştır. Banyo içerisindeki mayı birkaç kez değiştirilerek doku yıkanmış, ortama adaptasyon sağlanması için yarım saat beklenildikten sonra amplitüd ve frekanslar kayıt edilmiştir.

On alışmamızda muhtelif ouabain dozları içerisinde 10-6 M in uygun olduğunu saptadığ ve daima bu-dozu uyguladığ. Barsağın normal hareketleri gözlendikten sonra rezervuara ouabain verilerek doku ile bir dakika temasda bırakılmıştır. Kontraksiyonlar meydana geldikten sonra doku yıkanmış, taşiflaksiden kaçınmak için bu işlen on kez terarlanmıştır. Onar dakikalık intervallerden sonra her deney için ayrı ayrı olmak üzere muhtelif dozlarda serotonin antagonistleri (siproheptadin, metiserjid, sinanserin) rezervuarlara konulmuş beş dakika sonra tekrar ouabain verilerek barsaktaki etkiler gözlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları, bioistatistiki analize tabi tutulmuş olup karşılaştırmalarda oranlar arası farklılık testleri uygulanmıştır.

## BULGULAR :

İzole kobay ileumunda 1x10-6 M dozda ouabain bir dakika da ortalama 2.06 cm. lik kontraksiyon meydana getirmiştir. Bu kontraksiyonlar, üç serotonin antagonisti tarafından inhibe edilmiştir.

Tablo 1 de göröldüğü gibi yalnız başına ouabain'in bir dakikada meydana getirdiği ortalama 2.06 cm lik kontraksiyon, sipropehtadin'den sonra ouabain verilince ortalama 2.1 dakikada 0,57 cm ye metiserjid'den sonra ouabain verilince ortalama 1.75 dakikada 0.99 cm ye sinanserin'den sonra ouabain verilince ortalama 3.25 dakikada 0.80 cm ye düştü. Bu değerler, istatistiki anlamda fark ortaya çıkarılmıştır.

Tablo: 1- İzole kobay ileumunda ouabain ve serotonin antagonistlerinden sonra ouabain'in etkilerinin zaman ve kasılma yönünden ortalamaları, standart sapmaları.

İLAÇLAR	P A R E M E T R E L E R	
	Zaman (dakika)	K a s ı l m a (cm)
Ouabain	1 ± 0	2.06 ± 1.17
Sipropheptadin+Ouabain	2.1 ± 1.14	0.57 ± 0.51
Metiserjid + Ouabain	1.74 ± 0.61	0.99 ± 1.33
Sinanserine + Ouabain	3.25 ± 1.71	3.80 ± 1.03

Tablo: 2- İzole ileumda ouabain'in bir dakikada-ortalama 2.06 cm lik kontraksiyonunu serotonin antagonistlerinin inhibe edişlerinin mukayesesi.

Antagonistler	Kontraksiyon ort. (cm) ve SD	Test sonuçları
Siproheptadin+Ouabain	0.57 ± 0.51	t= 3.31p< 0.05
Metiserjid + Ouabain	0.99 ± 1.33	t= 2.23p< 0.05
Sinanserine + Ouabain	0.80 ± 1.02	t= 2.52p< 0.05

Tablo: 3- Siproheptadin'in ouabain kontraksiyonlarını inhibe etme dozları ve cinsiyete göre yüzdeleri.

Denek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
40.0	♂	1x10 <sup>-6</sup> M
20.0	♂	2x10 <sup>-6</sup> M
20.0	♀	8x10 <sup>-6</sup> M
20.0	♀	2x10 <sup>-5</sup> M

Tablo: 4- Metiserjid'in ouabain kontraksiyonlarını inhibe etme dozları ve cinsiyete göre yüzdeleri.

Denek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
50.0	♂	1x10 <sup>-5</sup> M
16.7	♀	1x10 <sup>-5</sup> M
16.6	♀	1x10 <sup>-4</sup> M
16.7	♀	1x10 <sup>-4</sup> M

Tablo: 5- Sinanserinin ouabain kontraksiyonlarını inhibe etme dozları ve cinsiyete göre yüzdeleri.

Dernek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
16.6	♂	2x10 <sup>-5</sup> M
16.7	♀	1x10 <sup>-5</sup> M
14.7	♀	4x10 <sup>-5</sup> M

İnhibisyon genelde siproheptadin ile  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  (tablo 3), metiserjid ile  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  (tablo 4), sinanserin ile  $4 \times 10^{-5} \text{M}$  (tablo 5) dozlarda oluşmuştur. Antagonistler arasında ouabain'in etkisini, en güçlü siproheptadin (ort. 1.49 cm. lik inhibisyon) sonra sinanserin (ort. 1.26 cm. lik inhibisyon) en son da metiserjid (ort. 1.07 cm. lik inhibisyon) önlemişlerdir. (tablo 2).

### TARTIŞMA :

Digitalin barsak düz adalesi üzerine stimulan etkisi, 1928 senesinde Van Esveld, 1961 de Schatzman ve Ackerman ve 1962 de Godfraind De Becker tarafından tarif edilmiştir. (10) Biz de bu görüşleri destekler mahiyette deneylerimizde ile umun normal hareketleri ile ouabain verildikten sonraki hareketleri arasında kontraksiyon yönünden anlamlı fark saptamış bulunuyoruz. ( $t = 3.19$   $p < 0.01$ ) Ancak digital intoksikasyonunun en sık görülen komplikasyonu olarak ortaya çıkan diyarenin mekanizması halen aydınlaşa kavuşturulamamıştır.

Barsak mukozasında yer alar enterokromojin hücrelerdeki serotoninin ve mide-barsak kanalının motilitesini artıran P maddesini aktive eden serotenerjik nöronların barsak kasılmasında rolü vardır. Dışarıdan verilen serotonin de barsağı kasar. (11,12,13) Önce spazm sonra peristaltik hareketlerde artma yapar. Serotonin, barsak düz kaslarını direkt olarak stimüle ettiği gibi auerbach pleksusundaki kolinerjik ganglion hücrelerini eksite ederek indirekt stimülasyon da yapar. Enterokromojin hücrelerde sentezlenen serotonin, trombositler tarafından depo edilmek üzere alınır veya metabolize edilmek üzere karaciğer ve akciğerlere gönderilmek için splanknik kana sürekli verilir. (7) Digital, serotonin uptake'i ni inhibe eder. (14) Bu durumda reseptörlerle etkileşen serotonin miktarı artar. Digitalin en önemli etkilerinden olan membran  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP as inhibisyonunu serotonin de yapar (7,15) Belki serotonin bu inhibisyonunu yaparken buradaki digital reseptörlerini aktive etmektedir. 1965 senesinde Skon, 1967 de Klaus, 1972 de Schwartz Entman, 1977 de Akera digital reseptörünün ATP as molekülü üzerinde bir noktada olduğunu bildirmişlerdir. (15,16) Serotonin reseptörleri, antagonistlerle kapatılınca ouabain'in etkisinde rolü olduğunu varsaydığımız durumlar ortadan kalkar ve ouabain'in kasıcı gücü azalır. Digitalin etkisinde muhakkak pek çok faktör etkindir. Son yıllarda sözü edilen endojen digital benzeri maddeler beyin, kalp, plazmadan (17,18,19) başka belki barsaklarda da mevcuttur.

Verilerimiz göstermektedir ki antagonistler arasında ouabain'in etkisini güçlü siproheptadin sonra sinanserin en son da metiserjid önlemişlerdir. Bu sıralanış 1978 de Helke ve arkadaşlarının (5) köpek kalbinde, 1979 senesinde Stickney ve arkadaşlarının (14) izole kobay kalbinde serotonin antagonistleri ile digital aritmisini önlemek için yaptıkları çalışmalara uyum göstermektedir. Aritmiyi önlemek bakımından bu üç antagonist arasında kalitatif farklar saptanmıştır. Onlar da bizim gibi metiserjid'in diğer iki antagonistten daha az güçlü olduğunu bildirmişlerdir. Bunun nedeni metiserjid'in parsiyel agonist olmasına bağlanabilir.

Deneylerimizde cinsiyete göre ayırım yapıldığında ouabain'in kontraktil etkisi dişilerde erkeklerden daha yüksek dozlarda bloke olmuştur. Literatürde bu hususda bir bilgiye rastayamadığımızdan tartişma olanağı bulamadık. Çalışmamızda antiserotoninler ile digital preparatları içinden ouabain arasındaki etkileşme daha spesifik olduğundan (4,5,14) ileuma bu ilacı uygulamış bulunduk. Doku olarak ileumu seçmiş olmamızın nedeni de barsak düz kaslarının serotonin'e duyarlı oluşundan (11) ileri gelmiştir.

## SONUÇ :

Digital glikozidlerinin barsaklarda meydana getirdiği kontraksiyonda rolü olan faktörler arasında serotonerjik mekanizmanın da önemli bir yeri olduğu kanaatindeyiz. Bu konudaki araştırmaları, çalışmamızla desteklemiş bulunuyoruz.

## SUMMARY

(The effects of serotonergic antagonists on the contraction of ouabain in isolated guinea-pig ileum.)

The study was conducted thinking of that serotonergic system might have a role in the mechanism of action of digitalis yet clearly unknow. For this purpose, from 27 healthy guinea-pigs. The study materials were take. In ileum, the contractil effect of ouabain was determined. Then, serotonin antagonistis in various doses were applied, and after five minutes by repeating the same ouabain doses it's effects were detected.

Our findings showed that the three antagonists applied in the study, cyproheptadine, methysergide and cinansersin, inhibited the contractil effect of ouabain.

## KAYNAKLAR

- 1- Butterbaugh, G.G., Spratt, J. L.: The possible role of brain monoamines in the acute toxicity of digitoxigenin, J. of Pharmacol. Exp. Therap. 175: 12-129, 1970.
- 2- Helke, C. J., Souza, J. D., Hamilton, B. L., Morgenroth, V. H., Gillis, R.A.: Evidence for a role of central serotonergic neurones in digitalis-induced cardiac arrhythmias. Nature, 263: 246-247, 1976.
- 3- Gaitonde, B.B., Joglekar, S.N.: Mechanism of neurotoxicity of cardiotonic glycosides. Br. J. Pharmac. 59: 233-229, 1977.
- 4- Helke, C. J., Souza, J. D., Hamilton, B., Gillis, R.: No evidence for a central serotonergic mechanism in arrhythmogenic effects of deslanoside. Nature. 274: 925, 1978 (a).

- 5- Helke, C. J., Xuest, J. A., Gillis, R. A.: Effects of serotonin antagonists on digitalis induced arrhythmias. *European J. of Pharm.* 47: 443-449, 1978 (b).
- 6- Helke, C. J., Souza, J. D., Gillis, R. A.: Interaction of serotonin and deslanoside on cardiac rhythm in the cat. *European J. of Pharm* 51: 167-176, 1978 (c).
- 7- Gillis, R. A., quest, J. A.: The role of the nervous system in the cardiovascular effects of digitalis. *Pharm. Rewiews.* 31: 97-19, 1979.
- 8- Helke, C. J., Kellar, K. J., Gillis, R. A.: Effects of in vivo deslanoside on the uptake of serotonin into platelets. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 44-49, 1979.
- 9- Gershon, M. D., Altman, R. F.: An analysis of the uptake of 5-hydroxytryptamine by the myenteric plexus of the guinea-pig. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 179: 29-40, 1971.
- 10- Moura, R. S., Santes, D. A.R., Affa, C. J. S.: Effects of strophanthidin on the isolated guinea-pig ileum. *Arch. Int. Pharmacodyn*, 239: 45-51, 1979.
- 11- Kayaalp, S. O., Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi Farmakoloji, İkinci baskı, Ankara, Nüve matbaası, 1983, cilt III, 1671-1672, 2293-2304.
- 12- Fozard, J. R., Mobarok Ali, A.T.M.: Receptors for 5-hydroxytryptamine on the sympathetic nerves of the rabbit heart. *Nounyn-Schmiedebergs Arch., Pharmajol.*, 301: 223-235, 1978.
- 13- Fishlock, D. J.: The action of 5-hydroxytryptamine on the circular muscle of the human ileum and colon in vitro. *Society.*, 11-12, 1963.
- 14- Stickney, J. L., Ball., T.: Effect of serotonergic antagonists on digitalis arhythmias in the isolated heart. *J. of Pharm. and exp ther.*, 209: 411-414, 1979.
- 15- Kayaalp, O.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. İkinci baskı, Ankara, Nüve matbaası, 1982, cilt II, 927-968.
- 16- 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.
- 17- Godfraind, T., Pover, A. D., Hernandez, G.C., Fagoo, M.: Cardiodigin: Endogenous Digitalis-like material from mammalian heart. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 258: 165-166, 1982.
- 18- Gruber, K., Whitaker, J. M., Jr. V.M.B.: Endogenous Digitalis-like substance plasma of volume-expanded dogs. *Nature.* 287: 743-745, 1980.
- 19- Godfraind, T., Hernandez, G. C.: Properties of a digitalis-like factor extracted from guinea-pig brain. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 250: 316-317, 1981.