

## DİGİTALİN ETKİSİNDE PERİFERİK SEROTONİNİN ROLÜ

Dr. Yüksel Kesim (xxx)

Dr. Hasan Gacar (x)

Dr. Nejat Gacar (xxx)

Dr. Nur Banoğlu (xxx)

Dr. İsmail Kara (xx)

Dr. Fatma Göçer (xx)

### ÖZET:

*Çalışmamız, izole kobay kolonunda serotonin reseptörlerinin farmakolojik blokaından sonra digitalin kontraktıl etkisini gözlemek için gerçekleştirilmiştir. Serotonin reseptör blokero olarak siproheptadın, metiserjíd ve sinanserín kullanılmıştır. Verilerimiz, bu ilaçların digitalin etkisini inhibe ettiklerini göstermiştir.*

### GİRİŞ:

Serotonin'in digitalin toksik etkilerinden sorumlu tutulacağına dair deliller mevcuttur. 1970 de Butterbaugh ve Spratt, PCPA (p-Klorofenilalanin) ile önceden tedavi edilen sıçanlarda (serotonin sentezi bozulmuştur) digitalin letal dozunun arttığını bildirmişlerdir. (1,2) Helke ve arkadaşları, digital aritimlerinde bazı serotonerjik antagonistlerin etkilerini denemişler 1976 daki ilk hipotezde serotonerjik blokerlerin digital aritmelerini santral sinir sisteminde antagonize ettiklerini bildirmişlerdir (1,3,4) Sonraki çalışmalar, bu hipotezi geçersiz kılmış (5) daha sonraları ise digitalin toksik etkilerinden yine serotonin sorumlu tutulmuş ancak bu etkinin çok muhtemel olarak santral sinir sisteminden ziyade periferde meydana geldiği anlaşılmıştır. (2,6). Genellikle kalpde yapılan bu çalışmalarda digitalin etkileri, serotonin antagonistleri tarafından azaltılmış veya önlenmiştir. Yalnız bu çalışmalarda antiserotoninlerin artıartmik etkileri de saptanmıştır. (7) Acaba antiserotoninler digitalin kalpdeki etkilerini antiaritmik etkileri ile mi önlenmektedirler.?

---

(x) Atatürk Üniv. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı Profesörü.

(xx) Aynı dalın yardımcı Doçentleri.

(xxx) Aynı dalın mütehassısları.

Araştırmamızda, serotonin antagonistlerinin antiaritmik etkileri haricinde digitalin etkilerini önleyebileceklerini göstermek amacı ile kalp dışında izole ileum preparatında serotonin reseptörlerini bloke ederek periferik serotonin'in digitalin etkisindeki rolünü ortaya koymaya çalıştık.

## MATERYAL VE METOD:

Deneylemizde, her iki cinsten ağırlıkları 400-500 g arasında değişen 31 sıhhatli kobay kullanılmıştır. Akşamdan ac bırakılan kobaylar, öldürüldükten sonra karın açılmış ve proksimal kolondan 4 cm lik bir parça alınarak krebs solüsyonuna (NaCl 9 g. NaHCO<sub>3</sub> 0.5 g. % 20 KCl 2.1 ml. % 20 CaCl<sub>2</sub> 0.3 ml. Glukoz 0.5 g. ad. su 100 ml.) konulmuştur. Barsak lümeni temizlendikten sonra pereperat, içerisinde besleyici solüsyon bulunan 60 ml. lik izole organ banyosuna tesbit edilmiştir. İleum parçasının diğer ucu kayıt edici manivelaya bağlanarak izometrik kontraksiyonlar, kimografda izlenmiştir. Ortamın ısısı 37°C olup reperepat, devamlı oksijen temasında bırakılmıştır (8). Ön çalışmalarda uygun görülen ouabain in  $1 \times 10^{-6}$ M dozu bütün deneylerde kullanılmıştır.

Barsağın normal çalışması bir müddet izlendikten sonra rezervuara ouabain verilmiş bir dakika içerisinde kontraktıl cevap gözlenmiştir. Taşiflaksiden kaçınmak için (9) doku on kez yıkandıktan sonra on dakika beklenmiş her deney için ayrı ayrı olmak üzere muhtelif dozlarda serotonin antagonistleri (siproheptadin, metiserjid, sinanserin) rezervuarlara konulmuştur. Beş dakika sonra tekrar aynı doz ouabain verilerek barsakdaki etkiler, kasılma ve frekans yönünden değerlendirilmiştir.

Verilerimiz, sonunda bioistatistiki analize tabi tutulmuş olup student t testi uygulanmıştır.

## BULGULAR:

İzole kolonun normalde bir dakikada ortalama 8.7 frekans ve 0.38 cm lik kasılması saptandıktan sonra  $1 \times 10^{-6}$  M dozda verilen ouabain bir dakikada ortalama 7.0 frekans ve 1.84 cm lik kontraksiyona neden olmuştur.

Tablo 1 de görüldüğü gibi ilaçsız kolon ile ouabain verilmiş kolonun ortalama kontraksiyonları arasında anlamlı fark bulunmuştur. ( $t=3.19$   $p > 0.01$ ) Frekans yönünden ise anlamlı fark bulunamamıştır. ( $t=1.13$   $p > 0.05$ ).

1. Siproheptadin antagonizması: Bu gurupda 8 deney yapılmış olup siproheptadin'den sonra ouabain verildiğinde ortalama 1.67 dakikada 0.4 cm lik kontraksiyon ve bir dakikada ortalama 8.0 frekans meydana getirmiştir. Bu bulgu ouabain'in yalnız başına yaptığı kontraksiyon ile karşılaştırıldığında istatistiki anlamda fark ortaya çıkmış olup ( $t=5.75$   $p < 0.01$ ) frekans yönünden anlamlı fark bulunamamıştır. ( $t=2.0$   $p > 0.05$ ).

TABLO:1- İzole kolonda ouabainden önce ve sonra ve serotonin antagonistlerinden sonra ouabain in etkilerinin zaman, kasılma ve frekans yönünden ort. S.D.

İlaçlar	P a r a m e t r e l e r		
	Zaman(dak)	Kasılma (cm)	Frvkans (adet)
Normal	1 ± 0	0.38 ± 0.24	8.7 ± 4.14
Ouabain	1 ± 0	1.84 ± 0.96	7.0 ± 4.04
Sipropehtadin+Ouabain	1.67 ± 1.22	0.46 ± 0.46	8.0 ± 3.2
Metiserjid + Ouabain	1.53 ± 0.77	0.93 ± 0.73	6.0 ± 3.2
Sinanserin + Ouabain	1.25 ± 0.47	0.59 ± 0.56	7.0 ± 0.31

TABLO: 2- İzole kolonda siproheptadin'in ouabain kontraksiyonlarını inhibisyon dozları ve cinsiyete göre %.

Denek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
12.5	♂	2x10 <sup>-5</sup> M
62.5	♂	1x10 <sup>-4</sup> M
12.5	♀	2x10 <sup>-4</sup> M

Tablo 2 de görüldüğü gibi inhibisyon meydana getiren ortalama siproheptadin dozu 1x10<sup>-4</sup>M dir. Deneklerin % 75 ini oluşturan erkek kobaylarda inhibisyon dişilerden daha düşük dozlarda meydana gelmiştir.

2. Metiserid antagonizması: 10 deneyde ouabain'in kontraktıl etkisi saptandıktan sonra metiserjid ve beş dakika sonra ouabain uygulanmıştır. Tablo 1 de görüldüğü gibi ortalama 1.53 dakikada 0.93 cm lik kontraksiyon ve bir dakikada ortalama 6.0 frekans meydana gelmiştir. Bu bulgu, ouabain'in izolo kolonda yalnız başına oluşturduğu ortalama kontraksiyon ile karşılaştırıldığında istatistiki anlamda fark çıkmıştır. (t= 9.44 p < 0.1). Frekans yönünden anlamlı fark bulunmamıştır. (t= 2.0 p > 0.05) Tablo 3 den anlaşıldığı gibi inhibisyon meydana getirmiş olan ortalama metiserjid dozu 1x10<sup>-3</sup> dür. Deneklerin % 30 unu oluşturan erkek kobaylarda ihinhibisyon düşük dozlarla tekabül ederek diğer antagonistlerde olduğu gibi dişilerden daha yüksek dozlarda meydana gelmiştir.

TABLO: 3- İzole kolonda metiserji'din ouabain konfaksiyonlarını inhibisyon dozları ve cinsiyete göre yüzdeleri.

Denek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
10.0	♂	1x10 <sup>-5</sup> M:
20.0	♂	8x1 <sup>-5</sup> M
20.0	♀	2x10 <sup>-4</sup> M
50.0	♀	1x10 <sup>-4</sup> M

3. Sinanserin antagonizması: 3 deneyde ouabain in cevapları üzerine sinanserin'in etkisi çalışılmıştır. Tablo 1 de görüldüğü gibi ouabain, sinanserin'den sonra ortalama 1.25 dakikada 0.59 cm lik kontraksiyon meydana getirmiş olup bu değer, ouabain in yalnız başına izole kolonda meydana getirdiği kontraksiyonla karşılaştırıldığında anlamlı derecede fark ortaya çıkmıştır. ( $t= 8.45$   $p < 0.01$ ) Bir dakikadaki ortalama 7.0 frekans ile ouabain'in frekansı arasında anlamlı fark bulunamamıştır. ( $t= 2.0$   $p > 0.05$ ).

TABLO: 4- İzole kolonda sinanserin'in ouabain kontraksiyonları n inhibisyon dozları ve cinsiyete göre yüzdeleri.

Denek % si	Cinsiyet	İnhibisyon dozu
15.4	♂	$8 \times 10^{-5}M$
15.3	♂	$2 \times 10^{-4}M$
15.3	♀	$2 \times 10^{-3}M$
54.0	♀	$8 \times 10^{-5}M$

İnhibisyon meydana getiren sinanserin dozu genelde  $8 \times 10^{-6}M$  olduğu tablo de görülmektedir. Diğerleri gibi ouabain'in kontraktıl etkisi, dişi kobaylarda daha yüksek dozlarda değil de aynı dozlarda inhibe olmuştur.

Tablo 5 de görüldüğü gibi izole kolonda ouabain in kontraksiyonunu en güçlü siproheptadin (ortalama 1.38 cm lik inhibisyon) sonra sinanserin (ortalama 1.26 cm lik inibisyon) en son da metiserjid (ortalama 0.92 cm lik inibisyon) önlemişlerdir. Zaman bakımından karşılaştırma yapıldığında en çabuk sinanserin sonra metiserjid en son siprohepadin gelir.

TABLO: 5- İzole kolonda ouabain'in bir dakikada ortalama 1.84 cm lik kontraksiyonunun serotonin antagonistlerinin inhibe edişlerinin mukayesesi.

Antagonistler	Kontraksiyon ort. (cm) ve SD	Test sonucu
Siproheptadin + Ouabiin	0.46 + 0.35	$t = 5.75$ $p < 0.01$
Metiserjid + Ouabain	0.93 + 0.73	$t = 9.44$ $p < 0.01$
Sinanserin + Ouabain	0.59 + 0.56	$t = 8.45$ $p < 0.01$

## TARTIŞMA:

Digital glikozidlerinin etkilerinde pek çok faktörün rolü vardır. Serotonerjik mekanizma da bunlardan birisidir.

İ.V. digitalin santral sempatik akımı artırdığı gösterilmiştir. Bunun sonuçta kardiak aritmiye dönüştüğüne dair deliller bulunmuştur. (10) Serotonin de santral sempatik akımı regüle eden önemli şimik bir mediatördür denilmiş ve sı-

çanlarda digitoxigenin'in i.v. verilmesi ile oluşan respiratuar arresten sorumlu tutulmuştur (3). Santral sinir sisteminde digitalin serotonin sentezi üzerine olan etkisini incelemek gayesi ile yapılan araştırmalarda Butterbaugh ve Spratt (1) digitoxigenin'in sıçanlarda yaptığı konvülsiyonlar, sonulunun depresyonu ve ölümü PCPA ile önlemişlerdir. Gaitonde ve Jogleker (4) kedilerde in vivo yaptıkları çalışmada ouabain'i intraserebroventriküler vermişler ve likör serebrospinalisde doza bağımlı serotonin artışı izlemişlerdir.

Apteyk çalışmaları, beyin dilimlerinde ve sinaptozomlarda yapılmış ve ouabain'in serotonin apteykini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu inhibisyon, özellikle digitalin emetik etkisinde rol oynayan area postrema'da meydana gelmiştir.

Araştırmacıların bir kısmı digitalin MAO (Monoamino oksidaz enzimi) inhibitörü olduğunu savunurken Pletscher ve arkadaşları bu görüşü kabul etmemişlerdir.

Helke ve arkadaşları, digitalin etkisinde santral, serotonin'den ziyade periferik serotonin'in rolü olduğunu öne sürmüşler ve bu konuda çalışmışlardır. (2,3,6) Bu araştırmacılar, kedilerde serotonin'in son ürünü 5-hidroksi indol asetik asidin deslanosid intoksikasyonundan sonra beyinde değişmediğini ve serotonin nörotoksini 5,7 dihidroksi triptamin'in beyin ve omurilikde serotonin düzeyini çok azaltacak dozda verildiği halde digital aritmisini önleyemediğini bildirmişlerdir. Serotonerjik fonksiyonu azaltan prosedürlerle (daha önce ya PCPA veya metiserjid muamele edilmiş olan) yaptıkları çalışmalarda bu ilaçlar, ouabain'in letal dozunu artırmışlar ve serotonin antagonistleri ouabain ile başlatılan ventriküler aritmii normal sinüs ritmine çevirmiştir. (9) Bu ajanların eylem yerleri perifer olarak yorumlanmış çünkü PCPA kullanıldığında santral serotonin'in kayıp olması digital aritmisini etkilememiş (5) ve i.a (intra ateriye) yolla beyine gönderilen metiserjid, aritmi için gereken digital dozunun değiştirmemiştir. i.v (intra venöz) metiserjid ise aritmi için gereken digital dozunu atırmıştır (2). Stickney ve Ball (7) ın bulguları da yukarıdaki çalışmalarla paralellik gösterir. Araştırmacılar, kullandıkları üç serotonin antagonisti siproheptadin, metiserjid ve sinanserin'in izole kobay kalbinde ouabain'in aritmelerini önlediği bildirmişlerdir. Ancak bu ilaçların antiaritmik ajanlar oldukları da gösterilmiş (8) olduğundan biz çalışmamızda digitalin aritmik etki gösteremeyeceği bir preparatta izole kolonda serotonin reseptörlerini bloke ettik ve ouabain'in etkisini önlemeye çalıştık.

Bu konuda önceki çalışmamızda (11) preparat olarak ileum kullanmıştık ve bu seferde izole kolonda inceleme yapmayı uygun gördük. Literatürde serotonin'in mide ve kalın barsağı gevşettiği bildirilmiştir. Bu durum, mide ve kolonun çepesindeki inhibitör nöronların varlığına bağlanmıştır. (12) Biz, izole kobay kolonunda stimulan etki gözlemiş bulunuyoruz. Bu bulgumuz, yukarıdaki görüşe uymaktadır. Nedenini kobay kolonunda insan kolonundan belki daha az inhibitör nöron bulunmasına ve belki mide barsak motilitesini artıran P maddesinin kobay

kolonunda daha fazla olmasına veya diğer endojen peptidlerin (VIP, enkalinler, somastotin gibi motilite azalması yapanlar) daha az olmasına veyahutta kobay kolonunda enterokromafin hücrelerin fazlalığına bağlanmış bulunuyoruz.

Serotonin antagonistleri içerisinde ouabain'in etkisini en güçlü sipropheptadin sonra sinanserinin en son da metiserjid önlemişlerdir. Bu bulgumuz, 1978 de Helke ve arkadaşlarının (2), 1979 da Stickney ve arkadaşlarının ve bizim benzeri diğer çalışmamızdaki sıralanışa uyum göstermiş bulunuyor.

### **SONUÇ:**

Çalışmamızda, ouabain'in izole kobay kolonunda kontraktıl etkisini serotonin antagonistleri ile önlemiş bulunuyoruz. Digitalin etki mekanizmasında periferik serotonin'in payı olduğunu deneylerimizle göstermeye çalıştık.

### **THE POSSIBLE ROLE OF PERIPHERAL SEROTONERGIC MECHANISM IN EFFECTS OF DIGITALIS**

#### **SUMMARY:**

The present study has been carried out in order to observe the digitalis-induced contraction on the isolated guinea-pig colon after pharmacological blockade of serotonin receptors. Cyproheptadine, methysergide, and cinanserin have been used as blocker of serotonin receptor.

Our findings have shown that the drugs described above inhibit the effect of digitalis.

#### **KAYNAKLAR:**

- 1- Butterbaugh, G.G., Spratt, J.L.: The possible role of brain monoamines in the acute toxicity of digitoxigenine. J. of Pharmacol. Exp. Therap, 175: 121-129, 1970.
- 2- Helke, C.J., Quest, J.A., Gillis, R.A.: Effects of serotonin antagonists on digitalis induced arrhythmias. European J. of Pharm. 47: 443-449, 1978 (b).
- 3- 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.
- 4- Gaitonde, B.B., Joglekar, S.N.: Mechanism of neurotoxicity of cardiotonic glycosides. Br. J. Pharmac. 59: 229-233, 1977
- 5- Helke, C.J., Souza, J.D., Hamilton, B., Gilis, R.: No evidence for a central serotonergic mechanism in arrhythmogenic effects of deslanoside. Nature. 274: 925, 1978 (a).

- 6- Helke, C.J., Souza, J.D., Gillis, R.A.: Interaction of serotonin and deslanodeis on cardiac rhytm in the cat. *European J. of Pharm.* 51: 167-176, 1978) (c).
- 7- Stickney, J.L., Ball, T.: Effect of serotonergic antagonists on digitalis arrhythmi- as in the isolated heart. *J. of Pnarm. and Exp. Ther.* 209: 411-414, 1979.
- 8- Kaymakçalan, Ş., Türker, K.: Deneysel Farmakoloji. Ankara, Ankara Üniver- sitesi Tıp Fakültesi yayımlarından, 1964, sayı: 142, 7.
- 9- Moura, R.S., Santos, D.A.R., Affa, C.J.S.: Effect of strophantidin on the isolated guinea-pig ileum. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 239: 45-51, 1979.
- 10- Gillis, R.A., Raines, A., Yung, J., Levitt, B., Standarert, F.G.: Neuroexcita- tury effects of digitalis and their role in the development of cardiac arrhyththmias. *J. Pharm. Exp. Therap.* 183: 154-167, 1972 (b).
- 11- Kesim, Y., Gacar, H., Gacar, N. Banoğu, N., Göçer, İ. Kara, Z.: İzole kobay ileumunda ouabain'in kontraksiyonları üzerine serotonin anlatagonistlerinin etkileri. *Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni*, 1761: 81-86, 1985.
- 12- Kayaalp, S.O.: Rasyonel Tedavi yönünden Tibbi Farmakoloji, ikinci baskı, Ankara, Nüve Matbaası, 1983, cilt: III, 1671-1672.