

## SİÇAN İZOLE MİDE STRİPLERİNDE KOLİNERJİK KONTRAKTİL YANITLAR ÜZERİNE STREPTOMİSİNİN ETKİSİ

Ramazan ÇİÇEK<sup>1</sup>, Güner ULAK<sup>1</sup>, Mustafa ULAK<sup>2</sup>, Naime CANORUÇ<sup>3</sup>

### ÖZET

Nöromüsküler blok ve ganglion bloku yaptığı bilinen bir aminoglikozid antibiyotik olan streptomisinin sıçan mide fundus üzerindeki etkileri in-vitro olarak araştırılmıştır. Streptomisin, sıçan mide fundus striplerinin elektriksel uyarıya verdiği kontraktıl yanıtları azaltmıştır. Benzer şekilde eksojen olarak uygulanan, kolinerjik bir ajan olan metakoline verilen kontraktıl yanıtların da maksimum değerlerini düşürmüştür ve dokunun metakoline duyarlığını azaltmıştır. Bu nedenle streptomisinin nöromüsküler kavşak ve ganglionlardan başka sıçan mide düz kasında da kolinerjik yanıtları değiştirebileceği kanısına varılmıştır.

### SUMMARY

*The effect of streptomycin on cholinergic contractile responses of isolated rat stomach fundus strips.*

The effects of streptomycin, which has an inhibitory effect on neuromuscular and ganglionic transmission, on isolated rat stomach fundus strips were investigated in-vitro. The electrical stimuli induced contractile responses of rat stomach fundus strips were reduced by streptomycin. Similarly  $E_{max}$  values of methacholine induced contractile responses of preparations and sensitivity of tissues to methacholine were decreased by streptomycin. So we concluded that streptomycin may contribute to cholinergic responses of rat stomach fundus strips.

### GİRİŞ

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerle ilgili önemli bir yan etki nöromüsküler iletiyi bloke etmeleridir. Bu blokun etki mekanizmasını aydınlatmak amacı ile yapılan çeşitli çalışmalara göre aminoglikozid antibiyotikler nöromüsküler kavşakta presinaptik sınır uçlarından sinaptik aralığa asetilkolin salınırılmamasını engelleyerek nöromüsküler iletiyi deprese ederler (4, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 14, 16). Transmitter madde salınırılmışının presinaptik inhibisyonu kalsiyum kanal blokörü verapamilin yaptığı inhibisyonla benzer (11) ve ortama kalsiyum klorür ilave edilmesi ile önlenebilir (6, 10, 11, 16). Kalsiyum iyonu ile yarışmalı bir şekilde iletinin önlenmesi nöromüsküler kavşakta bloka neden olur. Aminoglikozid antibiyotiklerin kavşak sonrası olaylar üzerine etkileri de nöromüsküler blokta rol oynar. Örneğin

9. Türkiye Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde sunulmuştur (19-25 Haziran 1994, Ürgüp).

1- Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.

2- Pendik Devlet Hastanesi, Genel Cerrahi Servisi, İstanbul.

3- Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır.

neomisin asetilkolin reseptörlerinin iyon kanalları ile etkileşerek, streptomisin ise başlıca asetilkolin reseptörlerini bloke ederek kavşak sonrası duyarlığı azaltır (7).

Streptomisin ve amikasının nöromusküler kavşaktan başka, otonomik ganglionlarda da ganglion bloke edici etkileri vardır (1, 13). Tavşan ve sıçan superior servikal ganglionunda streptomisinin, doza bağlı olarak presinaptik sinir uçlarından asetilkolin salıverilmesini azaltarak ganglionu bloke eder (1).

Neomisin, nöromusküler kavşak üzerindeki etkilerinden başka, indometasin verilmiş sıçanlarda gastrik peristaltizmi inhibe ederek gastrik hasarı önler (9). İnsülin ile gastrik peristaltik hareketler uyarıldığında neomisinin koruyucu etkisi ortadan kalkar.

Gerek streptomisin ve amikasının otonomik ganglionlar üzerine olan etkileri, gerek streptomisinin nikotinik reseptörleri bloke ettiğinin ileri sürülmesi ve gerekse neomisinin gastrik peristaltizmi önlemesi nedeniyle aminoglikozid grubu antibiyotiklerin muskarinik reseptörlerle etkileşip etkileşmeyeceği veya çizgili kas dışında düz kaslar üzerinde de etkili olup olamayacaklarını ortaya koymak amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Erkek Wistar albino sıçanlar (200-250 g) eter anestezisi ve karotis arterinin kesilip kanatılması ile öldürülümsün, Vanc metoduna göre (15) 2-3 mm genişliğinde ve 15-20 mm uzunluğunda mide fundus stripleri hazırlanmıştır. Präparatlara 30 ml'lik organ banyosunda, Tiroid solüsyonu içinde 1 gram gerilim uygulanmıştır. 37°C'de, oksijen içinde % 5 CO<sub>2</sub> ile devamlı havalandırılan organ banyosunda dokular bir saat bekletilmiştir. Bu esnada Tiroid solüsyonu 15 dakikada bir değiştirilerek doku yakanmıştır. Mide fundus striplerinin kontraktıl yanıkları izotonik olarak ılıslı kağıda yazdırılmıştır. Tiroid solüsyonunun bileşimi (mM): NaCl 139.2, KCl 2.7, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4, CaCl<sub>2</sub> 1.8, NaHCO<sub>3</sub> 11.9, MgCl<sub>2</sub> 0.49 ve glukoz 5.5 şeklinde idi.

Metakoline derişim yanıt eğrisi elde etmek için metakolin üç misli artan log ünitler halinde ortama ilave edilmiştir. Her bir derişimin ilave edilmesi için bir önceki derişime verilen yanıtın plato oluşturulması beklenmiştir. 3x10<sup>-5</sup> M metakoline alınan yanıt submaksimal kontraktıl yanıt olarak kabul edilmiş ve diğer yanıkları kıyaslamak amacı ile referans değer olarak kullanılmıştır. Son derişime yanıt alındıktan sonra doku Tiroid solüsyonu ile üç kez yakanmış ve dokunun base-line'a dönmesi sağlanmıştır. Präparat 3x10<sup>-4</sup> M streptomisin ile 15 dakika inkübe edildikten sonra metakoline tekrar kümülatif derişim yanıt eğrisi elde edilmiştir. Dokular sadece bir kez kullanılmıştır. Her bir derişim yanıt eğrisinden -log<sub>10</sub> EC<sub>50</sub> değerleri ve referans değere kıyasla ikinci derişim yanıt eğrisinin E<sub>max</sub> değeri hesaplanmıştır.

Elektriksel uyarıya verilen kontraktıl yanıklar üzerine streptomisinin etkisini araştırmak amacı ile dokular bir çift platin elektrotla direkt olarak, elektrotların dokuya temas ettiği bir şekilde, uyarılmıştır (75 mA, 1 ms, 25 Hz, 20 sn). Bu amaçla doku üç dakika arayla üç kez uyarıldıktan sonra ortama 3x10<sup>-4</sup> M streptomisin ilave edilmiş ve 15 dakika sonra benzer şekilde uyarılmıştır.

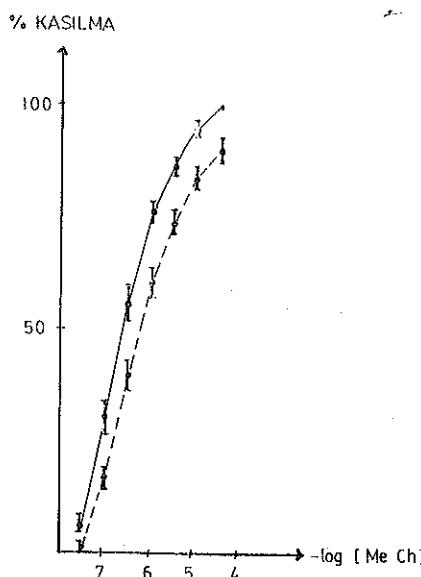
Streptomisin ilavesinden sonra elde edilen kontraktıl yanıtlar ilk değerler ile kıyaslanmıştır.

Metakoline ve elektriksel uyarıya verilen yanıtlar ortalaması  $\pm$  ortalamalanın standart hatası olarak ifade edilmiştir. Streptomisinin bu kontraktıl yanıtlar üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla eşleştirilmiş "t testi" kullanılmıştır.

Çalışmamızda metakolin klorür (Sigma), streptomisin sülfit (I.E.) kullanılmıştır. Metakolin dilüsyonları günlük olarak, streptomisin dilüsyonları ise kullanılmadan hemen önce hazırlanmıştır. Elektriksel uyarı için Medikal Elektronik Ltd. Model 503 stimülatör kullanılmıştır.

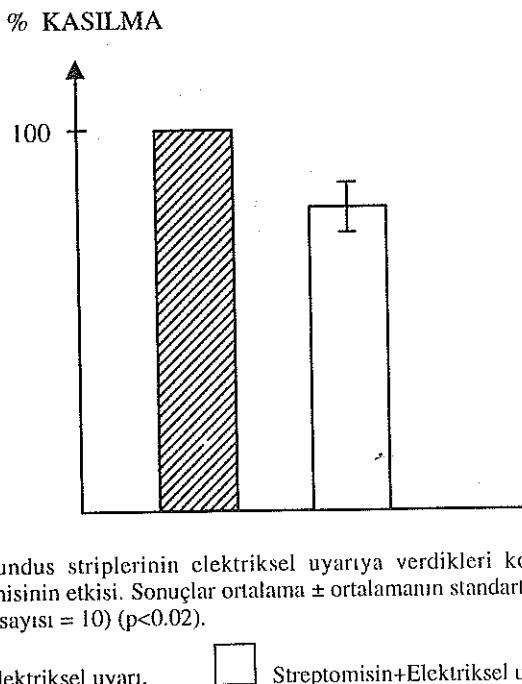
## BULGULAR

Mide fundus striplerinin metakoline verdiği kontraktıl yanıtların maksimum değerleri streptomisin ilavesinden sonra düşüş göstermiştir.  $E_{max}$  değerleri sırasıyla 100 ve  $90.38 \pm 2.98$  olarak saptanmıştır ( $n= 10$ ;  $p<0.05$ ). Streptomisin metakolinin  $EC_{50}$  değerlerini, submaksimal kontraktıl yanıtın % 50'si kadar bir kontraktıl yanıt elde edebilmek için gerekli metakolin miktarını artırmıştır (sırasıyla  $-\log_{10}$  Molar  $EC_{50} = 6.36 \pm 0.062$ ;  $6.14 \pm 0.059$ ) ( $p<0.001$ ) (Şekil 1).



Şekil 1. Mide fundus striplerinin metakoline verdiği kontraktıl yanıtlar üzerine streptomisinin etkisi. Herbir nokta 10 ayrı ölçümün ortalaması $\pm$ ortalamalanın standart hmasını göstermektedir. Streptomisin ilavesinden sonra  $EC_{50}$  değerleri ve  $E_{max}$  değerleri değişmiştir (Sırasıyla  $p<0.001$ ;  $p<0.05$ ). Kesiksiz çizgi: Metakolin, Kesikli çizgi: Streptomisin+metakolin.

Mide fundus striplerinin elektriksel uyarıya verdiği kontraktıl yanıtlar da streptomisin ilavesinden sonra düşüş göstermiştir. Streptomisin ilavesinden sonra kontraktıl yanıtlar ilk değerlere göre  $80 \pm 5.77$  olarak gerçekleşmiştir. Bu düşüşün de istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu saptanmıştır ( $n=10$ ;  $p<0.02$ ) (Şekil 2).



Şekil 2. Mide fundus striplerinin elektriksel uyarıya verdikleri kontraktıl yanıtları üzerine streptomisinin etkisi. Sonuçlar ortalaması  $\pm$  ortalamanın standart hatası olarak belirtilmiştir (Deney sayısı = 10) ( $p<0.02$ ).

Elektriksel uyarı,      Streptomisin+Elektriksel uyarı

#### TARTIŞMA

Bir aminoglikozid antibiyotik olan neomisinin gastrik peristaltizmi önlediği bildirildiği halde (9) aminoglikozid antibiyotiklerle kolinerjik muskarinik sistem arasındaki ilişkiyi inceleyen literatür bilgisine rastlayamadık. Ancak bu grup antibiyotiklerin nöromüsküler kavşakta (2, 6, 10) ve otonomik gangliyonlarda (1, 13) presinaptik blok yaptığı gösterilmiştir. Nöromüsküler kavşaktaki bu presinaptik blok kalsiyum iyonuna duyarlı olup kalsiyum ile geri döndürülebilir.

Aminoglikozid antibiyotikler post sinaptik olarak nikotinik reseptörlerle kenetli iyon akımını inhibe ettiklerinden (3, 7) ve reseptör blokajı yaptıklarından (7) son plakta desensitizasyon oluştururlar. Kolinерjik nikotinik reseptörlerin bloke edilebilmesi ve presinaptik etkiyle nöromüsküler kavşak ve bazı gangliyonlarda transmítter madde salıverilmesinin inhibisyonu nedeniyle aminoglikozidlerin gangliyonlarda ve muhtemelen nörofektör kavşakta da yaygın depresyon yapması

beklenir. Oysa klinikte kullanılan dozlarda bu tür yan etkilerin görülmesi olağan değildir. Ancak streptomisin gibi bazı aminoglikozid antibiyotikler lokal antiseptik amaçlarla antidiyareik olarak kullanıldıklarından bunların lokal konsantrasyonları yüksek olabilir ve antidiyareik tedaviye gangliyon veya nöroefektör kavşak düzeyinde katılımları söz konusu olabilir. Bir gram streptomisin sülfatının intramüsküler enjeksiyonuyla elde edilen doruk plazma konsantrasyonunun ( $30 \mu\text{g/ml}$ ) (12) takiben 15 misli bir derişimde streptomisin sülfat kullanarak yaptığımız bu çalışmada sıçan mide striplerinin hem elektriksel uyarıya hem de eksojen kolinerjik bir ajan olan metakoline verdiği kontraktıl yanıtlar azalmıştır. Metakolinin  $\text{EC}_{50}$  değerleri artmış, metakoline verilen maksimum yanıt azalmıştır. Streptomisinin elektriksel uyarıya verilen kontraktıl yanıtları azaltması belki asetilkolin salieverilmesinin azalması ile açıklanabilir, ancak metakoline verilen kontraktıl yanıtların da azalması efektör hücre düzeyinde bazı mekanizmaların etkilendigini düşündürür. Dolayısıyla bu çalışmaya göre etki mekanizması çok açık olmamakla birlikte, streptomisinin sıçan mide fundusunda elektriksel ve kolinerjik uyarıya verilen kontraktıl yanıtları değiştirebileceği kanısına varılmıştır. Bu etki lokal antiseptik amaçla kullanılan aminoglikozid antibiyotiklerin antidiyareik tedaviye katkıda bulunmalarına neden olabilir.

#### KAYNAKLAR

1. Alkadhi KA, McIsaac RJ: Ganglion blocking effects of streptomycin, *Arch Int Pharmacodyn Ther* 232: 58 (1978).
2. Bradley RJ: Reversal of organophosphate-induced muscle block by neomycin, *Brain Res* 381: 397 (1986).
3. Brown RD, Taylor P: The influence of antibiotics on agonist occupation and functional states of the nicotinic acetylcholine receptor, *Mol Pharmacol* 23: 8 (1983).
4. Burkett L, Bikhazi GB, Thomas KC Jr, Rosenthal DA, Wirta MG, Foldes FF: Mutual potentiation of the neuromuscular effects of antibiotics and relaxants, *Anesth Analg* 58: 107 (1979).
5. Farley JM, Wu CH, Narahashi T: Mechanism of neuromuscular block by streptomycin: a voltage clamp analysis, *J Pharmacol Exp Ther* 222: 488 (1982).
6. Fiekers JF: Effects of the aminoglycoside antibiotics, streptomycin and neomycin, on neuromuscular transmission. I. presynaptic considerations, *J Pharmacol Exp Ther* 225: 487 (1983).
7. Fiekers JF: Effects of the aminoglycoside antibiotics, streptomycin and neomycin, on neuromuscular transmission. II. postsynaptic considerations, *J Pharmacol Exp Ther* 225: 496 (1983).
8. Maeno T, Enomoto KI, Sawada M: Kinetic analysis of the action of chemical modulators on neuromuscular transmission, *Jpn J Physiol* 31: 639 (1981).
9. Mersereau WA, Hinchey EJ: Neomycin prevents indomethacin-induced gastric peristalsis and muscular injury in the rat, *Can J Physiol Pharmacol* 67: 1029 (1989).
10. Paradelis AG, Triantaphyllidis C, Giala MM: Neuromuscular blocking activity of aminoglycoside antibiotics, *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2: 45 (1980).
11. Paradelis AG, Triantaphyllidis C, Mironidou M, Crassaris LG, Karachalios DN, Giala MM: Interaction of aminoglycoside antibiotics and calcium channel blockers at the neuromuscular junctions, *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 10: 687 (1988).

12. Sande MA, Mandell GL: The aminoglycosides, "Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P (eds): *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Eighth Edition" kitabında s.1098, Pergamon Press, New York (1990).
13. Singh YN, Marshall IG, Harvey AL: Some effects of aminoglycoside antibiotic amikacin on neuromuscular and autonomic transmission, *Br J Anaesth* 50: 109 (1978).
14. Tamaki M: The effect of streptomycin on the neuromuscular junction of the frog, *Brain Res* 265: 241 (1983).
15. Vane JR: A sensitive method for the assay of 5-hydroxytryptamine, *Br J Pharmacol Chemother* 12: 344 (1957).
16. Yamada S, Kuno Y, Iwagana H: Effects of aminoglycoside antibiotics on the neuromuscular junction: Part I, *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 24: 130 (1986);