

H₂-RESEPTÖR BLOKERİ SİMETİDİN'İN ANJİYOTENSİN KONVÖRTİNG ENZİM AKTİVİTESİNİ OLASI AZALTICI ETKİSİ

Orhan ALTINKURT (*)

Nurettin ABACIOĞLU (*)

ÖZET: Doku hormonlarından olan histamin ve Renin- Anjiyotensin Sistemi (RAS) arasında ilginç yeni etkileşimler gözlenmeye başlanmıştır. Özellikle, histamin ve anjiyotensin peptidlerin vasküler sempatik tonüsü sağlayan periferik nöronal katekolaminergik mekanizma üzerinde benzer etkinlikler göstermesi; ayrıca, A II'nin vasküler etkisinin kısmen de olsa, de novo histamin sentezi artışı yapıcı etkisi ile ilgili bulunması ve H₁ ve H₂ reseptörlerinin anjiyotensin konvörting enzim aktivitesinin ayarlanmasıyla ilgili olabileceğine ilişkin yapılan çalışmalar dikkat çekicidir.

Bu çalışmada, H₂ - reseptör blokleri olan simetidin ile Renin - Anjiyotensin Sisteminin (RAS) etkileşmesini incelemek amaçlanmıştır.

Simetidin, kobaylara sırası ile 2.84 ve 5.68 mg/kg dozlarda i.p. olarak uygulanmıştır. Plazma örnekleri, ilaç verilmeden/ahındığında kontrol; ilaç verildikten sonra ise ilaç etkisi olarak değerlendirilmiştir. E.C. Osborn tarafından bildirilen metoda göre ekstre edilen anjiyotensin II biyolojik olarak tayin edilmiştir. Yapılan biyoassaylerde, doza bağımlı olarak plazma A II düzeylerinde kontrole oranla % 40.40 ± 0.24 ve % 50.66 ± 0.66 lik istatistiksel anlamlı inhibisyonlar saptanmıştır.

Bu çalışmada, saptanan inhibisyonun olası mekanizması tartışılmıştır.

THE POSSIBLE DECREASING EFFECT OF H₂ - RECEPTOR BLOCKER CIMETIDINE ON ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME ACTIVITY

SUMMARY:

Recent observations were identified some novel interesting interactions between the two tissue hormones, histamine and Renin - Angiotensin System (RAS). The particular studies indicate that, histamine and angiotensin peptides show similar actions on the peripheric neuronal catecholaminergic mechanism by regulating the vascular sympathetic tonus. On the other hand, A II enhances de novo histamine synthesis and, the

(*) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Tandoğan-Ankara

amine is partially responsible with the vascular effects of peptide. Also, the possible regulation of angiotensin converting enzyme activity is concerned in H₁ and H₂ receptors.

In this study, it is aimed to search the interection between cimetidine and, Renin-Angiotensin System (RAS).

Cimetidine was administrated to guinea - pigs i.p. in dosages of 2.84 and 5.68 mg/kg respectively. The plasma samples were evaluated as control prior to the administration of cimetidine and, as drug effect after the administration of it. Angiotensin II extractions were prepared according to the method proposed by E.C. Osborn and, the levels were assayed biologically. The bioassays which were performed indicate that the dose-dependent plasma A II levels inhibited by 40.49 ± 0.24 and 50.66 ± 0.66 percents when compared with the control levels. The results obtained were statistically significant.

In this study, the effect achived suggests a possible angiotensin converting enzyme inhibition and, the releated mechanism has been discussed.

GİRİŞ:

Doku hormonlarından olan histamin ile Renin - Anjiyotensin sistemi arasında ilginç gelişmeler gözlenmeye başlanmıştır.

Histamin salıverilmesine neden olan yılan zehirleri gibi kobra zehirinin de doku harabiyeti sonucu böbrekten renin liberasyonu yaptırdığı ilk kez 1948'de Reid ve Jenkins tarafından bildirilmiştir. (1).

Bisset ve Lewis ise 1962'de, kobayda A II'nin intradermik enjeksiyonları ile oluşturulan kapiller permeabilitedeki artışın H₁-Reseptör blokleri mepiramin ile önlendiğini göstermişlerdir. (2). Bu etkinin gösterilmesinden sonra 1965'de Lewis ve Reit, 1966'da da Trendelenburg mepiramin, morfin ve kokain'in kedi superior servikal gangliyonunda anjiyotensinin gangliyon stimüle edici etkisini düşürdüğünü saptamışlardır. (3, 4). Diğer yandan morfin ve kokain'in histamin'in nonnikotinik gangliyon stimüle edici etkisini bloke ettikleri de bilinmektedir. Yine sinarizin ve piperazin türevleri gerek anjiyotensin'in ve gerekse histamin'in izole kobay ileumu ve kedi papiller kasında meydana getirdiği kasılmaları nonkompetitif bir biçimde antagonize etmektedir. (5). Buna benzer sonuçlar laboratuvarımızda da yapılan bazı çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Bradikinin, histamin,

asetilkolin, anjiyotensin II ve PGE₂'nin izole kobay ileumunda meydana getirdiği kasılmalar streptomisin ve vitamin K₃ tarafından non-kom-petitif bir biçimde antagonize olmaktadır. (6, 7).

Diğer yandan, A II'nin adrenal medullanın kromoffin hücrelerinden direk depolarizasyonla kuvvetli katekolamin salgılanması yaptığı gösterilmiştir. (8, 9, 10). Histamin için sirenal kaynaklı katekolamin salgılanması, deney hayvanlarının otonom gangliyonlarına veya sirenal bezin arteri içine histamin enjeksiyonu ile gösterilmiştir. (11, 12). Her iki otokoid için bu olayın direk stimulan bir etki olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir. (13, 14).

Gerek histamin ve gerekse A II'nin bazı metabolik hormonal etkileri arasında da bir benzerlik vardır. Anjiyotensin II, renin salgılanmasını inhibe eden hipofiz arka lob hormonu vazopressin (ADH) salgılanmasını sağlar (15, 16, 17). Sıçanlarda hipotalamusun uygun yerlerine veya 3. ventriküle i.s.v. histamin enjeksiyonu ise bazı santral etkilerle beraber vazopressin salgılanmasında artma yapmaktadır. (18).

Histamin ve anjiyotensin peptidler vasküler sempatik tonüsü sağlayan periferik nöronal katekolaminerjik kontrol mekanizması üstüne benzer etkinlik gösteren faktörlerdendir. Bu mekanizmanın kontroluyla ilgili olarak, sempatik gangli-

yonlardaki soma dendrik reseptörlerin uyarılmasıyla adrenerjik sinir membranında değişiklikler oluşmaktadır. Bu değişimin H_1 ve anjiyotensin reseptörlerinin uyarılması sonucu ortaya çıkışı, adrenerjik sinir membranında depolarizasyona neden olmakta ve noradrenalin (NA) saliverilmesi görülmekte; buna karşın, H_2 reseptörlerinin uyarılması hiperpolarizasyona neden olmaktadır. (19). Yine bu mekanizmanın kontroluyla ilgili ikinci bölge adrenerjik sinir uçları olup, kavşak öncesi H_1 ve anjiyotensin reseptörlerinin uyarılması adrenerjik sinir ucundan NA fasilitasyonuna neden olmaktadır. (19, 20, 21). Anjiyotensin, NA salınımını nörona Ca^{+2} influxını artırarak fasillite eder (19, 22). Buna karşın, H_2 reseptörlerinin uyarılması ise adrenerjik sinir ucundan NA saliverilmesinin inhibisyonunandeneden olmaktadır. (19).

Vasküler homeostazide histamin ve anjiyotensin peptidlerin birbirleriyle olan ilişkileri prostaglandinler üzerine olan bazı etkileri yönünden de gösterilmiştir. Gerek histamin ve gerekse anjiyotensin peptidler PGI_2 oluşumunu aktive eden faktörlerdendir. Histamin gibi mast hücrelerinde de bulunan PGI_2 degranülasyon sonucu açığa çıkar. PGI_2 ile de renin sekresyonu artarak Anjiyotensin - Aldosteron sistemi aktive olmaktadır. (23).

Regoli ve Vane ile Rioux ve arkadaşları barsak ve vasküler düz kaslarda A II nin miyotropik etkisinin endojen histamin ile ilgili olmadığını bildirmişlerdir. (24, 25). Buna karşın başka çalışmalarda A II'nin vasküler düz kasa etkisinde diğer bazı otakoidlerinde katkısı olduğu bu peptidin damar duvarında de novo histamin sentezini artırdığı ve vasküler etkisinin kısmen de olsa bu aminle ilişkili olduğu gösterilmiştir. (26, 27).

Diğer taraftan, histamin - H_1 ve H_2 reseptörlerinin anjiyotensin konvörting enzim (AKE) aktivitesinin ayarlanmasında da etkili olabileceği, H_2 reseptörlerinin blokajı ile bu enzimin istatistiksel anlamlı düşüşü şeklinde, deneysel olarak gösterilmiştir. Bu çalışmalarda H_2 - Reseptör blokleri olarak burimamid ve metiyamid kullanılmıştır. (28). Buna karşın diğer iki

antagonisten farklı olarak yan zincirde bir siyanoguanidin grubu içeren simetidin'in etkileri incelenmemiştir. Bu çalışma, diğer yapılanlara bir ek olarak in vivo A II oluşumunda H_2 - Reseptör blokleri simetidin ile bir etkileşim olup olmadığını araştırmak için yapılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER:

A II benzeri madde ekstraksiyonu için deney hayvanı olarak kobaylar kullanılmıştır. Hayvanlardan gerek kontrol, gerekse ilaçlı kan örnekleri kardiyak ponksiyonla alınmıştır.

A II benzeri madde ekstraksiyonu için E.C. Osborn (29) tarafından bildirilen metod kullanılmıştır.

Yukarıdaki metoda göre, ekstre edilen maddeler, 400-600 g. ağırlığındaki her iki seksten seçilmiş albino kobayların terminal ileumları üzerinde denenmiştir. 24 saat önceden aç bırakılan kobayların kafalarına vurulup karotid arterleri kesilmek suretiyle öldürülmüş, karın açıldıktan sonra ileoçekal sfinktere proksimal olan bölgeden alınan 2, 3 cm. uzunluğundaki ileum parçaları mezenter dokusundan temizlendikten sonra kullanılmıştır. İleum parçaları izole organ banyosunda 10 ml.lik rezervuara asılmış ve ortam % 95 O_2 + % 5 CO_2 ile havalandırılan, 1×10^{-7} M konsantrasyonda atropin ve mepiramin içeren Tyrod solusyonu ile beslenmiştir. Kasılmalar 0.5-1 g. gerilim uygulanarak Ugo Basile, No: 7006 transduser ile Ugo Basile No: 7050 mikrodinamometre üzerine kaydedtirilmiştir.

Anjiyotensin II için standart doz-cevap eğrisi 5 dozda çıkarılmıştır. Ekstraktın miktar tayini için tek bir dilüsyon preparata uygulanmıştır. Standart doz-cevap eğrisinin % 25 - % 80'i arasında kalan % kasılma cevapları semilogaritmik grafik kağıdına işlendikten sonra lineer transformasyona uğratılmıştır. Bilinmeyen potense sahip madde aktivitesi standart regresyon doğrusu ile karşılaştırılarak esaplanmıştır.

Ekstre edilen maddelerin A II benzeri madde olduğu doğrulaması Saralazin (1×10^{-7} M) ile inhibe edilerek gösterilmiştir.

Kan ekstraları, ilaç verilmeden önce alındığında kontrol olarak değerlendirilmiştir. Simetidin hayvanlara i.p. olarak verilmiş ve uygulamadan 1/2 saat sonra kan örnekleri toplanmıştır. Kontrol ve ilaçlı plazma düzeyleri ng/ml A II benzeri madde miktarı olarak ifade edilmiştir.

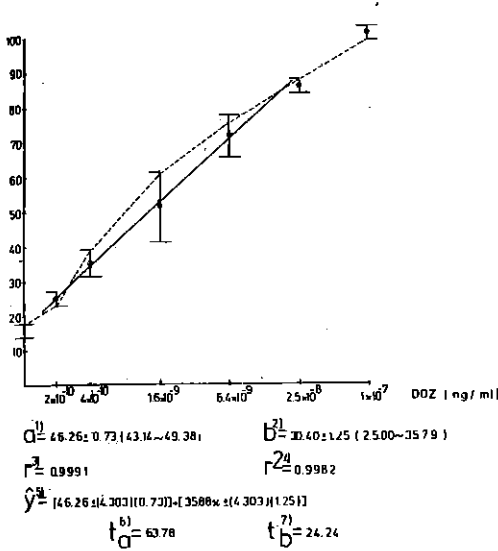
Deneylerde kullanılan A II dozları, 0,1 N asetik asit içinde çözülmüş ve dondurulmuş 100 µg/ml konsantrasyondaki stok çözeltiden günlük olarak hazırlanmıştır.

Sonuçların değerlendirilmesi ise 'Eşler Arası Farkın Anlamlılık t Testi' ile yapılmıştır.

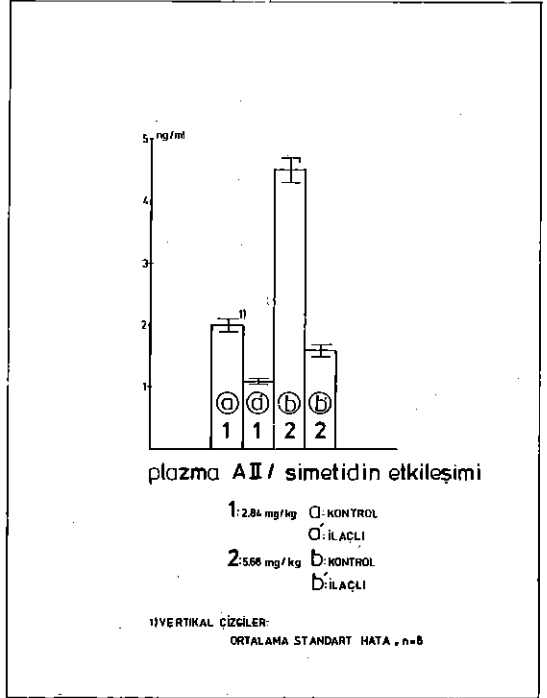
SONUÇLAR:

Her deneyde, anjiyotensin II için standart doz-cevap eğrileri çıkarılmıştır. % kasılma cinsinden olan eğriler regresyon doğrusuna transforme edilerek A II benzeri madde miktarı tayininde kullanılmıştır.

ŞEKİL : 1



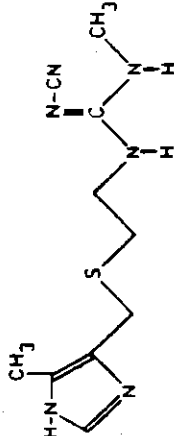
ŞEKİL : 2



- 1) Kesişim noktası
- 2) Eğim
- 3) Korelasyon katsayısı
- 4) Determinasyon katsayısı
- 5) Doğru denklemi
- 6) Kesişim noktası için t değeri
- 7) Eğim için t değeri
- 8) Vertikal çizgiler: Ortalama standart hata (n=12)

ŞEKİL 1
SIMETİDİN İLE PLAZMA A II DÜZEYLERİNİN ETKİLEŞİMİNDE
KULLANILAN STANDART A II LOG DOZ CEVAP EĞRİSİ VE
REGRESYON ANALİZİ

ŞEKİL 2

ILAC	FORMÜL	DOZ (mg/kg)	PLAZMA ALBENZERİ MADDE MİKTARI	% İNHİBİSYON	P < 0,05
SİMETİDİN		286	$k = 2,01 \pm 0,31$ ³⁾ (1,28 ~ 2,73) ⁵⁾ $t = 1,19 \pm 0,17$ ⁴⁾ (0,79 ~ 1,58) ⁶⁾	40,79 ± 0,27	0,5 ⁸⁾
		568	$k = 4,52 \pm 0,98$ (2,21 ~ 6,83) $t = 2,23 \pm 0,33$ (1,45 ~ 3,00)	50,66 ± 0,66	0,5

tablo 1

¹⁾ $k = \bar{x} \pm 0,5H$ (S.A.)⁵⁾

²⁾ $t = \bar{x} \pm 0,5H$ (G.A.)⁶⁾

1) k= KONTROL

2) t= İLAC

3) KONTROL ORTALAMA MADDE MİKTARI : ORTALAMANIN STANDART HATASI (ng/kg)

4) İLACIN SONRA ORTALAMA MADDE MİKTARI : ORTALAMANIN STANDART HATASI (ng/kg)

5,6) GÜVEN ARALIĞI

7) İNHİBİSYON %LERİNİN ORTALAMASI : ORTALAMANIN STANDART HATASI

8) SİBSTATİSTİKSEL AYRILMA İLK P < 0,05

AI/ Simetidin Etkilesimi

Simetidin iki ayrı dozda kobaylara uygulanmış ve kontrollü karşılaştırmalı olarak A II plazma düzeyleri yönünden değerlendirilmiştir. (Şek. 1, 2), (Tab. 1).

TARTIŞMA:

Organizmada, mast hücreleri granüllerindeki histamin ve dokuda devamlı oluşan histamin biçiminde iki havuz bulunmaktadır. Bu ikinci havuz "induced histamin" olarak bilinmektedir. (26).

Induced histamin yapımının çeşitli agonistlerle vasküler yatakta oluştuğu bazı çalışmaları gösterilmiştir. Klonidin ve A II'nin izole tavşan aortundaki miyotropik etkilerinden kısmen de novo histamin'in de sorumlu olduğu gösterilmiştir. (27, 30).

Histamin reseptörleri ile anjiyotensin peptidleri arasındaki etkileşimler başka bir çalışmada da gösterilmiştir. Bu çalışmada H_2 - Reseptör blokerleri burimamid ve metiyamidin sıçan akciğer venöz dönüşümü üzerinden süperfüze tavşan aortu ve sıçan kolonuna verilmesi A I miyotropik cevaplarını inhibe etmiştir. Sonuçlar etkinin konvörting enzim veya akciğerden salınan miyotropik faktörlerin inhibisyon ile ilgili bulunmuştur. (28).

Bu çalışmada ise, H_2 - Reseptör blokeri olan simetidin'in in vivo A II düzeyleri üzerine olan etkileri $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı inhibisyonlar olarak saptanmıştır.

Gerek in vivo ve gerekse in vitro olarak anjiyotensin I in II'ye dönüştüğü önemli vasküler alanlardan bir tanesi akciğer olup, dönüşümü sağlayan konvörting enzim aktivitesini içermesi yanında H_2 - Reseptörlerinin de bu alanda yaygın bir dağılım gösterdiği bilinmektedir. (26).

Bu literatür bilgilere ve bulgulara dayanarak anjiyotensin peptidleri ile histamin arasında periferik homeostatik mekanizmalar açısından bir ilişkinin bulunduğu ve simetidin için gözlenen A II aktivitesindeki inhibisyon etkilerinin anjiyotensin konvörting enzim (AKE) inhibisyonu ile ilgili olduğu ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR

1- Beraldo, T.W., Dias Da Silva, W.:

Release of histamine by animal venoms and bacterial toxins.

In Histamine and Anti - Histaminics: Handb. Exp. Pharm. pp. 334-385, Ed. Rocha e Silva, Vol. 18, Sec. I, Springer Verlag (1966)

2- Bisset, G.W., Lewis, G.P.: spectrum of pharmacological activity in some biologically active peptides.

Brit. J. Pharmacol., 19: 168 (1962)

3- Lewis, G.P., Reit, E.: The action of angiotensin and bradykinin on the superior cervical ganglion of the cat.

J. Physiol. (London), 179-538 (1965)

4- Trendelenburg, U.: Observations on the ganglion - stimulating action of angiotensin and bradykinin.

J. Pharmacol. Exp. Therap, 154: 418 (1966)

5- Türker, R.K., Page, I.H., Bumpus, F.M.: Antagonists of angiotensin II. In Handb. Exp. Pharm. Angiotensin Ed. Page, I.H., Bumpus, F.M. Vol. 37, pp. 162-169 Springer Verlag (1974)

6- Altinkurt, O., Kanzık, İ.: Non-competitive inhibition of bradykinin, acetylcholine and histamine on guinea-pig ileum with streptomycin and Vitamin K_3 .

Arzneim. - Forsch./Drug Res., 30(I). Nr. 1.41-44 (1980)

7- Altinkurt, O., Abacıoğlu, N.: Non-competitive inhibition of angiotensin II and PGE_2 on guinea - pig ileum with streptomycin, Vitamin K_3 and rutin.

Arzneim.- Forsch./Drug Res., 30(I). Nr. 4.610-613 (1980)

8- Feldberg, W., Lewis, G.P.: The action of peptides on the adrenal medulla. Release of adrenaline by bradykinin and angiotensin. J. Physiol. (London) 171: 98 (1964)

9- Kaneko, Y., Mc. Cubbin, J.W., Page, I.H.: Ability of vasoconstrictor drugs to cause adrenal medullary discharge after "sensitization" by ganglion stimulating agents.

Circ. Res., 9: 1247 (1961)

10- Regoli, Dr., Park, W.K., Rioux, F.:

- Pharmacology of angiotensin. *Pharmacol. Rev.*, 26 (2): 69-123 (1974)
- 11- Emmelin, N.: Action of histamine upon salivary glands. In *Handb. Exp. Pharm., Histamine and Anti-Histaminics* Ed. by: Rocha e Silva, Vol. 18 Sec. F pp. 294-301 (1966)
 - 12- Von Euler, U.S.: Relationship between histamine and the autonomic nervous system. In *Handb. Exp. Pharm., Histamine and Anti - Histaminics* Ed.by: Rocha e Silva, Vol. 18 Sec. H pp. 318-333 (1966)
 - 13- Peach, M.J.: Adrenal Medulla, In *Handb. Exp. Pharm., Angiotensin* Ed. by: Page, I.H., Bumpus, F.M. Vol. 37, pp. 400-407 Springer Verlag (1974)
 - 14- Lewis, G.P., Reit, E.: Further studies on the actions of peptides on the superior cervical ganglion and suprarenal medulla. *Brit. J. Pharmacol.*, 26, 444 (1966)
 - 15- Mouw, D.R., Wander, A.Z.: Evidence for brain Na receptors controlling renal Na excretion and plasma renin activity. *Amer. J. Physiol.*, 219: 822 (1970)
 - 16- Fitzsimons, J.T.: Angiotensin stimulation of the central nervous system. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 87: 117/167 (1980)
 - 17- Davis, J.O., Freeman, R.H.: Mechanisms regulating renin release. *Physiological Reviews* 56:1 (1976)
 - 18- Schwartz, J.C.: Histamine as a transmitter in brain. *Life Sciences*, Vol. 17, pp. 503-518 (1975)
 - 19- İlhan, M.: Vasküler homeostaziste katekolaminlerin rolü. V. *Türk Farmakoloji Kong.* (4-6.9.1980), Ed.: Verimer. T. Syf. 5-14, Nüve Mat. (1981)
 - 20- Henderson, G., Hughes, J.: Modulation of frequency-dependent noradrenaline release by calcium, angiotensin and morphine *Brit., J. Pharmacol.*, 52 (3): 455-456 P (1974)
 - 21- Ercan, Z.S., Türker, R.K.: Alteration by histamine receptor agonists of the release of adrenergic transmitter in the isolated perfused rabbit kidney. *Arch.int.Pharmacodyn. Ther.*, 249 (2): 203-212 (1981)
 - 22- Ercan, Z.S.: Changes induced by angiotensins on prostaglandin E₂ on the release of transmitter from isolated perfused rabbit kidney during periarterial stimulation *Arch. int. Physiol. Biochim.*, 83:799 (1975)
 - 23- Ercan, Z.S.: Vasküler homeostaziste prostaglandinlerin rolü. V. *Türk Farmakoloji Kong.* (4-6.9.1980), Ed.: Verimer, T. Syf. 22-38 Nüve Mat. (1981)
 - 24- Regoli, D., Vane, J.R.: A sensitive metod for the assay of angiotensin. *Brit. J. Pharmacol, Chemother*, 23, 351-359 (1964)
 - 25- Rioux, F., Park, W.K., Regoli, D.: Application of drug receptor theories to angiotensin. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 51, 665-672 (1973)
 - 26- Türker, R.K., Ercan, Z.S., Bor, N., Torunoğlu, M.K.: Vasküler homeostazis ve doku hormonları. *Doğa Bilim Dergisi: Tıp; Cilt 6*, 81-88 (1982)
 - 27- Ercan, Z.S., Ersoy, F.F., Bökesoy, T.A. -Türker, R.K.: Evidence for the histamine mediated myotropic effect of angiotensin II in the rabbit aorta. *Pharmacology*, 18 (5): 276 (1979)
 - 28- Ercan, Z.S.: Alteration by histamine-H₂ receptor blockers of the potentiation of angiotensin I in the pulmonary vascular bed. *Arzneim.-Forsch./ Drug Res.* 30 (I), Nr. 4, 624-626 (1980)
 - 29- Osborn, E.C.: A rapid metod for the extraction of angiotensin II from blood. *J. Pharm Pharmacol.*, 21:862-863 (1969)
 - 30- Bökesoy, T.A., Ercan, Z.S., Ersoy, F., Zengil, H., Türker, R.K., Possible involment of endogenous histamine in the myotropic effect of clonidine on the isolated rabbit aorta. *Agents and Actions* 8/5, 478 (1978)