

ANJİYOTENSİN II'nin, KOBAY KAN PLAZMA DÜZEYLERİ, BRONKOKONSTRİKSİYONU ve SIÇAN ARTERİYAL TANSİYONUNDA STREPTOMİSİN İLE ETKİLEŞİMİ

Nurettin ABACIOĞLU(*)

Orhan ALTINKURT(**)

ÖZET:

Aminoglikozit yapıda bir antibiyotik olan streptomisin, antitüberküloz etkisi yanında nöromusküler blokaj yapıcı, düz kaslarda spazmolitik aktivite gösterici ve histamin liberasyonuna neden olan etkileri literatürde bildirilmektedir.

Bu çalışmada, bazı vasküler yataklarda ve kan plazma düzeylerinde anjiyotensin II ile streptomisin etkileşmesi incelenmiştir.

Anjiyotensin II (A II) benzeri madde aktivitesi olarak, streptomisin doza bağımlı inhibisyon ve potensiyalizasyon oluşturan farklı cevapları kobay kan plazma düzeylerinde gözlenirken, gerek sıçan ortalama kan basıncında ve gerekse in vivo kobay akciğer preparatında A II'nin oluşturduğu cevaplar inhi be olmuştur.

Bulgular çerçevesinde olası mekanizmalar tartışılmıştır.

THE INTERACTION BETWEEN ANGIOTENSIN II and STREPTOMYCIN IN GUINEA PIG BLOOD PLASMA LEVELS AND BRONCHOCONSTRICTION and RAT ARTERIAL BLOOD PRESSURE

SUMMARY:

Streptomycin is a narrow spectrum aminoglycoside antibiotic with bacteriostatic and bactericidal activities against Mycobacterium tuberculosis and certain Gram-negative bacteria. Beside these effects, it is a neuromuscular blocker in high doses and, its spasmolytic effect has been shown on smooth muscles. On the other hand, it is a potent histamine liberator.

In this study, the interaction between streptomycin and, angiotensin II (A II) has been searched in certain vascular beds and blood plasma.

Streptomycin was changed A II like activity dose dependently by inhibiting or potentiating the guinea-pig blood plasma levels. Also, the vascular responses occurred by i.v injection of A II in rat blood pressure and, in vivo guinea-pig lung preparation were inhibited in presence of streptomycin.

In this study, the possible mechanisms has been discussed according to the responses achieved.

(*) Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Etiler-ANKARA

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

Geliş Tarihi : 22.6.1984

GİRİŞ:

Farmakolojik etkileri açısından ilginç bir madde olan streptomisin, antitüberküloz etkisi yanında protein sentezinde inhibisyona neden olmakta, nöromüsküler blokaj yapmakta, ayrıca düz kaslar üzerinde spazmolitik etkimekte ve histamin liberasyonuna yol açmaktadır (1,2,3,4,5,6,7).

Bu bulgular dışında, streptomisin, izole kobay ileum preparatında asetilkolin, histamin, bradikinin, anjiyotensin II ve PGE₂'yi, sıçan mide fundus şeridinde ise serotoninin oluşturduğu doza bağımlı kasılmaları nonkompetitif bir biçimde antagonize etmektedir (8,9,10). Ayrıca, yine kobay arter basıncında bradikininin hipotansif etkisini ve in vivo kobay akciğer preparatında bradikinin ve histamine karşı oluşan bronkokonstriktör etkiyi de inhibe ettiği gösterilmiştir(11).

Diğer yandan, Urfa yöresinde akrep (*Androctonus crassicauda*) zehirinin izole kobay ileumu, kurbağa *rectus abdominis* üzerindeki kastırıcı etkileri ile kobay arterial kan basıncında oluşturduğu hipertansif ve in vivo akciğer preparatında oluşturduğu bronkokonstriktör etkiyi streptomisinin inhibe ettiği bulgulanmıştır(12). Yine, streptomisinin davranış elemanlarından birisi olan Koşulla Sakınım Cevabı (KSC) deneylerinde, sıçanlarda, gecikme, öğrenme ve bilgi transferi parametreleri üzerinde inhibisyon yapıcı etkisi gözlenmiş; morfin ve kokainle birlikte kombine etkileri de araştırılmıştır. Ayrıca sıçan beyin asetilkolin düzeyleri üzerinde gerek tek başına, gerek morfin ile ve gerekse morfin + kokain ile kombine uygulanmasında inhibisyon yaptığı saptanmıştır(13).

Konvörtin enziminin akciğerde fazla bulunması nedeniyle, akciğer hastalıklarında plazma konvörtin enzim aktivitesi ölçülmesi yolunda araştırmalar yapılmıştır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığında ve şok akciğerinde periferik kanda konvörtin enzim aktivitesinin düşmekte olduğu tesbit edilmiş, ayrıca akciğer kisti, kistik fibrozis, akciğer tüberkülozunda da enzim aktivitesinin düştüğü bildirilmiştir-

tir(14).

Akciğer tüberkülozu ile periferik kan konvörtin enzim aktivitesi arasında bir korelasyonun bulunması antitüberküloz etkili streptomisin ile anjiyotensin peptidleri arasında da bir ilişkinin bulunabileceğini hatıra getirmektedir. Bu amaçla, bazı vasküler yataklar ile kan plazma düzeylerinde anjiyotensin ile streptomisinin etkileşimi çalışma boyunca incelenmiştir.

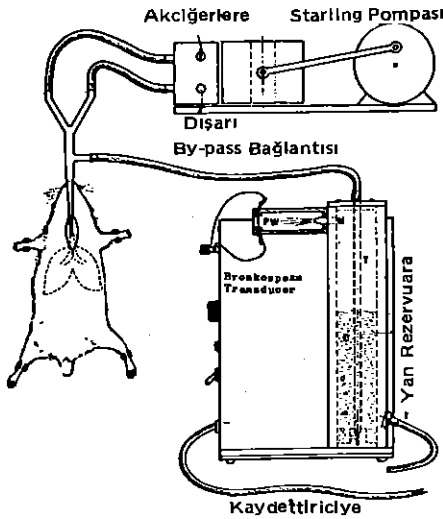
GEREÇ VE YÖNTEMLER:

Deneysel üç bölümde yapılmıştır.

i- A II Ekstraksiyonu ve Biyolojik Tazinin: A II benzeri madde ekstraksiyonu için kobaylardan, streptomisin uygulaması öncesi (kontrol) ve uygulama sonrası kan örnekleri kardiyak ponksiyonla alınmıştır. A II benzeri madde ekstraksiyonu için E.C.Osborn tarafından bildirilen metod kullanılmıştır(15). Bu metoda göre ekstre edilen maddeler her iki seksten seçilmiş albino kobayların terminal ileumları üzerinde denenmiştir. Preparatın hazırlanması ve biyoesseyin yapılması daha önceki bir makalede bildirildiği şekilde yapılmıştır(16). Kan ekstreleri, ilaç vermeden önce alındığında kontrol olarak değerlendirilmiştir. Streptomisin kobaylara i.p olarak verilmiş ve uygulamadan 2 saat sonra kan örnekleri toplanmıştır. Kontrol ve ilaçlı plazma düzeyleri ng/ml A II benzeri madde miktarı olarak ifade edilmiştir. Bu bölüm sonuçlarının değerlendirilmesi "Eşler Arası Farkın Anlamlılık Testi" ile yapılmıştır.

ii- İn vivo Kobay Akciğeri Üzerindeki Deneysel: Kobay akciğerinin in vivo olarak hava akımına karşı direnci Collier tarafından açıklanan yöntemle ölçülmüş, fark olarak piston recorder yerine bronkospazm transducer (Ugo Basile, No: 7020) kullanılmıştır(17). Her iki seksten kobaylar i.p olarak üretan (1.25 g/kg) ile anesteziye edilmiş ve deneyler boyunca spontan solunum hareketlerini önlemek için üretanın küçük dozlarının uygulanması yinelenmiştir. Anesteziye hayvan,

ameliyat masası üzerine sırt üstü tesbit edildikten sonra uygun tekniği ile trakea-tomi ve Vena jugularis externa kanülasyonu yapılmıştır. Trakea kanülüne yan kolu bir V boru takılarak yapay solunum pompası ile akciğerler irtibat haline getirilmiştir. Pompa dakikada 72 vuruş ve vuruş hacmi 5-10 ml/H₂O olacak şekilde ayarlanmıştır. Trakea kanülüne takılan V borunun yan kolu bir plastik boru ile transducer su haznesine bağlanmıştır. Böylece akciğere giden havanın fazlasının V boru yan kolundan geçerek su haznesine gelmesine ve kaçan hava miktarındaki değişikliklerinde transducer yardımıyla dinamometre üzerine kaydedilebilmesine ola-



Şekil 1. İn Vivo Kobay Akciğer Preparatı ve Kayıt Sistemi

nak sağlanmıştır (Şek. 1). A II'nin bronkokonstriktör etkisi ile oluşan hava akımındaki artış amplitüdü, doz-cevap eğrisi biçiminde kaydedirilmiş aynı yöntem streptomisin uygulamasından sonra da denenmiştir. Agonist için doz aralığı 15 dakika olarak tutulmuş, antagonist uygulandıktan sonra 1 saat beklenmiştir. İstatistiksel değerlendirme "Student t testi" ile yapılmıştır.

tiksel değerlendirme "Student t testi" ile yapılmıştır.

iii- Sıçan Arter Basıncı Üzerindeki Deneyler: Her iki seksten sıçanlar i.p olarak üretan (1.25 g/100 g) ile anesteziye edilip ameliyat masası üzerine sırt üstü tesbit edilmiş ve boyun cerrahi tekniğine uygun olarak açılmıştır. Trakeatomiyi takiben Vena jugularis externa tekniğine uygun olarak kanüle edilmiş ve 10 Ü.I/ml heparin içeren bir bürete bağlanmıştır. Son işlem olarak Arteria carotis externa izole edilmiş ve bilateral vagotomi yapılmış, izole edilen karotid arter kanüle edilerek basınç transducer'ı (Statham PT 23) ile irtibatlandırılmıştır. Hayvanlara bütün deneylerde atropin ve arfonad verilmiştir. Agonist ve antagonist ilaçlar i.v olarak ve 0.2-0.4 ml'yi aşmayacak uygun hacimler içinde dilüe edilmiş dozlar halinde uygulanmıştır. Sistemik kan basıncındaki değişiklikler, kullanılan basınç transducer'ı ile poligrafa (Schwarzer) kaydedirilmiş Agonistin ortalama arter basıncı üzerindeki etkileri, antagonistten önce gözlenen cevaplar %100 varsayılarak değerlendirilmiş ve istatistiksel işlemler "Student t testi" ile yapılmıştır.

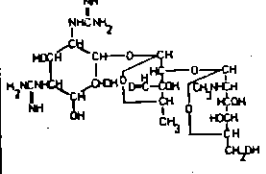
Bütün deneylerde kullanılan A II dozları, 0.1N asetik asit içinde çözülmüş ve dondurulmuş 100 µg/ml konsantrasyondaki stok çözeltiden günlük olarak hazırlanmıştır.

BULGULAR:

Birinci grup her deneyde, A II için standart doz-cevap eğrileri çıkarılmıştır. % kasılma ekseninden olan eğriler regresyon doğrusuna transforme edilerek A II benzeri madde miktarı tayininde kullanılmıştır. Streptomisin üç ayrı dozda kobaylara uygulanmış ve kontrollerle karşılaştırmalı olarak A II plazma düzeyleri yönünden değerlendirilmiştir.

Şekil 2, 3 ve Tablo 1 streptomisin plazma A II düzeyleri ile etkileşimini göstermektedir. Streptomisin 14,28 ve 56 mg/kg i.p dozlarında önce inhibisyon ve son iki doz için potensiyalizasyona neden olmaktadır (Tab. 1).

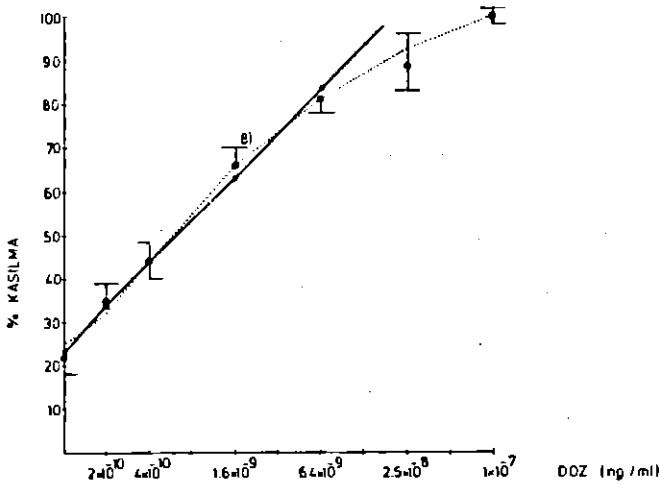
Tablo 1. Kobay Kan Plazma Düzeylerinde A II-Streptomisin Etkileşimi

ILAC	FORMUL	DOZ (mg/kg)	PLAZMA A II BENZERİ MADDE (ng/ml)	% İNHİBİS.	% POTANSİYALİ.	P < 0.05
STREPTOMİSİN		14	k ¹⁾ = 38.51 ± 3.30 ³⁾ (30.72 ~ 42.29) ⁵⁾ i ²⁾ = 29.68 ± 1.87 ⁴⁾ (25.26 ~ 34.09) ⁶⁾	22.92 ± 2.6 ⁷⁾		"S" ⁹⁾
		28	k = 19.38 ± 2.57 (13.91 ~ 24.85) i = 20.15 ± 1.99 (15.91 ~ 24.38)		3.97 ± 2.3 ⁸⁾	"NS" ¹⁰⁾
		56	k = 13.87 ± 1.19 (11.06 ~ 16.67) i = 16.89 ± 1.91 (12.38 ~ 21.39)		21.77 ± 1.6	"S"

$$[k^{1)} = x \pm \text{OSH}^3) (GA)^5)]$$

$$[i^{2)} = x \pm \text{OSH}^4) (GA)^6)]$$

- 1) k = KONTROL 2) i = İLAC 3) KONTROL ORTALAMA MADDE MİKTARI ± ORTALAMANIN STANDART HATAŞI (ng/ml)
4) İLAC TAN SONRA ORTALAMA MADDE MİKTARI ± ORTALAMANIN STANDART HATAŞI (ng/ml) 5.6) GÜVEN ARALIĞI
7) İNHİBİSYON % LERİNİN ORTALAMASI ± ORTALAMANIN STANDART HATAŞI 8) POTANSİYALİZASYON % LERİNİN ORTALAMASI ± ORTALAMANIN STANDART HATAŞI 9) S = İSTATİSTİKSEL ANLAMLI : P < 0.05 10) NS = İSTATİSTİKSEL ANLAMLI : P < 0.05



$$a^{1)} = 56.81 \pm 1.16 (53.1 - 60.5)$$

$$b^{2)} = 32.72 \pm 1.7 (27.31 - 38.13)$$

$$r^{3)} = 0.9959$$

$$r^{2)} = 0.9919$$

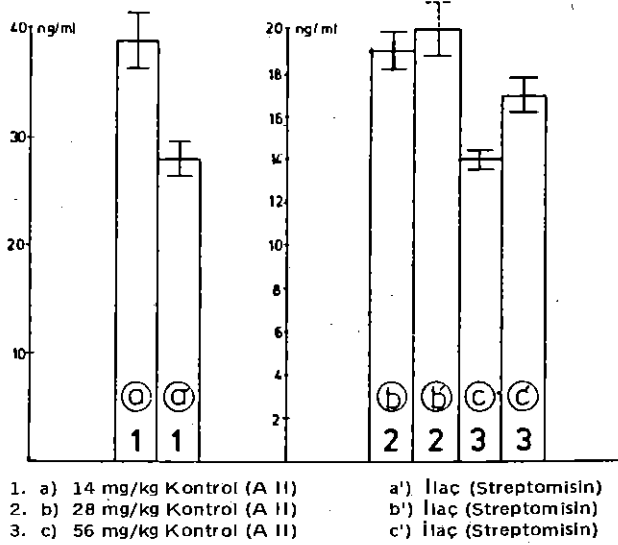
$$\hat{y}^{5)} = [56.81 + (3.182)(1.16)] + [32.72 \times - (3.182)(0.7)]$$

$$t_a^{6)} = 48.85$$

$$t_b^{7)} = 19.24$$

- 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)

Şekil 2. Streptomisin'in Plazma A II Düzeyleriyle Etkileşiminde Kullanılan Standart A II Log Doz-Cevap Eğrisi ve Regresyon Analizi

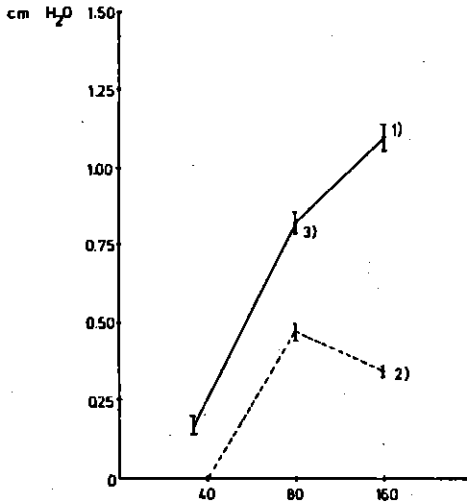


Vertikal Çizelgeler : Ortalama Standart Hata : 1) n : 8 2) n : 16 3) n : 10

Şekil 3. Plazma A II-Streptomisin Etkileşimi

İn vivo kobay akciğer preparatında A II'nin doza bağımlı oluşturduğu bronkospazm ise 10 mg/kg i.v streptomisin uygulamasından sonra istatistiksel anlamlı olarak inhibe olmaktadır (Şek. 4), (Tab. 2).

Sıçan arter basıncında A II'nin doza bağımlı oluşturduğu kan basıncındaki artış ise yine 10 mg/kg i.v streptomisin uygulaması ile istatistiksel anlamlı olarak inhibe olmuştur (Şek. 5), Tab. 3).



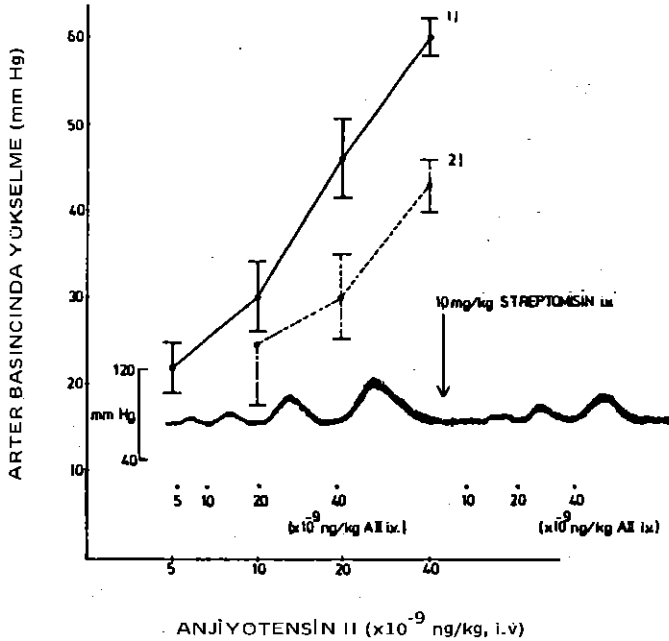
- 1) Kontrol ortalama değerler \pm ortalamanın standart hatası
- 2) 10 mg/kg streptomisin'den sonra ortalama değerler \pm ortalamanın standart hatası
- 3) Vertikal çizgiler : Standart hata (n=4)

Şekil 4. A II'nin İn vivo Kobay Akciğeri Bronkokonstriktör Cevabına Streptomisin'in Etkisi

Tablo 2. A II'nin İn vivo Kobay Akciğeri Bronkokonstriktör Cevabına Streptomisin'in Etkisi

A II DOZLARI ($\times 10^{-9}$ ng/kg)	A II'E BRONKOKONSTRİKTÖR CEVAP			% İNHİBİSYON P < 0.05 (S)
	N ¹⁾	HAVA ÇIKIŞINDA ARTMA (cm H ₂ O)		
		KONTROL	10 mg/kg iv STREPTOMİSİN'DEN SONRA	
40	4	0.175 \pm 0.18 ²⁾		
80	4	0.835 \pm 0.47	0.495 \pm 0.43 ³⁾	48.00 \pm 0.45 ⁴⁾
160	4	1.09 \pm 0.73	0.34 \pm 0.19	82.56 \pm 0.5

- 1) DENEY SAYISI 2) ORTALAMA DEĞERLER \pm ORTALAMANIN STANDART HATASI
 3) İLAÇTAN SONRA ORTALAMA DEĞERLER \pm ORTALAMANIN STANDART HATASI
 4) İNHİBİSYON % LERİN ORTALAMALARI \pm ORTALAMANIN STANDART HATASI
 (S) = İSTATİSTİKSEL ANLAMLILIK : P < 0.05



- ANJİYOTENSİN II ($\times 10^{-9}$ ng/kg, i.v.)
- 1) Kontrol cevapları (7 deney)
 2) 10 mg/kg streptomisin'den sonra A II cevapları (7 deney)

Her nokta ortalama değerler \pm ortalama standart hatayı göstermektedir.

Şekil 5. A II'nin Sıçan Arter Basıncındaki Doz-Cevap Eğrisi ve Streptomisin ile Etkileşmesi

Tablo 3. Sıçan Arter Basıncında A II-Streptomisin Etkileşimi

A II DOZLARI (mg/kg, iv.)	A II / STREPTOMİSİN ETKİLEŞİMİ (mm/Hg)			% İNHİBİSYON P < 0.05 (S)
	N ¹⁾	KONTROL	10 mg/kg, iv. STREPTOMİSİN ETKİSİNDEN SONRA	
5	7	21.55 ± 2.90 ²⁾		
10	7	29.67 ± 3.99	23.85 ± 6.66	19.61 ± 5.32 ³⁾
20	7	46.00 ± 4.35	30.03 ± 4.67	34.71 ± 4.51
40	7	59.81 ± 4.59	42.62 ± 2.82	28.74 ± 2.20

- 1) DENEY SAYISI 2) ORTALAMA DEĞERLER ± ORTALAMANIN STANDART HATASI
3) İNHİBİSYON % LERİNİN ORTALAMASI ± ORTALAMANIN STANDART HATASI
(S) = İSTATİSTİKSEL ANLAMLILIK : P < 0.05

TARTIŞMA:

Streptomisin plazma A II düzeylerinde, kontrola oranla ve uygulama dozuna bağımlı olarak meydana getirdiği etkilerden % 22.92 ± 2.6 lık inhibisyonla % 21.77 ± 1.6 lık potensiyalizasyon istatistiksel anlamlılık göstermektedir. İlk doz, normal terapötik sınırlar içinde olmasına karşın, takibeden dozlar akciğer tüberkülozunun ileri ve ağır vakalarında uygulanan dozlardır. Bu bulgu, streptomisin doz marjının biyolojik etki üzerinde bir ilginçlik gösterdiğinin kanıtıdır. Oparil ve arkadaşlarının bildirdiği üzere, akciğer tüberkülozunda anjiyotensin konvörting enzim aktivitesinin düşüşü(14) muhtemelen bu patogenezin ortaya çıkışında veya sürmesinde sekonder bir etken olarak da rol oynamakta ve streptomisin bir taraftan spesifik etkisi ile hastalık etkenini ortadan kaldırmak, diğer yandan da düşen konvörting enzim düzeylerini artırmaktadır.

Bu olasılığı kuvvetlendiren kanıtlardan birisi de, halen sürdürdüğümüz bir araştırmanın ön sonuçları ile de paralellik göstermektedir. 14 mg/kg'a eşdeğer olan

streptomisin dozu sıçan perfüze akciğer preparatında inhibisyona neden olurken 28 mg/kg'a eşdeğer olan streptomisin dozunda inhibisyon ortadan kalkmıştır(18).

Streptomisinli plazma A II düzeylerinde uygulanan ilk doz olan 14 mg/kg doz ile sıçan arter basıncında ve in vivo kobay akciğer preparatında uygulanan 10 mg/kg lık streptomisin dozu birbirine yakın olup uygulandıkları preparatlarda % inhibisyon oluşturmuşlardır.

Streptomisinli farmakolojik etkileri bugün için tam açıklık kazanmış değildir. Plazma A II düzeylerinde oluşturduğu % inhibisyon ile potensiyalizasyonlar, diğer yandan arter tansiyonu ve bronkospazm da oluşturduğu inhibisyonların açıklaması daha ileri araştırmalara gerek göstermektedir. Streptomisin histamin libere ettirici etkisinin arter tansiyonu ve bronkospastik cevaplarla bir ilişkisi olabileceği gibi yüksek dozlarda plazma A II düzeylerinde meydana getirdiği artışın konvörting enzim düzeyleriyle ilişkili olduğu ileri sürülebilir.

KAYNAKLAR:

1. Kaymakçalan, Ş.: Antimikrobik Ajanların Sınırlanması ve Etki Mekanizmaları. Antimikrobik Ajanlar ve Klinik Kullanışları (Ed. Tulunay, F.C., Ayhan, İ.H., Kaymakçalan, Ş.), Türk Farmakoloji Derneği Yay. Syf. 1-8, (1977)
2. Abraham, E.P., Newton, G.G.T.: Chemistry and Classification of Antibiotics Brit. Med. Bull.: 16:3, (1960)
3. Akkaynak, S.: Akciğer Tüberkülozu Tedavisi, Antimikrobik Ajanlar ve Klinik Kullanışları (Ed. Tulunay, F.C., Ayhan, İ.H., Kaymakçalan, Ş.), Türk Farmakoloji Derneği Yay., Syf. 288-323, (1977)
4. Reiner, R.: Antibiotics: An Introduction Georg Thieme Verlag, Stuttgart, (1982)
5. Brazil, O.V., Corrado, A.P.: The curariform action of streptomycin, J.Pharmac. exp. Ther., 120:452, (1957)
6. Altinkurt, O.: Streptomycin'in düz adefe üzerinde spazmolitik, antispazmodik etkisi, Türk Hij. Tec. Derg., Cilt 28, 2 Syf. 114-138, (1968)
7. Dzoljic, M., Atanackovic, D.: Action of streptomycin on guinea-pig ileum peristalsis. Arch. int. Pharmacodyn., 156, 279 (1965)
8. Altinkurt, O., Abacıoğlu, N.: Non-competitive inhibition of angiotensin II and PGE₂ on guinea pig ileum with streptomycin, Vitamin K₃ and rutin. Arzneim.-Forsch./Drug.Res 30(I), Nr.4 610-613, (1980)
9. Altinkurt, O., Kanlık, İ.: Non-competitive inhibition of bradykinin, acetylcholine and histamine on guinea-pig ileum with streptomycin and vitamin K₃ Arzneim.-Forsch./Drug.Res 30(I), Nr.1, 41-44, (1980)
10. Altinkurt, O., Yıldızoğlu, N.: Non-competitive inhibition of serotonin on rat stomach fundus strip with streptomycin and vitamin K₃. Turkish J Pharmacol Clin. Res., 2:2, (1984) (Baskıda)
11. Altinkurt, O., Kanlık, İ.: Inhibitory effects of streptomycin on bronchoconstrictor, hypotensive and inflammatory responses to bradykinin and histamine. Arch. int. Pharmacodyn. 246,277-285, (1980)
12. Altinkurt, O., Altan, M.: Urfa yöresi akrep (Androctonus crasicauda) zehirinin deney hayvanlarındaki farmakolojik etkileri ile bu etkilenden bir çoğuna streptomisin'in antagonistik cevapları. Ankara Ecz. Fak. Mec., 10, 30-41, (1980)
13. Sunal, R.: Deney hayvanlarında morfin, kokain gibi uyusturucularla streptomisin ve askorbik asit gibi maddelerin tek veya kombine kullanılmasında koşullu sakınım cevabında (KSC) izlenen değişmeler. A.Ü. Ecz. Fak. Doktora Tezi, (1983)
14. Oparil, S.: Altered angiotensin I conversion in pulmonary disease. Clin. Sci. Mol. Med., 51:537, (1967)
15. Osborn, E.C.: A rapid metod for the extraction of angiotensin II from blood. J. Pharm. Pharmacol., 21:862-863 (1969)
16. Altinkurt, O., Abacıoğlu, N.: H₂-reseptör blokleri Simetidin'in Anjiyotensin konvörtör enzim aktivitesini olası azaltıcı etkisi. Pharmacia-JTPA, 24:51(1), 40-46, (1984)
17. Collier, H.O.J.: Self antagonism of bronchoconstriction induced by bradykinin and angiotensin. Hypotensive Peptides, Springer Verlag, 305-313, (1966)
18. Abacıoğlu, N., Altinkurt, O.: Anjiyotensin konvörtör enzim aktivitesi üzerine streptomisin'in etkisi. (Yayınlanmamış gözlem)