

SİMETİDİN VE FAMOTİDİN'İN NÖROMÜSKÜLER İLETİME ETKİLERİ VE GENTAMİSİN İLE ETKİLEŞMELERİ *

Dr. Ayşegül CENİK, Uzm. A. Saide ŞAHİN, Dr. Ekrem ÇİÇEK,
Uzm. Mehmet KILIÇ, Dr. Necdet DOĞAN
S.Ü.T.F. Farmakoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bir aminoglikozid antibiotik olan gentamisin'in histamin H_2 -reseptör blokörleri ile kombinasyonlarının neden olduğu nöromüsküler iletim bloğunu araştırmak amacıyla yapılan bu invitro çalışmada sıçan frenik sinir-diyafragma preparatı kullanılmıştır.

Tek başlarına uygulandıklarında gentamisin ve famotidin kısmi nöromüsküler iletim bloğu yaptıkları halde simetidin etkisiz bulunmuştur. Nöromüsküler iletimi etkilemeyen konsantrasyonda uygulanan gentamisin ($10^{-4}M$) ile belirtilen histamin H_2 -reseptör blokörlerinin etkileşmediği saptanmıştır. Buna karşın, $10^{-2}M$ konsantrasyonda uygulanan gentamisine bağlı kısmi blok, iletimi etkilemeyen konsantrasyonlarda ilave edilen simetidin veya famotidinle tam blok şekline dönüşmüştür. Oluşan blok kalsiyum klorür ilavesiyle ortadan kaldırılabilmiştir.

Bulgular histamin H_2 -reseptör blokörlerinin mevcut olan bir nöromüsküler iletim bloğunu arttırabileceklerini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Nöromüsküler iletim, simetidin, famotidin, gentamisin.

SUMMARY

The Effects of Cimetidine and Famotidine on Neuromuscular Transmission and Their Interaction with Gentamicin

In the present paper, rat phrenic nerve-diaphragm preparations were used to evaluate the neuromuscular blocking activity of gentamicin, an aminoglycoside antibiotic, and of its combinations with histamine H_2 -receptor blocking agents, cimetidine and famotidine.

Gentamicin and famotidine caused partial neuromuscular blockade when they were used alone, but cimetidine had no effect. There was no interactions between given histamine H_2 -receptor blocking drugs and reduced concentration of gentamicin ($10^{-4}M$) which does not exert any neuromuscular blockade. However, when the ineffective doses of cimetidine or famotidine are added in the medium, partial inhibition caused by $10^{-2}M$ gentamicin attained to complete blockade. This effect can be reversed with the addition of calcium chloride.

These results show that, if the partial blockade is present, histamine H_2 -receptor blocking agents can greatly compromise the neuromuscular transmission.

Key Words: Neuromuscular transmission, cimetidine, famotidine, gentamicin.

GİRİŞ

Son yıllarda, gastrointestinal sistemde hiperasidite ve bununla ilgili durumları tedavi amacıyla simetidin, ranitidin ve famotidin gibi histamin H_2 -reseptör blokörleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu ilaçlar aynı amaçla kullanılan antasidlerin ve özellikle parasempatolitik ilaçların yerlerini almışlardır (1). Bazı yeni yayınlarda histamin H_2 -reseptör blokörlerinin temel etkilerine ilaveten motor sinir ucu ile çizgili kas membranı arasındaki impuls

aşırımını bloke edebilecekleri de öne sürülmektedir (2, 3). Literatürde histamin H_2 -reseptör blokörlerinin nöromüsküler bloke edici etkileri ile ilgili çalışma çok azdır.

Benzer durum, klinikte kemoterapi amacı ile kullanılan aminoglikozid antibiotikler için de söz konusudur. Çeşitli araştırmacılar kedide (4), tavşanda (5) ve ratta (6) bu etkiyi göstermişlerdir. Aminoglikozid antibiotiklerin nöromüsküler bloke edici etkilerinin hem presinaptik uçtan Ca^{++} aracılığı ile

Haberleşme Adresi: Dr. Ayşegül CENİK S.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı KONYA

* Bu araştırmanın yapılmasında S.Ü.A.F. bizi maddi olarak desteklemiştir.

gerçekleştirilen asetilkolin (Ach) rilizini önleyerek (7, 8, 9), hem de postsinaptik membranda Ach'nin etkilerini antagonize ederek oluştuğu saptanmıştır (7, 8). Bu grup ilaçlar içerisinde nöromusküler bloke edici etkisi en potent olan ilacın gentamisin olduğu bildirilmiştir (9).

Gentamisinle yapılan çalışmalar, nöromusküler iletimin bloke edilmesinin, ortamda Ca^{++} düzeyinin artırılması ile kolay ve tam olarak geri döndüğünü buna karşın neostigminin antagonistik etkisinin Ca^{++} 'a göre daha zayıf olduğunu ortaya koymuştur (10). Bu bulgu gentamisinin etki yerinin presinaptik olduğunu göstermektedir.

Tek başlarına kullanıldıklarında önemli bir nöromusküler blok oluşturmayan histamin H_2 -reseptör blokörleri ve gentamisinin kombine verilmeleri halinde oluşturabilecekleri iletim depresyonunun derecesi belirgin olarak yükselebilir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada aminoglikozid antibotiklerden gentamisin ile simetidin, famotidin kombine edilmiş ve in vitro şartlarda rat frenik sinir diafragma preparatında oluşturdukları nöromusküler iletim depresyonunun niteliği ve antagonize edilebilmesi için gereken yaklaşımın ne olabileceği araştırılmıştır.

METOD

Çalışmada 200-250 gr ağırlıkta her iki sekse ait ratlardan Bulbring'in (11) metoduna göre izole edilen frenik sinir-diafragma preparatları aşağıda belirtilen şekilde hazırlandı. Ratların başlarına vurulup, karotis arterleri kesilerek öldürüldü. Sol frenik sinir ve üçgen şeklinde diafragma dikkatlice çıkarılıp çevre dokulardan temizlendi. Normal Krebs-Henseleit solüsyonu içeren 40 ml'lik organ banyosuna alındı. Ortamın ısısı $37^{\circ}C$ idi ve %95 O_2 +%5 CO_2 karışımı ile sürekli gazlandırıldı. Preparatlar 1g dinlenme gerilimi altında 15 dakikada bir taze solüsyonla yıkanarak 1 saat dinlendirildikten sonra çalışmaya başlandı.

Frenik sinir, rektangular uyarı veren bir stimülatör (Philip Harris) aracılığı ile platin elektrod kullanılmak suretiyle stimüle edildi. Sinir, submaksimal voltaj (6-9 V), 0.1 Hz ve 0.5 msec süre ile uyarıldı. Uyarıya bağlı kasılmalar (tviç) bir gerilim transducer'i kullanılarak kaydedici cihaz (Harvard Universal Oscillograph) ile yazdırıldı.

Gentamisin-simetidin ve gentamisin-famotidin kombinasyonlarının oluşturduğu nöromusküler bloğu ve bunun geri dönelirliğini araştırmak

amacıyla, önce farklı dokularda bu üç ilaca ait log doz-cevap eğrileri elde edildi. Yine farklı dokular kullanılarak sürdürülen çalışmanın bir diğer bölümünde de ortama nöromusküler blok oluşturmadığı saptanan en yüksek gentamisin dozu ($10^{-4}M$) konularak 20 dakika süreyle beklenildi. Bu aşamadan sonra banyoya kümülatif tarzda simetidin veya famotidin ilave edilerek çalışma sürdürüldü. Aynı işlem kısmi iletim bloğu yaptığı saptanan gentamisin dozu ($10^{-2}M$) ile tekrarlandı.

Çalışmanın son bölümünde ise, banyoya $10^{-2}M$ gentamisin ve $3 \times 10^{-3}M$ simetidin veya famotidin konuldu 20 dakika süreyle beklenilerek oluşan inhibisyon gözlemlendi. Bu işlemden sonra ortama kümülatif konsantrasyonda Ca^{+2} ilave edilerek kasılmaların geri-dönelirliği araştırıldı.

Deneylede kullanılan normal Krebs-Henseleit solüsyonunun içeriği mM olarak şöyledir:

NaCl: 118.00, KCl: 4.70, $CaCl_2$: 1.60, $MgSO_4$: 1.20, $NaHCO_3$: 24.90, KH_2PO_4 : 1.20, Glukoz: 11.10, Askorbik asid: 0.28.

Çalışmada kullanılan ilaçlar: Gentamisin (Nobel), Simetidin (Sigma) ve Famotidin (Nobel) kullanıldı. Stok solüsyonlar ve alt dilüsyonları distile suda hazırlandı. Belirtilen konsantrasyonlar ilaçların baz ağırlıkları üzerinden hesaplandı.

Elde edilen değerler ortalama±standart hata şeklinde gösterildi. Ortalamalar arasındaki farkın anlamlılık derecesi Student'in "t" testi ile belirlendi (12). P değerinin 0.05'den küçük olması durumunda ortalamalar arasındaki fark anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Gentamisin, Simetidin ve Famotidin Nöromusküler İletime Etkileri:

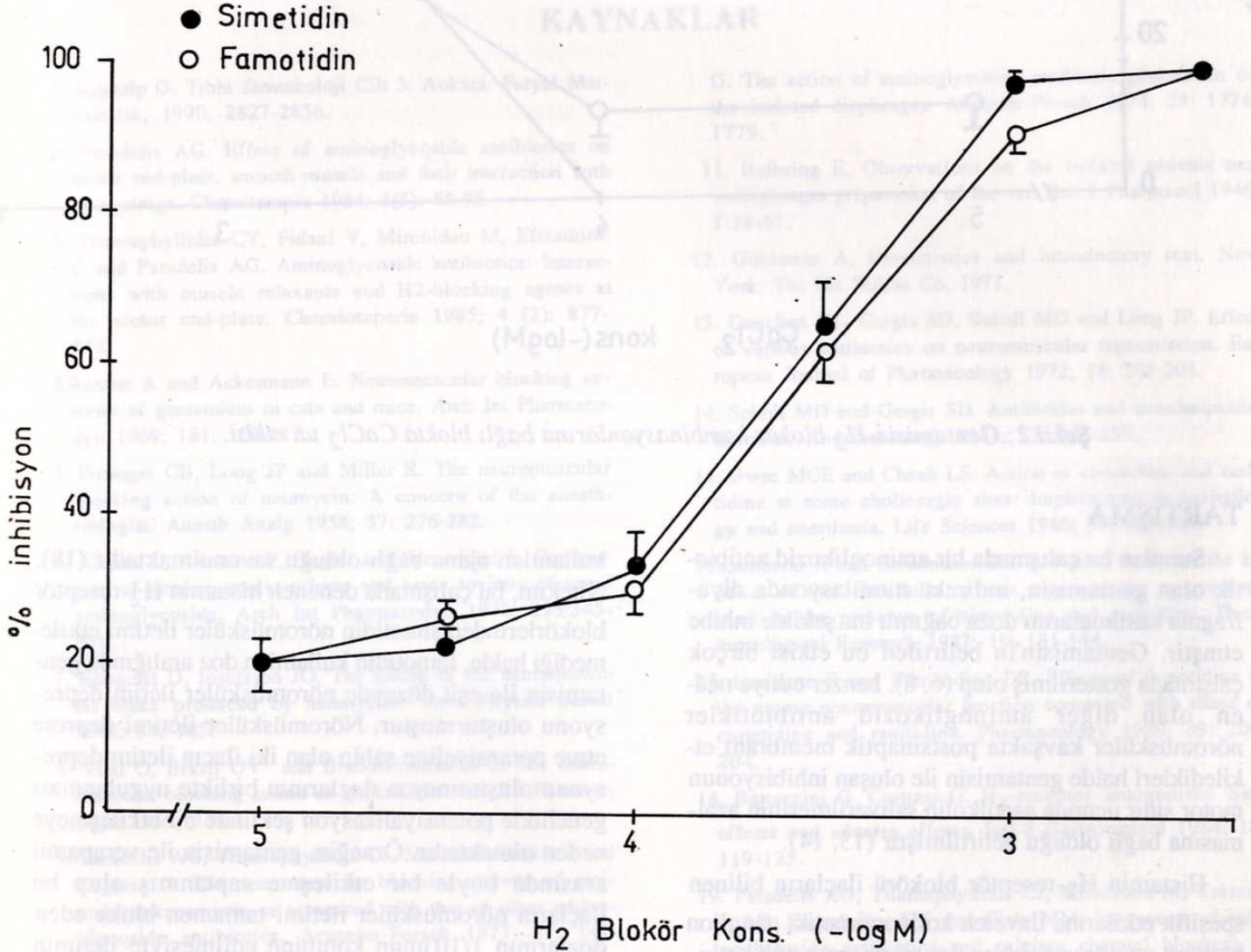
Dinlenme periyodunun bitiminde kontrol kasılma cevapları alındıktan sonra, ortama 10^{-9} - $10^{-2}M$ konsantrasyon aralığında kümülatif tarzda ilave edilen gentamisin sinir stimülasyonu aracılığı ile oluşan diafragma kasılmalarını konsantrasyona bağımlı şekilde inhibe etti. Gentamisinle elde edilen maksimum inhibisyon $\%19.66 \pm 5.86$ olarak bulundu. 10^{-9} - $3 \times 10^{-3}M$ konsantrasyon aralığında uygulandıklarında simetidin nöromusküler iletimi etkilemediği halde famotidine bağlı maksimum inhibisyon $\%16.2 \pm 6.59$ olarak bulunmuştur. Gentamisin ve famotidin oluşturdukları maksimum inhibisyon

açısından mukayese edildiklerinde inhibitör etkilerinin farksız olduğu saptanmıştır ($p>0.05$).

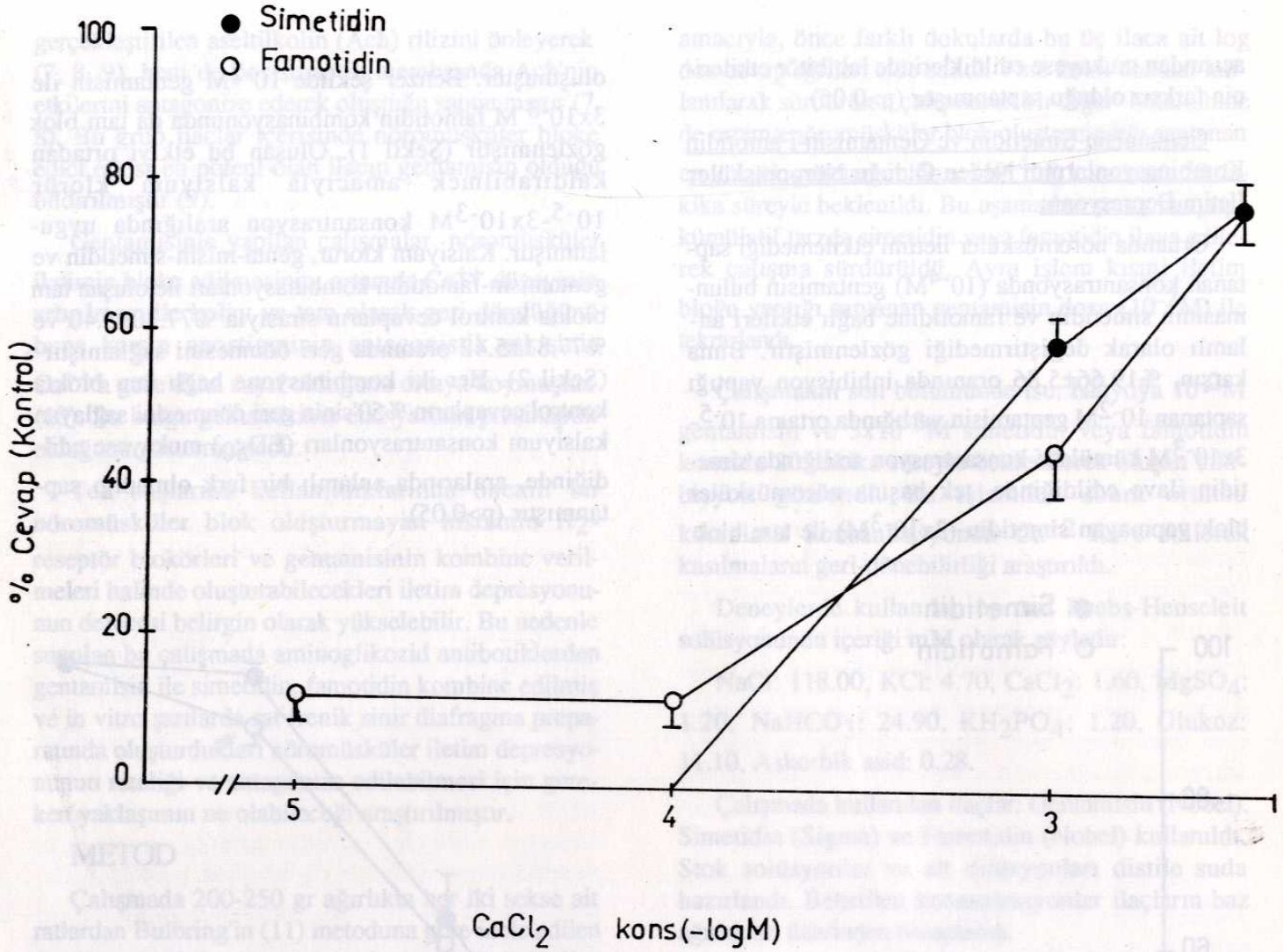
Gentamisin-Simetidin ve Gentamisin-Famotidin Kombinasyonlarının Neden Olduğu Nöromusküler İletim Depresyonu:

Ortamda nöromusküler iletimi etkilemediği saptanan konsantrasyonda ($10^{-4}M$) gentamisin bulunmasının simetidin ve famotidine bağlı etkileri anlamlı olarak değiştirmedeği gözlenmiştir. Buna karşın, $\%19.66\pm5.86$ oranında inhibisyon yaptığı saptanan $10^{-2}M$ gentamisin varlığında ortama 10^{-5} - $3\times 10^{-3}M$ kümülatif konsantrasyon aralığında simetidin ilave edildiğinde, tek başına nöromusküler blok yapmayan simetidin ($3\times 10^{-3}M$) ile tam blok

oluşturmuştur. Benzer şekilde $10^{-2}M$ gentamisin ile $3\times 10^{-3}M$ famotidin kombinasyonunda da tam blok gözlenmiştir (Şekil 1). Oluşan bu etkiyi ortadan kaldırmak amacıyla kalsiyum klorür 10^{-5} - $3\times 10^{-3}M$ konsantrasyon aralığında uygulanmıştır. Kalsiyum klorür, gentamisin-simetidin ve gentamisin-famotidin kombinasyonları ile oluşan tam blokta kontrol cevapların sırasıyla $\%77.30\pm5.40$ ve $\%77.81\pm5.42$ oranında geri dönmesini sağlamıştır (Şekil 2). Her iki kombinasyona bağlı tam blokta kontrol cevapların $\%50$ 'sinin geri dönmesini sağlayan kalsiyum konsantrasyonları (ED_{50}) mukayese edildiğinde, aralarında anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).



Şekil 1: Gentamisin ($10^{-2}M$) varlığında simetidin ve famotidin'e bağlı nöromusküler iletim bloğu.



Şekil 2: Gentamisin-H₂ blokör kombinasyonlarına bağlı blokta CaCl₂ un etkisi.

TARTIŞMA

Sunulan bu çalışmada bir aminoglikozid antibiyotik olan gentamisin, indirekt stimülasyonda diyafragma kasılmalarını doza bağımlı bir şekilde inhibe etmiştir. Gentamisin'in belirtilen bu etkisi birçok çalışmada gösterilmiş olup (6, 8), benzer etkiye neden olan diğer aminoglikozid antibiyotikler nöromüsküler kavşakta postsinaptik membranı etkiledikleri halde gentamisin ile oluşan inhibisyonun motor sinir ucunda asetilkolin salıverilmesinin azalmasına bağlı olduğu belirtilmiştir (13, 14).

Histamin H₂-reseptör blokörü ilaçların bilinen spesifik etkilerine ilaveten kolinomimetik, ganglion blokörü ve nöromüsküler iletimi deprese edici etkilerinin de bulunduğu bilinmektedir (15, 16, 17). Bu nonspesifik etkilerin H₂-reseptör blokajından ziyade

kullanılan ajana bağlı olduğu savunulmaktadır (18). Nitekim, bu çalışmada denenen histamin H₂-reseptör blokörlerinden simetidin nöromüsküler iletimi etkilemediği halde, famotidin kullanılan doz aralığında gentamisin ile eşit düzeyde nöromüsküler iletim depresyonu oluşturmuştur. Nöromüsküler iletimi deprese etme potansiyeline sahip olan iki ilacın iletim depresyonu oluşturmayan dozlarının birlikte uygulanması genellikle potansiyalizasyon şeklinde bir etkileşmeye neden olmaktadır. Örneğin, gentamisin ile verapamil arasında böyle bir etkileşme saptanmış olup bu ilaçların nöromüsküler iletimi tamamen bloke eden dozlarının 1/10'unun kombine edilmesiyle iletimin tam olarak bloke edildiği gösterilmiştir (19). Bu çalışmada ise simetidin ve famotidin nöromüsküler

iletim bloğu yapmayan dozda gentamisin ile kombine edildiğinde histamin H₂-reseptör blokörlerine ait etkinin değişmediği gözlenmiştir. Bu durum H₂-reseptör blokörü ilaçların nöromüsküler iletimi deprese edici etkilerinin zayıf olmasından ileri gelebilir. Nitekim, yukarıda belirtilen gentamisin-verapamil örneğinde tek başına uygulandığında verapamil'in de nöromüsküler iletimi tam olarak bloke ettiği saptanmıştır. Nöromüsküler iletimi etkilemeyen konsantrasyonda uygulanan simetidin veya famotidin ile gentamisin kısmi blok yaptığı saptanan dozunun birlikte uygulanması, gentamisine bağlı kısmi bloğu tam bloğa dönüştürmüştür. Bu durum zayıf nöromüsküler bloke edici etkisi bulunan simetidin örneğinde olduğu gibi tek başına

nöromüsküler iletimi etkilemediği saptanan histamin H₂-reseptör blokörlerinin ancak mevcut olan bir nöromüsküler iletim bloğunu potansiyalize edebileceklerini ortaya koymaktadır.

Kalsiyum klorür uygulanması, gentamisin-histamin H₂-reseptör blokörü ilaç kombinasyonları ile oluşan nöromüsküler iletim depresyonunu büyük oranda ve doza bağımlı bir şekilde ortadan kaldırmıştır. Kalsiyum klorüre ait bu etkinin motor sinir ucundan asetilkolin salıverilmesinin artmasına bağlı olduğu bilinmekte olup, farklı gruplardan ilaçların kombine edilmesiyle yürütülmekte olan birçok çalışmada da (2, 19) kalsiyum klorürün oluşan bloğu ters çevirdiği ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp O. Tıbbi farmakoloji Cilt 3. Ankara: Feryal Matbaacılık, 1990, 2827-2836.
2. Paradelis AG. Effect of aminoglycoside antibiotics on motor end-plate, smooth muscle and their interaction with other drugs. *Chemioterapia* 1984; 3(5): 88-95.
3. Triantaphyllidis CY, Fidani V, Mironidou M, Efstathiou C and Paradelis AG. Aminoglycoside antibiotics: Interactions with muscle relaxants and H₂-blocking agents at the motor end-plate. *Chemioterapia* 1985; 4 (2): 877-878.
4. Barnett A and Ackermann E. Neuromuscular blocking activity of gentamicin in cats and mice. *Arch Int Pharmacodyn* 1969; 181: 109-117.
5. Pittinger CB, Long JP and Miller R. The neuromuscular blocking action of neomycin: A concern of the anesthesiologist. *Anesth Analg* 1958; 37: 276-282.
6. Albiere L, Bamonte F, Ongini and Parravicini L. Comparison of neuromuscular effects and acute toxicity of some aminoglycoside. *Arch Int Pharmacodyn* 1978; 233:345-350.
7. Elmquist D, Josefsson JO. The nature of the neuromuscular block produced by neomycin. *Acta Physiol Scand* 1962; 54: 105.
8. Vital O, Brazil OV and Brado-Franceschi J. The neuromuscular blocking action of gentamicin. *Arch Int Pharmacodyn* 1969; 179:1.
9. Paradelis AG, Triantaphyllidis CJ, Marcomichelakis J and Logaras G. The neuromuscular blocking activity of aminodeoxykanamycin as compared with that of other aminoglycoside antibiotics. *Arzneim-Forsch* 1977; 27: 141-143.
10. Paradelis AG, Triantaphyllidis CJ, Fidani V and Logaras G. The action of aminoglycoside antibiotic gentamicin on the isolated diaphragm. *Arzneim-Forsch* 1974; 24: 1774-1779.
11. Bulbring E, Observations on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the rat. *Brit J Pharmacol* 1946; 1:38-61.
12. Goldstein A. Biostatistics and introductory text. New York: The Mc Millan Co, 1971.
13. Dretchen KL, Gergis SD, Sokoll MD and Long JP. Effect of various antibiotics on neuromuscular transmission. *European Journal of Pharmacology* 1972; 18: 201-203.
14. Sokoll MD and Gergis SD. Antibiotics and neuromuscular function. *Anesthesiology* 1981; 55: 148-159.
15. Gwee MCE and Cheah LS. Action of cimetidine and ranitidine at some cholinergic sites: Implications in toxicology and anesthesia. *Life Sciences* 1986; 39: 383-388.
16. Lamberto R and Bernardino DS. A further study on the kinetics of the subcellular current events at the mouse end-plate in the presence of simetidine and ranitidine. *Pharmacological Research* 1987; 19: 131-144.
17. Lamberto R and Bernardino DS. Effects of famotidine at the mouse neuromuscular junction compared with those of cimetidine and ranitidine. *Pharmacology* 1989; 39: 200-204.
18. Bertaccini G, Coruzzi G. H₂-receptor antagonists: Side effects and adverse effects. *Ital J Gastroenterol* 1984; 16: 119-125.
19. Paradelis AG, Triantaphyllidis CJ, Miranidou M, Crassaris LG, Karachalios DN and Giala MM. Interaction of aminoglycoside antibiotics and calcium channel blockers at the neuromuscular junctions. *Clin Pharmacol* 1988; 10(11): 687-690.