

Farelerde uvabain toksisitesine karşı etilendiamin tetraasetik asid disodyumun protektif etkisi

İlhan GÜLTEKİN, Şerare ATÇI, Yusuf KARATAŞ, Ergin ŞİNGİRİK, Firuz BAYSAL

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, sağlıklı farelerde uvabainin oluşturduğu toksik etkilere karşı etilendiamin tetraasetik asid disodyumun (Na₂ EDTA) protektif etkisi incelendi. 5 ve 15 mg/kg dozlarda uvabain doza bağımlı olarak toksik etkiler oluşturdu. 10, 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda verilen Na₂ EDTA tek başına herhangi bir etki yapmadı. Ancak 5 mg/kg dozda uvabainle oluşan toksik etkiler 40 ve 80 mg/kg dozlarda Na₂ EDTA tarafından tamamen ortadan kaldırıldı. 15 mg/kg dozda uvabainin toksik etkileri de kullanılan en yüksek Na₂ EDTA dozu (80 mg/kg) tarafından anlamlı şekilde inhibe oldu. Bu sonuçlar, uvabainin oluşturduğu toksik etkilere karşı Na₂EDTA'nun protektif etkisi olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dijital toksisitesi, kalsiyum, etilendiamin tetraasetik asid, şelat yapıcı maddeler.

SUMMARY

The protective action of ethylenediamine tetraacetic acid disodium salt against ouabain toxicity in mice.

In this study, the protective action of the chelating agent ethylenediamine tetraacetic acid disodium (Na₂ EDTA) against ouabain intoxication in healthy mice was investigated. Although Na₂ EDTA, at the concentrations tested (10, 20, 40 and 80 mg/kg) had no effects alone, it abolished the toxic effect induced by 5 mg/kg ouabain at the doses of 40 and 80 mg/kg. The toxic effect of 15mg/kg ouabain was also significantly inhibited by the highest dose of Na₂ EDTA (80 mg/kg). These results suggest that Na₂ EDTA has protective action against ouabain toxicity due to chelation of calcium.

Key words: Digitalis toxicity, calcium, ethylenediamine tetraacetic acid, chelating agents.

GİRİŞ

Kalp glikozidleri esas olarak konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Bu kullanılış yerinde temel etkileri, myokard hücre membranındaki Na⁺, K⁺a bağımlı ATPaz'ı inhibe etmek suretiyle intraselüler serbest Ca⁺⁺ düzeyini yükseltmeleri ve böylece myokard hücresinde kontraktileti artırılmalarıdır. Kalp glikozidlerinin yüksek dozlarında ektopik odakların etkinlik kazanması sonucu bigemini, trigemini şeklinde ventriküler ekstrasistoller ve daha da yüksek dozlarda ventriküler

taşikardiler meydana gelir (1). Dijital kaynaklı aritmilerin patojenezinde kalsiyumun rolü olduğu bilinmektedir. Anestezi altındaki kobaylarda kısa etki süreli bir kalp glikozidi olan uvabain tarafından oluşturulan aritmiler, kalsiyum kanal blokörleri tarafından önlenmektedir (2). R 56865 adlı bir maddenin de kobay papiller kasında uvabaine bağlı olarak oluşan aşırı kalsiyum yüklenmesini ortadan kaldırdığı bildirilmiştir (3). İzole sıçan sol atriyumu, kalsiyum modülatörü olan çeşitli maddelerle muamele edildiğinde, bu maddelerin uvabain intoksikasyonu sırasında oluşan mekanik ve iyonik

Haberleşme Adresi: Doç. Dr. Ergin ŞİNGİRİK, Ç.Ü.T.F. Farmakoloji Anabilim Dalı, 01330 Balcalı - ADANA.

Geliş tarihi : 16.01.1997

Kabul tarihi : 23.01.1997

değişikliklere karşı protektif etkilerinin olduğu da gösterilmiştir (4). Deneysel ve klinik olarak potasyum uygulanması ve deney hayvanlarında oluşturulan kalsiyum eksikliği dijital kaynaklı aritmileri önlemekte veya ortadan kaldırmaktadır. İntravenöz yoldan sodyum sitrat veya şelat yapıcı bir madde olan etilendiamin tetraasetik asid uygulanması sonucu hipokalsemi oluşturmak mümkündür. Nitekim dijital kaynaklı aritmilerin i.v. olarak verilen etilendiamin tetraasetik asid disodyum tarafından etkin bir biçimde ortadan kaldırıldığı, EDTA'nın magnezyum tuzunun ise hem serum kalsiyumunu düşürerek hem de serum magnezyum düzeyini yükseltmek suretiyle kalsiyumun fizyolojik etkilerini antagonize ederek dijital kaynaklı aritmileri giderdiği bildirilmiştir (5).

Bu çalışmada sağlıklı beyaz farelerde kısa etkili bir kalp glikozidi olan uvabainin toksik etkileri incelendi ve bu toksik etkilerin, kalsiyumu şelat yaparak bağlayan Na₂ EDTA ile etkileşmesi araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Deneylerde ağırlığı 20-30 g arasında değişen her iki cinsden sağlıklı beyaz fareler kullanıldı. Bir grup deneyde hayvanlara subkütan (s.c.) olarak uvabain verildi ve şeffaf kavanozlar içerisine konulan hayvanlar 4 saat boyunca izlendiler. Bu süre içinde ölen hayvan sayısı saptandı. Uvabain 5 ve 15 mg/kg dozlarda kullanıldı ve her bir uvabain dozu için ayrı gruplar oluşturuldu. Diğer bir grup deneyde farelere intraperitoneal (i.p.) olarak etilendiamin tetraasetik asid disodyum (Na₂ EDTA) verildi ve uvabainin kullanıldığı deneylerde olduğu gibi hayvanlar şeffaf kavanozlar içerisinde 4 saat boyunca izlenerek ölen hayvan sayısı saptandı. Na₂ EDTA 10, 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda kullanıldı ve her bir doz için ayrı grup oluşturuldu. Bu şekilde kontrol grupları elde edildi.

Bu grup deneyler tamamlandıktan sonra uvabainin Na₂ EDTA ile etkileşmesine yönelik çalışmalara geçildi. Önce 5 mg/kg uvabain ve 10 mg/kg Na₂ EDTA'nın etkileşmesine bakıldı. Etkileşmelerin incelendiği deneylerde i.p. olarak Na₂ EDTA verildikten hemen sonra uvabain s.c. olarak uygulandı

ve 4 saatlik süre içinde ölen hayvan sayısı saptandı. Benzer şekilde 5 mg/kg uvabainin 20, 40 ve 80 mg/kg Na₂ EDTA ile etkileşmeleri de ayrı gruplar oluşturmak suretiyle incelendi. Aynı şekilde 15 mg/kg uvabainin de 10, 20, 40 ve 80 mg/kg Na₂ EDTA ile etkileşmelerine ayrı gruplar oluşturularak bakıldı.

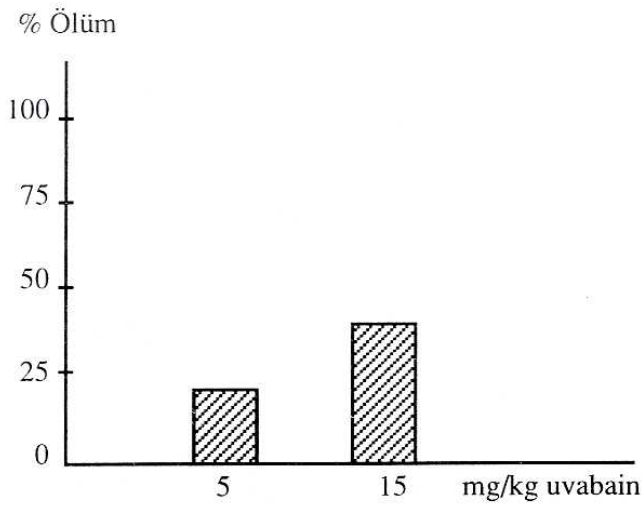
Sonuçların değerlendirilmesi için her bir deney grubunda ölen hayvan sayısından % ölüm değerleri saptandı. Ayrıca uvabain ve Na₂ EDTA etkileşmelerinin incelendiği gruplarda her bir doz uvabainin oluşturduğu % ölüm değeri 100 kabul edilerek, bu uvabain dozu ile Na₂ EDTA etkileşmelerinin incelendiği gruplardaki % ölüm değerleri bunun % si olarak ifade edildi. Sonuçlar grafik şeklinde gösterildi. İstatistiksel anlamlılığı tesbit etmek için "bağımsız gruplarda iki yüzde arasındaki farkın önemlilik testi" kullanıldı (6).

Uvabain oktahidrat (SIGMA) ve Na₂ EDTA (MERCK) distile su içerisinde çözülerek stok solüsyonları hazırlandı.

BULGULAR

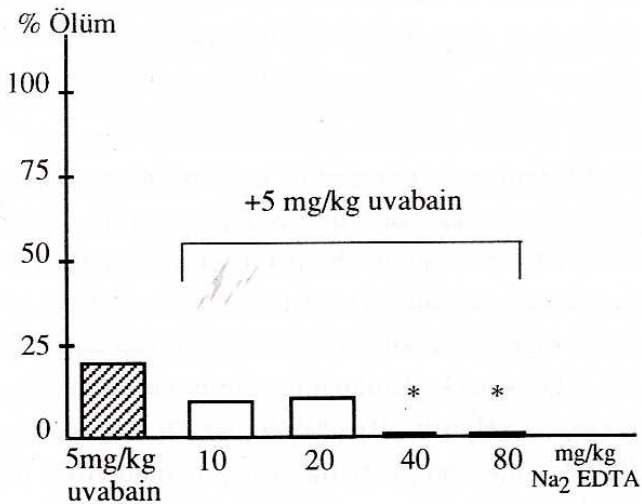
Uvabainin etkisinin incelendiği gruplar: Uvabain 5 ve 15 mg/kg dozlarda s.c. olarak uygulandı ve her bir uvabain dozu için ayrı gruplar oluşturuldu. 5 mg/kg dozda uvabain kullanılan grupta (n=20) 4 hayvan öldü ve ölüm % si 20 olarak saptandı. 15 mg/kg dozda uvabain kullanılan grupta (n=32) bu değer % 40.63 olarak belirlendi. Bu bulgulara göre kullanılan dozlarda uvabain doza bağımlı olarak ölüm % lerini artırmaktadır. Belirtilen dozlarda uvabain ile elde edilen ölüm % leri şekil 1'de görülmektedir.

Etilendiamin tetraasetik asid disodyum (Na₂ EDTA) un etkisinin incelendiği gruplar: Na₂ EDTA'nın etkisinin tek başına incelendiği gruplarda bu madde hayvanlara i.p. olarak verildi ve 10, 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda kullanıldı. Belirtilen dozlarda Na₂ EDTA'nın kullanıldığı hiç bir grupta ölüm olayı meydana gelmedi. 10, 20, 40 ve 80 mg/kg Na₂ EDTA kullanılan gruplarda deney sayıları sırası ile n=10, n=10, n=10 ve n=10 idi.



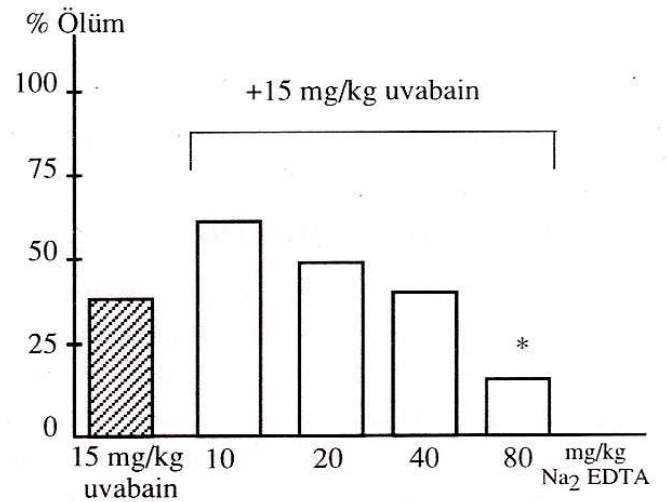
Şekil 1. 5 ve 15 mg/kg dozlarda uygulanan uvabainle oluşan % ölüm değerlerinin sütun grafiği şeklinde gösterimi.

Uvabainin Na₂ EDTA ile etkileşmesinin incelendiği gruplar: Bu grup deneylerde kullanılacak olan dozda Na₂ EDTA i.p. olarak verildikten hemen sonra uvabain s.c. olarak uygulandı. 5 mg/kg uvabainin tek başına kullanıldığı grupta (n=20) ölüm % si 20 iken, bu dozdaki uvabainin 10 mg/kg dozda Na₂ EDTA (n=10) ve 20 mg/kg dozda Na₂ EDTA (n=10) ile etkileşmesinin incelendiği gruplarda bu değer % 10'a kadar azaldı, 40 ve 80 mg/kg dozlardaki Na₂ EDTA (her iki grupta da deney sayıları 10) ile etkileşmesinin incelendiği gruplarda ise ölüm olayı meydana gelmedi ve ölüm % si 0 olarak saptandı (p<0.05). Bu sonuçlar şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 2. 5 mg/kg dozda uvabainle elde edilen % ölüm değerleri üzerine muhtelif dozlarda Na₂ EDTA'nın etkisi. Değerler sütun grafiği şeklinde gösterilmiştir. * p<0.05.

Ayrı bir deney grubunda ise 15 mg/kg dozda uvabainin çeşitli dozlarda Na₂ EDTA ile etkileşmeleri incelendi. 15 mg/kg dozda uvabainin (n=32) tek başına kullanıldığı grupta ölüm % si 40.63 iken, aynı doz uvabainin 10 mg/kg Na₂ EDTA (n=20), 20 mg/kg Na₂ EDTA (n=20), 40 mg/kg Na₂ EDTA (n=20) ve 80 mg/kg Na₂ EDTA (n=23) ile etkileşmelerinin incelendiği gruplarda ölüm % leri sırası ile % 60, % 50, %45 ve % 13.04 olarak saptandı. 10, 20, 40 mg/kg dozlarda Na₂ EDTA 15 mg/kg dozda uvabainle elde edilen ölüm % sinde anlamlı bir değişiklik yapmazken, 80 mg/kg dozda Na₂ EDTA belirtilen dozda uvabainle oluşan ölüm % sinde istatistiksel bakımdan anlamlı azalmaya neden oldu (p<0.05, şekil 3).

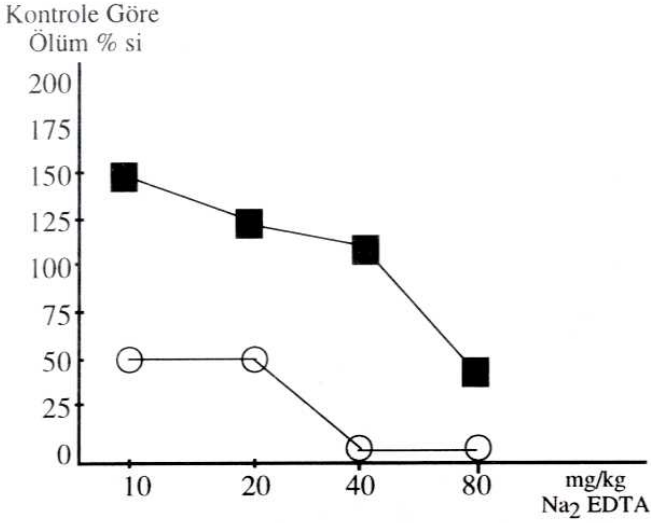


Şekil 3. 15 mg/kg dozda uvabainle elde edilen % ölüm değerleri üzerine muhtelif dozlarda Na₂ EDTA'nın etkisi. Değerler sütun grafiği şeklinde gösterilmiştir. * p<0.05.

5 ve 15 mg/kg dozlarda uvabainin 10, 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda Na₂ EDTA ile etkileşmelerinin incelendiği deneylerde kontrole göre ölüm % si şeklindeki değerler şekil 4'de gösterilmiştir. Burada tek başına uvabain ile elde edilen % ölüm değeri 100 kabul edilerek, etkileşmelerdeki % ölüm değerleri bu değerlerin % si olarak belirtilmişlerdir.

TARTIŞMA

Dijital tedavisi sırasında ortaya çıkan aritmilerin



Şekil 4. 5 ve 15 mg/kg dozlarda uvabainle 10, 20, 40 ve 80 mg/kg dozlarda Na₂ EDTA'nın etkileşmelerinin incelendiği deneylerde kontrole göre ölüm % leri.

patojeninde kalsiyumun önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Anestezi altındaki kobaylara 10 mg/kg dozda uygulanan kalsiyum klorür, kısa etki süreli bir kalp glikozidi olan uvabainin toksik etkilerini artırmış, nifedipin ve flunarizin gibi kalsiyum kanal blokörleri uvabainin oluşturduğu aritmilere karşı etkili bir koruma sağlamışlardır (2). Wilhelm ve arkadaşları (1990) tarafından izole sıçan sol atriyumunda yapılan bir çalışmada kalsiyum ve uvabain intoksikasyonu arasındaki ilişki gösterilmiş olup, uvabain intoksikasyonunda hücre içi kalsiyum düzeyinin aşırı derecede arttığı ve kalsiyum kanal blokörlerinin toksik etkilere karşı koruyucu etkileri olduğu belirlenmiştir (4). R. 56865 adlı kimyasal ajanın kobay papiller kasında uvabainin neden olduğu kalsiyum yüklenmesini engellediği bildirilmiştir (3).

Kalsiyum ile uvabain arasındaki bu etkileşmeden hareketle yapmış olduğumuz çalışmada, farelerde uvabain uygulaması ile elde edilen ölüm % lerinin kalsiyumu şelat yapmak suretiyle bağlayan ve böylece intakt hayvanlarda kalsiyum iyon konsantrasyonunu hızlı bir şekilde düşürdüğü bildirilmiş olan Na₂ EDTA (7) tarafından ne şekilde etkilendiği incelendi. Çalışmada uvabain doza bağımlı olarak ölüm %sinde artış oluşturdu. Na₂ EDTA ise bu artışı kullanılan dozuna bağımlı şekilde azalttığı gibi, düşük dozdaki uvabainin neden olduğu ölümleri tamamen önleyebildi. Bu bulgular uvabainin toksik etkilerinin, diğer çalışmalarda olduğu gibi kalsiyum ile bir ilişkisini ortaya koymakta ve kalsiyumu şelat yapmak suretiyle bağlayan bir maddenin kullanılmasının toksisiteyi azaltabileceğini göstermektedir. Köpeklerde yapılan bir çalışmada uvabainin oluşturduğu aritmiler disodyum EDTA tarafından tamamen düzeltilmiştir (8). Aynı yazarlar uvabain ve kalsiyum arasında sinerjizma olduğunu ve serum kalsiyum düzeyi düşürüldüğünde glikozidlerin toksik etkilerinin azaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde dijitaler ile oluşan tehlikeli aritmilerin kalsiyumla şelat yapan maddeler tarafından engellenebileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Potasyum depleasyonu ve kalsiyum fazlalığı dijitalerin toksik etkilerini artırırken, deneysel ve klinik olarak potasyum uygulanması ve deney hayvanlarında oluşturulan kalsiyum eksikliği dijitalerin neden olduğu aritmileri önlemekte veya ortadan kaldırmaktadır (5).

Sonuç olarak bu çalışmada uvabain intoksikasyonunda kalsiyumun rolü gösterilmiş olup, ölüm oranları kalsiyum şelatörü bir madde olan Na₂ EDTA tarafından azaltılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Cilt2. Feryal Matbaası, 1992: 1264-1315.
2. Jonkman FAM, Boddeke HWGM, Zwieten van PA. Protective activity of calcium entry blockers against ouabain intoxication in anesthetized guinea pigs. J. Cardiovasc. Pharm. 1986; 8: 1009-1013.
3. Vollmer B, Meuter C, Janssen PAJ. R 56865 prevents electrical and mechanical signs of ouabain intoxication in guinea-pig papillary muscle. Eur.J. Pharm. 1987; 142: 137-140.
4. Wilhelm D, Scheufler E, Peters T. Differential influence of various calcium-modulating compounds on ouabain intoxication in isolated rat left atria. Pharmacology 1990; 41: 316-326.
5. Gubner RS, Kallman H. Treatment of digitalis toxicity by chelation of serum calcium. The Am. J. Med. Sci. 1957; 136-144.
6. Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik, 3. baskı, Hatiboğlu Yayınevi 1990: 84-88.
7. Smith PW, Grinnell EH. Effect of di-potassium ethylenediamine tetraacetate on digitalis- produced cardiac arrhythmia. Pharm. Exp. Ther. 1955: 382.
8. Cook JR, Pollard JW, Cooley JC. Myocardial contractile force in the treatment of ouabain intoxication with disodium EDTA, potassium chloride and magnesium sulfate. J. Lab. Clin. Med. 1967; 69 (2): 292-303