

Aminoglikozit Antibiyotikler Rat Uterus Şeritlerinde KCl İle İndüklenen Tonik Kontraktıl Yanıtları Etkiler mi?

DO AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS AFFECT KCL-INDUCED TONIC CONTRACTILE RESPONSES OF RAT MYOMETRIAL STRIPS?

Ramazan ÇİÇEK*, Gökhan BAYHAN**, Meral ERDİNÇ***,
M.Ensari GÜNELİ****, Aşkın HEKİMOĞLU*****

- * Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,
** Yrd.Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,
*** Yrd.Doç.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,
**** Uzm., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD,
***** Arş.Gör.Dr., Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji AD, DİYARBAKIR

Özet

Amaç: Bu çalışma ile izole rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile indüklenen tonik kontraktıl yanıtların amplitüdünün amikasin veya gentamisin tarafından etkilenip etkilenmediğinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve metod: 6-8 haftalık dişi Sprague-dawley ratlardan izole edilen uterus şeritleri in vitro ortamda 80 mM KCl ile uyarılarak kontraktıl yanıtlar elde edildi. Bu yanıtların amplitüdünün zaman kontrollü olarak kendiliğinden veya ritodrin, amikasin ve gentamisin etkisi ile değişip değişmediği gözlemlendi.

Bulgular: Rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile oluşturulan kontraktıl yanıtların amplitüdünün beklemekle gentamisin veya amikasinin etkisiyle değişmediği ($p>0.05$) ancak ritodrinin etkisiyle takiben %18 oranında azaldığı ($p<0.05$) saptandı.

Sonuç: İzole rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile indüklenen kontraktıl yanıtların amplitüdü amikasin veya gentamisin tarafından değiştirilmemektedir. Amikasin veya gentamisin tokolitik etkilerinin bulunması olası görülmemektedir.

Anahtar Kelimeler: Amikasin, Gentamisin,
Aminoglikozit antibiyotik, Tokoliz

T Klin Jinekoloj Obst 2000, 10:146-149

Summary

Objective: In this study, we investigated whether the amplitude of 80 mM KCl-induced tonic contractile responses of rat myometrial strips were affected by amikacin or gentamicin.

Material and Methods: Myometrial strips were isolated from 6-8 weeks old female Sprague-dawley rats and contracted with 80 mM KCl in vitro. We wanted to know whether the amplitude of contractile responses of rat myometrial strips were changed by themselves or by ritodrin, amikacin and gentamicin.

Results: The amplitude of 80 mM KCl-induced contractile responses of rat myometrial strips was not changed by waiting for 30 min of time period or by gentamicin and amikacin ($p>0.05$) but was attenuated approximately in a ratio of 18% by ritodrin ($p<0.05$).

Conclusion: The amplitude of 80 mM KCl-induced contractile responses of rat myometrial strips is not changed by amikacin or gentamicin. So that tocolytic activity for amikacin or gentamicin is not probable.

Key Words: Amikacin, Gentamicin, Aminoglycosides,
Tocolysis

T Klin J Gynecol Obst 2000, 10:146-149

Neonatal mortalite ve morbiditenin önemli nedenlerinden biri olan erken doğumun etiyojisi henüz kesin olarak bilinmediği halde bakteriüri ve

üriner sistem enfeksiyonları ile erken doğum arasında ilişki bulunduğunu gösterir deliller mevcuttur (1). Bu enfeksiyonların etkeni genellikle aminoglikozit antibiyotiklere duyarlı olan gram (-) basillerdir. Aminoglikozit antibiyotikler antibakteriyel etkilerine ilave olarak özellikle nöronal kalsiyum kanallarını bloke ederek otonomik ve motor nöronlardan asetilkolin salıverilmesini inhibe ederler (2). Tokoliz amacıyla kullanılan bazı ilaçlar

Geliş Tarihi: 01.04.1999

Yazışma Adresi: Dr.Ramazan ÇİÇEK
Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Farmakoloji AD, 21280-DİYARBAKIR

da etkilerini uterus düz kasında hücre içi kalsiyum seviyelerini modüle ederek gösterirler (3-5). Bu nedenle aminoglikozit antibiyotiklerin antimikrobik amaçla kullanılırken tokolitik etki oluşturup oluşturmayacakları veya tokolitik tedaviye yardımcı olup olamayacakları sorusu gündeme gelmiştir.

Materyal ve Metod

Gebe olmayan, 6-8 haftalık Sprague-dawley dişi ratlara (200-220 gram) deneyden 1 gün önce hormonal durumlarını standardize etmek amacıyla i.m. olarak 0.1 mg/kg dietilstilbestrol enjekte edildi. D.Ü. Tıp Fak. Etik Kurulundan alınan onaya uygun olarak ratlar eter anestezisi altında eksanguinasyon ile sakrifiye edildiler. Karın orta hattından longitudinal bir kesi ile karın boşlukları açılan ratların bihörnikal uterusları dikkatle disseke edilerek Tyrode solüsyonu içine alındı. Burada çevre dokularından temizlenen her bir uterus dokusundan 1-1.5 cm uzunluğunda, tüp şeklinde, 4 adet uterus şeridi elde edildi. İçinde 37 C'a kadar ısıtılmış ve %95 O₂+%5 CO₂ karışımı ile devamlı gazlandırılan Tyrode solüsyonu bulunan 10 ml'lik organ banyosuna alınan doku şeritleri 750 mg'lık istirahat gerilimi ile bir manivelaya tespit edildi.

Doku şeritlerinin ortama adapte olmaları için 30 dakika beklendi ve 10 dakikada bir banyo içeriği değiştirilerek dokular yıkandı. Adaptasyon periyodundan sonra banyo içeriği 80 mM KCl içeren fizyolojik solüsyonla değiştirildi ve bu aşamadan sonra deney sonlanıncaya kadar 80 mM KCl içeren solüsyon kullanıldı. Tyrode solüsyonunun hipertonikleşmesini önlemek amacıyla solüsyon içindeki NaCl miktarı azaltılarak yerine KCl konuldu ve solüsyonun osmolaritesi sabit tutuldu. 80 mM KCl ilavesi dokularda hızla gelişen tonik bir kontraksiyona neden oldu. İzotonik kontraktıl yanıtlar bir kimograf aracılığıyla 15 dakika süreyle kaydedildi ve doku aynı solüsyonla yıkandı. Zaman uyumlu kontrol yanıtlar elde etmek için kontrol grubunda ortama herhangi bir şey ilave edilmeden 15 dakika süreyle yanıtların kaydedilmesine devam edildi. Diğer gruplarda ise uterus gevşetici etkiye örnek oluşturması için ortama 20 mg/ml ritodrin ilave edildi ve dokunun yanıtı yine 15 dakika süreyle kaydedildi. Aminoglikozit antibiyotiklerin olası tokolitik etkilerini gözlemek

için ise ortama 4 mg/ml gentamisin veya 40 mg/ml amikasin ilave edilerek doku yanıtları 15 dakika süreyle kaydedildi. İkinci 15 dakikalık periyodun sonunda kaydedilen yanıtların amplitüdü birinci 15 dakikalık periyod sonunda elde edilen kontraktıl yanıtların amplitüdüne oranlandı.

Her bir grubun diğerinden farklı olup olmadığı tek yönlü ANOVA ile analiz edildi. Her bir grup içindeki kontraktıl yanıt amplitüdünde gözlenen değişikliklerin anlamlı olup olmadığı eşleştirilmiş Student's t testi ile incelendi. P<0.05 ise ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğuna karar verildi.

Deney esnasında kullanılmayan doku şeritleri +4 C'da en fazla 6 saat süreyle saklandı. Her bir uterus şeridi sadece bir kez kullanıldı ve her bir rat-tan elde edilen doku örneklerine her bir ilaç derişimi sadece bir kez uygulandı. Tyrode solüsyonu içeriği (mmol/L) NaCl 137, KCl 2.7, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.1, NaH₂PO₄ 0.42, NaHCO₃ 11.9 ve glukoz 5.5 olacak şekilde hazırlandı.

Bu çalışmada dietilstilbestrol dipropionat (Östrogenin amp İ.E.), ritodrin (Pre-par amp Eczacıbaşı), gentamisin (Gentex amp, Bilim) ve amikasin (Amikaver amp Haver) kullanıldı.

Bulgular

30 dakikalık adaptasyon periyodundan sonra 80 mM KCl ile indüklenen tonik kontraktıl yanıtların zaman içinde değişime uğrayıp uğramadıklarını gözlemek için 15 dakika süreyle yanıtlar kaydedildi. Doku eşdeğer solüsyonla yıkanıp tekrar 15 dakika süreyle yanıtlar kaydedildiğinde kontraktıl yanıtların ilk periyottaki yanıtlara oranının %100.59 ± 0.42 olduğu gözlemlendi (p>0.05, n=10). Bu gözlem bize rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile indüklenen tonik kontraktıl yanıtların 30 dakikalık zaman dilimi içinde stabil bir şekilde devam ettiğini gösterdi.

Ortama 20 mg/ml ritodrin ilave edilmesiyle yanıtlar %81.90 ± 2.11 olarak saptanırken (p<0.05, n=10), 4 mg/ml gentamisin veya 40 mg/ml amikasin ilavesi durumunda yanıtların sırasıyla %100.94 ± 0.34 (p>0.05, n=10) ve %98.97 ± 0.16 (p>0.05, n=10) olduğu tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile 15 dakika süreyle indüklenen kontraktıl yanıtlar üzerine 15 dakika süreyle uygulanan 20 mg/ml ritodrin, 4 mg/ml gentamisin ve 40 mg/ml amikasinin etkileri

Uygulama	% amplitüd
a)Kontrol	100.59 ± 0.42
b)Ritodrin	81.90 ±2.11
c)Gentamisin	100.94 ±0.34
d)Amikasin	98.97 ± 0.16

Amplitüd: $f(0.05, 3,36)= 4.998$; ba, bc, bd: $p < 0.05$; ca,cd,da: $p > 0.05$.

Tartışma

Bakteriyel enfeksiyonlar preterm doğum ve buna bağlı neonatal mortalite ve morbiditenin önemli nedenlerindedir. Bu enfeksiyonlara karşı kullanılabilen aminoglikozit antibiyotikler nöronal kalsiyum kanallarını bloke ederler (6). İzole rat frenik sinir-hemidiyafram preparatında aminoglikozit antibiyotiklerin kalsiyum ile engellenen bir nöromüsküler blok yaptığı (7), gentamisin ve amikasinin izole rat frenik sinir-hemidiyafram preparatında ve kobay ileumunda sinir terminallerindeki hücre içi kalsiyum seviyelerini düşürdükleri gösterilmiştir (8).Nifedipin ve verapamil gibi kalsiyum kanal blokörü ilaçların tokolitik amaçla kullanılabilmeleri diğer kalsiyum kanal blokörlerinin de tokolitik olarak kullanılabileceklerini düşündürmektedir.

Aminoglikozit antibiyotiklerin de tokolitik amaçla kullanılıp kullanılmayacaklarını inceleyen bir çalışmada (9) insan uterus düz kas örnekleri üzerinde 128 mM KCl ile indüklenen kontraktıl yanıtların gentamisin ile inhibe edildiği gösterilmiştir. KCl yüksek konsantrasyonlarda düz kas hücrelerinde hücre içine kalsiyum girişini artırarak düz kasları uyarır (10), bu nedenle kalsiyum kanallarını bloke eden ilaçların KCl ile indüklenen düz kas kontraksiyonlarını inhibe etmesi beklenir. Ancak nöronal kalsiyum kanalları ile düz kas hücrelerindeki kalsiyum kanalları farklı olduğundan aminoglikozit antibiyotiklerin hem nöronal hem de düz kas hücrelerindeki kalsiyum kanallarını bloke etmeleri zayıf bir olasılık olarak görülmektedir. Bu konuda yapılmış araştırmaların çoğu

(2,6,7,8) aminoglikozit antibiyotiklerin otonomik ve motor nöronların fonksiyonunu bozarak nörotransmitter madde salıverilmesini engellediklerini, bu nedenle çizgili kas veya düz kas fonksiyonunu değiştirdiklerini göstermektedir. Uterus dokusu çok iyi innerve olmuş, fonksiyonunu büyük ölçüde sinirsel uyarılarla sürdüren bir doku olmadığından nöronal kalsiyum kanal blokörlerinin uterus fonksiyonlarını en azından aynı mekanizma ile değiştirmeleri olası görülmemektedir.

Biz bu çalışmada izole rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile indüklenen tonik kontraksiyonların amplitüdünün zamanla azalmadığını, amikasin veya gentamisininden etkilenmediğini ancak ritodrinin etkisiyle zayıfladığını gözledik. Aynı şekilde izole rat uterus şeritlerinde oksitosin ile indüklenen ritmik kontraktıl yanıtların amplitüd ve frekanslarının da amikasin veya gentamisin tarafından değiştirilmediğini saptadığımız için (11) aminoglikozit antibiyotiklerin tokolitik amaçla kullanılmayacakları kanısına vardık.

Sonuç olarak in vitro ortamda izole rat uterus şeritlerinde 80 mM KCl ile indüklenen kontraktıl yanıtları aminoglikozit antibiyotikler olan gentamisin ve amikasin modüle edemediklerinden tokolitik etkili olmadıkları düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Romero R, Mazor M. Infection and preterm labor. Clin Obstet Gynecol 1988; 31, 553-5.
2. Singh YN, Marchall IG, Harvey AL. Some effects of the aminoglycoside antibiotic amikacin on neuromuscular and autonomic transmission. Br Anaesth 1978; 50 (2), 109-11.
3. Popper LD, Batra SL, Akerlund M. The effect of magnesium on calcium uptake and contractility in human myometrium. Gynecol Obstet Invest 1989; 28, 78-81.
4. American College of Obstetricians and Gynecologists. Preterm labor. Technical Bulletin, June 1995; no 206
5. Ulmsten U, Andersson KE, Wingerup L. Treatment of premature labor with the calcium antagonist nifedipine. Arch Gynecol 1980; 229, 1-7.
6. Paradelis AG, Triantaphyllidis CJ, 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 1988; 10 (11), 687-9.
7. Paradelis AG, Crassaris LG, Karachalios DN, Triantaphyllidis CJ. Aminoglycoside antibiotics : interaction with trimethaphan at the neuromuscular junctions. Drugs Exp Clin Res 1987; 13 (4), 233-4.

8. Noughnejad F, Dehpour AR, Samadian T, Amini S: Ultrastructural localization of calcium in neuromuscular junctions of smooth and skeletal muscles after aminoglycoside antibiotics treatment. *Histol Histopathol* 1994, 9 (3), 555-61.
9. Kadanalı S, Demir N, Apaydın S. In-vitro relaxant effects of gentamicin and clindamycin on human myometrium at term. A preliminary study. *The New Journal of Medicine* 1996, 13 (2), 75.
10. Mayer CJ, Breemen CV, Casteels R. The action of lanthanum and D600 on the calcium exchange in the smooth muscle cells of the guinea pig taenia coli. *Pflügers Arch* 1972: 337,333.
11. Çiçek R, Aban M, Erdiñ M, Güneli ME, Özer G. Aminoglikozit antibiyotiklerin tokolitik etkileri var mı? *İstanbul Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 1998;2:102-5.