

Tavşan Plazma Kininojen Seviyelerine Etkili Maddeler*

Substances That Affect Rabbit Plazma Kininogen Levels

Orhan ALTINKURT **

İlker KANZIK**

GİRİŞ

Bradikinin, kallidin ve kallikrein en etkin biyojen aminler arasındadır ve genel olarak kinin'ler diye bilinirler. Canlılarda bir protein prekürsörü kininojende büyük miktarlarda depolanmış olarak bulunurlar. Plazmadaki kininler, salınmalarını ve inaktivasyonlarını regüle eden çok karmaşık bir sistem ürünleridir. Homeostatik denge bozulduğu zaman kininler ortaya çıkmakta ve bir çok patolojik sendromlara katılmaktadırlar. Dolayısıyla, plazma kininlerinin memelilerdeki varlığı başlıca patolojik rolleri ile ilgilidir.

Bu çalışmada, kaynakta kininojen halinde depolanmış olarak bulunan bradikininin salınmasına neden olan kimyasal maddeler araştırılmıştır.

MATERYEL VE YÖNTEM

Deneylerde 2-2,5 kg ağırlıktaki tavşanlarla, 400-600 g ağırlıktaki kobaylar kullanılmıştır. Denenen maddeler bir mide sondası ile, 3 hayvanlı 6 grup tavşana ağızdan verilmiştir. İlaç verilmeden önce ve ilaç verildikten 4 ve 24 saat sonra tavşanların kalbinden kan alınarak, ilaçlardan önceki ve sonraki kininojen seviyeleri izole kobay ileumunda

Redaksiyona verildiği tarih: 2 Mayıs 1980

*Eczacı İlker KANZIK tarafından Farmakoloji kürsüsünde (Kürsü Başkanı Prof. Dr. Orhan ALTINKURT) hazırlanmış olan "Brandikinojenden Bradikinin Salınmasında Etkiyen Maddelerle, Brandikininin Deneysel Hayvanlardaki İn Vivo ve İn Vitro Etkilerini Antagonize Eden Maddeler" isimli doktora tezinin bir bölümünden özetlenmiştir. Sınav tarihi: Eylül 1978

**Farmakoloji Kürsüsü, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

2 x 2 deneyi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar, ml plazmadan salman bradikinine eşdeğer μg bradikinin olarak ifade edildi.

Kullanılan kimyasal maddeler şunlardır: Bradikinin triasetat (Sandoz), Tris (hidroksimetil)-aminometan (Merck), Tripsin (Merck), Atropin sülfat (Haver Lab), Antistin (Ciba), Gantanol (5-metil-3-sulfanilamido-isoksazol) (Roche), Tween 80 (Atlas), Sodyum Alginat (BDH).

a) Plazma Kininojen Tayini: Tavşanların kalbinden 10 ml kan, 20 İ.Ü. heparin içeren bir solüsyon ile ıslatılmış bir şırınga ile alındı. Kan polietilen tüplere aktarılıp, hemen 2000 devirde 10 dakika santirifüj edildi. 0.2 ml plazma bir mikropipetle çekilip, içinde 1.8 ml H_2O 0.2 (v/v) asetik bulunan tüplere ilave edildi. 30 dakika kaynar su banyosunda bekletildi. Denatüre plazmanın pH sı, 0.06 ml N NaOH ve 0.5 ml 0.2 M Tris tamponu ile 7.4-7.8 e ayarlandı. Sonra tüplere, 0.1 ml sinde 0.2 mg tripsin içeren serum fizyolojikten 0.1 ml ilave edilerek, 37°C de 30 dakika enkübe edildi. Reaksiyon, kaynama derecesindeki 4 ml alkol ilavesiyle durduruldu ve 10 dakika 70°C deki su banyosunda bekletildi. Süspansiyon 100 ml lik balonlara boşaltıldı ve vakum altında kurutuldu. DİNİZ ve CARVALHO (1) yöntemi ile böylece elde edilen kurutulmuş artık 4 ml serum fizyolojikte çözüldü ve bradikinin miktarı kobay ileumunda GOLDSTEIN (2) ve ROCHA E SILVA (3) tarafından açıklandığı gibi 2 X2 nokta deneyi yöntemi ile araştırıldı.

b) Kobay ileumunda 2 X2 Nokta Deneyi: En az 20 saat aç bırakılmış her iki cinsten kobaylar başlarına sert bir cisimle vurularak ve boğazları kesilerek öldürüldü. Karın bölgesi açılarak ileo-çekal sfinktere en yakın kısımdan alman 2-3 cm uzunluğundaki parçalar mezenterden arındırıldı. Bundan sonra parçalar 10 ml lik banyoda 37°C de, % 95₂ ve % 5 CO₂ karışımı ile satüre edilmiş ve ml sinde 10⁻⁷ molar atropin ve 10⁻⁷ molar antistin içeren Tyrode solüsyonunda 1 saat kadar, ortama adapte olması için bekletildi. Sonra bir transducer'a bağlanarak, cevaplar bir kaydedici üzerinde yazdırıldı.

2 X2 nokta deneyi için paralel-doğru biossay'inde yöntem, standartın iki doz seviyeleri X_s^1 ve x_{s_2} ile potansi bilinmeyen maddenin iki dozu x_{u_1} ve x_{u_2} yi, her iki durumda da büyük dozun küçük doza oranı eşit olacak şekilde seçilmesidir:

$$\frac{x_{s2}}{x_{s1}} = \frac{x_{u2}}{x_{u1}}$$

S ve U nun konsantrasyonları, şekil-1 de görüldüğü gibi, cevaplar birbirine uyacak şekilde ayarlanır:

$$y_s^1 \cong y_u^1 \quad \text{ve} \quad y_s^2 \cong y_u^2$$

Bu durumda analizin amacı, log-dozdaki cevapların iki regresyon doğrusunu karşılaştırarak, standarta göre bilinmeyen potensini tayin

etmektir. İstatistik açıdan sorun, eşit etkiler için, $\frac{s_{nin\ dozu}}{u_{nun\ dozu}}$

olarak ifade edilen gerçek potens oranı ile güven sınırlarının hesaplanmasıdır. Düşük etkin dozaj yüksek potens demek olduğundan, bu oranın büyüklüğü S e göre U nun potensini ifade eder.

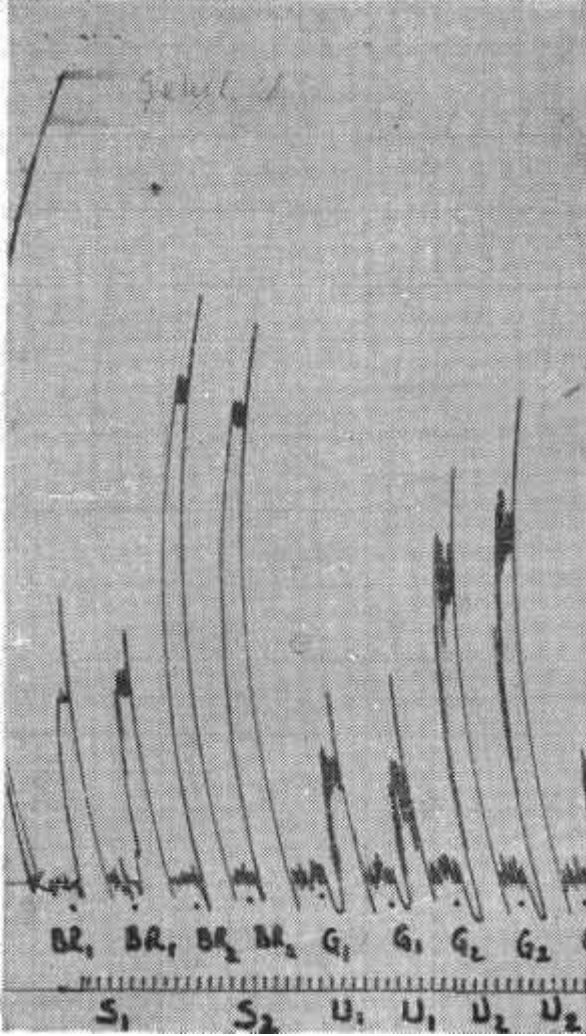
BULGULAR

Tablo-1 de de görüldüğü gibi Gantanol 0.1 g/ kg dozda verildiğinde kininojen seviyelerinde önemli bir değişiklik yapmamaktadır. Fakat doz 4 g/kg a artırıldığında kininojen miktarları 4 saat sonra % 62.4, 24 saat sonra ise % 49.2 azalmıştır. Tween 80 0.1 g/ kg dozda kininojen miktarlarını 4 saatte % 10.2, 24 saatte % 8.1 azaltırken, 2 g/kg dozda 4 saatte % 45.2, 24 saatte ise % 59.6 azaltmıştır. Aynı şekilde, sodyum alginat 0.5 g/ kg dozda kininojen seviyelerini 4 saatte % 10.8, 24 saatte 13.2 düşürmüş, doz 2 g/ kg a çıkarıldığında kininojen miktarları 4 saat sonra % 31, 8, 24 saat sonra ise % 44.3 daha az bulunmuştur.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Tavşan plazmasındaki kininojenlerden bradikinin salgılanmasına neden olan kimyasal maddeleri araştırmak için kullanılan bir dizi maddeden Tween 80, Gantanol ve sodyum alginatın bradikinin salgılanmasına neden oldukları gözlenmiştir. Kullandığımız Rastinon, Diabinese, Glucophage, Insulin, Saccharin, Streptomycin, Lincosin, Gentamisin, Kloramfenikol Penisilin, Kollistin, Morfin, Curare, Epsamine,

Kininojen Seviyelerine Etkili Maddeler



K₃ vitamini, B₂ ve B₁₂ vitaminleri ve pektinden sonra kininojen seviyelerinde bir değişiklik gözlenememiştir.

Plazmada kininojenin azalıp bradikininin artmasında Gantanol, Tween 80 ve sodyum alginat, farklı kimyasal yapıda maddeler olmakla

Tablo 1. Plazma Kininojenine Etkili Maddeler

İL AÇ	N	BRADİKİNİNOJEN (µg BR/ ml plazma)				
		0 saat	4 saat	24 saat	% Azalma	
					4 saat	24 saat
TWEEN 80 0.1 g/kg	6	8.00* (6.76—9.55)**	7.22 (6.37—8.19)	7.35 (6.02—9.01)	% 10.2	% 8.1
TWEEN 80 2 g/kg	6	7.10 (5.29—9.57)	3.89 (3.34—4.48)	2.87 (2.02—4.24)	% 45.2	% 59.6
GANTANOL 0.1 g/kg	6	7.04 (6.21—8.00)	6.94 (5.59—8.62)	7.04 (6.41—8.81)	% 1.4	% 0
GANTANOL 4 g/kg	6	6.81 (5.19—8.91)	2.56 (1.67—3.93)	3.35 (2.99—3.85)	% 62.4	% 49.2
Na ALGINATE 0.5 g/kg	6	6.57 (5.15—8.35)	5.86 (5.05—6.78)	5.71 (5.36—6.20)	% 10.8	% 13.2
Na ALGINATE 2 g/kg	6	7.82 (6.80—9.02)	5.33 (4.44—6.42)	4.36 (3.28—5.78)	% 31.8	% 44.3

*Ortalama deęerler

**Güvensınırları

beraber, etki bakımından aynı şekilde hareket etmektedirler. Burada Gantanol, 5-metil-3-sulfanilamido-isoksazol yapısında bir sulfamit olduğundan, Sulfamitlerden sonra görülen alerjik reaksiyonlara Gantanolun da sebep olabileceği kanısına varılmıştır. Esasen alerjik hastalıkların çoğu, histamin deşarji yanında, genel veya lokal kinin oluşumunun da artması ile açıklanmaktadır (4). Yüksek dozlarda kullandığımız Gantanol, büyük bir olasılıkla alerjik bir reaksiyonun doğmasına neden olmakta ve bunun sonucu kininojenlerden bradikininin salınmasını arttırmaktadır.

Sodyum alginat ve Tween 80 gibi makromoleküler maddeler demülsan, emülsifiyan ve protektif gibi çeşitli amaçlarla eczacılıkta kullanılmaktadır. Ağızdan verdiğimiz bu maddelerin kininojene etkileri ise karaciğer üzerinden protombin senteziyle ve buna etkili faktörlerle ve özellikle Faktör XI nin aktivasyonu sonucu bradikininin salınmasına bağlanmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada, tavşan plazmasındaki kininojenlerden bradikinin salgılanmasına neden olabilecek maddeler araştırıldı. Gantanol (4 g/kg), Tween 80 (2 g/kg) ve sodyum alginat (2 g/kg) ın kininojen miktarlarını istatistiksel olarak anlamlı derecede azalttığı ve bradikinin salgılattığı gözlemlendi.

SUMMARY

In this study, the substances which might cause the release of bradykinin from the kininogens in the rabbit plasma are searched. It is observed that, Gantanol (4 g/ kg), Tween 80 (2 g/ kg) and sodium alginate (2 g/ kg) caused statistically significant reduction in the quantity of kininogen and consequent release of bradykinin.

LİTERATÜR

1. Diniz, C.R., De Carvalho, I.F., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 104, 77 (1963)
2. Goldstein, A., *Biostatistics*, 161 (1968)
3. Rocha e Silva, M., *Acta. Physiol. Lat-Amer.*, 2, 238 (1952)
4. Surovikina, M.S., *B. Exp. B.Med.*, 78 (8), 888 (1974)