

# DİŞETLERİNDEKİ ENDOJEN ANTİHİSTAMİNİK AKTİVİTE İLE LOKAL ANESTEZİKLERİN ETKİLEŞMESİ

Esen ÖZALP (\*), Filiz BAL(\*\*), Ahmet RODOPMAN (\*\*)

**Anahtar kelimeler: Prokain, histaminik aktivite.**

Dişetlerindeki antihistaminik aktiviteyi incelemek için genellikle parçalar lokal anestezi den sonra alınmaktadır. Lokal anestezi maddenin kendisinin de lokal anestetik etkisi bulunmaktadır. BU etkileşimin engellenmesi için a) ekstraksiyon yöntemi tarafımızdan modifiye edilmiştir (Kovacs 8) b) prokainin saptanması için ince tabaka kromatografi yöntemi kullanılmıştır. Lokal anestezi maddenin etkisi modifikasyonla ortadan kaldırılmıştır c) biyolojik yöntem olarak atropinize kobay ileümü kullanılmıştır.

**Key Words: procain, antihistaminic activity.**

*Gum tissue used for antihistaminic activity assay is usually collected after local anesthetic application. Local anesthetic substance also possesses antihistaminic activity. To avoid such an interaction there measures have been taken. a) extraction method has been modified (Kovacs 8) b) a thin layer chromatography has been used to detect procain. Antihistaminic activity of the local anesthetic substance is counteracted by modification. c) Guinea-pig ileum which is atropinized is used as a biological method.*

**H**istaminin fizyolojik ve patolojik pek çok olaydaki önemli rolünün anlaşılmasından sonra organizmada bu maddeye karşı davranan endojen bir maddenin araştırılmasına yönelik çalışmalar başlamıştır (1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12).

Dişetlerindeki antihistaminik aktiviteyi incelemek amacıyla alman parçalar için genellikle bölgesel (rejyonel) anestezi kullanılmıştır. Fakat, özellikle gingivektomi, irritasyon fibroması, epulis için yapılan cerrahi işlemlerde lokal anestetik solüsyonun içerdiği vazokonstriktör maddeler nedeniyle hem bölgesel hem de infiltrasyon anestezisi kullanılması gerekmektedir. Bu nedenle dokudaki endojen maddeleri incelerken dokuya enjekte edilen lokal anestetik maddenin etkisinin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

Yapılan literatür araştırmalarında bu konuyu inceleyen bir araştırmaya rastlayamadık. Bu nedenle infiltrasyon anestezisi ile dokuya enjekte edilen prokainin bu bölgeden hazırlanan doku ekstraktlarına geçerek ekstrakttaki antihistaminik aktiviteyi etkileyip etkilemediğinin incelenmesini uygun bulduk.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda, prokainin antihistaminik etkisi direkt olarak incelenmiştir. Ayrıca infiltrasyon anestezi

si yapılmış (n: 15) ayrı parçadan hazırlanan ekstraktlarda prokain ya da prokainin bozulma ürünleri araştırılmıştır. Bunun için ince tabaka kromatografi yöntemi (2, 13), kullanılmıştır.

Araştırmamızda doku ekstresinin hazırlanması için Kovacs ve ark. (8)nin kullandığı yöntem ve tarafımızdan modifiye edilen aynı yöntem (10) kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan dişetleri fakültemiz kliniklerinden elde edilmiştir. Bu dişetleri lokal anestezi ile yapılan operasyon sırasında alınmıştır. Net ağırlıkları saptanmıştır. Ufak parçalara ayrılan taze dokunun gramı için 30 ml. serum fizyolojik ilave edilip karışım cam homojenizatör aracılığı ile homojen hale getirilmiştir. Dişeti parçalarının bir grubunda (n: 8) orijinal yöntemde olduğu şekilde homojenatın pH'sı 6. 8-7.2 ye getirilmiş, öteki grupta (n: 7) ise yöntem tarafımızdan modifiye edilerek homojenat HCl kullanılarak pH'sı 1.5-2 ye ayarlanmıştır. Her iki gruptaki homojenat 30 dakika süre ile 56-60°C da etüvle inkube edilmiştir. Sonra her iki gruptaki homojenatlar taze dokunun gramı için 200 ml eterle (Merck) bir saat süre ile çalkalanmıştır. Eter fazı ayrı bir kaba alınmış, etere geçmeyen faz üç hacim eter, 1 hacim kloroformdan oluşan karışım ile taze dokunun gramı için 200 ml. olacak şekilde tekrar bir saat süre ile çalkalayıcı aleti

(\* Prof. Dr. İ.Ü. Dişhek. Fak. Farmakoloji Birimi Öğ. Üyesi

(\*\*) Dr. İ.Ü. Dişhek. Fak. Farmakoloji Bir.

ile çalkalanarak ekstre edilmiştir. Ekstraksiyondan sonra eter ve eter-kloroform karışımı birleştirilmiştir. Bu karışım 40-50°C'daki su banyosunda rota-evaporator kullanarak distilasyon ile alçak basınçta, sonunda kuru bir kalıntı kalıncaya kadar uçurulmuştur. Arta kalan madde taze dokunun gramı için metalik sodyum üzerinden suyu alınmış 10 ml. susuz eterle üç defa çalkalanmıştır. Etere geçen kısım kullanılan eter miktarının çok az olması nedeniyle küçük şişelerde toplanmış ve uçurulmuştur. Şişelere 0.2-1 gramı için 1 ml. olacak şekilde tyrode solüsyonu konularak arta kalan madde sulandırılmış ve pH'sı 7.2-7.4 olarak ayarlanmıştır.

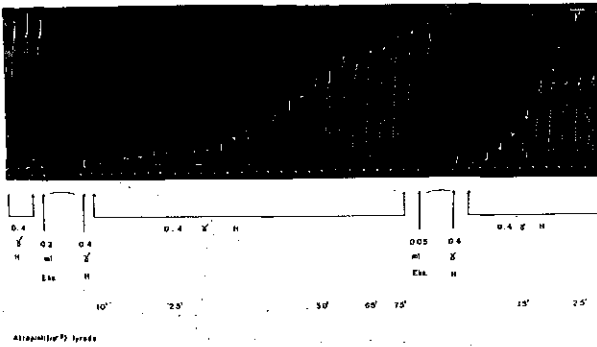
Dişetlerindeki endojen antihistaminik aktivite ve prokainin etkileri için biyolojik yöntem olarak izole kobay ileumundan yararlanılmıştır. Dokudan ekstraksiyona geçme olasılığı bulunan kolinerjik aktiviteyi önlemek için kobay ileumunun asıldığı banyoya gelen tyrode solüsyonu  $10^{-8}$  konsantrasyonunda atropinlenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonda atropin kullanılması, atropinin kendisinin, kobay ileumu üzerinde antihistaminik aktivite göstermesi olasılığından ötürü kaçınılmıştır.

### BULGULAR

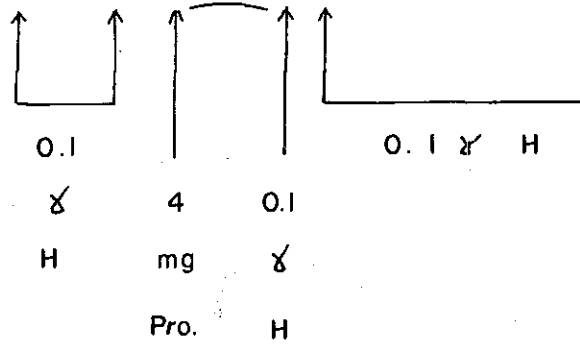
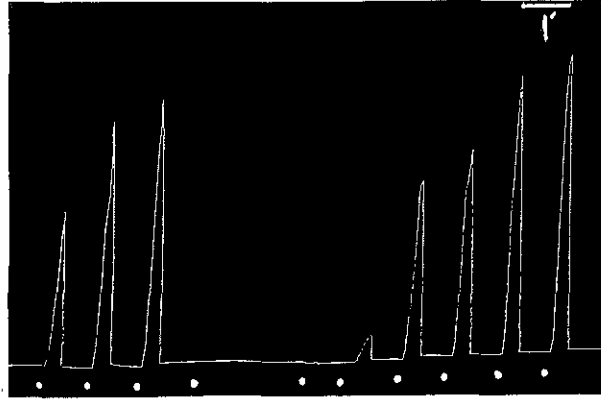
1- Araştırmamızda kullanılan dişetlerinde antihistaminik aktivite saptanmıştır ve bunun doza bağlı olarak arttığı görülmüştür (Trase 1).

2- Prokainin kendisinin kobay ileumu üzerinde antihistaminik etki gösterdiği görülmektedir (Trase 2).

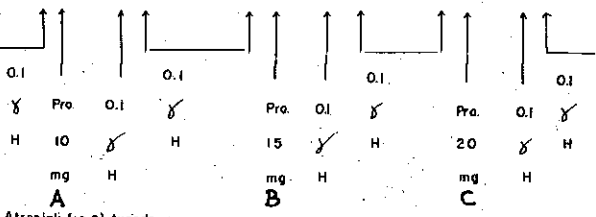
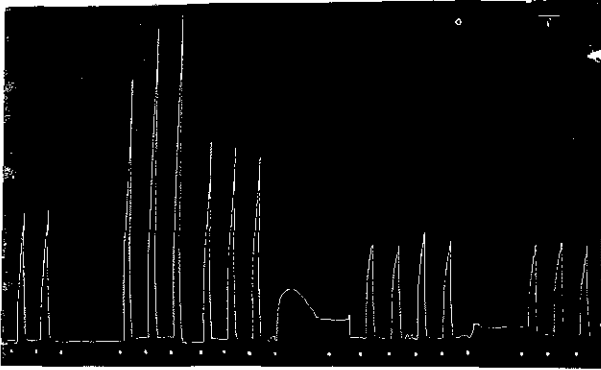
3- İnfiltrasyon anestezisi altında alınan dişeti ekstratlarında ince tabaka kromatografisinde prokain ya da prokainin bozulma ürünleri gösterilmiştir (Kromatogramlar 1, 2, 3.).



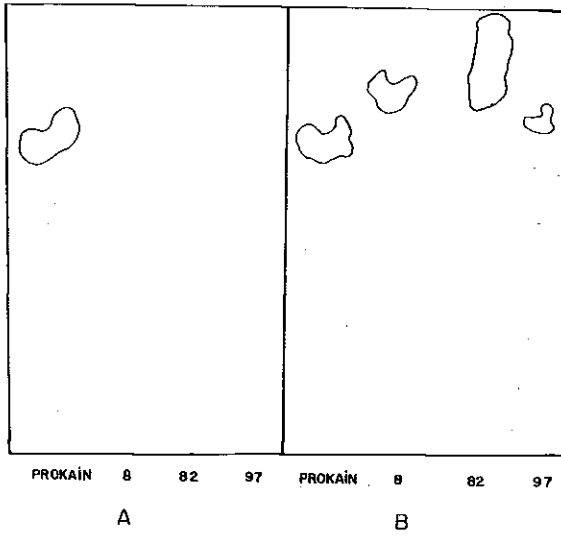
**Trase 1. Dişetinden elde edilen ekstredeki antihistaminik aktivitenin doza bağlı olarak arttığı görülmektedir. 0.2 ml (100 mg), 0.05 ml (25 mg).**



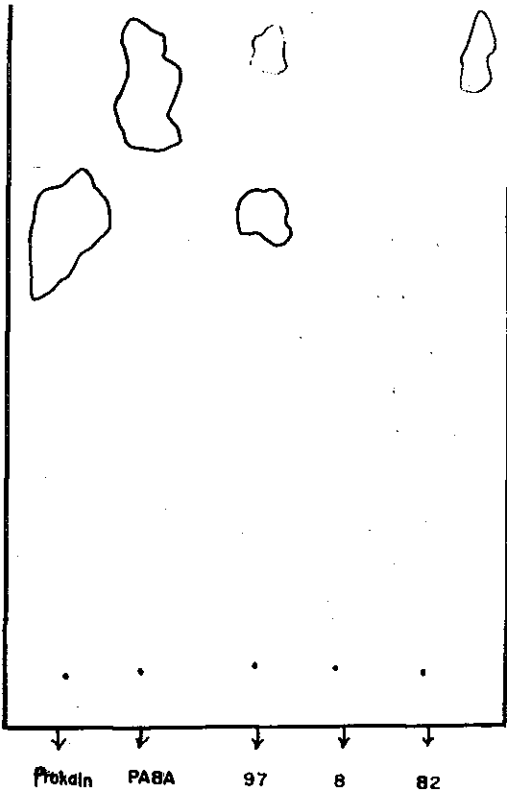
**Trase 2. Prokain hidroklorid solüsyonunun atropinli izole kobay ileumunda standart histamin ile meydana getirilene kasılmayı ortadan kaldıran bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir**



**Trase 3. Orjinal yöntemde yapılan modifikasyonla elde edilen A ve C örneklerinde antihistaminik aktivitenin ortaya çıkmadığı (dozu artmış olmasına karşın) buna karşın orjinal yöntemde elde edilen ekstrede (B) antihistaminik aktivitenin bulunduğu görülmektedir.**



**Kromatogram 1.** Kovacs ve Ark (8) tanımladığı yöntemle yapılan ekstraksiyondan sonra elde edilen ekstrelerde prokainin bulunduğu görülmektedir. A: Reaktif Iodoplatinat, B: Fe Cl<sub>3</sub>, V: Volüm, K<sub>3</sub> Fe (CN)<sub>6</sub>, SOLVENT: NH<sub>3</sub> 1.5 V, Metanol 100 V



**Kromatogram 2.** Kovacs ve Ark (8) tanımladığı yöntemle hazırlanan ekstrelerde prokain ve prokain bozulma ürünlerinin varlığı görülmektedir. Solvent : NH<sub>3</sub> 1.5 V Metanol 100 V Reaktif : Iodoplatinat

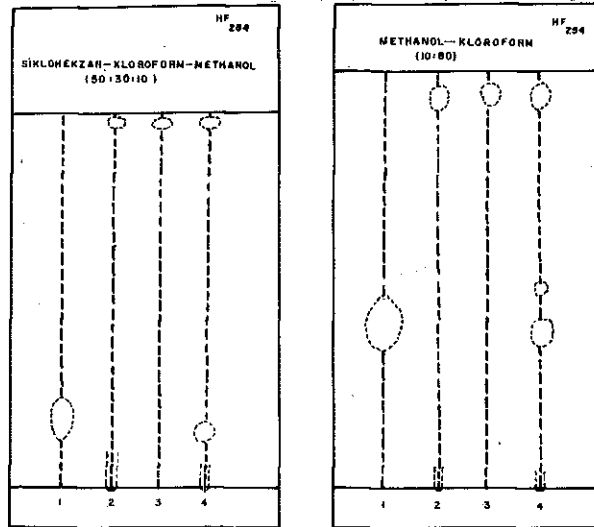
4- Kovacs ve ark (8) yönteminin modifikasyonundan sonra ince tabaka kromatografisinde prokain ve prokainin bozulma ürünlerine rastlanamamıştır (kromatogramlar 3).

### TARTIŞMA

Cerrahi işlemlerde parçayı aldığımız bölge dolayına % 2-4 konsantrasyondaki prokain hidroklorid solüsyonundan yaklaşık olarak 1 ml. enjekte edilmektedir. Lokal anestetik madde, solüsyonun kapsadığı vazokonstriktörler nedeniyle enjekte edildiği dokuda daha uzun süre kalmaktadır. Önce prokainin bilinen antihistaminik aktivitesinin dişetine enjekte edilen prokain düzeyi ile kobay barsağı üzerinde görülüp görülemediği incelenmiştir.

Bunun için dokuda bulunma olasılığı 4 mg. olarak saptanan prokain hidroklorid solüsyonu, 10<sup>-8</sup> konsantrasyonda atropinli tyrode solüsyonu ile beslenen kobay ileumu üzerinde denenmiş ve yaklaşık olarak 0.1 mikrogram standart histaminin verdiği yanıtı tümü ile kaldıracak kadar güçlü bir antihistaminik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Trase 1).

Bundan sonra en büyük parça olan 8 no.lu örnek iki bölüme ayrılıp bir bölümü literatürdeki yöntemle (8) ekstre edilmiş, ayrıca anestezi ile alınan 15 ayrı parçadan hazırlanan ekstrelerde prokain ya da prokainin bozulma ürünlerinin bulunup bulunmadığı ince tabaka kromatografisi yöntemi (2, 13) ile araştırılmıştır. Kromatografiler incelendiğinde görüldüğü gibi 82, 97 ve 8 no.lu örneklerde, ancak çok duyarlı reaktif püskürtüldüğünde prokain ya da prokain bozulma ürünlerine rastlanılmıştır (Kromatogramlar 1, 2, 3). Duyarlı-



**Kromatogram 3.** Stahl, E. (13) e göre hazırlanmıştır. 1) Prokain, 2) 24, 3) 79, 4) 8 No'lu dişeti örnekleri.

ğı 0.1 mikrogram olan bir reaktif püskürtüldüğünde saptanan bu maddenin antihistaminik aktivitesinin ne derece önemli olabileceği tartışılabilirse de çalışmamızda yöntemde yapılacak bir modifikasyonla prokainden arınmış bir ekstre elde edip edemeyeceğimizi de araştırmayı uygun bulduk.

Prokain hidroklorid enjekte edildiği bölgede, dokuda bulunan sodyum bikarbonat gibi bazlarla, prokain bazına ayrılmakta ve böylece lokal anestetik etkisini göstermektedir. Baz halinde bulunan prokain de eterde çözünmektedir (9). Prokainin etere geçmemesi için tuzlarının oluşması gerekmektedir (9).

Orijinal yöntemde modifikasyon yapmadığımız durumda, dokuda baz haline dönüşen prokain, sonra pH'sı 1.5-2'ye getirildiğinde prokain tuzu haline gelmektedir. Fakat bundan sonra tekrar pH'sı 6.8-7.2 ye getirildiğinde prokain bazına ayrılmaktadır. Orijinal yöntemde göre eterle yıkamaya burada başlanınca baz halindeki prokain etere geçmektedir.

Dokulardan ekstre edilen endojen antihistaminik aktivite de materyal ve metod da belirtildiği gibi eterde çözünmektedir. Eğer ekstreler orijinal yöntemde göre hazırlanırsa, izole kobay ileumu üzerinde saptanan antihistaminik etki hem prokain hem de dokunun içer-

diği endojen antihistaminik maddeye ait olacaktır. Bu esas üzerinden hareket ederek üç ayrı kaptaki 5 er ml.lik serum fizyolojinin içerisine (A: 10 mg. B: 15 mg. C: 20 mg) prokain hidroklorid konulmuş ve örneklerin pH'sı 1.5-2 ye ayarlanmıştır. A ve C örnekleri buradan başlayarak eterle yıkanmıştır. B örneği ise orijinal yöntemde olduğu gibi pH'sı 6.8-7.2'ye ayarlandıktan sonra öteki örneklerde olduğu gibi eterle yıkanmaya başlanmıştır. Yöntem bundan sonra daha önce tanımlandığı biçimde yürütülmüş ve elde edilen ekstrelerin etkisi kobay ileumu üzerinde denenmiştir (Trase 14). Trase incelendiğinde görüldüğü gibi A ve C örneklerinde antihistaminik aktivite, prokainin dozu artmış olmasına karşın ortaya çıkmamaktadır. B solüsyonunda ise prokainin antihistaminik aktivitesi saptanmıştır. Daha sonra önceden belirttiğimiz ve ekstrelerinde prokain aradığımız dişetin öteki bölümündeki antihistaminik aktivite, modifiye edilen yöntemde göre incelenmiş ve 100 mg.lik bir ekstreten ancak 75 dakikada düzelebilen uzun süreli bir antihistaminik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Böylece literatürdeki yöntemde (8) yapılan modifikasyonla prokain ekstreten uzaklaştırılmış, fakat dokuda bulunan ve histaminin kobay barsağında meydana getirdiği kasıcı etkiyi ortadan kaldıran aktivi-

## KAYNAKLAR

- 1- Akçasu, A. Özüner, Z. Özalp, E. A. : A studien uber die verschiedenen pharmakologischen aktiven substanzten in den normalen menschlichen Harn. Fouth Inter. Cong. Phars, 1969 (Basel).
- 2- Clarke, E. G. C. : isolation and identification of drugs, in pharmaceuticals body fluids and post-mortem material pharmaceutical. Press. Lond. Vol. 1 : 513, 1975.
- 3- Feldberg, W., Kovacs, B. A. : Antihistamine activity of extracts prepared from buffy-coat layer of horse blood and oak gall, J. Pysiol (Lond). 154: 461, 1960.
- 4- Francis, L. E., Melville, K. I., Douglas, D. E. : Antiallergic activity and some chemical properties of an antihistamine principle in human and animal tissues extracts. Canad. J. Bio Chem. Physiol, 41: 1961, 1968.
- 5- Koskowski, W., Wiemen, H. : The antihistaminic action of normal human blood constituents and tissue biolytes. Arch, Inter Pharmady, 139: 572, 1962.
- 6- Kovacs, B. A. : Antihistaminic effect of eosinophil leucocytes. Experientia. 6: 349, 1950.
- 7- Kovacs, B. A. Juazs, E. : Purified leucocyte suspensions with antihistamine activity. Nature. 7: 273, 1951.
- 8- Kovacs, B. A., Pelletier, G. Rose, B. : An antihistamine-like substance (or substances) in extracts prepared from human tissue. Brit. J. Pharmacol. 21: 419, 1963.
- 9- Merck Index. Co. Ind. 865, 943. 1986.
- 10- Özalp, E. A. : Sağlıklı ve Patolojik Durumlarda dişetindeki Endojen Antihistaminik Aktivitenin Gösterdiği Değişiklikler. (Doçentlik Tezi). İstanbul, 1977.
- 11- Özüner, Z. : İnsan ve Hayvanlarda Endojen Antihistaminik Madde. (Doçentlik Tezi). 1971.
- 12- Pelletier, G., Kovacs, B. A., Rose, B. : Distribution of histamine substance in extracts of human tumor and "normal" tissues. Proc. Soc. Expil. Biol Med. 114: 328, 1963.
- 13- Sthat, E. : Thin Layer Chromatography. (A Laboratory Hand Book) New York, 320, 1965.

## YAZIŞMA ADRESİ

I. Ü. DIŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ  
FARMAKOLOJİ BİRİMİ  
ÇAPA-İSTANBUL