

VARFARİN, ASPİRİN VE SÜLFANİLAMİDİN SAĞLIKLI FARELERDE PROTROMBİN ZAMANI ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ

Ali BİLGİLİ¹, Sezai KAYA¹, Ender YARSAN¹, Rauf AKKAYA², Mehmet ÖZDEMİR³ Ruhtan BAŞKAYA⁴

¹ Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Ankara.

³A.K.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyon.

⁴ Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Geliş Tarihi: 24.04.2000

Effects of Warfarin, Aspirin and Sulfanilamide on Protrombin Time in Healthy Mice

SUMMARY

In this study, effects of warfarin, aspirin and sulfanilamide, which are used for prevention of coagulation, were evaluated on protrombin time in mice. For this purpose, mice were separated into four groups each having 24 mice. Mice in group 1, control group, were fed without warfarin, aspirin and sulfanilamide during the study period. Aspirin 100 mg/kg b.w. and warfarin %0.025 were given to second group; sulfanilamide 250 mg/kg b.w and warfarin %0.025 were given to third group and a combination of 100 mg/kg b.w. aspirin, %0.025 warfarin and 250 mg/kg b.w sulfanilamide were given to fourth group by oral route incorporated into feed. Protrombin time was determined in the blood collected at 2, 4, 8, 16, 24, 48 and 72 hours by using commercial kits. In the fourth group, all mice died at 48 hours, for this reason protrombin time was not determined at 72 hours in this group. The results were shown that, when these three substances (aspirin, warfarin, and sulfanilamide) combined, the most effective results were observed.

Key words: Warfarin, Aspirin, Sulfanilamide, Protrombin time

ÖZET

Bu çalışma kapsamında, pıhtılaşmayı önleyici madde olarak kullanılan varfarin, aspirin ve sülfanilamidin farklı kombinasyonlarının protrombin zamanı üzerine olan etkileri değerlendirildi. Bu amaçla her birinde 24 fare bulunan dört grup oluşturuldu. Grup 1 kontrol olarak tutuldu ve varfarin, sülfanilamid, aspirin içermeyen yemle beslendi. İkinci gruba 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda aspirin ve %0.025 varfarin; üçüncü gruba 250 mg/kg canlı ağırlık dozunda sülfanilamid ve %0.025 varfarin ve dördüncü gruba da 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda aspirin, %0.025 varfarin, 250 mg/kg canlı ağırlık dozunda sülfanilamid karışımı yemle birlikte ağız yoluyla verildi. Çalışmanın 2, 4, 8, 16, 24, 48 ve 72. saatlerinde alınan kan örneklerinde protrombin zamanı ticari kit kullanılarak belirlendi. Bu üç maddenin bir arada verildiği gruplarda 48. saatte bütün farelerde ölüm şekillendiğinden 72. saatte ölçüm yapılamadı. Elde edilen veriler, özellikle bu üç maddenin birlikte verilmesinin pıhtılaşma olayında daha etkili olacağı sonucunu ortaya çıkardı.

Anahtar Kelimeler: Varfarin, Aspirin, Sülfanilamid, Protrombin zamanı

GİRİŞ

Çok çeşitli ilaç ve doku ekstresi kanama ve pıhtılaşmayı etkiler. Bunlardan birçoğu küçük damarlardan sızma şeklindeki kanamanın ve damarlardaki pıhtılaşmanın önlenmesinde kullanılırlar. Trombin, tromboplastin, fibrin ve fibrinojen kan kesici; heparin, sodyum sitrat ve kumarin türevleri ise pıhtılaşmayı önleyici ilaçların başlıca örnekleridir (1, 7, 8, 9, 17).

Bu grupta bulunan maddeler pıhtılaşma proteinlerinin sentezini veya etkinliğini bozarak kanın pıhtılaşma yeteneğini azaltırlar. Arteriyel tromboz olaylarında pek etkili değildirler; ancak, venöz trombozun önlenmesinde başarıyla kullanılırlar. Pıhtılaşmayı önleyen ilaçlar, doğrudan engelleyenler ve dolaylı yoldan engelleyenler şeklinde iki grupta toplanırlar (9).

Pıhtılaşma önleyici olarak kullanılan maddelerden olan varfarin, kumarin grubu bir maddedir. Kumarin ve türevleri kanın pıhtılaşmasını önler ve kanama süresini uzatırlar. Etkileri vitamin K'nın etkisini tersine çevirmeleri ile ilgilidir. Kumarin türevlerinin pıhtılaşmayı engelleyici etkileri 4-hidroksikumarin çekirdeğinin bütünlüğünü korumasına ve C₃'e bağlı bir grupla ilgilidir. Yine pıhtılaşmayı önleyici bir madde olarak değerlendirilen aspirin de, prostoglandin sentetaz'ın etkinliğini engeller ve prostoglandin (PG) sentezini azaltır; aspirine karşı trombositlerdeki enzim, damar duvarında bulunandan daha duyarlıdır. Böylece TA₂ sentezindeki azalma PGI₂'ninkinden daha fazla olur; bu etkisi sonucu aspirin trombositlerin kümeleşmesini ve damar duvarına yapışmasını engeller. Aspirinin bu şekilde özetlenen etkisi uzun süreli bir etki tarzındadır, gerçekten de tek doz halinde verilen aspirin trombositlerin ömrünü ve kanama süresini 5 gün kadar uzatır (1, 9, 10, 11, 17, 18). Diğer taraftan, pıhtılaşma üzerine etkili olan faktörlerden bazıları da bu gruptan bazı maddelerle (varfarin gibi) etkileşim gösterirler. Örneğin eritromisin, metronidazol, sülfonamidler, tetrasiklinler ve bazı dar etki spektrumlu antibiyotikler varfarinin etkinliğini artırır. Ayrıca antibiyotikler sindirim kanalında bakteri topluluğunu baskı altına alırlar ve böylece vitamin K sentezini azaltırlar; bu olay özellikle insanlarda önemlidir. Pıhtılaşma olayı dikkate alındığında, vitamin K eksikliği protrombinin trombine çevrilmesini ve sonuçta da trombinle kalsiyumun birleşmesini engelleyecektir. Bunun sonucu olarak bu antibiyotiklerin etkisiyle pıhtılaşma olayında bozulma şekillenecektir (2, 13, 14, 15, 16, 19, 20).

Bütün bu düşüncelerle; varfarin, aspirin ve sülfanilamid pıhtılaşma olayı üzerindeki etkilerini, bu üç maddenin farklı kombinasyonları ve üçünün birlikte verilmesi durumunda değerlendirebilmek amacıyla böyle bir çalışma planlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışmada 35±5 gram ağırlığında 5 aylık İngiliz ırkı 96 adet beyaz fare kullanıldı. Fareler her birinde 24 adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı, birinci grup kontrol olarak tutuldu ve aspirin, sülfanilamid, varfarin içermeyen yemle beslendi. İkinci gruba 100 mg/kg canlı ağırlık dozda aspirin ve %0.025 varfarin; üçüncü gruba 250 mg/kg canlı ağırlık dozunda sülfanilamid ve %0.025 varfarin ve dördüncü gruba da 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda aspirin, %0.025 varfarin ve 250 mg/kg canlı ağırlık dozunda sülfanilamid karışımı verildi. Farelere aspirin, varfarin ve sülfanilamid yemlerine karıştırılarak ve pelet şeklinde ağız yoluyla verildi. İlaçlı yemin verilmesini takiben her gruptan 4'er fareden 2, 4, 8, 16, 24, 48 ve 72. saatlerde %25'lik sıratlı tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazma kısımları ayrıldı ve analizleri yapılana kadar derin dondurucuda saklandı.

Alınan kan örneklerindeki protrombin zamanı, ticari kit kullanılarak (STA[®]-Neoplastin[®] Cl Plus ©) ve STA Compac System Cihazı ile, saniye cinsinden belirlendi. Analizin prensibi, kit içerisindeki kalsiyum tromboplastin ile plazmadaki pıhtılaşma zamanının ölçülmesidir. Bu şekilde pıhtılaşma faktörlerinden faktör II (protrombin), faktör V (proacelerin), faktör VII (proconvertin) ve faktör X (Stuart faktör) belirlenebilmektedir.

Elde edilen verilerin istatistik analizi; gruplardaki sonuçların ortalama değerleri, standart sapmaları ve en alt-en üst değerleri şeklinde belirlendi. Ayrıca, gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi ve Duncan testi ile gerçekleştirildi (5).

BULGULAR

Çalışmada aspirin+ varfarin, sülfanilamid + varfarin ve aspirin + varfarin + sülfanilamid gruplarından ve kontrol grubundan 2, 4, 8, 16, 24, 48 ve 72. saatlerde alınan kan örnekleri protrombin zamanının belirlenmesi yönünden değerlendirildi.

Buna göre, kontrol grubunda protrombin zamanı 9.12 ± 0.35 saniye olarak tespit edildi. Aspirin ile birlikte varfarin verilen ikinci grupta protrombin zamanının, zamana bağlı olarak uzadığı belirlendi; buna göre, protrombin zamanı 2. saatte 11.92 ± 2.50 , 4. saatte 13.14 ± 1.89 , 8. saatte 17.15 ± 3.63 , 16. saatte 25.02 ± 6.97 , 24. saatte 72.10 ± 29.01 ve 48. saatte 500.0 ± 0.0 saniye olarak ölçüldü. Bu grupta 72. saatte ise bu değer yine 500.0 ± 0.0 saniye olarak belirlendi.

Sülfanilamid ile birlikte varfarin verilen grupta protrombin zamanı, 2. saatte 10.92 ± 0.17 , 4. saatte 12.27 ± 1.23 , 8. saatte 17.80 ± 4.95 , 16. saatte 32.15 ± 6.95 , 24. saatte 115.15 ± 16.53 ve 48. saatte 484.10 ± 31.80 saniye olarak tespit edildi, ve yine bu grupta 72. saatte protrombin zamanı 500.0 ± 0.0 saniye olarak ölçüldü. Bununla birlikte her üç maddenin (aspirin + varfarin + sülfanilamid) birlikte verildiği grupta ise protrombin zamanı, 2. saatte 9.75 ± 0.93 , 4. saatte 11.85 ± 0.53 , 8. saatte 13.06 ± 0.59 ,

16. saatte 26.62 ± 13.61 , 24. saatte 64.92 ± 11.37 ve 48. saatte 473.50 ± 45.89 saniye olarak belirlendi. Bu grupta 48. saatten sonra bütün farelerde ölüm şekillendiğinden 72. saatteki ölçümleri yapılamadı. Bütün gruplardaki protrombin zamanları ve istatistik değerlendirmeleri Tablo 1 ve Şekil 1'de toplu halde gösterildi.

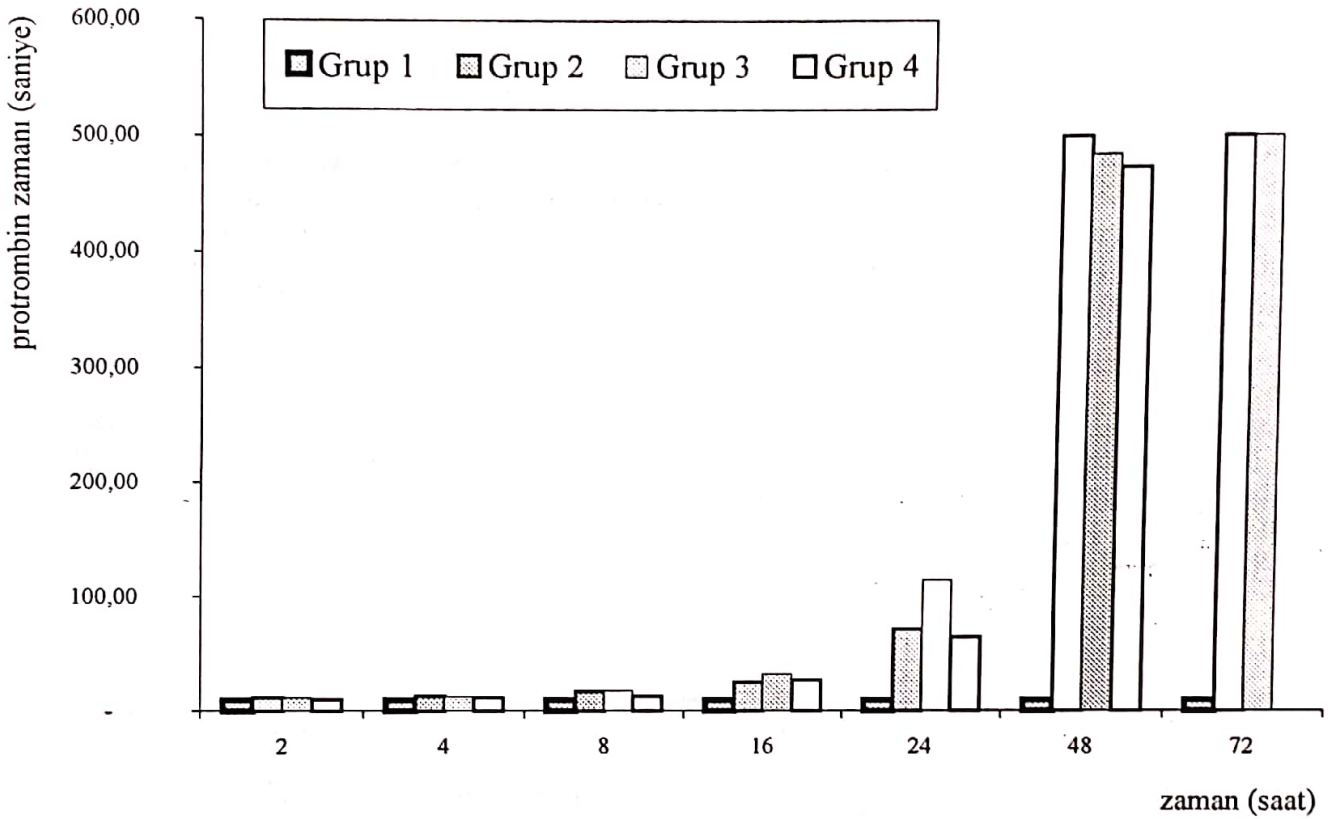
Bununla birlikte, söz konusu ilaçların kanın pıhtılaşma yeteneği üzerinde olumsuz yöndeki etkisi nedeniyle gruplarda ölüm olayları da meydana geldi. Buna göre aspirin + varfarin verilen grupta 24. saatte 3 fare, 36. saatte 2 fare, 48. saatte 8 fare ve 72. saatte 2 farede ölüm şekillendi. Sülfanilamid + varfarin verilen grupta ise, 48. saatte 6 fare, 60. saatte 4 fare ve 72. saatte de 2 fare öldü. Aspirin + varfarin + sülfanilamid'in birlikte verildiği grupta ise; 24. saatte 4 fare ve 48. saatten sonra ise gruptaki diğer farelerin hepsinde ölüm şekillendi.

Tablo 1. Gruplardaki protrombin zamanının dönemlere göre değerlendirilmesi.

Zaman	Kontrol	Aspirin + Varfarin	Sülfanilamid + Varfarin	Aspirin + Sülfanilamid + Varfarin
2. saat	9.12 ± 0.35^z (9.00-10.00)	$11.92 \pm 2.50^{a/x}$ (10.20 - 15.60)	$10.92 \pm 0.17^{a/xy}$ (10.70 - 11.10)	$9.75 \pm 0.93^{a/zy}$ (9.00 - 11.30)
4. saat	9.12 ± 0.35^y (9.00-10.00)	$13.14 \pm 1.89^{a/x}$ (11.20 - 15.60)	$12.27 \pm 1.23^{a/x}$ (11.20 - 14.00)	$11.85 \pm 0.53^{a/x}$ (11.30 - 12.40)
8. saat	9.12 ± 0.35^z (9.00-10.00)	$17.15 \pm 3.63^{a/x}$ (14.40 - 22.50)	$17.80 \pm 4.95^{ab/x}$ (13.70 - 23.30)	$13.06 \pm 0.59^{a/y}$ (12.60 - 14.10)
16. saat	9.12 ± 0.35^y (9.00-10.00)	$25.02 \pm 6.97^{a/x}$ (21.10 - 37.40)	$32.15 \pm 6.95^{b/x}$ (23.50 - 38.90)	$26.62 \pm 13.61^{a/x}$ (16.00 - 46.60)
24. saat	9.12 ± 0.35^z (9.00-10.00)	$72.10 \pm 29.01^{b/x}$ (32.00 - 110.10)	$115.15 \pm 16.53^{c/x}$ (97.00 - 136.00)	$64.92 \pm 11.37^{b/x}$ (50.20 - 81.50)
48. saat	9.12 ± 0.35^y (9.00-10.00)	$500.0 \pm 0.00^{c/x}$ (500.0 - 500.0)	$484.10 \pm 31.80^{d/x}$ (436.40 - 500.00)	$473.50 \pm 45.89^{c/x}$ (420.50 - 500.00)
72. saat	9.12 ± 0.35 (9.00-10.00)	500.0 ± 0.00 (500.0 - 500.0)	500.0 ± 0.00 (500.0 - 500.0)	-

^{a,b,c,d}. Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

^{x,y,z}. Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).



Şekil 1. Bütün gruplardaki protrombin zamanının saatlere göre değerlendirilmesi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pıhtılaşma kanamanın durması sırasında damar dışında ve tromboz sırasında damar içinde meydana gelir; pıhtılaşma faktörleri adı verilen ve çoğu birer plazma proteini olan doğal maddelerin kendi aralarında belirli bir düzene göre etkileşmeleri sonucu oluşan karmaşık olay zinciridir. Pıhtılaşma faktörlerinin etkinliğini veya sentezini bozan ve pıhtılaşma olayını baskılayan ve böylece kanın pıhtılaşma yeteneğini azaltan çok sayıda madde vardır. Bunlar etki mekanizmalarındaki farka göre ikiye ayrılırlar: 1. Heparin; kanda bazı pıhtılaşma faktörlerini inaktive ederek dolaysız etki yaparlar. 2. Oral antikoagülanlar; karaciğerde K vitaminine bağımlı olarak yapılan plazma faktörlerinin (protrombin, faktör VII, faktör IX ve faktör X) sentezinin son basamağını bozarak dolaylı etki yaparlar (varfarin, fenindion ve K vitamini gibi) (1, 7, 8, 9, 17).

Pıhtılaşma önleyici madde olarak kullanılan varfarin çeşitli ilaçlarla etkileşme gösterir. Örneğin bazı ilaçlar varfarinin etkisi veya zehirliliğini artırır. Aspirin ise bir yandan PG sentezini bozarak kanamaya eğilimi artırırken, diğer yandan da mide-

bağırsak mukozasında erozyona ve sonuçta kanamaya eğilimin artmasına neden olur (9, 10, 11, 18). Yine fenilbutazon ve azopropazon da varfarinin metabolize olmasını baskılayarak onun etkisini güçlendirir ve midede kanamaya yol açar (3, 4, 6).

Varfarin ile aspirin arasındaki etkileşmenin değerlendirildiği bir çalışmada (15) ratlarda varfarin verilmeden önce ve varfarin verilmesinden sonra, aspirinin de içinde bulunduğu steroid yapıda olmayan yangı önleyici ilaçların etkileşmesi incelenmiştir. Çalışma sonunda, varfarinin etkisiyle protrombin zamanının önemli ölçüde uzadığı tespit edilmiş, bununla birlikte steroid yapıda olmayan yangı önleyici ilaçlardan fenilbutazonun 24 saatlik uygulama sonunda protrombin zamanını önemli oranda azalttığı, varfarin verildikten 18 saat sonra bu grup maddelerin verilmesi durumunda ise protrombin zamanının önemli derecede uzadığı ortaya konmuştur. Bu çalışmayla, varfarin ile steroid yapıda olmayan yangı önleyici ilaçlar arasındaki etkileşme bakımından ratların insanlardan daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Sülfonamidlerin pıhtılaşma olayı üzerindeki etkileri teorik olarak bilinmektedir; bu maddenin varfarin ve aspirin ile olan etkileşmesine yönelik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte, sülfonamidlerin varfarinle farmakokinetik düzeyde etkileştiği ve protrombin zamanını yükselttiği kaydedilmektedir (12).

Çalışma sonunda elde ettiğimiz veriler değerlendirildiğinde ise, protrombin zamanı ve özellikle ölüm olaylarının ortaya çıkması yönünden bu üç maddenin birlikte verilmesinin pıhtılaşma üzerinde en güçlü etkiyi oluşturduğu ortaya çıkmıştır. Gerçekten de kontrol grubuna göre diğer üç grupta zamana bağlı olarak pıhtılaşma süresi önemli şekilde ($p<0.01$) uzamıştır. Çalışmanın 48. saatinde aspirin + varfarin ve sülfanilamid + varfarin'li gruplarda protrombin zamanı sırasıyla 500.0 ± 0.0 ve 484.10 ± 31.80 saniye olarak tespit edilirken, bu gruplarda 72. saatte de değerlendirme yapılmış ve her iki grupta da protrombin zamanı 500.0 ± 0.0 saniye olarak ölçülmüştür. Her üç maddenin birlikte verildiği grupta ise 48. saatte protrombin zamanı 473.50 ± 45.89 saniye olarak tespit edilmiş ve bu dönemi takiben gruptaki bütün farelerde ölüm

olmuştur; bu sebeple de, 72. saatte ölçüm yapılamamıştır.

Bu çalışmayla, özellikle ratlarda öldürücü amaçla kullanılan ve etki şekli pıhtılaşmanın önlenmesi ve iç kanama riskinin artırılması şeklinde özetlenen varfarinin, aspirin ve sülfanilamidle birlikte kullanılması durumunda, bu olayın bir göstergesi olan protrombin zamanı üzerinde bu süreyi uzatıcı yönde bir etkisinin olduğu, özellikle söz konusu maddelerin bir arada verilmesi durumunda, bu etkinin daha da şiddetlendiği ve ölüm olaylarında da, diğer iki gruba göre (varfarin + aspirin ve varfarin + sülfanilamid grupları) daha etkin şekilde ve daha erken sürede ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır.

Elde edilen bu sonuçtan hareketle günümüzde piyasada, kemirgenlere karşı öldürücü amaçla kullanılan ilaçların dışında, varfarin, aspirin ve sülfanilamidin birlikte bulunabileceği yemlerin kemirgenlerde şiddetli şekilde iç kanamaya ve buna bağlı olarak kısa sürede ölüme sebep olabileceği düşüncesiyle; bu etken maddelerin üçünün de bir arada bulunduran yeni bir formülasyonun da geliştirilebileceği kanaatini taşımaktayız.

KAYNAKLAR

- Adams,H.R. Haemostatic and anticoagulant drugs. In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Ed. N.H.Booth and L.E.McDonald. The Iowa State University Press/ Ames. p.. 422-435: 1982
- Bachman,K. Schwartz,J.I., Forney,R., Frogameni,A. and Jauregui,L.E. The effect of Erythromycin on the disposition kinetics of Warfarin. Pharmacology. 1984. 28:171-176.
- Banfield,C., O'Reilly,R., Chan,E. and Rowland,M. Phenylbutazone-warfarin interaction in man: further stereochemical and metabolic considerations. Br. J. Clin. Pharmac. 1983. 16:669-675.
- Chan,E., McLachlan,A.J. and Rowland,M. Warfarin metabolites: stereochemical aspects of protein binding and displacement by phenylbutazone. Chirality, 5:610-615. 1993.
- Düzgüneş,O., Kesici,T. ve Gürbüz,F. İstatistik metodları. II Baskı. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 1291. Ders Kitabı: 369, Ankara 1993.
- Hilleman,D.E., Mohiuddin,S.M. and Lucas,B.D. Nonsteroidal anti inflammatory drug use in patients receiving warfarin: Emphasis on nabumetone. Amer J Med. 1993. 95:30-34.
- IPCS Environmental Health Criteria 175. Anticoagulant rodenticides, World Health Organization, Geneva. 1995.
- IPCS International Programme on Chemical Safety. Health and Safety Guide No:96, Warfarin Health and Safety Guide. World Health Organization, Geneva.9. 1995.
- Kaya,S. ve Bilgili,A. 1997: Kan ve kan şekillendiren organlara etkiyen ilaçlar. Alınmıştır: Veteriner Uygulamalı Farmakoloji. Cilt 1. Ed. S.Kaya, İ.Pirinççi ve A.Bilgili. Medisan Yayın Serisi No:17. sf. 351-367.
- Kaya,S. ve Bilgili,A. Rat Zehirleri. Alınmıştır: Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Ed. S.Kaya, İ.Pirinççi ve A.Bilgili. Medisan Yayın Serisi No:35. sf. 255-267. 1998.
- Macleod,S.M. and Sellers, E.M. Pharmacodynamic and pharmacokinetic drug interactions with coumarin anticoagulants. Drugs. 1976. 11:461-470.
- O'Reilly,R.A. Warfarin metabolism and drug-drug interactions. Advances in Experimental Medicine and Biology. 1980. 214:205-212.
- Paulsen,O., Nilsson,L.G., Saint-Salvi,B., Manvel,C. And Lunell,E. No effect of Roxithromycin on pharmacokinetic or pharmacodynamic properties of warfarin and enantiomers. Pharmacol. and Toxicol. 1988. 63:215-220.
- Periti,P., Mazzei,T., Mini,E. and Novelli,A. Pharmacokinetic drug interactions of macrolides. Clin. Pharmacokinetic. 1992. 23: 106-131.

15. Sancilio,L.F., Michael,A.T., Mathur,P.P. and Crowe,T.J. Interaction between warfarin and nonstereoidal anti-inflammatory drugs NSAIDs in rats. Life Sci. 1985. 36:1041-1050.
16. Schwartz,J., Bachmann,K. And Perrigo,E. Interaction between warfarin and erythromycine. Southern Med J. 1983. 76: 91-93.
17. Şanlı,Y. Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri. Özkan Matbaacılık Ltd.Şti, Ankara. sf. 327-344. 1999.
18. Weser,J.K. and Sellers,M.E. Drug interactions with coumarin anticoagulants. New England J. Med. 1971. 285: 487-498.
19. Yacobi,A., Lai,C. And Levy,G. Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of acute interaction between warfarin enantiomers and metronidazole in rats. J. Pharmacol and Experimental Therap. 1984. 231:72-79.
20. Zitelli,B.J. Howrie,D.L. Atman,H. And Mearoon,T.J. Erythromycin- induced drug interactions. Clin. Pediatrics. 1987. 26:117-119.