

OKSİTOSİNLE KONTRAKTİLE EDİLEN İN VİTRO SIĞIR MYOMETRİUMU ÜZERİNE GENTAMİSİNİN FARKLI DOZLARININ ETKİLERİ

Kadir SERVİ¹, Haki KARA²

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi Elazığ Sağlık Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.05.2001

Effects of different doses of gentamicin on cow myometrium contractile with oxytocine-induced in vitro

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of gentamicin on cow myometrium *in vitro*. After myometrial samples was contracted with 0.062, 0.125 and 0.250 mg/ml gentamicin was applied and effects on peak amplitude and frequency of contractions were investigated by 10 minute intervals. The frequency of oxytocin-induced contractions was 10.125 ± 1.54 and peak amplitude was founded 3.70 ± 0.65 . Gentamicin dose dependently inhibited both amplitude and frequency of oxytocin-induced contractions of myometrium. Gentamicin dose-dependently decreased the the frequency values to 7.25 ± 1.34 ($P < 0.001$), 4.06 ± 0.74 ($P < 0.001$) and 0.43 ± 0.2 ($P < 0.001$). The mean peak amplitude of gentamicin dose-dependently decreased the peak amplitude values to 2.37 ± 0.52 ($P < 0.001$), 1.06 ± 0.40 ($P < 0.001$) and 0.45 ± 0.24 ($P < 0.001$) respectively. In conclusion, it was found that gentamicin inhibited both amplitude and frequency of oxytocin-induced contractions of myometrium obtained from cows.

Key words: Gentamicin, myometrium, in vitro, cow.

ÖZET

Bu çalışma oksitosinle uyarılan in vitro sığır myometriumu üzerine gentamisininin etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Oksitosin verilerek kontraksiyonları uyarılan myometriumlar üzerine gentamisinin 0.062, 0.125 and 0.250 mg/ml dozları uygulanarak 10 dk'lık sürelerde frekans ve gerim gücündeki değişiklikler incelendi. Oksitosin verilmesiyle frekans sayısı 10.125 ± 1.54 , amplitütü de 3.70 ± 0.65 gr olarak bulundu. Gentamisin uygulanmasıyla hem frekans sayısında, hem de kasılma gücünde doza bağlı olarak azalmalar tesbit edildi. Frekans sayısı sırasıyla 7.25 ± 1.34 ($P < 0.001$), 4.06 ± 0.74 ($P < 0.001$) ve 0.43 ± 0.2 ($P < 0.001$) olurken gerim gücü 2.37 ± 0.52 ($P < 0.001$), 1.06 ± 0.40 ($P < 0.001$) ve 0.45 ± 0.24 ($P < 0.001$) gr olarak bulundu. Sonuçta gentamisinin sığır myometriumu üzerinde kuvvetli inhibisyon yaptığı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Gentamisin, myometrium, in vitro, sığır.

GİRİŞ

Gentamisin, *Micromonospora purpurea* kültürlerinden elde edilen ve birinci sıradaki amino asitlerin metillenmesindeki farklılıktan dolayı gentamisin C₁, C_{1a} ve C₂ adı verilen 3 maddenin karışımından oluştuğu, duyarlı bakterilerde protein sentezini önleyerek bakterisid etki gösterdiği, kas içi yolla kullanıldıktan sonra 30-60 dakika içinde doruk plazma yoğunluğuna ulaştığı ve en küçük etkili yoğunluğunun 1-2 µg/ml olduğu bildirilmektedir (5, 6).

Gentamisinin parenteral olarak kullanılması sonradan nöromusküler kavşaklarda blokaj yoluyla solunum depresyonu yaptığı, özellikle diafram kasında nöromusküler geçişi etkilediği, çeşitli solunum bozukluklarına yol açtığı ve bu etkilerin neostigmin tarafından ortadan kaldırılmadığı, bunun yanı sıra kalsiyum iyonlarının bu etkileri tersine çevirdiği belirtilmektedir. (11, 14, 16). İn vivo ve in vitro çalışmalarda (8) aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kan yoğunluğu ile klinik etkileri arasında ilişki bulunduğunu ve solunum ile ilgili yan etkilerinin dozdan ziyade serum yoğunluklarının süresine bağlı olduğu bildirilmiştir.

Sığırlarda doğumdan sonra aminoglikozid antibiyotiklerden streptomisin uterus içi kullanılmasıyla doğum sonu oluşan enfeksiyonların önleniği belirtilmiştir (2). Köpeklerde metritis ve pyometra olgularında PGF₂α verilmesini takiben kas içi yolla 15 mg/kg amoksisilin, ya da 4 mg/kg gentamisin uygulanmasıyla çeşitli enfeksiyonların tedavi edildiği bildirilmektedir (3). Paredelis ve ark. (13), tavşanlarda aminoglikozid grubu antibiyotiklerin bağırsaklarda inhibitör etkinlik gösterdiğini, aminoglikozidler içerisinde gentamisinin bağırsak motilitesini inhibe etme yönünden en güçlü etkiye sahip olduğunu ve aminoglikozidlerin bu etkilerinin α ve β adrenerjik reseptörlerle ilişkili olmadığını, neostigminin bu etkiyi önleyemediğini, ancak kalsiyumun bu etkiyi ortadan kaldırdığını bildirmişlerdir.

İnsanlarda, sezeryan operasyonlarında klindamisin-gentamisin ve ampicilin-gentamisin kombinasyonlarının uygulanmasının doğum sonu enfeksiyonlarından endometritis ve koriyoamniyonitislerin önleniği bildirilmektedir (1, 7, 9, 17).

Kobaylarda yapılan bir çalışmada ise aminoglikozid grubu antibiyotiklerin, vas

deferenslerde kalsiyumun hücre içerisine girişini önlemek suretiyle kasılma için gerekli olan hücre içi kalsiyum düzeyini azaltarak inhibitör etkinlik gösterdiği belirtilmiştir. (10).

Paradelis ve ark. (12) aminoglikozid grubu antibiyotiklerin rat uteruslarında oluşturdukları gevşeme türündeki etkinin oksitosin ve PGE₂ tarafından tersine çevrildiği ve bu etkinin hücre içi kalsiyum üzerindeki temel etkilerinden olabileceğini bildirmektedirler. Villar ve ark. (18), rat uterusunda kontraksiyon meydana getiren agonistlerin reseptörlere bağlı kalsiyum kanalları ile ilişkili olduğunu belirtmektedirler.

Bu çalışmanın amacı çeşitli düz kaslı organlarda ve neuromusküler kavşaklardaki etkisi bildirilen gentamisinin farklı yoğunluklarının in vitro koşullarda sığır myometriumundaki etkilerinin araştırılmasıdır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali: Bu çalışma Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Doğum Kliniği'nde sezeryan operasyonu yapılan sığırlardan ve Elazığ Et Kombinası'nda kesilen gebe sığırlardan alınan uterus kesitleriyle gerçekleştirildi.

Cihazlar: İzometrik transdüser (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere), Oksilograf; (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere), İzole organ banyosu

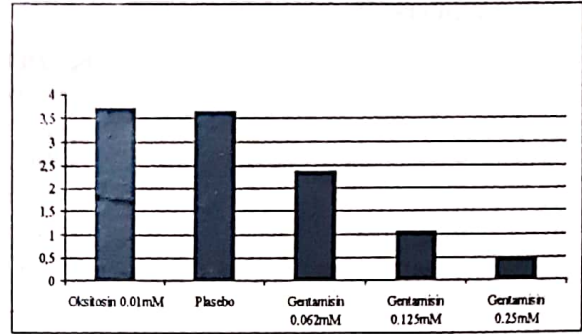
Kimyasal madde ve Solüsyonlar: Tyrode's Solüsyonu; NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl₂ 1.0 mM, CaCl₂ 1.5 mM, NaH₂PO₄ 0.4 mM, NaHCO₃ 12.0 mM, glikoz 5.5 mM her gün taze olarak hazırlandı, Gentamisin (Gentasol, Gentamisin 50 mg/ml, Eczacıbaşı, Oksitosin (Oksitosin 5 IU/ml, Vetaş).

Metot: Gebe sığırlardan alınan uterus myometriumlarından 10 mm x 2 mm x 2 mm ebatında kesitler ipek iplik yardımıyla alt ucu 20 ml kapasiteli, içerisinde Tyrode's solüsyonu bulunan, %5 CO₂ + %95 O₂ ile sürekli gazlandırılan izole organ banyosunun tabanındaki çengele üst ucu ise mikrometrik oynatıcı üzerine sabitleştirilmiş diğer ucu oksilografı bağlı olan transdüserle bağlandı. Kas asıldıktan sonra kasa 1 gramlık gerim uygulandı ve hesaplamalarda kalibrasyon olarak kullanıldı. Kas asıldıktan sonra yaklaşık 90 dk uyum sağlanmak amacıyla beklenildi. Bu esnada her 20 dakikada bir

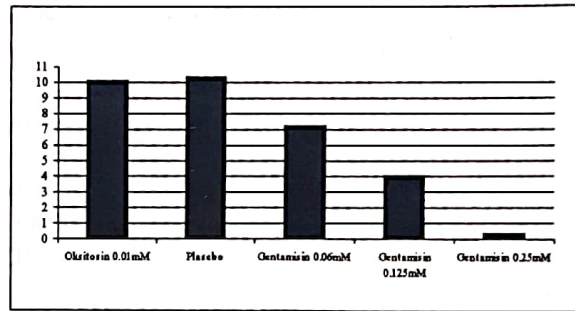
taze Tyrode's solüsyonu ile yıkandı. Bu süre sonunda oksitosin ilavesi yapılarak kasın aktivasyonu sağlandı. Oksitosinle (0.01 mM) düzenli kontraksiyonlar oluşturulduktan sonra ortama gentamisin (Gentasol, 50 mg/ml, Eczacıbaşı) 0.062 mg/ml, 0.125 mg/ml ve 0.250 mg/ml olmak üzere üç farklı yoğunluğunun etkisi araştırıldı. Her yoğunluk için 20 adet kas örneği kullanıldı. Ayrıca 20 adet kasa da oksitosin uygulamasından sonra plasebo olarak serum fizyolojik ilavesi yapılarak kasılmalarda değişiklik olup olmadığı araştırıldı. Deneyler sırasında myometrial aktivite değişiklikleri ossilograf yardımıyla milimetrik kağıtlara kaydedildi. Uygulamadan önceki ve sonraki 10 dakikalık periyot kendi aralarında pik amplitüt ve frekans yönünden karşılaştırıldı. Amplitüt hesaplamasında bazal çizgi ile kontraksiyonun tepe noktası arasındaki mesafe mm cinsinden ölçüldü ve o deneyde kullanılan kalibrasyon gözönüne alınarak gram cinsinden değeri hesaplandı. Frekans hesaplamasında 10 dakikalık sürelerde kontraksiyonların sayısı adet olarak hesaplandı. Verilerin değerlendirmesinde SPSS (Anova) istatistik programı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmadan elde edilen bulgular Tablo 1 ile Şekil 1 ve 2'de gösterildi. Tablo ve şekillerde oksitosinle uyarılan myometrium kaslarının 10 dakikadaki frekansları adet olarak gösterilmiştir. 0.01mM oksitosin uygulanmasıyla uterus kaslarında 10 dakikalık periyot boyunca kasılma sayısı 10.125 ± 1.54 olurken, bir frekansın ortalama gerimi yaklaşık 3.70 ± 0.65 gr oldu. Gentamisin 0.062 mg/ml dozu uygulandıktan sonraki 10 dakikalık sürede kasılma sayısı 7.25 ± 1.34 ($P < 0.001$) olduğu frekans gerimininde 2.37 ± 0.52 olduğu, gentamisin 0.125 mg/ml dozunun uygulanmasıyla 10 dakikadaki frekans sayısının 4.06 ± 0.74 ($P < 0.001$) olduğu, gerim gücünün ise 1.06 ± 0.40 ($P < 0.001$) olduğu, gentamisin 0.250 mg/ml'lik dozunun uygulanmasıyla da deneylerin tamamına yakınında hiçbir frekansın olmadığı sadece 5 adet kasta kasılma meydana geldiği, ve frekans sayısının 0.43 ± 0.20 ($P < 0.001$) olduğu, gerim gücünün ise 0.45 ± 0.24 ($P < 0.001$) olduğu bulundu.



Şekil 1. İn vitro sığır myometrimu frekansı üzerine gentamisin farklı dozlarının etkisi.



Şekil 2. İn vitro sığır myometrimu amplitütü üzerine gentamisin farklı dozlarının etkisi.

Tablo 1. İn vitro sığır myometrimu üzerine gentamisin farklı dozlarının etkisi

Uygulama (n=20)	Frekans Mean±SD	Amplitüt Mean±SD
Oksitosin	10.125±1.54	3.70±0.64
Plasebo	10.38±1.2	3.65±0.45
Gentamisin 0.062mg/ml	7.25±1.34*	2.37±0.52*
Gentamisin 0.125mg/ml	4.06±0.74*	1.06±0.40*
Gentamisin 0.250mg/ml	0.43±0.24*	0.43±0.20*

*Gruplar arası farklılıklar önemli, $P < 0.001$

TARTIŞMA

Çalışmada kullanılan myometrial örneklerin % 98'i içeriği materyal ve metot bölümünde belirtilen Tyrode's solüsyonu ortamında spontan aktivite gösterdi ve spontan aktivite gösterenlerin tamamı oksitosine karşı kontraksiyon türünde cevap verdi. Elde edilen bu sonuçların daha önceden belirtilen benzer çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğu görüldü (15, 19).

Gentamisin'in kas içi yolla kullanımından sonra 30-60 dakikada doruk plazma yoğunluğuna ulaştığı, sığırlara 4.4 mg/kg dozunda kullanıldığında biyolojik yarı ömrünün ($t_{1/2\beta}$) 1.36 saat olduğu ve en küçük etkili yoğunluğunun 1- 2 µg/ml olduğu bildirilmektedir (5, 6).

Tablo 1 ve şekil 1,2 incelendiğinde gentamisin 0.06 mg/ml konsantrasyondan başlayarak oksitosinle uyarılan kontraksiyonların pik amplitütlerini ve frekanslarını doza bağımlı olarak inhibe ettiği, 0.25 mg/ml yoğunluğunda ise frekansı ve amplitütü tama yakın derecede inhibe ettiği ($p<0.001$) görülmektedir.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin bağırsaklarda ve vas deferens'te inhibitör etkisinin bulunduğu, bağırsaklarda bu etkilerin adrenerjik reseptörlerden bağımsız olduğu, vas deferens ve bağırsaklardaki etkilerin kalsiyum ile tersine çevrildiği bildirilmektedir (10, 13). Tablo ve şekiller incelendiğinde gentamisin'in myometrium üzerindeki inhibitör etkisinin yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Uterus kaslarındaki inhibitör tipte olan bu etkinin doza bağımlı olduğu da görülmektedir.

Longitudinal düz kaslarda kontraksiyon hücre dışındaki kalsiyumun hücre içine girmesi ile sirküler düz kaslarda ise hücre içerisindeki depo kalsiyumun serbest hale geçmesi ile oluşmaktadır (4). Oksitosin hem hücre dışı kalsiyumun hücre içerisine girişi, hem de hücre içinde depo kalsiyumu etkileyerek hücre

içerisinde kasılma için gerekli olan serbest kalsiyum düzeyini artırıp longitudinal ve sirküler düz kaslardan oluşan myometrial kesitlerde kontraksiyonların amplitüt ve frekansını artırmaktadır (15, 19). Paredelis ve ark. (14) rat uteruslarında aminoglikozid grubu antibiyotiklerin inhibitör etkisinin oksitosin ve PGE ile önlendiğini, Villar ve ark. (18) rat uteruslarında kontraksiyon oluşturan oksitosin ve PGF_{2α} gibi agonistlerin bu etkilerinin reseptörlere bağlı kalsiyum kanalları ile ilgili olduğunu belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda oksitosinin kontraktilite edici etkisinin gentamisin tarafından 0.06 mg/ml yoğunluğundan başlayarak inhibe etmesi, 0.25 mg/ml yoğunlukta kontraksiyonların hem frekansını hem de amplitüdünü tam olarak önlemesi oksitosinin etki mekanizması göz önüne alındığında gentamisin'in bu etkisinin hücre içerisine kalsiyum girişi azaltarak hücre içinde kontraksiyon için gerekli kalsiyum düzeyinin azalmasına bağlı olacağı görüşündeyiz.

Hem insanlarda, hem de hayvanlarda doğum sonrası enfeksiyonların önlenmesinde uterus içi ve kas içi yolla gentamisin'in kullanıldığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (1, 2, 3, 9, 17). Tablo 1 incelendiğinde myometrial kesitlerde pik amplitüt ve frekans inhibisyonu için gereken miktarlar antibakteriyel etki için gerekli serum yoğunluklarından yüksek olduğu görülmektedir. Ancak metritis, pyometra ve retentio sekundarium gibi vakalarda gentamisin kullanımının az da olsa uterus kontraksiyonlarını inhibe edebileceği ve bunun sakıncaları klinikçiler tarafından dikkate alınmalıdır.

Bu çalışma gentamisin'in sığır myometriumunda etkisinin gösterildiği ilk in vitro çalışmadır. Aynı etkinin in vivo koşullarda ve diğer kontraksiyon yapıcı maddelere karşı da olup olmayacağının incelenmesi konusunda yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Brumfield GC, Hauth JC, Andrews WW Puerperal infection after cesarean delivery: Evaluation of a standardized protocol. Am J Obstet Gynecol, 2000, 182 (5): 1147-151.
2. Dobson D P, Noakes DE. Use of a uterine pessary to prevent infection of the uterus of cow after parturition. Veterinary Record, 1990, 127:128-131.
3. Gabor G, Siver L, Szenci O. Intravaginal Prostaglandin F2 alpha for the treatment of metritis and pyometra in the bitch. Acta Vet.Hung., 1999, 47:103-8.
4. Grider JR, Makhlof GM. Contraction mediated by Ca++ release in circular and Ca++ influx in longitudinal intestinal muscle cells. J Pharmacol Exp Ther. 1998, 244: 432-436.

5. Kapusnik-Uner JE, Sande MA, Chambers HF. Antimicrobial agents, tetracyclines, Chloramphenicol, erythromycin and miscellaneous antibacterial agents. In: Hardman JG, Limbird, L.E. Molinof PB., Ruddon, RW, editors. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th ed. p-1123-53, New York, McGraw-Hill; 1996.
6. Kaya S. Kemoterapötikler, Editörler, Kaya S, Piriñci I, Bilgili A. Uygulamalı Veteriner Farmakoloji: 283-398, C:2, Medisan yayınevi Ankara, 1997,
7. Kirschbaum T. Antibiotics in the treatment of preterm labor. Am J Obstet Gynecol, 1993, 168 : 1239-1246.
8. Luthy R. Basis for an adequate dosage of aminoglycoside antibiotics. Infection 1980;Suppl 1:58-61
9. Mitra AG, Whitten MK, Laurent SL, Anderson WE. A randomized, prospective study comparing once-daily gentamicin versus thrice-daily gentamicin in the treatment of puerperal infection. Am J Obstet Gynecol, 1997, 177 (4): 786-792.
10. Papaioannidou PG, Karakiulakis G, Triantaphyllidis C, Paradelis AG. A study of the mechanism of action of aminoglycoside antibiotics on the guinea pig vas deferens. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1988, 10 (9) : 589-594.
11. Paradelis AG, Crassaris LG, Karachalios DN, Triantaphyllidis CJ Aminoglycoside antibiotics: interaction with trimethaphan at the neuromuscular junctions. Drugs Exp Clin Res 1987;13(4):233-6.
12. Paradelis AG, Triantaphyllidis C, Tarlatzis BC, Tsouras JS, El-Messidi MM, Papaloucas AC Interaction of aminoglycoside antibiotics with oxytocin and prostaglandin E2 on uterine contractility. Methods Find Exp Clin Pharmacol 1982;4(5):343-5
13. Paradelis AG Inhibition of the pendular movements of the intestine by aminoglycoside antibiotics. Methods Find Exp Clin Pharmacol 1981 May-Jun;3(3):173-7 .
14. Paradelis AG, Triantaphyllidis C, Giala MM Neuromuscular blocking activity of aminoglycoside antibiotics. Methods Find Exp Clin Pharmacol 1980 Feb;2(1):45-51
15. Pettibone DJ, Clineschmidt BV, Lis EV, Reiss DR et al. In vitro pharmacological profile of a novel structural class of oxytocin antagonists. J Pharmacol Exp Ther, 1991, 256 : 304-308.
16. Renna G, Siro-Brigiani G, Cuomo V. Comparative evaluation of the neuromuscular blocking activity of three new aminoglycoside antibiotics in rats. Toxicol Lett 1981 Oct;9(2):107-12.
17. Stoval TG, Ambrose SE, Ling FW, Anderson GD. Short-course antibiotic therapy for the treatment of chorioamnitis and postpartum endomyometritis. Am J Obstet Gynecol, 1988, 159: 404-407.
18. Villar A, D'Ocon P, Anselmi E. Role of intracellular calcium stores in the contractile response of uterus to several agonists. J Pharmacol 1986 Oct-Dec;17(4):541-6.
19. Wray,S. Uterine contraction and physiological mechanism of modulation. Am J Physiol, 1993, 264: 1-8.