

İN VİTRO KEDİ MYOMETRİUMU ÜZERİNE GENTAMİSİNİN FARKLI DOZLARININ ETKİSİ

Kadir SERVİ¹, Haki KARA²

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi Elazığ Sağlık Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 19.02.2001

Effects of different doses of gentamicin on cat myometrium *in vitro*

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of gentamicin on cat myometrium *in vitro*. After myometrial samples were 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 9.37 ± 1.1 and peak amplitude was founded 3.41 ± 0.45 . Gentamicin dose dependently inhibits both amplitude and frequency of oxytocin-induced contractions of myometrium. Gentamicin dose-dependently decreased the frequency values to 6.4 ± 1.0 ($P < 0.001$), 4.0 ± 0.66 ($P < 0.001$) and 0.18 ± 0.4 ($P < 0.001$). The mean peak amplitude of gentamicin dose-dependently decreased the peak amplitude values to 3.27 ± 0.45 ($P < 0.001$), 2.90 ± 0.37 ($P < 0.001$) and 0.18 ± 0.4 ($P < 0.001$) respectively. In conclusion, it was found that gentamicin inhibits both amplitude and frequency of oxytocin-induced contractions of myometrium obtained from cat.

Key words: Gentamicin, myometrium, invitro, cat.

ÖZET

Bu çalışma oksitosinle uyarılan invitro kedi 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 9.37 ± 1.1 amplitütüde 3.41 ± 0.45 gr olarak bulundu. Gentamisin uygulanmasıyla hem frekans sayısında hem de kasılma gücünde doza bağlı olarak azalmalar tesbit edildi. Frekans sayısı sırasıyla 6.40 ± 1.0 , 4.0 ± 0.66 ve 0.18 ± 0.4 olurken gerim gücü 3.27 ± 0.45 , 2.90 ± 0.37 ve 0.18 ± 0.4 gr olarak bulundu. Sonuçta gentamisinin kedi myometriumu üzerinde kuvvetli inhibisyon yaptığı kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: gentamisin, myometrium, in vitro, kedi.

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 (7, 8).

Luthy (10) in vivo ve in vitro çalışmalarda aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kan yoğunluğu ile klinik etkileri arasında ilişki bulunduğunu ve yan etkilerinin dozdan ziyade serum konsantrasyonlarının süresinin etkili olduğunu bildirmektedir.

Parenteral olarak kullanılan gentamisin neuromuskuler kavşaklarda blokaj yoluyla solunum depresyonu yaptığı, çeşitli araştırmalarda (18, 16, 13) gentamisinin özellikle diafram kasında neuromuskuler geçişi etkilediği, solunum bozukluklarına yol açtığı ve bu etkilerin de neostigmin tarafından ortadan kaldırılamadığı, kalsiyum iyonlarının ise bu etkileri tersine çevirdiği belirtilmektedir.

Paredelis (15), tavşanlarda aminoglikozid grubu antibiyotiklerin barsaklarda inhibitör etkilerinin bulunduğu, gentamisin bu grub içinde bu etki yönünden en güçlü olduğunu, bu etkilerin α ve β adrenajik reseptörlerle ilişkisinin olmadığını, neostigminin bu etkiyi önleyemediği ancak kalsiyumun bu etkiyi ortadan kaldırdığını bildirmektedir.

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda (1,9,11,20) sezeryan operasyonlarında klindamisin-gentamisin ve ampicilin-gentamisin kombinasyonlarının uygulanmasıyla doğum sonu komplikasyonlardan koriyoamnionitis ve endometritislerin önlendiğini, Dobson ve Noakes (3), sığırlarda doğumdan sonra aminoglikozid antibiyotiklerden streptomisin uterus içi kullanılması sonucu enfeksiyonları önlediği, Gabor ve ark (4) köpeklerde metritis ve pyometra vakalarında PGF_{2α} takiben kas içi yolla 15 mg/kg amoksisilin yada 4 mg/kg gentamisin verilmesiyle enfeksiyonların tedavi edildiğini bildirmişlerdir.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin kobay vas deferenslerinde kalsiyumun hücre içerisine girişini önleyerek ve böylece kasılma için gerekli hücre içi kalsiyum düzeyini azaltarak inhibitör etki gösterdiği bildirilmektedir (12).

Paradelis ve ark. (14) rat uteruslarında aminoglikozid grubu antibiyotikler tarafından meydana getirilen gevşeme türündeki etkinin oksitosin ve PGE₂ tarafından tersine çevrildiği ve bu etkinin hücre içi kalsiyum üzerindeki temel etkilerinden olabileceğini bildirmektedirler. Villar ve ark. (21), rat uterusunda kontraksiyon meydana getiren agonistlerin reseptörlere bağlı kalsiyum kanalları ile ilişkili olduğunu belirtmektedirler.

Bu çalışmanın amacı çeşitli düz kaslı organlarda ve neuromuskuler kavşaklardaki etkisi bildirilen gentamisin farklı konsantrasyonlarının in

vitro koşullarda kedi myometriumundaki etkilerinin araştırılmasıdır.

MATERYAL METOT

Hayvan Materyali: Bu çalışma Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi doğum kliniğine ovariohisterektomi amacıyla getirilen kedilerden alınan uterus kesitleriyle gerçekleştirildi.

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

Kimyasal madde ve Solusyonlar: Krebs Solusyonu; NaCl 118mmol/l, KCl, 4,69mmol/l MgSO₄, 0,6mmol/l, NaHCO₃ 25mmol/l, CaCl₂ 2,5 mmol/l, glukoz, 11,1 mmol/l olmak üzere her gün taze olarak hazırlandı, Gentsol (Gentamisin 50 mg /ml, Eczacıbaşı), Oksitosin (oksitosin 5 IU/ml, Vetaş).

Metot: Gebe olmayan kedilerden alınan uterus myometriumlarından 10mmx2mmx2mm ebatında kesitler ipek iplik yardımıyla alt ucu 20 ml kapasiteli, içerisinde krebs solusyonu bulunan, %5 CO₂ + %95 O₂ ile sürekli gazlandırılan izole organ banyosunun tabanındaki çengele üst ucu ise mikrometrik oynatıcı üzerine sabitleştirilmiş diğer ucu ossilografa bağlı olan transdüserle bağlandı. Kas asıldıktan sonra kasa bir 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 krebs solusyonu ile yıkandı. 90 dakika sonunda oksitosin ilavesi yapılarak kasın aktive edilmesi sağlandı. Oksitosinle ile düzenli kontraksiyonlar oluşturulan kaslara gentamisin (Gentsol, 50 mg /ml, Eczacıbaşı) 0,062 mg/ml, 0,125 mg/ml ve 0,250 mg/ml olmak üzere üç farklı konsantrasyonunun etkisi araştırıldı. Her konsantrasyon için 12 kas örneği kullanıldı. Ayrıca 12 adet kasada oksitosin uygulamasından sonra plasebo olarak serum fizyolojik ilavesi yapılarak kasılmalarda değişiklik olup olmadığı araştırıldı. Deneyler sırasında myometrial aktivite değişiklikleri ossilograf yardımıyla milimetrik kağıtlara kaydedildi. Gentamisin uygulamasından önceki değerler kontrol değerleri olarak kabul edildi ve dozdan sonra elde edilen değerler, oksitosinle elde edilen değerler ile karşılaştırıldı. 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

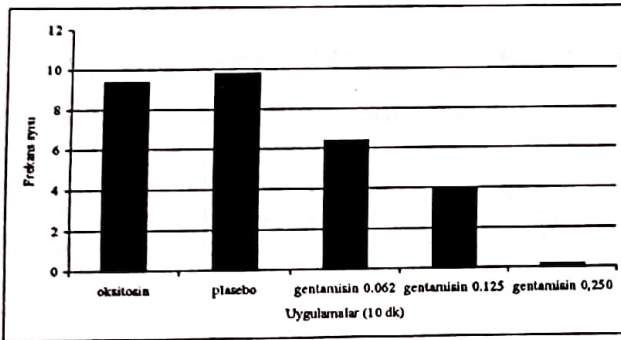
gram cinsinden değeri hesaplandı. Frekans hesaplamasında 10 dakikalık sürelerde kontraksiyonların sayısı adet olarak hesaplandı. Böylece kasılmaların hem amplitüt hemde süreleri de değerlendirmeye alındı. Verilerin değerlendirmesinde SPSS (Anova) istatistik programı kullanıldı.

BULGULAR

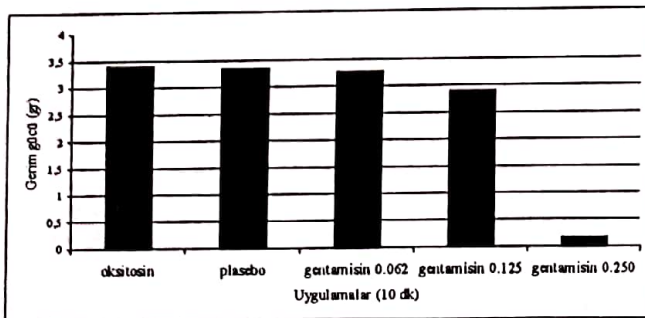
Çalışmadan elde edilen bulgular tablo 1 ile şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İn vitro kedi myometriumu üzerine gentamisin farklı dozlarının etkisi.

Uygulama	Frekans sayısı (Ortalama)	Bir amplitütün ort. ağırlığı
Oksitosin	9.37±1.1	3.41±0.45
Kontrol (plasebo)	9.80±0.2	3.35±0.05
Gentamisin 0.062mg/ml	6.40±1.0	3.27±0.37
Gentamisin 0.125mg/ml	4.0±0.66	2.90±0.37
Gentamisin 0.250mg/ml	0.18±0.4	0.18±0.40



Şekil 1. Gentamisinin farklı dozlarının in vitro kedi myometriumu frekansı üzerine etkisi (mg/ml).



Şekil 2. Oksitosinle uyarılan invitro kedi myometriumu kasılma gücü üzerine gentamisinin farklı dozlarının etkisi (mg/ml).

Tablo ve şekillerde oksitosinle uyarılan myometrium kaslarının dakikadaki frekansları (adet/10 dk) olarak gösterilmiştir. 0.01mM oksitosin uygulanmasıyla uterus kaslarında 10 dakikalık periyot boyunca kasılma sayısı 9.37 ± 1.1 olurken, bir frekansın ortalama gerimi yaklaşık 3.41 ± 0.45 gr oldu. Gentamisinin 0.062 mg/ml dozu uygulandıktan sonraki 10 dakikalık sürede kasılma sayısı 6.4 ± 1.0 ($P < 0.001$) olduğu frekans geriminde 3.27 ± 0.37 olduğu, gentamisinin 0.125 mg/ml dozunun uygulanmasıyla 10 dakikadaki frekans sayısının 4.0 ± 0.66 ($P < 0.001$) olduğu, gerim gücünün ise 2.90 ± 0.37 ($P < 0.001$) olduğu, gentamisinin 0.250mg/ml 'lik dozunun uygulanmasıyla da deneylerin tamamına yakınında hiçbir frekansın olmadığı sadece 2 adet kasta kasılma meydana geldiği bulundu ($P < 0.001$).

TARTIŞMA

Çalışmamızda materyal ve metot bölümünde içeriği tarif edilen Krebs solusyonu kullanıldı. Kullanılan myometrial örneklerin % 98'inde spontan aktivite görüldü ve spontan aktivite gösteren örneklerin tamamı oksitosine karşı kontraksiyon türünde cevap verdi. Bu sonuçlar benzer çalışmaların sonuçları ile uyum gösterdi (2,5,22).

Gentamisinin kas içi yolla kullanımından sonra 30-60 dakikada doruk plazma yoğunluğuna ulaştığı, kedilere 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(7,8).

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 görülmektedir.

Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin barsaklarda ve vas deferenste inhibitör etkisinin bulunduğu, barsaklarda bu etkilerin adrenerjik reseptörlerden bağımsız olduğu, vas deferens ve barsaklardaki etkilerin kalsiyum ile tersine çevrildiği bildirilmektedir (12,15). Tablo ve şekiller incelendiğinde gentamisinin myometrium üzerindeki inhibitör etkisinin yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Longitudinal düz kaslarda kontraksiyon hücre dışındaki kalsiyumun hücre içine girmesi ile sirküler düz kaslarda ise hücre içerisindeki depo kalsiyumun serbest hale geçmesi ile oluşmaktadır (6). 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 (17,22). Paredelis ve ark. (14) rat uteruslarında aminoglikozid grubu antibiyotiklerin inhibitör etkisinin oksitosin ve PGE ile önlendiğini, Villar ve ark. (21) rat uteruslarında kontraksiyon oluşturan oksitosin ve PGF_{2α} gibi agonistlerin bu etkilerinin reseptörlere bağlı kalsiyum kanalları ile ilgili olduğunu belirtmektedirler. Bizim çalışmamızda oksitosinin kontraktile edici etkisinin gentamisin tarafından inhibe edilmesi, oksitosinin etkisi göz önüne alındığında bu etkinin hücre içerisine kalsiyum girişini azaltarak hücre içinde kontraksiyon için gerekli kalsiyum düzeyinin azalmasına bağlı olacağı görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Brumfield, G.C., Hauth, J.C., Andrews W.W. Puerperal infection after cesarean delivery: Evaluation of a standardized protocol. *Am.J.Obstet. Gynecol.*, 2000, 182 (5), 1147-151.
2. Çelik, H., Sapmaz, E., Ayar, A. Oksitosinle uyarılan izole gebe insan myometriumuna eritromisin'in etkisi. *Fırat Tıp Dergisi*, 2000, 2(2); 90- 97.
3. Dobson, D.P., Noakes, D.E. Use of a uterine pessary to prevent infection of the uterus of cow after parturition. *Veterinary Record*, 1990, 127; 128-131.
4. 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.
5. Granovsky, G.S., Ilan, D., Grisar, D., Lavie, O., Aboulofia, I., Diamant, S. Effect of erythromycin on contractile of isolated myometrium from pregnant rats. *Am.J.Obstet. Gynecol.*, 1998, 178, 171-174.
6. Grider, J.R., Makhoul, G.M. Contraction mediated by Ca ++ release in circular and Ca++ influx in longitudinal intestinal muscle cells. *J. Pharmacol.Exp.Ther.* 1998, 244; 432-436.
7. Kapusnik-Uner JE., Sande, M.A., Chambers, HF. Antimicrobial agents, The aminoglycosides . In: Hardman JG, Limbird, L.E. Molinof PB., Ruddon, RW, editors. *Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th ed. p-1098-1116, New York, McGraw-Hill; 1996.
8. Kaya, S. Kemoterapötikler, Editör, Kaya, S., Piriñçi, I., Bilgili, A. *Uygulamalı Veteriner Farmakoloji*, 283-398, C:2, Medisan yayınevi Ankara, 1997,
9. Kirschbaum, T. Antibiotics in the treatment of preterm labor. *Am.J. Obstet.Gynecol.*, 1993, 168; 1239-1246.
10. Luthy R Basis for an adequate dosage of aminoglycoside antibiotics. *Infection* 1980;Suppl 1:58-61
11. Mitra, A.G., Whitten, M.K., Laurent, S.L., Anderson, W.E. A randomized, prospective study comparing once-daily gentamicin versus thrice-daily gentamicin in the treatment of purperal infection. *Am.J.Obstet.Gynecol.*, 1997, 177 (4); 786-792.
12. Papaioannidou, P.G., Karakiulakis, G., Triantaphyllidis, C., Paradelis, A.G. 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.
13. 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.
14. 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
15. 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 .
16. Paradelis AG, Triantaphyllidis C, Giala MM Neuromuscular blocking activity of aminoglycoside antibiotics. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1980 Feb;2(1):45-51

17. Pettibone, D.J., Cline-schmidt, B.V., Lis, E.V., Reiss, D.R. et al. In vitro pharmacological profile of a novel structural class of oxytocin antagonists. *J. Pharmacol.Exp.Ther.*, 1991, 256; 304-308.
18. 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.
19. Romero, R., Sibai, B., Caritis, S., et al. Antibiotic treatment of preterm labor with intact membranes: A multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1993, 169; 764-774.
20. Stoval, T.G., Ambrose, S.E., Ling, P.W, and Anderson, G.D. Short-course antibiotic therapy for the treatment of chorioamnitis and postpartum endomyometritis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988, 159; 404-407.
21. 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.
22. Wray, S. Uterine contraction and physiological mechanism of modulation. *Am.J.Physiol.*, 1993, 264; 1-18.