

Tavşanlarda E Vitamini ile Kombine ve Ayrı Digoksin Uygulamasının Kan Lipid Peroksidasyonu, Glutatyon ve Plazma Kreatin Kinaz Seviyelerine Etkisi

Fahri BAYIROĞLU¹ İsmail MERAL¹ Burhanettin BAYDAŞ¹ Tahir KAHRAMAN²
Recep Aslan³

¹Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Van.

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van.

³Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyon.

Özet: Bu çalışma, kalp yetersizliği tedavisinde kullanılan digoksinin tek doz uygulamasının lipid peroksidasyonu oluşturup oluşturmadığı ve digoksinle birlikte E vitamini uygulamasının digoksinin etkisini nasıl değiştirdiği araştırmak amacıyla yapıldı. Çalışmada kullanılan Yeni Zelanda ırkı tavşanlar, Digoksin ve Digoksin+E vitamini olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Deneme öncesi tüm tavşanlardan alınan kanlar kontrol grubu olarak değerlendirildi ve bu kanlardan, lipid peroksidasyonu, glutatyon ve kreatin kinaz tayini yapıldı. Deney gruplarında, digoksin ve digoksin+E vitamini uygulamalarını takiben 6 saat sonra yine kanları alınarak aynı analizler gerçekleştirildi. Tek doz digoksin uygulamasının, glutatyon seviyesi üzerinde anlamlı değişikliklere yol açmadığı ($P>0.05$) ve yine E vitamini uygulamasının da, glutatyon düzeyinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı gözlemlendi ($P>0.05$). Ancak, lipid peroksidasyonun göstergesi olarak görülen malondialdehit seviyesinde, digoksin uygulamasını takiben bir azalmanın olduğu ve kontrol grubu ile kıyaslandığında azalmanın anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Buna karşın kreatin kinaz seviyesinde ise her iki deney grubunda kontrol grubuna göre önemli artış gözlemlendi ($P<0.05$).

Anahtar kelimeler: Digoksin, Vitamin E, Lipid peroksidasyon, Antioksidanlar

Effect of Digoxin and Digoxin+Vit-E Treatments on Blood Lipid Peroxidation, Glutathione and Plasma Creatin Kinase Levels in Rabbits.

Summary: This experiment was carried out to evaluate wheather single dose of digoxin treatment could produce a lipid peroxidation and this effect of digoxin could be changed by Vit-E injection along with digoxin. New Zealand rabbits were divided into two groups (digoxin-only and digoxin+Vit-E). Lipid peroxidation, glutathione and creatin kinase were analysed in the blood which was collected from rabbits before any treatment (control group). Same parameters were measured in the blood of digoxin-only or digoxin+Vit-E treated rabbits 6 hours after the treatments. It was found that single dose of digoxin or digoxin+Vit-E treatment did not change the glutathione level significantly ($P>0.05$). However, malondialdehyde level which is the sign of lipid peroxidation was decreased significantly ($P>0.05$) by two treatments. Creatin kinase level was also increased dramatically ($P<0.05$) by two treatments.

Key Words: Digoxin, Vitamin E, Lipid peroxidation, antioxidants

Giriş

Digoksin kalp yetersizlikleri tedavisinde kullanılan en yaygın kalp glikozidlerinden biridir. Kalp glikozidleri, kalp kasının kasılma gücünü doza bağlı olarak artıran (pozitif inotropik etki) ajanlardır. Digoksinin pozitif inotropik etkisi, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunda artışa sebep olan membrana bağlı $Na^+K^+-ATP_{ase}$ enzimiminin inhibisyonu ve aksiyon potansiyeli boyunca içe doğru yavaş şekillenen Ca^{2+} akımının artırılması ile şekillenir. Digoksinin bu etkisi, patolojik olsun yada olmasın, kalp üzerinde aynı şekilde kendisini gösterir. Glikozid tarafından membran pompasının inhibe edilmesinden dolayı Na^+ artışında, intrasellüler Ca^{2+} için ekstrasellüler Na^+ değişim dengesi bozulur. Bunun sonucu olarak sarkoplazmik retikülümde artan bir

Ca^{2+} deposu şekillenir ve her bir aksiyon potansiyeli ile kontraktıl aparatı aktive etmek için daha büyük miktarlarda Ca^{2+} salınımı gerçekleşir (5-10).

Normal olarak, canlı organizmadaki hücrelerde oksidatif stresin oluşumu söz konusu olup, bu yine organizmada şekillenen antioksidan ajanlarla belli bir dengede tutulmaktadır (8). Ancak, oksidatif stresin oluşumu bazı kimyasal maddeler, ilaçlar ve yüksek enerjili ışınlar ile artmaktadır (9).

Hücre harabiyeti patogenezinde kalsiyum ile lipid peroksidasyonu arasında önemli bir ilişkinin olduğu kabul edilmektedir (11). Bu çalışmada, digoksinin hücre içi kalsiyum konsantrasyonunda artışa yol açtığı göz önünde tutularak (5), digoksinin, olası lipid peroksidasyonu oluşturma etkinliğini gözlemlemek ve bir antioksidan olan E

vitamininin muhtemel lipid peroksidasyonunu önlemedeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, 10 adet 1250-1700 g canlı ağırlık ve yaklaşık 5-6 aylık Yeni Zelanda ırkı tavşanlar kullanıldı. Tavşanlar bir haftalık bir adaptasyon süresi sonunda denemeye tabi tutuldu. Hayvanlar, 5'erli iki gruba ayrıldı. Her iki gruba da kuzu besi yemi verildi. Uygulama öncesi her iki grupta yer alan tavşanlardan EDTA'lı tüplere kulak altı venasından kan alınarak lipid peroksidasyonu, glutatyon ve kreatin kinaz analizleri yapıldı. Uygulama öncesi alınan kanlar kontrol grubunu oluşturdu. Daha sonra bir gruba sadece 1mg/kg dozda digoksin (Sandoz Ürünleri A.Ş.) kas içi uygulanırken (Digoksin grubu), diğer gruba 1mg/kg dozunda digoksin uygulamasına ek olarak 70 mg/kg dozunda E vitamini (Roche Müh. A. Ş.) kas içi yapıldı (Digoksin+E vitamin Grubu). Uygulamadan 6 saat sonra tekrar kan alınarak aynı analizler gerçekleştirildi. Lipid peroksidasyon tayini Sushil'in (12), glutatyon tayini Beutler'in (1) geliştirmiş oldukları metodlara göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Kreatin kinaz tayini Tecmicon RA-XT marka oto-analizör kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel değerlerci, Minitap paket programı kullanılarak "t" testi ile yapıldı.

Bulgular

Çalışmada, kontrol, digoksin ve digoksin + E vitamini gruplarına ait değerler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1: Kontrol, Digoksin ve Digoksin +E Vitaminli Uygulanan Tavşanlarda ölçülen değerler

Parametreler	n	Kontrol	Digoksin Grubu	Digoksin+ E vitamini
Glutatyon (mg/100ml)	5	36.29±0.84	35.24±4.11	35.00±1.50a
Malondialdehit (µmol/ml)	5	3.16±0.22	1.75±0.552	1.70±0.26b
Kreatin kinaz (IU/l)	5	834.50	<3000	<3000

a. Digoksin grubu ile kıyaslandığında P>0.05, Kontrol grubu ile kıyaslandığında P>0.05

b. Digoksin grubu ile kıyaslandığında P>0.05, Kontrol grubu ile kıyaslandığında P>0.05

1. Kontrol grubu ile kıyaslandığında p>0.05,

2. Kontrol grubu ile kıyaslandığında P<0.05

Önemli bir antioksidan olan glutatyon değerlerine bakıldığında, kontrol grubu ile diğer gruplar

arasında, ayrıca digoksin ve digoksin+E vitamini grubu arasında anlamlı bir farkın bulunmadığı gözlemlendi (P>0.05). Canlı organizmada lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kabul edilen malondialdehit seviyesi açısından bakıldığında, kontrol grubuna kıyasla digoksin grubunda önemli bir azalmanın olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak önem kazandığı tespit edildi (P<0.05). Yine kontrol grubu ile digoksin+E vitamini grubu arasında görülen farkın anlamlı olduğu, ancak iki deney grubu arasındaki farkın önemsiz olduğu gözlemlendi (P>0.05)

Diğer taraftan, dolaşımında artışı kas hasarının göstergesi olarak kabul edilen kreatin kinaz miktarında kontrol grubuna kıyasla her iki deney grubunda da önemli derecede artış gözlemlenmiştir (P<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Digoksin, kalp yetmezlikleri tedavisinde sıkça kullanılan bir glikozittir. Digoksinin bu etkisi, hücre içi kalsiyum seviyesinde artışa bağlı olarak şekillenmektedir (5). Orrenius ve ark (11), hücre harabiyeti oluşumunda, kalsiyum ve lipid peroksidasyonu arasında önemli bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir. Yine Edmond ve ark. (4), kalsiyum konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak lipid peroksidasyonun da yükseldiğini bildirmişlerdir. Digoksinin hücre içi kalsiyum miktarında önemli bir artışa yol açtığı düşünülürse ve yine bu artışın lipid peroksidasyonla sıkı bir ilişkide olabileceği göz önüne alınırsa, çalışma öncesi digoksin uygulamasının lipid peroksidasyonunu artıracak olduğu düşünülmüştü. Ancak bulduğumuz değerlere göre, tek doz digoksin uygulaması lipid peroksidasyonda bir artışa sebep olmadığı gibi, kısmen de olsa bir azalma oluşturmuştur. Hücre içerisinde aşırı miktarda kalsiyum artışı litik enzimlerin artmasına sebep olarak lipid peroksidasyonu oluşturabilmektedir (11). Bu çalışmada lipid peroksidasyonda artış olmaması, sağlıklı bireylerde tek doz digoksin uygulamasının hücre içerisinde lipid peroksidasyonu artıracak kadar kalsiyum birikimine sebep olmadığını göstermektedir. Ancak lipid peroksidasyonundaki bu düşüşün sebebi henüz bilinmemektedir. Lyon ve ark. (10), digoksinin kardiyak oksijen tüketiminde bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Oysa genel kanı, digoksinin kalp kası üzerine inotropik etkisinin kalp oksijen tüketimini artırdığı yönündedir. Zira, metabolizmayı hızlandıran her durum serbest radikal üretimini antioksidan duvarı aşabilen seviyede artırmaktadır (2). Ji ve ark. (7), serbest radikal üretiminin metabolik hızla, doku kan akımı ya da oksijen kullanımını ile doğru orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulguların ışığı altında, digoksinin kardiyak oksijen tüketimini azalttığı görüşü (10) kabul edilirse, malondialdehit seviyesinde görülen azalmanın olası bir sonucu olması kabul edilebilir. Bu da elde ettiğimiz bulgular ile uyumluk

arzetmektedir. Lipid peroksidasyonla ilişkili ve bir antioksidan ajan olan glutatyon seviyesinde değişiklik olmaması da lipid peroksidasyonun oluşmadığı izlenimini uyandırmaktadır. Bu konunun daha detaylı bir şekilde ortaya konulabilmesi için, daha uzun süreli digoxin uygulanmış ve kalp yetmezliği olan insan denekleri kullanılarak yeni çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

Bir antioksidan olan E vitamini lipid peroksidasyonunda yalnız digoxin grubuna göre herhangi bir değişiklik oluşturmaması da ortamda lipid peroksidasyon olmaması ile açıklanabilir. Kreatin kinaz seviyesindeki deneme gruplarında gözlenen artış da muhtemelen tekrarlayan enjeksiyona bağlı olarak kas hasarından dolayı oluşmuştur. Bu çalışmanın ileride yapılacak konu ile ilgili araştırmalara bir basamak teşkil etmesi beklenmektedir.

Kaynaklar

1. Beutler, G., Dubon, O., Kelly, B.M. (1963) Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61:882-888
2. Clarkson, P.M. (1995) Antioxidants and physical performance. *Critical reviews in food science and nutrition* 35:131-141
3. Deitmer, J.W., Ellis, D. (1978) The intracellular sodium activity of cardiac purkinje fibers during inhibition and reactivation of the Na-K pump. *J. Physiol.* 284:241-259

4. Edmond, R., Catherine, A., Claudine, L., Xavier, V., Elyett, G., Claude, M., Yves, R. (1995) Dietary magnesium deficiency in rats enhances free radical production in skeletal muscle. *J. Nutr.* 125:1205-1210.

5. Eisner, D.A., Lederer, W.J. (1985) Na-Ca exchange: stoichiometry and electrogenicity. *Am. J. Physiol.* 248: C189-C202

6. Jain, S.K., Mc Vie, R., Duet, J and Herbert, J.J. (1989) Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidation and Glycosylated Hemoglobin in Diabetes. *Diabetes*, 38:1539-1543

7. Ji, L.L., Strattman, F.W., Lardy, H.A. (1988) Enzymatic down regulation with exercise in rat skeletal muscle. *Arche-Biochem Biophys.* 263:150-160.

8. Kılınc, K. (1986) Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya dergisi*, Cilt.11, Sayı.3, Sayfa: 59-76

9. Klug, D., Rabani, J. (1972) A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J. Biol. Chem.* 247:4839-4842

10. Lyon, X., Schutz, Y., Buclin, T., Jequier, E., Deriaz, O. (1995) Inhibition of Na⁺-K⁺-ATPase by digoxin and its relation with energy expenditure and nutrient oxidation rate. *American J. Physiol.* 268: E1051-1056

11. Orrenius, S., Burkitt, M.J., Kas, G.E.N., Dyphukt, J.M., Nicotera, P. (1992) Calcium ions and oxidative cell injury. *Ann. Neurol.* 32:s33-s42

12. Sushil, J.K., McVie, R., Duett, J. And Herbst, J.J. (1989) Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*, 38:1539-1543.