

TEOFİLİN VE DİGOKSİN'İN IN VITRO RAT DİYAFRAGMA YORGUNLUK SÜRESİNE ETKİSİ

T. YILMAZ*, H. KARADAĞ**, I. GÜNDAY***, İ. DÖKMECİ**

ÖZET

Frenik sinir-diyafragma preparatında, diyafragmada indirekt uyarı ile oluşturulan yorgunluk süresine teofilin ve digoksin'in etkisi araştırıldı. Eşleştirilen diyafragmalar arasında yorgunluk süresinin kontrollere göre teofilin ile % 30.5, digoksin ile % 22.2 oranında uzadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler: Diyafragma yorgunluğu, teofilin-diyafragma yorgunluğu, digoksin-diyafragma yorgunluğu.

SUMMARY

THE EFFECTS OF THEOPHYLLINE AND DIGOXIN ON THE PERIOD OF EVOKED FATIGUE IN ISOLATED RAT DIAPHRAGM

In this experimental study, the effects of theophylline and digoxin on the period of merging evoked fatigue by indirect stimulation in isolated rat phrenic nerve-diaphragm preparations were searched and compared. Matching each hemi-diaphragm in the experimental groups, in term of theophylline and digoxin, isolated preparations each were served as the control for the other half. And it was observed that the period for merging evoked fatigue was prolonged to certain extent as 30.5 % by theophylline, and 22.2 % by digoxin.

Key words: Diaphragmatic fatigue, theophylline-diaphragmatic fatigue, digoxin-diaphragmatik fatigue.

GİRİŞ VE AMAÇ

Hava yolu obstrüksiyonu olan hastalarda, çalışmalar solunum kaslarına yoğunlaştırılmıştır. Özellikle kronik obstrüktif akciğer hastlığında (KOAH) gelişen solunum yetmezliğinin en önemli nedenlerinden biri olarak, solunum kaslarının yorgunluğu gösterilmektedir (1, 2, 3, 4, 5). Bu bilgiler; hava yolu obstrüksiyonu olan hastaların tedavisinde, solunum kaslarının yorgunluğunun giderilmesine yönelik ilaçların kullanılmasında önemli ve yeni yaklaşımlar getirmektedir.

* Trakya Univ. Tıp Fak. Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı.

** Trakya Univ. Tıp Fak. Farmakoloji Anabilim Dalı.

*** Trakya Univ. Tıp Fak. Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı.

Son yıllarda, teofilin'in solunum kaslarının kontraktilitesini artırdığı ve yorgunluk gelişmesini geciktirdiği bildirilmiştir (1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Teofilin'in oluşturduğu bronkodilatasyon ile klinik düzelleme arasında belirgin bir korrelasyon olmaması; etkisini kısmen solunum kasları (diyafragma) kontraktilitesi üzerinden gösterdiğini desteklemektedir (2, 12). Teofilin'in diyafragma çizgili kasında etki yerinin, hücre membranı ve Ca^{++} kanalları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (7, 13).

Digoksin'in kalp kasında, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz'ın inhibisyonuyla hücre içi Na^+ artışı ve buna bağlı olarak Ca^{++} girişi sonucu pozitif inotrop etki oluşturduğu bilinmektedir. Ayrıca; digoksin'in diyafragmada diğer çizgili kaslarda gösterilemeyen biçimde kontraktiliteyi artırdığı ve yorgunluk oluşmasını önlediği de bildirilmektedir (14, 15, 16).

Diğer çizgili kaslardan farklı olarak, diyafragma ve kalp kasında, pozitif inotrop etki oluşmasında hücre dışı Ca düzeyinin artmasının da önemli rolü olduğu gösterilmiştir (7, 17). Gerek kalp kası gerekse diyafragmada pozitif inotrop etki oluşması bu kasların kontraktil özelliklerarasında benzerlik olduğu görüşünü desteklemektedir.

Bu çalışmada; *in vitro* rat diyafragmasında indirekt uyarılarla oluşturulan yorgunluk süresi üzerine, teofilin ve digoksin'in etkisini göstermek amaçlanmıştır.

YÖNTEM, ARAÇ-GEREÇ

Çalışmada 229 ± 35 g ağırlığında 12 erkek Wistar rat kullanıldı. Dekapitasyon işleminden sonra her 2 diyafragma frenik sinirleri ile birlikte çıkarılarak 50 ml Krebs Henseleit solüsyonu içeren organ banyosuna yerleştirildi (NaCl : 117.57, KCl : 5:36, MgSO_4 : 1.16, CaCl_2 : 2.52, NaHPO_4 : 25.0, Glikoz: 11.1 mmol / L). Solüsyon 37°C 'de, % 95 O_2 -% 5 CO_2 karışımı ile havalandırıldı. Frenik sinir, platin uçlu elektrot aracılığıyla Grass stimülatör (Model SD5) ile uyarıldı. Kontraksiyonlar, izometrik transducer (Ugo Basile, 7006) ve 2 kanal yazdırıcı (Ugo Basile, 7070) ile kaydedildi.

Preparatlar ortama yerleştirildikten sonra, şartlara uyum sağlaması için 45 dakika beklenildi. Frenik sinir 0.2 milisaniye süre ve 0.2 Hz frekansında stimülasyon ile uyarılarak, maksimum kasılmaının elde edildiği Voltaj düzeyi saptandı. Bu değer % 20 artırılarak supramaksimal eşeğe ulaştı (8–12 volt). Frenik sinirde, 0.2 milisaniye süre ve 20 Hz uyarı ile yorgunluk oluşturuldu. 20 Hz uyarından sonra kasılma amplitüdünün en aza inmesi için geçen süre ölçüldü. Bu süre diyafragmada "tam yorgunluk" oluşma süresi olarak değerlendirildi.

12 ratın diyafragmaları sağ-sol hemi-diyafraagma biçiminde kesilerek; teofilin ve digoksin grupları için 6'şar tane ayrıldı. 2 grupta da 1 diyafragmanın 2 yarısı deney ve kontrol grubunu oluşturdu.

Teofilin (teofilin hidroklorür) $20 \mu\text{g} / \text{L}$, digoksin (digoksin hidroklorür) ise $2 \text{ ng} / \text{ml}$ konsantrasyonlarda solüsyona eklendi.

Veriler, bağımlı örneklerde t testi ile bilgisayarda NCSS programıyla analiz edildi.

BULGULAR

Hemidiyafragmada indirekt uyarı ile elde edilen tam yorgunluk oluşma süreleri (sn) her iki grupta karşılaştırmalı olaark Tablo 1'de gösterilmiştir. Digoksin grubunda 1 preparatta yüksek varyasyon gözleendiğinden değerlendirmeye alınmadı.

Teofilin grubundaki 6 ratta; kontrol hemidiyafragmada 97.50 ± 34.97 sn, diğerinde 128.0 ± 27.59 sn'de tam yorgunluk gözlendi. Arada fark anlamlı bulundu ($p = 0.0079$). Digoksin grubunda ise, kontrol değeri 108.60 ± 19.46 sn, deney grubunda 130.80 ± 22.52 sn olarak kaydedildi ve aradaki fark belirgin anlamlılık gösterdi ($p = 0.0005$).

Teofilin, kendi kontroluna göre % 30.5; digoksin ise % 22.2 düzeyinde olmak üzere -her 2'si de anlamlı- daha uzun bir "tam yorulma" süresi sağladılar.

İRDELEME

Çok sayıda araştırmacı, teofilin'in diyafraagma kasılmasını artırdığını ve kasta yorgunluk olmasını geciktirdiğini bildirmektedir (1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12). Bu etkinin, hücre içine Ca^{++} girişinin artması ile olduğu açıklanmıştır. Çizgili kas kasılmasında hücre dışı Ca^{++} düzeyinin önemli bir rolü bulunmamasına karşın; diyafraagma kontraktilitesinde önemli bir etken olması; bu kasın kasılma mekanizmasının diğer çizgili kaslardan farklı olduğu görüşünü desteklemektedir (13, 14, 18).

Digoksin'in de diyafraagma kasılmasını artırırken (14, 15, 16), *in vivo* şartlarda Sartorius kası üzerine böyle bir etkisinin olmaması (14), yukarıda belirtildiği gibi, diyafraagma kasılma mekanizmasının diğer çizgili kaslardan farklı olduğunu ortaya koymaktadır. Digoksin'in diyafraagma kontraktilitesini güçlendirmesinin ne şekilde olduğu tam olarak açıklanmış değildir. Bu etkinin, kardiak glikozidlerin klasik etki mekanizması olan hücre membranı $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz enziminin inhibisyonu (hücre içi Na^+ ve Ca^{++} artışı)

yanında, diyafragma kan dolasımının artması sonucu olabileceği varsayılmaktadır (14, 15, 16).

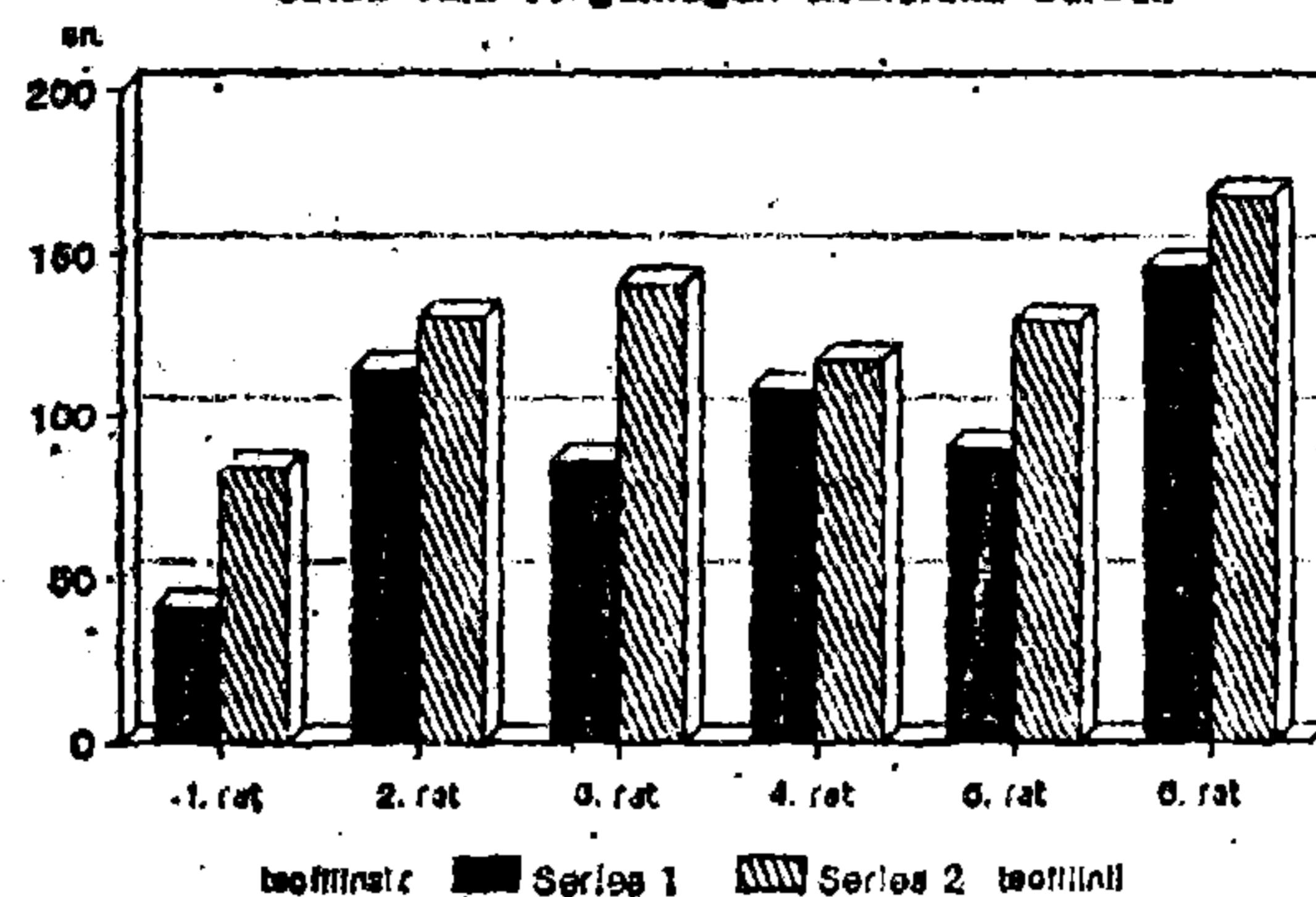
Aubier ve ark. (7), teofilin'in diyafragma kasılması güçlendirici etkisinin hücre dışı Ca^{++} un hücre içine girişini artırmasından ileri geldiğini ve bu etkinin verapamil ile bloke edildiğini göstermişlerdir. Aubier daha sonra diyafragma yorulma fenomeninde, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{++} salınımının yetersiz olmasının önemini belirtmiştir (8). Çalışmamızda, teofilin ve digoksin'in in vitro rat diyafragmasında yorgunluk oluşma süresini, kontrollara göre sırasıyla % 30.5 ve % 22.2 oranında uzatmasının; hücre içi Ca^{++} deplesyonunun gecikmesi ile ilgili olduğu ve bunun da hücre dışı Ca^{++} un hücre içine girişinin artmasından ileri geldiği kanısına varılabilir.

Teofilin'in diyafragma kasılması üzerine etkisi, in vivo ve in vitro şartlarda farklılık göstermektedir. Birbirinden farklı ve çok sayıda in vivo etki mekanizması tanımlanan teofilin, in vitro çalışmalarında paradoksal sonuçlar verebilmektedir (2, 19). Foxworth (20), in vivo olarak insanda teofilin'in diyafragma kasılmasına anlamlı bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Aubier ve ark. (5, 7, 8). Howell ve ark. (10), teofilin'in diyafragma kasılmasını artırdığını in vivo çalışmaları ile sergilemişlerdir.

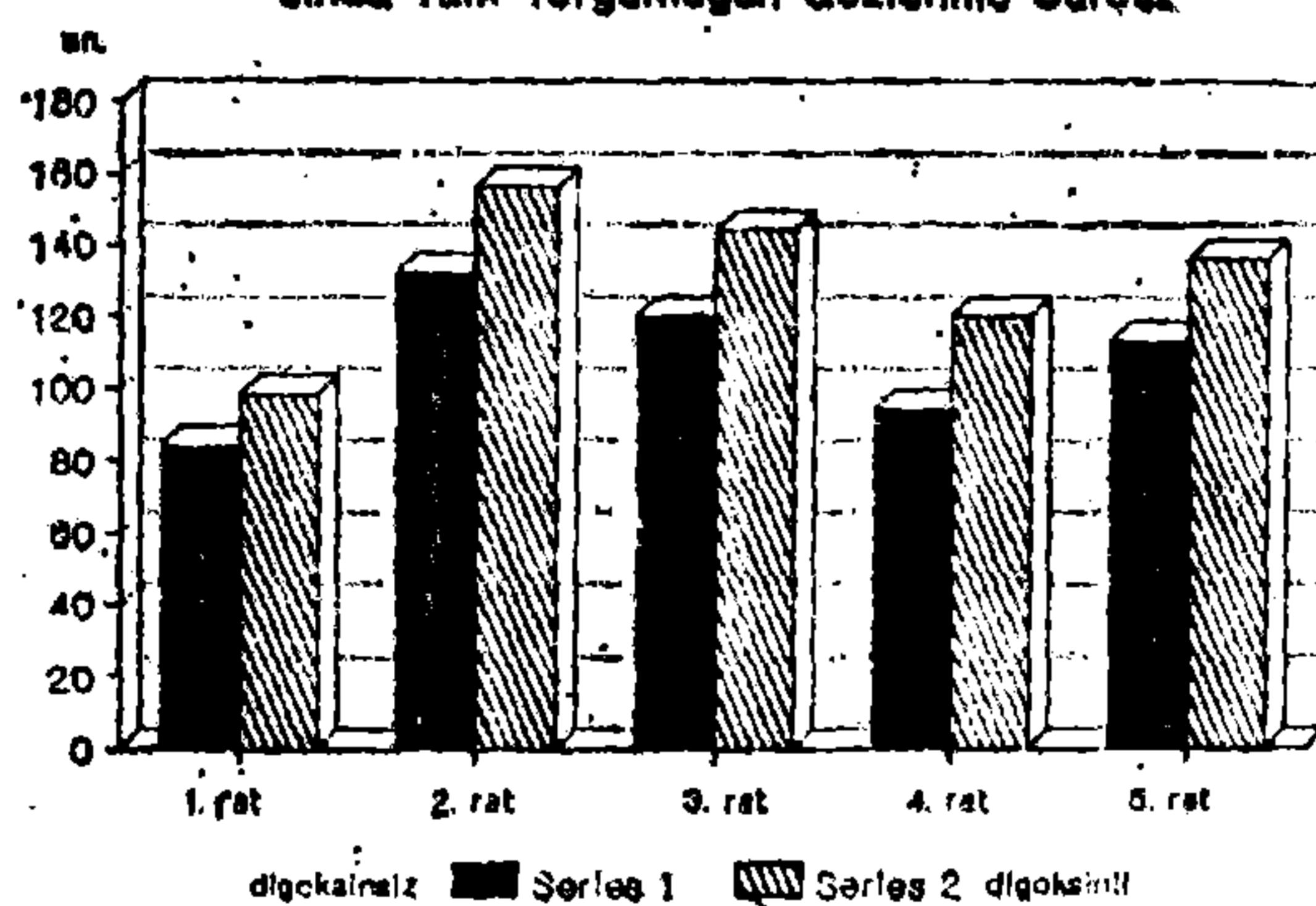
Çalışmamızda, digoksin'in in vitro rat diyafragma yorgunluk süresini % 22.2 oranında uzatmasının, hücre membranında $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz inhibisyonu ile ilgili olması olasıdır. Bu varsayımda, daha önceki çalışmalar ile de uygunluk göstermektedir. Kikuchi ve ark. (16), kardiak glikozidlerin in vivo köpeklerde, diyafragma kasılmasını artırdığını ve yorgunluğa karşı koruyucu etki yaptığını bildirmiştir. Digoksin'in diyafragma kasılmasını güçlü bir şekilde artırması, kalp kasında olduğu gibi diyafragma kas hücre-sinde de Na^+ artışı, $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{++}$ değişimi sonucu, hücre içi Ca^{++} artışıyla olabileceği düşünülmektedir (14, 15, 16). Sherman ve ark (21) ise in vitro kobay ve rat diyafragmasında kontraktiliteye ve yorgunluk oluşmasına digoksin'in etkisinin olmadığını bildirmiştirlerdir.

Sonuç olarak; Teofilin ve digoksin'in in vitrorat diyafragmasında yorgunluk oluşma süresini uzattığı, bu performansın teofilin ile diğerinden daha yüksek olduğu; ancak buradaki etki mekanizmasının daha ileri çalışmalarla - Ca^{++} antagonistleri ve beta blokerlerle etkileşmesi yönünden (22, 23)- aydınlatılması gerektiği kanısına varılmıştır. Değişik ilaç dozları (24) ile karşılaşmalı olarak yapılacak in vivo ve in vitro çalışmalar, KOAH'ta yaygın olarak kullanılan teofilin'in asıl etki yerinin açıklanmasına kesinlik; digoksin'in ise yine KOAH'ta terapötik değerine açıklık getirebilecektir.

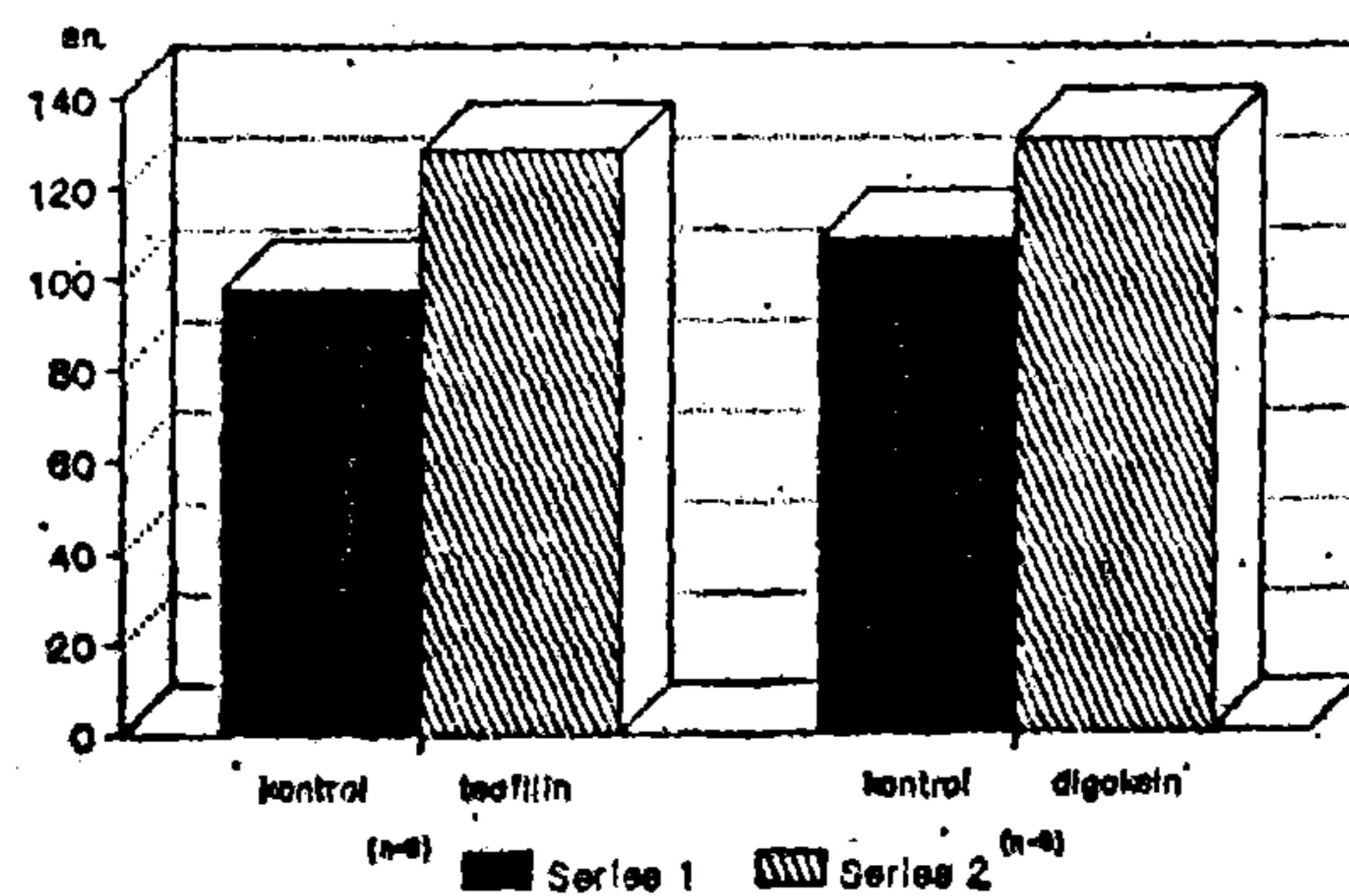
SEKİL I: Teofilin İle Rat Hemidiaphragma
sında Tam Yorgunluğun Gözlenme Süresi.



SEKİL II: Digoksin İle Rat Hemidiaphragma
sında Tam Yorgunluğun Gözlenme Süresi.



SEKİL III: Teofilin ve Digoksin İle Elde
Edilen Ortalama Tam Yorgunluk Süresi



Tablo 1. Teofilin ve Digoksin gruplarında gözlenen tam yorgunluk süreleri (sn).

Kontrol	Teofilin	Kontrol	Digoksin
41	84	84	98
114	130	132	156
86	140	120	144
108	117	94	120
90	129	113	136
146	168	148	276*
Ort. ± St. Sapma			
97.50 ± 34.97	128.0 ± 25.59	108.60 ± 19.46	130.80 ± 22.52
$P = 0.0079$		$P = 0.0005$	

* İstatistiksel analize katılmadı

KAYNAKLAR

1. Aubier M., Roussos C.: *Effect of theophylline on respiratory muscle function.* Chest 88: 91S-96S, 1985.
2. Bukowsky M., Nakatsu K., Munt P.W.: *Theophylline reassessed.* Ann Intern Med 101: 63-73, 1984.
3. Kongragunta V.R., Druz W.S., Sharp J.T.: *Dyspnea and diaphragmatic fatigue in patients with chronic obstructive pulmonary disease* Am Rev Respir Dis 137: 662-667, 1988.
4. Moxham J., Morris A.J.R., Spiro S.G. et al.: *Contractile properties and fatigue of the diaphragm in man.* Thorax 36: 164-168, 1981.
5. Murciano D., Aubier M., Lecoeguic Y. et al.: *Effects of theophylline on diaphragmatic strength and fatigue in patient with chronic obstructive pulmonary disease.* N Eng J Med 311: 349-353, 1984.
6. Aubier M., De Troyer A., Sampson M. rt al.: *Aminophylline improves diaphragmatic contractility.* N Engl J Med 305: 249-252, 1981.
7. Aubier M., Murciano D., Vires N et al.: *Diaphragmatic contractility enhanced by aminophylline: role of extracellular calcium.* J Appl Physiol 54:460-464, 1983.
8. Aubier M.: *Effect of theophylline on diaphragmatic and other skeletal muscle function.* J Allergy Clin Immunol 78: 787-792, 1986.
9. Esau S.: *Effect of theophylline on membrane potential and contractile force in hamster diaphragm muscle in vitro.* J Clin Invest 77:638-640, 1986.
10. Howell S., Roussos C.: *Isoproterenol and Aminophylline improve contractility of fatigued canine diaphragm.* Am Rev Respir Dis 129: 118-124, 1984.
11. Kolbeck R.C., Speir W.A.: *Diaphragm contractility as related to cellular calcium metabolism: Influence of theophylline and fatigue.* Am Rev Respir Dis 139: A495, 1989.
12. Vires N., Aubier M., Murciano D. et al.: *Effects of theophylline on isolated diaphragmatic fibers.* Am Rev Respir Dis 133: 1060-1064, 1986.

NOT: Bu çalışmadaki katkıları için Prof. Dr. Özden VURAL ve Prof. Dr. Tülin ORUÇ'a teşekkürü borç bilirim.

13. Aubier M., Viures N., Pignot J et al.: *Effects of hypocalcemia on diaphragmatic strength generation.* J Appl Physiol 58: 2054-2061, 1985.
14. Aubier M., Viures N., Murciano D et al.: *Effects of digoxin on diaphragmatic strength generation* J Appl Physiol 61: 1767-1774, 1986.
15. Aubier M., Murciano D., Viures N et al.: *Effects of digoxin on diaphragmatic strength generation in patients with chronic obstructive pulmonary disease during acute respiratory failure.* Am Rev Respir Dis 135: 544-548, 1987.
16. Kikuchi Y., Hida W., Shindoh C et al.: *Effect of digitalis on the diaphragm in anesthetized dogs.* J Appl Physiol 63: 277-284, 1987.
17. Adams R.J., Schwartz A.: *Comparative mechanism for contraction of cardiac and skeletal muscle* Chest 71: 123-139, 1980.
18. Esthamiou J., Fleming J., Edwards R.H.T., Spiro S.G.: *Effect of aminophylline on fatigue of the sternomastoid muscle in man.* Thorax 41:122-127, 1986.
19. Fredholm B.B.: *On the mechanism of action of theophylline and caffeine.* Acta Med Scand 217: 149-153, 1985.
20. Foxworth J.W., Reisz G.R., Knudson S.M. et al.: *Theophylline and diaphragmatic contractility.* Am Rev Respir Dis 138: 1532-1534, 1988.
21. Sherman M.S., Aldrich T.K., Chaudry I., Nagashima H.: *The effect of digoxin on contractility and fatigue of isolated guinea pig and rat hemidiaphragms.* Am Rev Respir Dis 138: 1180-1184, 1988.
22. Aubier M., Viures N., Murciano D. et al.: *Effects and mechanism of action of terbutaline on diaphragmatic contractility and fatigue.* J Appl Physiol 56: 922-929, 1984.
23. Suzuki S., Numata H., Sano F. et al.: *Effects and Mechanism of fenoterol on fatigued canine diaphragm.* Am Rev Respir Dis 137: 1048-1054, 1988.
24. Moxham J., Miller J., Wiles C.M. et al.: *Effect of aminophylline on the human diaphragm.* Thorax 40: 288-292, 1985.