

Wpływ acetazolamidu na parametry równowagi kwasowo-zasadowej i elektrolitowej oraz elektrokardiogram u psów

ANDRZEJ POMIANOWSKI, ZYGMUNT KULETA, PRZEMYSŁAW SOBIECH,
MAŁGORZATA WIŚNIEWSKA, ANITA PROCAJŁO

Zespół Chorób Wewnętrznych, Katedra Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn

Pomianowski A., Kuleta Z., Sobiech P., Wiśniewska M., Procajło A.

Effects of acetazolamide on acid-base and electrolyte equilibrium parameters and electrocardiograms in dogs

Summary

The aim of study was estimate the effects of acetazolamid administration on arterial acid-base equilibrium and electrolyte concentrations and electrocardiograms in dogs. The study was carried out on 10 mixed-breed dogs, which were administered acetazolamid over 3 days in doses of 30 mg/kg b.w. twice a day. Administration of acetazolamid caused a decrease in pH levels, partial pressure of carbon oxide, bicarbonates in the blood and ions of potassium in the serum. An increase of chloride and sodium concentration in serum was also observed. These results indicate hypochloremic metabolic acidosis associated with hypokalemia. Electrocardiography recordings in the examined dogs were abnormal. Prolonged QT intervals, depression of ST segments and the appearance of a paroxysmal, polymorphous type of ventricular tachycardia were also recorded.

Keywords: dogs, acetazolamide

Acetazolamid – 5-acetamido-1,3,4-tiadiazolo 2-sulfonamid należy do inhibitorów anhidrazy węglanowej katalizującej odwracalną reakcję hydratacji dwutlenku węgla. U wyższych kręgowców wykryto 13 izoenzymów anhidrazy węglanowej, charakteryzujących się różnym rozmieszczeniem w tkankach i komórkach, właściwościami kinetycznymi i podatnością na działanie inhibitorów (16, 17, 21, 23). Hydratacja i dehydratacja dwutlenku węgla są kluczowymi reakcjami w takich procesach, jak: oddychanie, reabsorpcja wodorowęglanów w nerkach (zakwaszanie moczu), wytwarzanie cieczy wodnistej gałki ocznej, płynu mózgowo-rdzeniowego oraz sekrecji płynów w przewodzie pokarmowym (9, 13).

Acetazolamid znalazł szerokie zastosowanie terapeutyczne w weterynaryjnej praktyce klinicznej jako łagodnie działający diuretyk, środek korygujący zaburzenia powstałe w kwasicy metabolicznej i lek wspomagający w zwalczaniu padaczki psów (13). Ponadto, stosowany jest jako skuteczny środek terapeutyczny w obniżaniu ciśnienia śródgałkowego w przebiegu jaskry (9). Pozytywne wyniki leczenia acetazolamidem były powodem podjęcia badań nad jego przydatnością w zwalczaniu wielu schorzeń, m.in. wodo-

głowia u psów (12), ostrego zapalenia trzustki i okresowego porażenia hiperkalemicznego. W eksperymentalnych badaniach na myszach stwierdzono, że acetazolamid, zmniejszając ekspresję białka kanału wodnego – akwaporyny 1 (AQP-1) i blokując angiogenezę nowotworową, w istotny sposób hamuje przerzuty nowotworowe. Wyniki powyższych badań dają podstawę do rozważań nad wykorzystaniem tego sulfonamidu w leczeniu raka (25).

Leki hamujące anhidrazę węglanową zmniejszają resorpcję zwrotną anionów wodorowęglanowych, wydalanych z moczem wraz z kationami sodu i potasu. Sprowadza to sytuację, w której może dojść do kaliurii i zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej z objawami kwasicy metabolicznej (10). Obniżenie poziomu potasu w ustroju, z towarzyszącą kwasicą, wpływa na pracę komórek mięśnia sercowego. Zmiany w elektrokardiogramie towarzyszące hipokalemii, obserwowane u ludzi (4, 7, 20) i przebiegające z obniżeniem amplitudy załamka T, odcinka ST i występowaniem fali U, nie zawsze są stwierdzane u psów (6, 24).

Coraz szersze stosowanie acetazolamidu w terapii psów oraz niepełne poznanie działania ubocznego tego

leku, skłoniło autorów pracy do podjęcia badań w tym zakresie. Celem badań było określenie wpływu krótkotrwałej, doustnej terapii dużymi dawkami acetazolamidu, na parametry równowagi kwasowo-zasadowej i elektrolitowej oraz elektrokardiogram psów.

Materiał i metody

Badania kliniczne, elektrokardiograficzne i laboratoryjne przeprowadzono u 10 zdrowych psów, 5 samców i 5 samic, w wieku 2-4 lat, mieszańców. Zwierzętom podawano doustnie Diuramid-Polpharma S.A. (acetazolamid 250 mg, skrobia ziemniaczana, talk, skrobiowy glikolan sodu) w dawce 30 mg/kg m.c., dwa razy dziennie, przez 3 kolejne dni. Od zwierząt doświadczalnych 2-krotnie pobierano krew z tętnicy udowej – przed podaniem leku (badanie kontrolne) oraz po podaniu leku (4. dzień doświadczenia). W krwi tętniczej oznaczano parametry równowagi kwasowo-zasadowej: pH, ciśnienie cząstkowe dwutlenku węgla ($p\text{CO}_2$), ciśnienie cząstkowe tlenu ($p\text{O}_2$), stężenie jonów wodorowęglanowych (HCO_3^-), nadmiar lub niedobór zasad (BE), stopień wysycenia tlenem (O_2SAT) i całkowitą zawartość dwutlenku węgla (ctCO_2). Wskaźniki te oznaczano przy użyciu analizatora Corning 248. Za pomocą aparatu Easy Lyte plus, metodą jonoselektywną oznaczano w surowicy krwi tętniczej stężenia sodu (Na^+), potasu (K^+) oraz chlorków (Cl^-). Badania elektrokardiograficzne przy użyciu aparatu BTL-08 MT ECG wykonywano dwukrotnie: w badaniu kontrolnym i w 4. dniu doświadczenia. Wyniki badań poddano analizie statystycznej za pomocą testu NIR (planowane porównanie) w programie Statistika 6.0.

Wyniki i omówienie

Badania obejmowały parametry równowagi kwasowo-zasadowej oraz stężenia elektrolitów we krwi tętniczej psów doświadczalnych będących na czczo, przed podaniem oraz po 3 dniach podawania acetazolamidu (tab. 1). Wykonanie badań na psach przed pierwszym karmieniem spowodowane było doniesieniami, w których dowiedziono, że w okresie do 2 godz. po nakarmieniu dochodzi do efektu alkalizacji krwi, związanej z wydzielaniem kwasu solnego w żołądku (18).

Średnie wartości pH krwi tętniczej w badaniach własnych u psów po 3 dniach podawania leku, wykazały statystycznie istotny spadek. Należy to tłumaczyć inhibicyjnym działaniem użytego preparatu na anhidrazę węglanową, znajdującą się w rąbku szczoteczko-

wym luminalnej powierzchni komórek bliższego odcinka kanalików nerkowych oraz w obrębie samych komórek cewkowych (3). Anhidraza węglanowa katalizuje reakcję uwodnienia CO_2 do kwasu węglowego, dysocjującego na H^+ i HCO_3^- . Resorpcja zwrotna przesączonych wodorowęglanów zachodzi dzięki wydzielaniu jonów wodorowych z komórek kanalikowych do światła kanalika. Jon wodorowy (H^+), łącząc się z anionem wodorowęglanowym, tworzy kwas węglowy, ten z kolei ulega dehydratacji pod wpływem anhidrazy, tworząc H_2O i CO_2 . Po podaniu inhibitora tego enzymu następuje przewaga procesu tworzenia się H_2CO_3 nad jego rozpadem. Konsekwencją tego jest nadmierna ekskrecja nerkowa jonów wodorowęglanowych i wody (22). Stwierdzono to w badaniach własnych, wykazując statystycznie wysoko istotne obniżenie stężenia HCO_3^- we krwi. Wchłanianie zwrotne ok. 80-85% wodorowęglanów odbywa się w kanalikach bliższych nerek, pozostała ilość wchłania się w kanalikach dalszych i zbiorczych. Po zablokowaniu anhidrazy węglanowej, zahamowana zostaje reakcja hydratacji CO_2 wewnątrz komórek kanalików nerkowych, z następowym zmniejszeniem wydzielania jonów wodorowych do światła kanalika i sprzężonego z nim wchłaniania wodorowęglanów. To zahamowanie dotyczy głównie kanalików proksymalnych (15). Potwierdzeniem deficytu zasad we krwi były ujemne wartości wskaźnika BE w grupie psów, które otrzymywały acetazolamid.

Wyniki badań wykonanych u mięsożernych wskazują na rolę anhidrazy węglanowej w kontroli wymiany gazowej (11, 14). Stwierdzono, że odbywa się ona przez izoformy tego enzymu obecne w erytrocytach i w komórkach chemoreceptorów obwodowych kłębków szyjnych (23). Inhibicja aktywności tych izoenzymów powoduje zniesienie wrażliwości chemoreceptorów obwodowych na zmiany zawartości tlenu i dwutlenku węgla we krwi. W badaniach własnych obserwowano spadek ciśnienia parcjalnego CO_2 we krwi psów doświadczalnych pod wpływem stosowania acetazolamidu. Stanowi to wyraz kompensacji oddechowej spadku stężenia wodorowęglanów. Podobne obserwacje poczynili inni autorzy w badaniach przeprowadzonych u psów i kotów (3, 10, 19).

Inni badacze stwierdzili, że inhibicja anhidrazy węglanowej przez acetazolamid zwiększa powinowactwo hemoglobiny dla tlenu, dzięki kontroli nad roz-

Tab. 1. Średnie wartości parametrów równowagi kwasowo-zasadowej we krwi tętniczej oraz stężenia elektrolitów w surowicy ($n = 10$; \sqrt{x})

Wartość badanego parametru	pH	$p\text{CO}_2$ kPa	$p\text{O}_2$ kPa	HCO_3^- act mmol/l	BE	O_2SAT %	ctCO_2 mmol/l	Na^+ mmol/l	K^+ mmol/l	Cl^- mmol/l
Przed podaniem acetazolamidu	7,36 ± 0,05	5,31 ± 1,41	12,31 ± 2,93	20,98 ± 2,93	-3,33 ± 2,25	91,95 ± 13,85	22,13 ± 3,18	147,78 ± 1,77	4,87 ± 0,32	112,58 ± 1,91
Po podaniu acetazolamidu	7,20** ± 0,03	3,96* ± 0,70	14,62 ± 3,03	11,20** ± 1,33	-14,85** ± 1,10	94,90 ± 6,16	12,04** ± 1,44	149,96* ± 1,63	4,03** ± 0,19	120,98** ± 1,70

Objaśnienia: * – różnice istotne przy $p \geq 0,05$; ** – różnice istotne przy $p \geq 0,01$

mieszczeniem dwutlenku węgla i tlenu pomiędzy przestrzeniami gazowymi i płynowymi w organizmie (8). Potwierdziły to wyniki badań własnych, w których średnie nasycenie hemoglobiny tlenem (O_2 SAT), były statystycznie istotnie wyższe u psów po leczeniu acetazolamidem niż u psów z grupy kontrolnej.

Całkowita zawartość dwutlenku węgla ($ctCO_2$) w osoczu składa się z dwutlenku węgla uzyskanego z wodorowęglanów i rozpuszczonego CO_2 . Dlatego po spadku zawartości wodorowęglanów i dwutlenku węgla u badanych psów statystycznie istotnie obniżyła się całkowita zawartość dwutlenku węgla.

Jony sodowe w kanalikach bliższych wchłaniane są z kwaśnym węglanem sodu ($NaHCO_3$). Upośledzone wchłanianie wodorowęglanu sodowego pod wpływem inhibicji anhidrazy węglanowej, jest przyczyną zwiększonego napływu Na^+ do części dalszej kanalika i nasilonej wymiany jonów sodowych na jony potasowe, w tym odcinku nefronu. W przypadku, gdy mechanizm oszczędzania sodu nie jest wystarczający i dojdzie do zubożenia ustroju w sód, następuje aktywacja układu renina–angiotensyna–aldosteron i objawów wtórnego hiperaldosteronizmu, a zwłaszcza hipokalemii (15). Obniżone stężenie potasu w surowicy może być przyczyną zmniejszonej ekspresji akwaporyny-2 kanałów wodnych rdzenia nerek, uruchamiając mechanizm upośledzonego wchłaniania wody w cewkach dystalnych (2). W badaniach własnych u psów doświadczalnych były obserwowane te zjawiska, mające swoje odzwierciedlenie w zwiększeniu średnich wartości stężenia sodu, wysoce istotnym spadku koncentracji potasu i nasileniu diurezy.

Leczenie acetazolamidem spowodowało statystycznie istotny wzrost zawartości jonów chlorkowych w surowicy psów. Stan ten można wytłumaczyć prawem elektroobojętności płynów ustrojowych, w tym przypadku odnosi się to do kompensacyjnego wzrostu stężenia chlorków, następującego po utracie zasad buforowych wydalanych z moczem i po resorpcji sodu w kanalikach nerkowych z $NaCl$ (10).

Zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej i gospodarki wodno-elektrolitowej spowodowane stosowaniem acetazolamidu wpłynęły negatywnie na pracę mięśnia sercowego, co zostało udokumentowane na elektrokardiogramach badanych psów. Decydującym czynnikiem oddziałującym na serce była ciężka



Ryc. 1. Wielokształtny częstokurcz komorowy (torsades de pointes); odprowadzenie II

kwasica metaboliczna oraz obniżony poziom potasu w surowicy. Kwasica wywołuje zmniejszenie kurczliwości mięśnia sercowego (20). Mechanizm depresyjnego wpływu obniżonego pH krwi na kurczliwość mięśnia sercowego jest bardzo złożony i polega na kompetycji H^+ z Ca^{2+} o wiązanie z troponiną, z następującym upośledzeniem interakcji aktyny z miozyną. Stwierdzono również, że pod wpływem zwiększonego stężenia jonów wodorowych następuje zmniejszenie uwalniania jonów wapniowych przez siateczkę śródplazmatyczną (24). Na szczególną uwagę zasługuje wpływ kwasicy na układ żylny, przejawiający się zwiększonym wydzielaniem amin katecholowych i powodujących skurcz naczyń. Staje się to przyczyną wzrostu ciśnienia w krążeniu płucnym i przeciążeniem serca prawego (7).

Badania przeprowadzone przez Spitzera i wsp. (21) na izolowanych kardiomiocytach królika wykazały, że za homeostazę wewnątrzkomórkową jonów wodorowych odpowiada układ buforowy CO_2/HCO_3^- katalizowany przez anhidrazę węglanową. Wymienieni autorzy postulują, że jest to główna funkcja tego enzymu w komórkach mięśnia sercowego. Inhibicja anhidrazy przez acetazolamid wywołała wewnątrzkomórkową kwasicę metaboliczną ze wszystkimi następstwami z nią związanymi. Potwierdza to niekorzystny wpływ tego leku na pracę mięśnia sercowego, jaki obserwowano w badaniach własnych.

Symptomatologia hipokalemii jest wywołana zmianą przezbłonowego potencjału spoczynkowego, będącego przyczyną hiperpolaryzacji błon komórkowych mięśnia sercowego (1, 5). Wydłuża to czas repolaryzacji komórek, w elektrokardiogramie badanych psów objawiający się wydłużeniem odstępu Q-T. Ponadto, obniżenie stężenia potasu w płynie pozakomórkowym włókien układów bodźcotwórczego i przewodzącego serca powoduje przyspieszenie i skrócenie czasu trwania depolaryzacji diastolicznej oraz obniżenia progu

pobudliwości mięśnia sercowego (6, 7). W tej sytuacji mogą powstawać wczesne i późne potencjały następcze, prowadzące do zaburzeń rytmu serca na tle aktywności wzbudzonej. Następstwem są pojawiające się przedwczesne skurcze komorowe, częstoskurcze komorowe, a nawet migotanie komór (4, 24). U jednego z psów doświadczalnych, z ciężką kwasicą metaboliczną (pH = 7,249), u którego nastąpiło najbardziej znamienne obniżenie stężenia potasu we krwi z 5,30 mmol/l do 3,67 mmol/l, zaobserwowano charakterystyczną arytmie w postaci napadowego, wielokształtnego częstoskurczu komorowego zwanego torsades de pointes (ryc. 1). U innych psów, oprócz wydłużenia odstępu Q-T ($x = 0,340$ s) w porównaniu z elektrokardiogramami przed podaniem leku ($x = 0,190$ s), stwierdzono zaburzenia rytmu serca i obniżenie odcinka S-T, świadczące o przeciążeniu mięśnia sercowego.

Charakter zaburzeń po pobudzeniu elektrycznym serca zależy nie tylko od wielkości zmian stężenia potasu w płynie pozakomórkowym, lecz także od szybkości powstawania zmian. Nawet niewielkie zmiany stężenia potasu, zachodzące w niekorzystnych dla ustroju warunkach (np. w śpiączce cukrzycowej, po zabiegach operacyjnych lub zaburzeniach równowagi kwasowo-zasadowej), mogą spowodować znaczne zaburzenia w pobudliwości i przewodnictwie mięśnia sercowego (1, 7). Znalazło to potwierdzenie w badaniach własnych, gdy obserwowane zmiany w pracy serca wywołane były przez różne czynniki towarzyszące.

Reasumując, można stwierdzić, że acetazolamid podawany psom w dużych dawkach i przez krótki okres powodował statystycznie istotny spadek pH, ciśnienia cząstkowego dwutlenku węgla, stężenia wodorowęglanów we krwi oraz jonów potasowych w surowicy. Ponadto powodował wzrost stężenia jonów chlorkowych i sodowych w surowicy zwierząt. Zapisy elektrokardiogramu u leczonych acetazolamidem psów były nieprawidłowe i polegały na wydłużeniu odstępu Q-T, obniżeniu odcinka S-T i wystąpieniu napadowych, różnokształtnych częstoskurczów komorowych.

Wnioski

Uzyskane wyniki upoważniają do postawienia następujących wniosków:

1. Krótkotrwała terapia acetazolamidem może wywołać u psów hiperchloremiczną, niewyrównaną kwasicę metaboliczną.

2. Kwasica metaboliczna powstała po inhibicji anhidrazy węglanowej przebiega z hipokalemią.

3. Zaburzenia parametrów równowagi kwasowo-zasadowej i gospodarki wodno-elektrolitowej prowadzą do zaburzeń rytmu serca.

Piśmiennictwo

- Akita M., Kuwahara M., Tsubone H., Sugano S.: ECG changes during furosemide-induced hypokalemia in the rat. *J. Electrocardiol.* 1998, 31, 45-49.
- Agre P., King L. S., Yasui M., Guggino W. M., Ottersen O. P., Fujiyoshi Y., Engel A., Nielsen S.: Aquaporin water channels – from atomic structure to clinical medicine. *J. Physiol.* 2002, 542, 3-16.
- Cardenas V. Jr., Heming T., Bidani A.: Kinetics of CO₂ excretion and intravascular pH disequilibrium during carbonic anhydrase inhibition. *J. Appl. Physiol.* 1998, 84, 683-694.
- Chvilicek J. P., Hurlbert B. J., Hill G. E.: Diuretic-induced hypokalemia inducing torsades de pointes. *Can. J. Anaesth.* 1995, 42, 1137-1139.
- Doyle D. A., Cabral J. M., Pfuetzner R. A., Kuo A., Gulbis J. M., Cohen S. L., Chait B. T., MacKinnon R.: The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity. *Science* 1998, 280, 69-77.
- Finley M. R., Lillich J. D., Gilmour R. F., Freeman L. C.: Structural and functional basis for the long QT syndrome: relevance to veterinary patients. *J. Vet. Int. Med.* 2003, 17, 473-488.
- Foglia P. E., Bettinelli A., Tosetto C., Cortesi C., Crosazzo L., Edefonti A., Bianchetti M. G.: Cardiac work up in primary renal hypokalaemia-hypomagnesaemia (Gitelman syndrome). *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004, 19, 1398-1402.
- Gai X., Taki K., Kato H., Nagaishi H.: Regulation of hemoglobin affinity for oxygen by carbonic anhydrase. *J. Lab. Clin. Med.* 2003, 142, 414-420.
- Gelatt K. N., MacKay E. O.: Changes in intraocular pressure associated with topical dorzolamide and oral methazolamide in glaucomatous dogs. *Vet. Ophthalmol.* 2001, 4, 61-67.
- Haskins S. C., Munger R. J., Helphrey M. G., Gilroy B. A., Patz J. D., Steele M. D., Shapiro W.: Effects of acetazolamide in blood acid-base and electrolyte values in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1981, 179, 792-796.
- Hohne C., Krebs M. O., Seiferheld M., Boemke W., Kaczmarczyk G., Swenson E. R.: Acetazolamide prevents hypoxic pulmonary vasoconstriction in conscious dogs. *J. Appl. Physiol.* 2004, 97, 515-521.
- Itoh T., Nishimura R., Matsunaga S., Kadosawa T., Mochizuki M., Sasaki N.: Syringomyelia and hydrocephalus in dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996, 209, 934-936.
- Javaheeri S.: Acetazolamide and cerebrospinal fluid ions in dogs with normal acid-base balance. *Respir. Physiol.* 1987, 69, 257-266.
- Kohshi K., Kinoshita Y., Fukata K.: Brain pH responses to acetazolamide and hypercapnia in cats. *Neurol. Med. Chir.* 1997, 37, 313-318.
- Langberg H., Hartman A., Kiil F.: Inhibitory effect of acetazolamide on renal tubular reabsorption of NaHCO₃ and NaCl in dogs varies inversely with plasma pH. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1985, 234, 747-753.
- Lehtonen J. M., Parkkila S., Vullo D., Casini A., Scozzafava A., Supuran C. T.: Carbonic anhydrase inhibitors. Inhibition of cytosolic isozyme XIII with aromatic and heterocyclic sulfonamides: a novel target for the drug design. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 3757-3762.
- Maren T. H.: Carbonic anhydrase: chemistry, physiology, and inhibition. *Physiol. Rev.* 1967, 47, 597-765.
- Ozaki J., Tanimoto N., Kuse H., Hori M.: Comparison of arterial blood gases and acid-balance in young and aged beagle dogs, with regard to postprandial alkaline tide. *J. Toxicol. Sci.* 2000, 25, 205-211.
- Pomianowski A., Kuleta Z., Stopyra A., Sobiech P.: Badania parametrów równowagi kwasowo-zasadowej i składu jonowego we krwi tętniczej, żylniej i włosniczkowej psów zdrowych. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 519-522.
- Poole-Wilson P. A.: Acidosis and contractility of heart muscle. *Ciba Found. Symp.* 1982, 87, 58-76.
- Spitzer K. W., Skolnick R. L., Percy B. E., Keener J. P., Vaughan-Jones R. D.: Facilitation of intracellular H⁺ ion mobility by CO₂/HCO₃⁻ in rabbit ventricular myocytes is regulated by carbonic anhydrase. *J. Physiol.* 2002, 541, 159-167.
- Stokke E. S., Naess P. A., Ostensen J., Langberg H. C., Kiil F.: Plasma potassium concentration as a determinant of proximal tubular NaCl and NaHCO₃ reabsorption in dog kidneys. *Acta Physiol. Scand.* 1993, 148, 45-54.
- Teppema L. J., Dahan A., Oliveier C. N.: Low-dose acetazolamide reduces CO₂-O₂ stimulus interaction within the peripheral chemoreceptors in the anaesthetized cat. *J. Physiol.* 2001, 537, 221-229.
- Vera Z., Janzen D., Desai J.: Acute hypokalemia and inducibility of ventricular tachyarrhythmia in a nonischemic canine model. *Chest.* 1991, 100, 1414-1420.
- Xiang Y., Ma B., Li T., Gao J., Yu H., Li X.: Acetazolamide inhibits aquaporin-1 protein expression and angiogenesis. *Acta Pharmacol. Sin.* 2004, 25, 812-816.

Adres autora: dr Andrzej Pomianowski, ul. Dworcowa 45/55, 10-437 Olsztyn; e-mail: apomian@uwm.edu.pl