

Adrenalin ile kastırılan sıçan torasik aortasına östrojenin etkisi

Influence of estrogen on adrenalin-contracted aorta in rats

Ayşegül Küçük,

Dr., PhD.
Department of Physiology,
Hospital of Dumlupınar University,
kucukaysegul@hotmail.com

Seda Çiçek,

Dr., MD.
Department of Physiology,
Erciyes University Medical Faculty,

Nurcan Dursun,

Prof. Dr., PhD.
Department of Physiology,
Erciyes University Medical Faculty,
dursun@erciyes.edu.tr

Cem Süer,

Prof. Dr., MD.
Department of Physiology,
Erciyes University Medical Faculty,
suer@erciyes.edu.tr

This manuscript can be downloaded from the webpage:
[http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29\(2\)097-100.pdf](http://tipdergisi.erciyes.edu.tr/download/2007;29(2)097-100.pdf)

Submitted : August 3, 2006
Revised : November 7, 2006
Accepted : March 2, 2007

Corresponding Author:

Nurcan Dursun
Department of Physiology,
Erciyes University Medical Faculty,
38039, Kayseri, Turkey

Telephone : +90 352 4374901 - 23306
E-mail : dursun@erciyes.edu.tr

Özet

Amaç: Bu çalışmada, in vitro şartlarda (organ banyosunda) 10^{-6} M 17 β -östradiol ile inkübe edilen sıçan torasik aortasının banyo konsantrasyonları 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M olan kümülatif adrenalin dozlarına verdiği cevapların araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlar eter ile anestezi edildikten sonra, torasik aortaları 5-6 mm uzunluğunda halkalar şeklinde kesildi. Kasılma ya da gevşeme cevaplarını elde etmek için aortadan 2 paslanmaz çengel geçirilip, halkalardan biri 10 ml'lik organ banyosuna, diğeri kuvvet transduserine bağlandı. 17 β -östradiol, organ banyo konsantrasyonu 10^{-6} M olacak şekilde eklendi, daha sonra banyo konsantrasyonları 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M olan adrenalinin damar üzerine kümülatif etkisi kaydedildi. Aynı işlemler 17 β -östradiol olmadan da yapıldı. Damar gerim değişiklikleri kuvvet çevireci aracılığı ile elektriksel sinyallere dönüştürülerek, DC preamplifier (MP30B-EC) ile büyütüldü, veri kazanım sistemi ile analiz edildi.

Bulgular: In vitro şartlarda sıçan torasik aortasının farklı dozlardaki adrenaline verdiği kasılma yanıtları, östrojen hormonu varlığında azalmış fakat bu azalma sadece 10^{-7} M adrenalin dozunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç: In vivo çalışmada östradiolün adrenalinin kasılma neden olan etkisinde yaptığı artışın in vitro damar çalışmasında gösterilememesi nedenleri, sıçanların overektomize edilmemiş olması veya östradiolün adrenalin cevaplarına yaptığı etkinin damar farklılığı ile değişebilmesi olabilir. Her damar yatağında vazokonstriktör reseptör yoğunluğu, tipi, sentez ettiği vazokonstriktör veya vazodilatör ajanlar farklı olabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: **Epinefrin; Östrodiol; Ratlar; Torasik aorta.**

Abstract

Purpose: In this study we aimed to investigate the effects of estradiol on adrenaline contracted rat thoracic aorta in in-vitro conditions.

Material and Methods: The rats were anesthetized with ether, and the thoracic aorta was cut into rings of about 5-6mm long. The contractile and relaxing responses were measured by suspending the rings between 2 hooks, one of which was attached to the end of a 10 ml tube and the other to a force transducer. Organ bath concentration fixed to 10^{-6} M, then 17 β -estradiol added to the bath. 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} and 10^{-5} M cumulative doses of adrenaline on vessels recorded. Signals were amplified with a DC preamplifier (MP30B-EC), analyzed by data acquisition system and recorded using BSL PRO 3.6.7 program.

Results: In in-vitro conditions estrogen treatment decreased different doses of adrenaline induced contraction in thoracic aorta, however significant decreases were only found in doses of 10^{-7} M adrenaline dose.

Conclusion: The reason why the contractile effect of adrenaline increased with estrogen in in-vivo c but not in in-vitro conditions may be due to the fact that the number of receptors, receptor types, and the vasodilator and vasoconstrictor agents may vary in different vessels.

Key Words: **Aorta, thoracic; Epinephrine; Estradiol; Rats.**

Giriş

Üretken dönemdeki kadınların erkeklerden daha az kardiyovasküler hastalık (KVH) insidansına sahip olması (1,2), menopozdan sonra ise her iki cinsiyetteki KVH insidansının birbirine yakın olması (3,4), östradiolün kardiyoprotektif etkisine bağlanmaktadır (5). Hormonun bu yararlı etkisini ortaya koyan pek çok çalışma bulunmaktadır. Östradiolün ateroskleroza azaltıcı (6), kan basıncını düşürücü (7) ve koroner arter reaktivitesini modüle edici etkilerinin (8) olduğu belirlenmiştir.

Oral kontraseptif olarak kullanılan yüksek doz östradiolün kardiyovasküler hastalık oluşturma riskini artırması (1) ise hormonun kalsiyum homeostazisini, vazoaaktif maddelerin damardan sentezlenme ya da bunlara damarların cevaplarını etkilemesine bağlanmıştır (9). Daha önceki çalışmamızda, overektomize edildikten sonra östrojen replasmanı yapılan ve yapılmayan sıçanlara in vivo verilen adrenalinin kan basıncını artırıcı etkisi gruplar arasında önemli bir farklılık göstermemiş, hatta östrojen replasmanlı grupta kan basıncı değerleri adrenalin ile biraz daha yüksek bulunmuştur (10).

Bu çalışmada, in vitro şartlarda sıçan torasik aortasının adrenaline verdiği cevap üzerine östradiolün etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlığı 200-250 g olan 15 adet beş aylık dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı (Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi). Hayvanlar eter ile anestezi edildi, göğüs orta hattan açıldı, arkus aortadan başlamak üzere torasik aorta kesildi, vücut dışına çıkarılarak oksijenlendirilmiş soğuk Krebs-Henseleit (mM olarak, NaCl, 118.0g; KCl, 4.7; CaCl₂, 2.5; MgSO₄, 1.2; KH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃, 25.0; Glukoz 11.0; pH 7.4) solüsyonuna konuldu. Etraf dokularından temizlenen aorta, 5-6 mm uzunluğunda halkalar şeklinde kesildi. Aortik halkadan çengel geçirilip, halka horizontal olarak kesildi ve 10 ml'lik organ banyosuna alındı. İçinde Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan organ banyosu 37 °C de tutularak, % 5 CO₂, % 95 O₂ karışımı ile gazlandırıldı. Aort preparatına takılan çelik halkalardan biri, kuvvet-geri dönüşüm çevireci (FDT 05) diğeri de organ banyosuna tutunmayı sağlayacak uca sabitlendi. Aortik preparat, deney başlangıcında 1 g gerim ile bir saat süresince dengelenmesi için bekletildi, bu bekletilme süresi içerisinde banyo ortamındaki solüsyon 15'er dakika aralıklarla değiştirildi. Bir saatlik dinlenme süresi sonunda ve deney

bitiminde KCl ile kastırılan damar preparatları daha sonra asetilkolin ile gevşetilerek damar endoteli ve damarın kas yapısının hasarsız olduğu tesbit edildi.

17 β -östradiol (β -estradiol, 1,3,5 10-estratriene-3, 17 β -diol), dimetil sülfoksitte (DMSO) çözüldü. DMSO'nun banyo konsantrasyonunun %0.1 olması sağlandı. Bu dozda DMSO'nun damar preparatına hiçbir etkisinin olmadığı tesbit edildi. 17 β -östradiol, organ banyo konsantrasyonu 10⁻⁶ M olacak şekilde eklenerek, banyo konsantrasyonları 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶ ve 10⁻⁵ M olan adrenalinin damar üzerine kümülatif etkisi kaydedildi. Aynı işlemler 17 β -östradiol olmadan da yapıldı. Damar gerim değişiklikleri force-displacement transducer aracılığı ile elektriksel sinyallere dönüştürüldü, DC preamplifier (MP30B-EC) ile büyütülen sinyaller veri kazanım sistemi ile analiz edilip BSL PRO 3.6.7. program ile kaydedildi. İstatistiksel değerlendirme Student's t-testi ile yapılarak sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi.

Bulgular

Torasik aorta organ banyosunda östrojen hormonu bulunduğu, adrenalinin kümülatif uygulanması ile oluşan kasılma cevapları östradiolün bulunmadığı grupların adrenalin cevapları ile karşılaştırılmıştır. Sadece 10⁻⁷ M adrenalin dozunun oluşturduğu kasılma cevapları östrojen uygulanan damarda istatistiksel anlamda düşük bulunmuştur (Tablo I, Şekil 1).

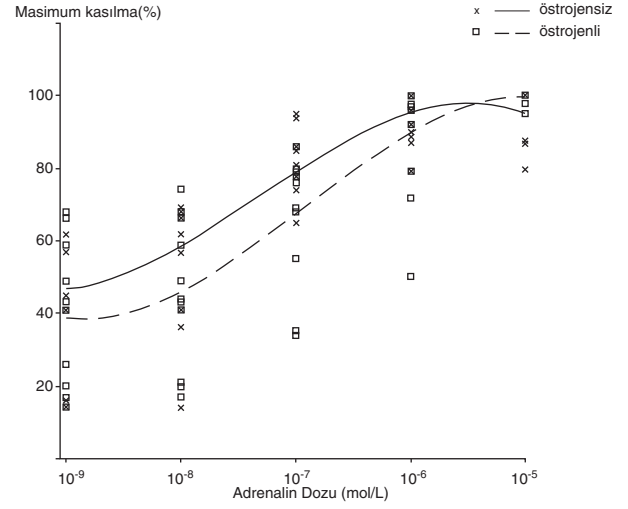
Tartışma

Sunulan çalışmada overektomize edilmemiş sıçan torasik aortasının farklı dozlardaki adrenalin ile kasılma cevaplarını, fizyolojik dozdaki (10⁻⁶ M) östrojenin azalttığı, istatistiksel farklılığın ise sadece 10⁻⁷ M adrenalin dozunda olduğu gözlenmiştir.

Daha önceki bir çalışmamızda, overektomize edildikten sonra östrojen replasmanı yapılan ve yapılmayan sıçanlara in vivo verilen adrenalinin kan basıncını artırıcı etkisi gruplar arasında önemli bir farklılık göstermemiş, hatta östrojen replasmanlı grupta kan basıncı değerleri adrenalin ile biraz daha yüksek bulunmuştur (10). Honda ve arkadaşları (11) diöstrusdaki dişi sıçanlara 3 gün östradiol replasmanının, aort damarında izoprenalinin oluşturduğu gevşetici etkiyi suprese ettiğini göstermiştir. Araştırmacılar sonuçlarını, östradiolün β -adrenoreseptör aracılı gevşemeyi inhibe ettiği, bu etkiyi de β reseptörlerin nitrik oksit salgılatma mekanizmalarını inhibe ederek değil, sitokrom P450 metabolitlerini değiştirme yoluyla yapabileceği şeklinde yorumlamışlardır (11).

Overektomize edilen sıçanlara yüksek doz östrojen verilmesinin torasik aortanın noradrenalin (NA) cevaplarını artırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada düşük doz östradiolün damar NA cevaplarını etkilemediği belirtilmektedir (12). Benzer sonuçlar sıçan mezenterik arterinde (13) tavuk ovidukt arterlerinde de gösterilmiştir (14). Bolego ve arkadaşları (15) overektomize sıçanlarda düşük doz östrojen replasmanının aortadan NO salınımını artırdığı, yüksek dozlarda ise NO salınımını azalttığı, bunun yanında vazokonstriktör ajanların yapım ve salınımını artırdığını bildirmiştir.

Sonuç olarak in vitro şartlarda sıçan torasik aortasının farklı dozlardaki adrenaline verdiği kastırıcı cevapları, östrojen hormonu tarafından azaltmış fakat bu azalma sadece 10^{-7} M adrenalin dozunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. In vivo çalışmada östradiolün adrenalinin kastırıcı etkisinde yaptığı artışın in vitro damar çalışmasında gösterilememesi nedenlerinden birisi, sıçanların overektomize edilmemiş olması olabilir. İkincisi östradiolün adrenalin cevaplarına yaptığı etki damar farklılığı ile değişebilir. Her damar yatağındaki vazoaaktif maddelerin reseptör yoğunluğu, tipi, sentez ettiği vazokonstriktör veya vazodilatatör ajanlar farklı olabilmektedir (16). Üçüncü neden ise, damarın östradiol ile muamele edilme süresinin yetersizliği olabilir.



Şekil 1. Östrojenli (10^{-6} M) ve östrojensiz banyo ortamına eklenen adrenalin kümülatif dozlarının (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M) oluşturduğu torasik aorta cevapları (Her grup için n=11).

Tablo I. Östrojenli (10^{-6} M) ve östrojensiz banyo ortamına eklenen adrenalin kümülatif dozlarının (10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} ve 10^{-5} M) oluşturduğu torasik aorta cevaplarının ortalamaları, standart sapmaları ve p değerleri.

Adrenalin Konsantrasyonu	Östrojenli (10^{-6} M) n=11 X±SD	Östrojensiz n=11 X±SD	p
10^{-9} M	39,0±19,7	47,6±19,3	>0,05
10^{-8} M	45,6±20,0	54,5±17,0	>0,05
10^{-7} M	67,8±18,6	84,8±11,0	<0,05
10^{-6} M	89,4±16,1	91,3±7,6	>0,05
10^{-5} M	99,3±1,5	95,9±7,2	>0,05

Kaynaklar

1. Waldron I. *Why do women live longer than men?*. *J Human Stress* 1976; 2:2–13.
2. Benetos A, Rudnichi A, Thomas F, Safer M, Guize L. *Influence of heart rate on mortality in a French population. Role of age, gender, and blood pressure.* *Hypertension* 1999; 33:44–52.
3. Schillaci G, Verdecchia P, Borgioni C, Ciucci A, Porcellati C. *Early cardiac changes after menopause.* *Hypertension* 1998; 32:764–769.
4. Swahn E. *The care of patients with ischaemic heart disease from a gender perspective.* *Eur Heart J* 1998; 19:1758–1765.
5. Le Tran Y, Fung A, Forster C. *Role of gender and vascular endothelium in rat aorta response to 17 β -estradiol.* *Can J Physiol Pharmacol* 1997; 75:1393–1397.
6. Nascimento CA, Kauser K, Rubanyl GM. *Effect of 17 β -estradiol in hypercholesterolemic rabbits with severe endothelial dysfunction.* *Am J Physiol* 1999; 276:H1788–1794.
7. Nabulsi AA, Folsom AR, White A, et al. *Association of hormone-replacement therapy with various cardiovascular risk factors in post-menopausal women.* *N Eng J Med* 1993; 328:1069–1075.
8. Minshall RD, Stanczyk FZ, Miyagawa K, et al. *Ovarian steroid Protection against coronary artery hyperractivity in rhesus monkeys.* *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:649-659.
9. White MM, Zamudio S, Stevens T, et al. *Estrogen, progesterone, and vascular reactivity: potential cellular mechanisms.* *Endoc Rev* 1995; 16:739–751.
10. Dursun N, Güneş I, Süer C, et al. *Östrojenin kardiyovasküler etki mekanizmasını araştırmada ekzojen adrenalin ve sodyum nitroprussid cevapları.* *TFBD 27. Ulusal Fizyoloji Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı 2001; s135.*
11. Honda H, Yamaguchi K, Kogo H. *17 β -Estradiol alters isoproterenol-induced relaxation in rat aortic rings.* *Jpn J Pharmacol* 1998; 77 :311-313
12. Bento AC, De Moraes S. *Effects of estrogen pretreatment of the spare $\alpha 1$ -adrenoceptors and the slow and fast components of the contractile response of the isolated female rat aorta.* *Genl Pharmacol* 1992; 23:65–70.
13. Colucci WS, Gimbrone MA Jr, McLaughlin MK, Halpern W, Alexander RW. *Increased vascular catecholamine sensitivity and alpha-adrenergic receptor affinity in female and estrogen-treated male rats.* *Circ Res* 1982; 50:805–811.
14. Ford SP, Reynolds LP, Farley DB, Bhatnagar RK, Van Orden DE. *Interaction of ovarian steroids and periarterial alpha 1-adrenergic receptors in altering uterine blood flow during the estrous cycle of gilts.* *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150:480–484.
15. Bolego C, Cignarella A, Ruzza R, et al. *Differential effects of low and high-dose estrogen treatments on vascular responses in female rats.* *Life Sci* 1997; 60:2291–2302.
16. Sutherland RL, Geynet C, Binart N, et al. *Steroid receptors and effects of oestradiol and progesterone on chick oviduct proteins.* *Eur J Biochem* 1980; 107:155–164.