

DENEYSEL ÇALIŞMA

İzole Sıçan Aort Preparatında Histaminerjik Reseptörler Üzerinden Gerçekleşen Yanıtlarda Damar Endotelinin Rolü^[*]

The Role of Vascular Endothelium on Responses Mediated by Histaminergic Receptors in Isolated Rat Aorta Preparations

Ayşegül ASLANTAŞ, Turhan DOST, Hilal AKIN, Ç. Hakan KARADAĞ, İsmet DÖKMECİ

Amaç: Histaminin izole sıçan aort preparatında oluşturduğu yanıtlar ve damar endotelinin bu yanıtlardaki rolü araştırıldı.

Çalışma Planı: Wistar tipi erkek sıçanlardan (30 adet) alınan torasik aorta segmentleri, içinde Krebs solüsyonu bulunan izole organ banyosuna asılarak kasılma ve gevşeme yanıtları izometrik olarak kaydedildi. Histaminin ve 48/80 maddesinin endoteli sağlam ve tahrip edilmiş preparatlarda kasıcı ve fenilefrin ile önceden kastırılmış preparatlarda gevşetici yanıtları alınarak histamin H₁ reseptör antagonisti feniramin ve H₂ reseptör antagonisti simetidin bu yanıtlar üzerindeki antagonistik etkileri araştırıldı.

Bulgular: Histamin, aort preparatlarında kasılma yanıtı oluşturdu. Histamin H₁-reseptör antagonisti feniramin histaminin kasıcı etkisini önlerken, H₂-reseptör antagonisti simetidin etkisiz kaldı. Önceden fenilefrin ile submaksimal kastırılmış endotelli preparatlarda histamin gevşeme yanıtı oluşturdu, endotelsiz preparatları gevşetmedi. Feniramin endoteli sağlam preparatlardaki gevşeme yanıtlarını önlerken, simetidin herhangi bir etki göstermedi. Mast hücrelerinden histamin salınımını sağlayan 48/80 maddesi kasıcı ya da gevşetici bir etki oluşturmadı.

Sonuç: Histaminin izole sıçan aortasında kasıcı ve endotel bağımlı gevşetici etkisi vardır. Bu etkiler, H₁-reseptörler aracılığı ile gerçekleşmektedir.

Anahtar Sözcükler: Asetilkolin/farmakoloji; aort, torasik/ilaç etkileri; simetidin/farmakoloji; endotel, vasküler/ilaç etkileri; histamin/farmakoloji; kas kontraksiyonu/ilaç etkileri; kas relaksasyonu/ilaç etkileri; kas, düz, vasküler/ilaç etkileri; fenilefrin/farmakoloji; sıçan; reseptör, histamin/ilaç etkileri; vazokonstriksiyon/ilaç etkileri.

Objectives: We investigated histamine-induced responses in isolated rat aorta preparations and the role of vascular endothelium in these responses.

Study Design: Thoracic aorta segments obtained from 30 male Wistar rats were suspended in organ baths containing Krebs solution and isometric contractions and relaxations were recorded. The contractile and the relaxant effects of histamine and compound 48/80 in resting and phenylephrine-precontracted aortic strips were recorded both in endothelium-intact and -denuded preparations. The antagonistic effects of H₁ receptor antagonist, pheniramine, and H₂ receptor antagonist, cimetidine on these responses were investigated.

Results: Histamine per se produced contractile responses in all samples. While pheniramine, histamine H₁-receptor antagonist, prevented histamine-induced contractile responses, cimetidine, H₂-receptor antagonist, had no effect. Histamine produced relaxation in the submaximally contracted endothelial samples by phenylephrine, but no relaxation was observed in preparations without endothelium. Pheniramine prevented the relaxation of preparations with intact endothelium, whereas cimetidine had no effect. Compound 48/80, which releases histamine from mast cells, had no effect on either contraction or relaxation.

Conclusion: Histamine have both a contractile and endothelium-dependent relaxation effect on isolated rat aorta, mediated by H₁-receptors.

Key Words: Acetylcholine/pharmacology; aorta, thoracic/drug effects; cimetidine/pharmacology; endothelium, vascular/drug effects; histamine/pharmacology; muscle contraction/drug effects; muscle relaxation/drug effects; muscle, smooth, vascular/drug effects; phenylephrine/pharmacology; rats; receptors, histamine/drug effects; vasoconstriction/drug effects.

*Bu çalışma Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak (TUBAP 205) desteklenmiştir.

Trakya Üniversitesi, (Aslantaş, Dost, Asist. Dr.; Karadağ, Doç. Dr.; Dökmeci, Prof. Dr.) Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı; (Akın, Yüksek Lisans Öğrencisi) Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı.

İletişim adresi: Dr. İsmet Dökmeci, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, 22030 Edirne

Tel: 0284 - 235 76 42 / 1469 Faks: 0284 - 235 24 76 e-posta: idokmeci@trakya.edu.tr

Çeşitli hayvan türlerine ait izole damar preparatlarının histamine verdiği yanıtlar, değişik araştırma gruplarınca incelenmiştir. Literatürde, farklı hayvan türlerinden elde edilmiş farklı yanıtların yanında,^[1,2] aynı hayvan türlerinden elde edilmiş farklı ve çelişkili sonuçlar da bulunmaktadır.^[3,4] Sıçan aort preparatının histamine duyarlılığı genellikle düşük olarak kabul edilmekle birlikte, Van de Voorde ve Leusen^[1,5] histaminin görece yüksek konsantrasyonlarının (10^{-5} M) endoteli hasara uğratılmış preparatlarda kasılma oluşturduğunu göstermişlerdir.

Bu çalışmada, histaminin izole sıçan aort preparatında oluşturduğu yanıtlar ve damar endotelinin bu yanıtlardaki rolü araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma öncesinde Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı.

Deneylerde, laboratuvarımızda yetiştirilen 250-300 gr ağırlığındaki Wistar tipi 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Eter anestezisi altında sıçanlar kanatılarak öldürüldü; ardından göğüs kafesleri açılarak torasik aortları kesildi ve Krebs solüsyonu içeren bir petri kutusuna alındı. Krebs solüsyonunun (mM) bileşimi NaCl 122, KCl 5, CaCl₂ 1.25, NaHCO₃ 25, MgSO₄ 1.2, KH₂PO₄ 1, glikoz 11.5 şeklindeydi. Dokuların temizlenmesinden sonra, torasik aorttan kesilen 2 milimetre uzunluğundaki halkalar, 37°C'de, karbojen (%95 O₂ + %5 CO₂) ile havalandırılan 30 ml'lik Krebs solüsyonu içeren organ banyosundaki platin kanca ile izometrik transducer'a (FDT10-A, COMMAT, Türkiye) bağlı bir platin askı arasına asıldı; 2 g öngerim uygulandı. Dokunun ortama uyumu için her 10 dakikada bir yıkama yapıldı, öngerim 2 g olarak ayarlanarak 90 dakika bekledi.^[6] Endotelsiz preparatlar hazırlamak amacıyla, içine dişli penset geçirilen aort halkaları, organ banyosuna asılmadan önce yavaşça 10'ar kez sola ve sağa döndürülerek endotel dokusu hasara uğratıldı. Endotelin hasara uğradığını test etmek için fenilefrin (10^{-7} M) ile submaksimal kastırılmış preparatlarda asetilkolin (10^{-6} M) ile gevşeme yanıtının alınıp alın-

madığı araştırıldı;^[7] belirgin gevşeme gösteren preparatlar, yeterli endotel hasarı oluşmadığı için kullanılmadı.

Histaminin tek başına, feniramin veya simetidinin varlığında, endoteli sağlam ve tahrip edilmiş preparatlarda kasılma ve önceden fenilefrinle submaksimal kastırılmış preparatlarda gevşeme doz yanıt eğrileri her biri 10 farklı preparattan oluşan ayrı gruplarda çalışıldı. 48/80 maddesinin kasılma ve gevşeme yanıtları da endotelli ve endotelsiz 10 farklı preparattan oluşan iki grupta incelendi.

Yanıtlar dört kanallı Transducer Acquisition System (COMMAT TDA-97, COMMAT, Türkiye) aracılığı ile bilgisayar ortamına aktarılarak, POLWIN97 programında kaydedildi.

Histamine ait doz yanıt eğrileri kümülatif yöntemle elde edildi. Her bir aorttan sadece bir tane doz yanıt eğrisi alındı. Antagonistler, agonistlerin uygulanmasından yarım saat önce ortama uygulandı. Gevşeme yanıtlarının incelenmesi için preparatlar önceden fenilefrin (10^{-7} M) ile submaksimal olarak kastırıldı.

Deneyde histamin (Sigma), fenilefrin (Sigma), asetilkolin (Sigma), feniramin (Hoechst Marion Roussel), simetidinin (Sanofi-Doğu) ve 48/80 maddesi (Sigma) kullanıldı.

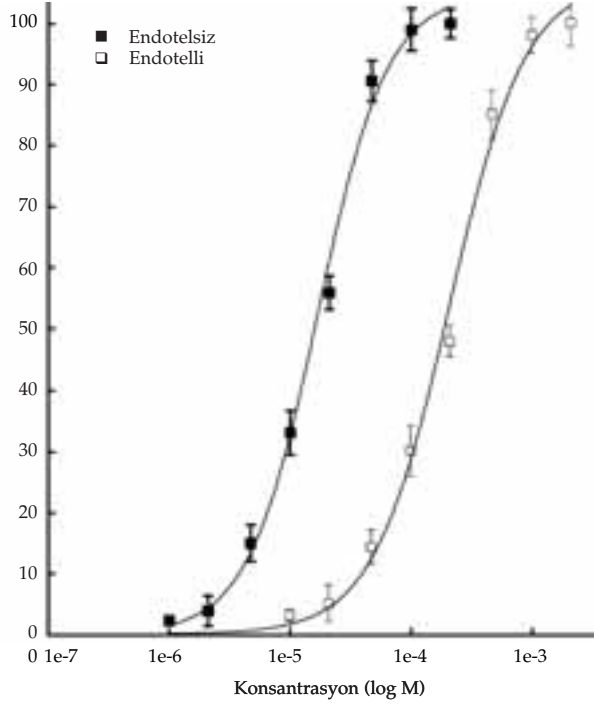
Konsantrasyon-yanıt grafikleri ve EC₅₀ değerleri Origin Version 6 Demo programında elde edildi. İstatistiksel analiz için Student t-testi kullanıldı; p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Histaminle elde edilen kasılma yanıtları

Histamin gerek endotelli, gerekse endotelsiz sıçan aort preparatlarını kasti. Endotelli preparatlarda kasılma daha yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkarken (EC₅₀= 2.1×10^{-4} M), endotelsiz preparatlarda daha düşük konsantrasyonlarda oluştu (EC₅₀= 1.7×10^{-5} M) (Şekil 1).

Histamin H₁-reseptör antagonisti feniramin (10^{-5} M), her iki preparatta da histaminin kasıcı etkilerini antagonize etti (endotelsiz preparatta histamine ait EC₅₀= 9.7×10^{-5} M, endotelli preparatta EC₅₀= 9.7×10^{-5} M) (Şekil 2). Histamin H₂-re-



Şekil 1. Histaminin endotelli ve endotelsiz preparatlarda oluşturduğu konsantrasyon-yanıt eğrileri. İki eğri arasında anlamlı fark vardır ($p<0.05$). Her bir nokta 10 farklı gözlemin ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.

septör antagonisti simetidin ise etkisizdir (endotelsiz preparatta histamine ait $EC_{50}=1.9 \times 10^{-5}$ M, endotelli preparatta $EC_{50}=2.3 \times 10^{-5}$ M).

Histaminle elde edilen gevşeme yanıtları

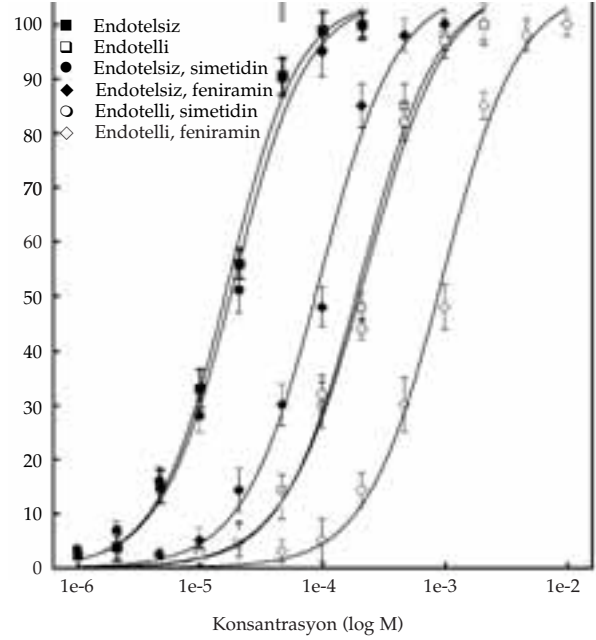
Histamin, önceden fenilefrinle kastrılmış endotelli preparatlarda gevşeme yaptı ($EC_{50}=2.4 \times 10^{-5}$ M); endotelsiz preparatlarda bir etki oluşturmadı (Şekil 3).

Feniramin, histaminin önceden kastrılmış endotelli preparatlarda oluşturduğu bu gevşeme yanıtını antagonize etti (histamine ait $EC_{50}=1.1 \times 10^{-4}$ M), simetidin etkisi olmadı (histamine ait $EC_{50}=2.3 \times 10^{-5}$ M) (Şekil 4).

48/80 maddesi (1 g/ml) ise izole sıçan aort preparatlarında kasılma ya da gevşeme yanıtı oluşturmadı.

TARTIŞMA

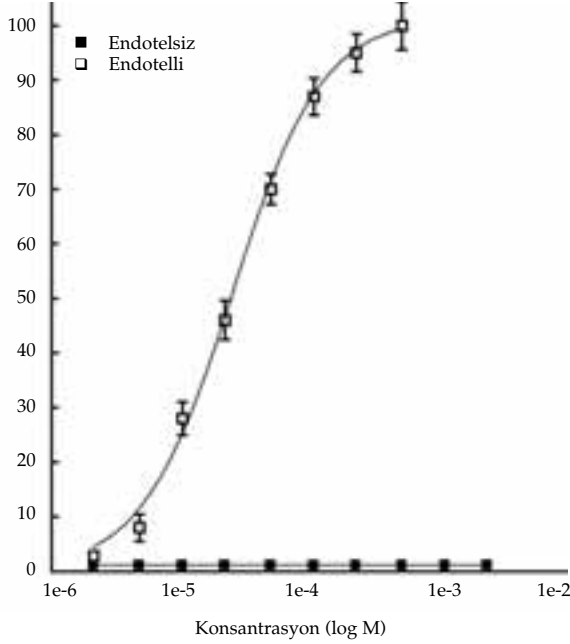
Histamin, endotelli ve endotelsiz preparatlarda kasılma yanıtı oluşturmuş ve bu etki endotel-



Şekil 2. Histaminin endotelli ve endotelsiz preparatlarda simetidin ve feniramin varlığında oluşturduğu konsantrasyon-yanıt eğrileri. Endotelli ve endotelsiz preparatlardaki feniramin varlığında elde edilen eğriler, feniraminsiz kontrol eğrilerinden istatistiksel olarak farklıdır ($p<0.05$). Simetidinle elde edilen eğrilerde anlamlı bir fark yoktur. Her bir nokta 10 farklı gözlemin ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.

siz preparatlarda daha güçlü bir şekilde ortaya çıkmıştır. Histamin, H_1 -reseptör antagonisti feniraminin bu kasıcı etkileri antagonize ederken, H_2 -reseptör antagonisti simetidin antagonistize edememesi, bu kasıcı etkinin H_1 reseptörler üzerinden gerçekleştiği şeklinde yorumlanabilir. Schoeffter ve Godfraind,^[3] histaminin sıçan aort preparatlarında, yüksek konsantrasyonlarda kasıcı bir etki oluşturduğunu ve bu etkide H_1 - ve H_2 -reseptörlerin rol oynamadığını; bu etkinin muhtemelen H_1 -reseptörler aracılığıyla oluştuğunu bildirmişlerdir. Van de Voorde ve Leusen^[1] ise histaminin kasıcı etkisinin, H_1 -reseptörleri aracılığı ile oluştuğunu bildirmişlerdir. Bulgularımız bu son görüşü desteklemektedir.

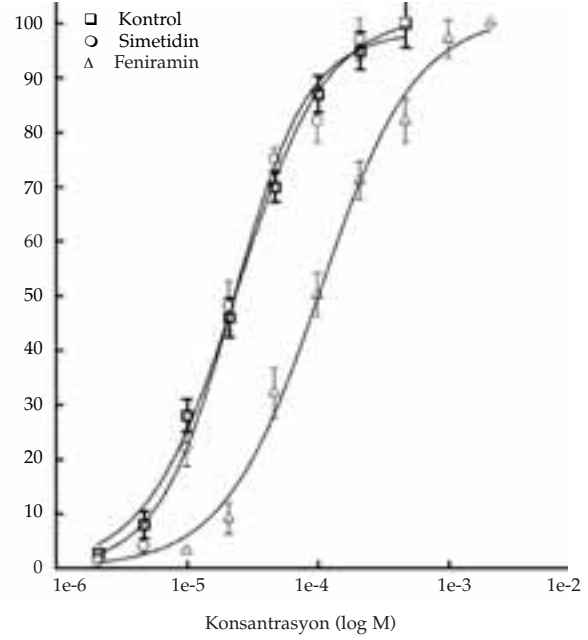
Histaminin kasıcı etkisinin endotelsiz preparatlarda daha güçlü olması, endotel tarafından oluşturulan gevşetici etkinin kasıcı etkiyi azaltan bir rol oynadığına işaret etmektedir. Damar endotelinden salınan ve düz kasları gevşeten endotel kaynaklı gevşetici faktörün (EDRF) var-



Şekil 3. Histaminin önceden fenilefrin (10^{-7} M) ile submaksimal kastırılmış endotelli ve endotelsiz preparatlarda oluşturduğu konsantrasyon-yanıt eğrileri. Her bir nokta 10 farklı gözlemin ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.

lığı uzun süredir bilinmektedir.^[7] Çeşitli maddelerin EDRF salınımına yol açtığı saptanmıştır. Histaminin de damar endotelinden EDRF salınımına neden olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir.^[1,3,8-10] Bu bulgular ışığında, histaminin damar düz kası üzerinde kasıcı bir etkisinin olduğu, buna karşılık EDRF salınımında da rol oynayarak aynı zamanda gevşeme oluşturduğu ve bu durumun kasıcı etkisini zayıflattığı söylenebilir.

Histamin önceden kastırılmış endotelli preparatlarda gevşeme yapmış, endotelsiz preparatlarda gevşetici bir etki oluşturmamıştır. Önceden kastırılmış izole sıçan aort preparatlarında histaminin oluşturduğu gevşetici etkinin tamamen endotele bağlı olduğu, endotelsiz preparatlarda gevşetici bir etkinin oluşmadığı bildirilmiştir.^[1,3] Bu bulgular ışığında, histaminin gevşetici etkisini endotel aracılığı ile oluşturduğu sonucuna varılabilir. Köpek ve maymun koroner arter ve tavşan aort düz kası üzerindeki histamin H_2 -reseptörleri gevşemeye yol açmaktadır;^[1,9] ancak sıçan aortu için böyle bir bulgu



Şekil 4. Histaminin önceden fenilefrin (10^{-7} M) ile submaksimal kastırılmış endotelli preparatlarda simetidin ve feniramin varlığında oluşturduğu konsantrasyon-yanıt eğrileri. Feniramin varlığında elde edilen eğri kontrol eğrisinden istatistiksel olarak farklıydı ($p < 0.05$). Simetidinle elde edilen eğride anlamlı bir fark yoktu. Her bir nokta 10 farklı gözlemin ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.

yoktur. Dokuların histamine duyarlılığının türler arasında fazla değişkenlik gösterdiği de bilinmektedir.

Histaminin endotel bağımlı gevşetici etkisi feniramin ile antagonize edilmekte, simetidin-den etkilenmemektedir. Bu veriler, endotel bağımlı gevşetici etkinin H_1 -reseptörler aracılığıyla oluştuğunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, histaminin endotel bağımlı gevşetici etkisinin H_1 -reseptörleri aracılığı ile oluştuğu bildirilmiştir.^[1,3] Bulgularımız da bu yöndedir.

Çeşitli çalışmalarda mast hücreleri içinde depolanmış histamini açığa çıkarmak için kullanılan^[11] 48/80 maddesinin izole sıçan aortu üzerinde doğrudan bir etki oluşturup oluşturmadığını incelemek amacıyla, bir grup preparata 1 g/ml konsantrasyonda 48/80 maddesi uygulandı; kasılma ya da gevşeme yanıtı oluşmadığı görüldü. Bu bulgu, damar düz kası ve endotel üzerinde 48/80 maddesinin doğrudan etkilediği yapıların bulunmadığını göstermekle birlik-

te, damar duvarında mast hücrelerinin bulunmadığına da dolaylı bir kanıt oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler, izole sıçan aortunda histaminin hem kasıcı, hem de endotel bağımlı gevşetici etkisinin olduğunu ve bu etkilerin H₁-reseptörler aracılığı ile gerçekleştiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Van de Voorde J, Leusen I. Effect of histamine on aorta preparations of different species. Arch Int Pharmacodyn Ther 1984;268:95-105.
2. Toshimitsu Y, Uchida K, Kojima S, Shimo Y. Histamine responses mediated via H₁- and H₂-receptors in the isolated portal vein of the dog. J Pharm Pharmacol 1984;36:404-5.
3. Schoeffter P, Godfraind T. Characterization of histamine-induced contraction in rat isolated aorta. Eur J Pharmacol 1991;197:193-200.
4. Carrier GO, White RE, Kirby ML. Histamine-induced relaxation of rat aorta. Importance of H₁ receptor and vascular endothelium. Blood Vessels 1984;21:180-3.
5. Van de Voorde J, Leusen I. Role of the endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to histamine. Eur J Pharmacol 1983;87:113-20.
6. Usui H, Kurahashi K, Shirahase H, Jino H, Fujiwara M. Endothelium-dependent contraction produced by acetylcholine and relaxation produced by histamine in monkey basilar arteries. Life Sci 1993;52:377-87.
7. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. Nature 1980;288:373-6.
8. Toda N. Mechanism of histamine actions in human coronary arteries. Circ Res 1987;61:280-6.
9. Toda N. Mechanisms of histamine-induced relaxation in isolated monkey and dog coronary arteries. J Pharmacol Exp Ther 1986;239:529-35.
10. Satoh H, Inui J. Endothelial cell-dependent relaxation and contraction induced by histamine in the isolated guinea-pig pulmonary artery. Eur J Pharmacol 1984;97:321-4.
11. Jaffery G, Coleman JW, Huntley J, Bell EB. Mast cell recovery following chronic treatment with compound 48/80. Int Arch Allergy Immunol 1994;105:274-80.