

OKSİTOSİNLE UYARILAN İN VİTRO SIĞIR MYOMETRİUMU ÜZERİNE ERİTROMİSİNİN FARKLI DOZLARININ ETKİLERİ

Kadir SERVI¹, Haki KARA²

¹Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi Elazığ Sağlık Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.05.2001

Effects of different doses of erythromycin on cows myometrium contractile with oxytocin-induced *in vitro*

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of erythromycin on cows myometrium *in vitro*. After myometrial samples was contracted with oxytocin 0.6, 1.2, 1.8, and 2.4 mM erythromycin was applied and effects on peak amplitude and frequency of contractions were investigated by 10 minute intervals. The frequency of oxytocin-induced contractions was 10.88 ± 3.25 whereas 14.0 ± 2.70 , 22.22 ± 3.40 ($P < 0.001$), 17.55 ± 2.29 ($P < 0.001$) and 3.66 ± 1.8 ($P < 0.001$) after application of 0.6 mM, 1.2, 1.8 and 2.4 mM erythromycin, respectively. The mean peak amplitude of oxytocin-induced contractions was 3.54 ± 0.54 , after application of 0.6 mM, 1.2, 1.8 and 2.4 mM erythromycin dose-dependently decreased the amplitude values to, 3.17 ± 0.64 ($P < 0.001$), 2.14 ± 0.77 ($P < 0.001$), 1.79 ± 0.37 ($P < 0.001$) and 0.7 ± 0.41 ($P < 0.001$), respectively. In conclusion, it was found that erythromycin in low doses inhibited amplitude of contractions but increase frequency, whereas high doses of erythromycin inhibited both amplitude and frequency of oxytocin-induced contractions of myometrium obtained from cows.

Key words: Erythromycin, myometrium, oxytocin, cows.

ÖZET

Bu çalışma *in vitro* sığır myometriumu üzerine eritromisininin farklı dozlarının etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Myometrial örnekler oksitosinle uyarıldıktan sonra eritromisininin 0.6, 1.2, 1.8 ve 2.4 mM yoğunlukları uygulanarak 10 dakikalık sürede uterus kontraksiyonlarının frekans sayısı ve pik amplitüdü incelendi. Oksitosin uygulamasıyla frekans sayısı 10.88 ± 3.25 olarak belirlenirken 0.6, 1.2, 1.8 ve 2.4 mM eritromisin uygulamaları ile bu değerlerin sırası ile 14.0 ± 2.70 ($P < 0.001$), 22.22 ± 3.40 ($P < 0.001$), 17.55 ± 2.29 ($P < 0.001$) ve 3.66 ± 1.8 ($P < 0.001$) olarak belirlendi. Pik amplitüt değerleri ise oksitosin uygulaması ile 3.54 ± 0.54 iken, eritromisin uygulamasıyla doza bağımlı olarak azaldığı ve 2.4 mM dozunda bu değer 0.70 ± 0.41 grama düşüğü ($P < 0.001$) belirlendi. Eritromisininin düşük dozlarının myometrium kasılmalarının frekansını artırırken amplitütünü düşürdüğü, yüksek yoğunluklarda ise hem frekansı, hem de amplitütü azalttığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Eritromisin, myometrium, oksitosin, sığır.

GİRİŞ

Eritromisin, *Streptomyces erythreus* kültürlerinden elde edilen 13 karbonlu eritronolid molekülü ile bu yapıya bağlı desozamin ve klonidoz isimli iki deoksiheksos molekülünden oluştuğu, stearat ve tiyosiyanat tuzları ile etilsüksinat, etilkarbonat ve esteolat esterlerinin ağız yoluyla, eritromisin glusefat ve eritromisin laktobionat tuzlarının parenteral olarak kullanıldığı, eritromisinin de içinde bulunduğu makrolid grubu antibiyotiklerin bakteri ribozomlarının 50 S alt birimlerine bağlanarak aynı yere tRNA molekülünün bağlanmasını ve peptid zincirinin uzamasını engelleyerek bakteriyostatik etki gösterdiği bildirilmektedir (5,7).

Ağız yoluyla kullanılan eritromisinin başta atlarda olmak üzere otçullarda şiddetli ishale neden olduğu bildirilmektedir (8). Bazı araştırmacılar (2, 13, 14) tarafından yapılan in vitro çalışmalarda eritromisinin kolon, ince bağırsak ve midede motor aktiviteyi artırdığı ve bu etkinin eritromisinin antibakteriyel etkisi ile ilişkili olmadığı ve bu etkinin mide-bağırsak kanalında bulunan motilin reseptörleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir.

Minocha ve Galligan (13), eritromisinin kobaylarda α adrenerjik ve opiad reseptörlerinden bağımsız olarak bağırsaklar üzerinde inhibitör etkisinin bulunduğunu ve bu etkinin türe özgü olduğunu bildirmişlerdir.

Milwidsky ve ark.(12), erken doğum olayında koriyonik membran dayanıklılığını azaltan proteaz, kollegenaz, elastaz ve fosfolipaz gibi enzimlerin rolünün bulunduğunu ve eritromisinin özellikle kollegenaz enzimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Bazı araştırmacılar (6, 9, 10, 11, 16) eritromisinin genital kanalın bakteriyel enfeksiyonlarına bağlı veya bakterilerle ilişkili olmayan erken doğum eyleminin önlenmesinde etkili olabileceğini ve tokolitik maddelerle birlikte kullanımında ise gebelik süresini uzattığını bildirmişlerdir. Eritromisin ile ilgili yapılan in vitro bir çalışmada (3) oksitosinle kontraktile edilen gebe rat myometriumu eritromisinin 1 mM yoğunlukta amplitüdü % 78, frekansı ise % 61 oranında azalttığını ve eritromisinin bu etkisinin α adrenerjik reseptörlerden bağımsız olduğunu belirtmiştir.

İnsanlarda yapılan bir başka invitro çalışmada (1) ise 0.01 mM yoğunlukta oksitosinle kasılan myometriumu kontraktilesi üzerine eritromisinin değişik dozlarının etkileri karşılaştırıldığında 2 mM

yoğunlukta eritromisinin myometrial kontraktilesi üzerine inhibe ettiği bildirilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, daha önce sıçan ve insan myometriumu kontraksiyonları üzerine inhibe edici etkisi bildirilen eritromisinin farklı yoğunluklarının, in vitro koşullarda oksitosin ile indüklenen sıçır myometriumu üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

MATERYAL VE METOT

Hayvan Materyali: Bu çalışma Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Doğum Kliniği'nde sezeryan operasyonu yapılan sıçırlardan ve Elazığ Et Kombinasi'nda kesilen gebe sıçırlardan alınan uteruslardan hazırlanan myometrial kesitlerle gerçekleştirildi.

Cihazlar: İzometrik transdüser (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere), Ossilograf (Harward Apparatus Limited, Harward, İngiltere), İzole organ banyosu

Kimyasal madde ve Solüsyonlar: Tyrode's Solüsyonu; NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, MgCl₂ 1.0 mM, CaCl₂ 1,5 mM, NaH₂PO₄ 0.4 mM, NaHCO₃ 12.0 mM, glikoz 5.5 mM her gün taze olarak hazırlandı, Eritromisin (Eritromisin 50 mg / ml, Erivet, Abfar), Oksitosin (Oksitosin 5 IU/ml, Vetaş).

Metot: Gebe ineklerden alınan uterus kornularının seroza ve endometrium katları ayrılarak sadece myometriumu katları bırakıldı. Myometriumu kas tabakasından 10 mm x 2 mm x 2 mm ebadında kesitler alınarak işleme tabi tutuldu. İşlemler Tyrode's solüsyonu ortamında gerçekleştirildi. Herhangi bir enfeksiyon riski bulunan uteruslar deney dışı bırakıldı. Kas kesitleri ipek iplik yardımıyla alt ucu 20 ml kapasiteli, içerisinde Tyrode's solüsyonu bulunan, %5 CO₂ + %95 O₂ ile sürekli gazlandırılan izole organ banyosunun tabanındaki çengele üst ucu ise mikrometrik oynatıcı üzerine sabitleştirilmiş diğer ucu ossilografa bağlı olan transdüserle bağlandı. Kas asıldıktan sonra bir gramlık gerim uygulandı ve hesaplamalarda kalibrasyon olarak kullanıldı. Kas bu gerime uyum sağlayana kadar (60-90 dk) beklendi. Bu esnada kas her 20 dakikada bir taze Tyrode's solüsyonu ile yıkandı. Bekleme süresi sonunda oksitosin (0.01 mM) ile uyarıldı. Oksitosinle düzenli kontraksiyonların oluşturulduğu kaslarda eritromisinin (Eriyet, 50mg/1ml Eritromisin) 0.6mM, 1.2 mM, 1.8 mM ve 2.4 mM, olmak üzere dört farklı yoğunluğunun etkisi araştırıldı. Her yoğunluk için 15

kas örneği kullanıldı. Ayrıca 15 adet kasa da oksitosin uygulamasından sonra plasebo olarak serum fizyolojik ilavesi yapılarak kasılmalarda değişiklik olup olmadığı araştırıldı. Deneyler sırasında miyometriumdaki aktivite değişiklikleri ossilograf yardımıyla milimetrik kağıtlara kaydedildi. Eritromisin uygulamasından önceki değerler kontrol değerleri olarak kabul edildi ve dozdan sonra elde edilen değerler, oksitosinle elde edilen değerler ile karşılaştırıldı.

Bütün deneylerde 10 dakikalık zaman aralıklarında değerlendirmeler yapıldı. Oksitosinle düzenli kontraksiyonlar oluşmasından 10 dakika sonra izole organ banyosuna eritromisin uygulandı. Uygulamadan önceki ve sonraki period kendi aralarında pik amplitüt ve frekans yönünden karşılaştırıldı. Amplitüt hesaplamasında bazal çizgi ile kontraksiyonun tepe noktası arasındaki mesafe mm cinsinden ölçüldü ve o deneyde kullanılan kalibrasyon gözönüne alınarak gram cinsinden değeri hesaplandı. Frekans hesaplamasında 10 dakikalık sürelerde kontraksiyonların sayısı adet olarak hesaplandı. Böylece kasılmaların hem amplitüt, hem de süreleri de değerlendirmeye alındı. Verilerin değerlendirmesinde SPSS (Anova) istatistik programı kullanıldı.

BULGULAR

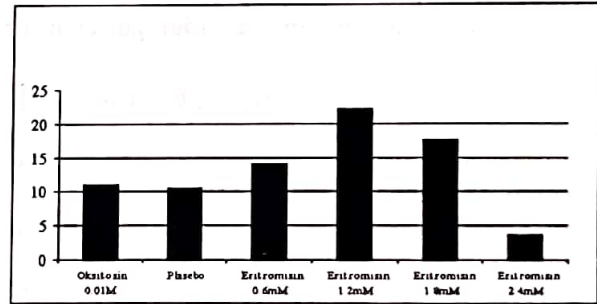
Çalışmadan elde edilen bulgular Tablo 1 ile Şekil 1 ve 2'de gösterildi. Tablo ve şekillerde oksitosinle uyarılan myometriumlardan dakikadaki frekansları adet/10 dk olarak gösterildi. Myometrial örneklere 0,01mM oksitosin uygulanmasıyla uterus kaslarında 10 dakikalık period boyunca 10.88 kasılma meydana geldiği, bir frekansın ortalama geriminin 3.54 ± 0.54 gr olduğu belirlendi. Eritromisinin 0.6 mM dozu uygulandıktan sonra frekans sayısında artış (14/10 dk, $P < 0,001$) gözlenirken pik amplitütlerde önemli bir değişikliğin olmadığı tesbit edildi. Eritromisinin 1.2 mM ilavesiyle 10 dakikalık periyottaki kasılma sayısı 22.22 ± 3.40 olurken pik amplitüt geriminin 2.14 ± 0.77 ($P < 0,001$) grama düştüğü belirlendi. 1.8 mM eritromisin verilmesiyle frekans sayısı 17.55 ± 2.29 ($P < 0,001$) olurken, amplitüt gerimlerinin de 1.79 ± 0.37 ($P < 0,001$) grama düştüğü görülmektedir. 2.4 mM eritromisin verildiğinde ise 3.66 ± 1.8 ($P < 0,001$) adet kasılma olduğu, bunların gerimlerinde 0.70 ± 0.41 gram ($P < 0,001$) olduğu ve bu kasılmaların ilk birkaç dakikalık zamanda meydana geldiği, daha sonra ise kasılmaların tamamen sonlandığı tesbit edildi. Plasebo uygulanan

kaslarda frekans ve amplitütlerde önemli bir değişikliğin olmadığı belirlendi.

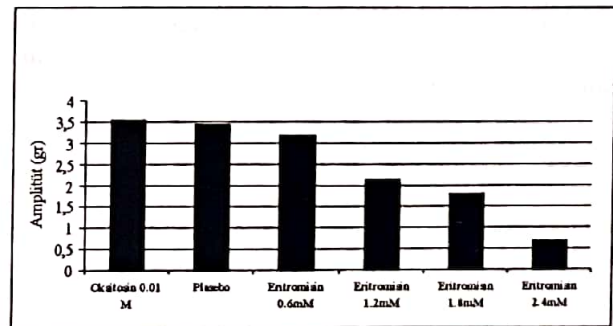
Tablo 1. Oksitosinle uyarılan in vitro sığır myometriumu üzerine eritromisinin farklı dozlarının etkisi.

Uygulama (n=15)	Frekans mean±SD	Amplitüt mean±SD (gr)
Oksitosin 0.01 mM	10.88±3.25	3.54±0.54
Plasebo	10.56±0.65	3.44±.75
Erivet 0.6 mM	14.0±2.70*	3.17±0.64
Erivet 1.2 mM	22.22±3.40*	2.14±0.77*
Erivet 1.8 mM	17.55±2.29*	1.79±0.37*
Erivet 2.4 mM	3.66±1.8*	0.70±0.41*

*Gruplar arası farklılıklar önemli, $P < 0,001$



Şekil 1. İn vitro sığır myometriumu frekansı üzerine eritromisinin farklı dozlarının etkisi (mM).



Şekil 2. İn vitro sığır myometriumu gerim gücü (amplitüt) üzerine eritromisinin farklı dozlarının etkisi (mM).

TARTIŞMA

İn vitro sığır myometriumu üzerine yaptığımız bu çalışmada Tyrode's solüsyonu içerisinde oksitosinle kontraksiyonları aktive edilen myometrium kasılmaları daha önceki çalışmalardan (1, 3, 17) elde edilen sonuçlarla uyumlu bulundu.

Eritromisin kas içi uygulamasından sonra 15 dakikada etkisinin görüldüğü, 60 dakika sonra ise plazma doruk yoğunluğa ulaştığı ve kas içi yolla biyoyararlanımının % 60- 65 olduğu, insanlarda 500 - 1000 mg dozda damar içi enfuzyonundan 1 saat sonra elde edilen plazma düzeyinin 0.013 mmol/ l olduğu bildirilmektedir (5, 8).

Tablo 1 ve Şekil 1, 2 incelendiğinde 0.01 mM oksitosin uygulamasıyla frekansın 10.88/10 dk, pik amplitütün ise 3.54 gr olduğu görülmektedir. Eritromisinin 1.2 mM yoğunluğundan sonra oksitosinle uyarılan kontraksiyonların pik amplitütlerini doza bağımlı olarak baskıladığı ($p<0.001$), frekans sayısında ise 0.6 mM ve 1.2 mM eritromisin uygulamasından sonra düşük dozlarda doza bağımlı bir artış meydana getirdiğini ($p<0.001$), ancak 2.4 mM dozunda spesifik olmayan bir etkiyle hem amplitütü hem de frekans sayısını kontrol ve plasebo grublarına göre inhibe ettiği gözlenmiştir ($p<0.001$).

Eritromisinin mide-bağırsak kanalındaki motilite artırıcı etkisi dikkate alındığında bulgularımızın çeliştiği ortaya çıkmaktadır. Bu çelişkinin nedeni, in vivo şartlardaki bu etki makrolidlere özgü motilin agonisti etki ile meydana gelmektedir. Myometriumda motilin reseptörlerinin bulunmaması da çelişkiyi ortaya çıkarmaktadır. Daha önceki çalışmalarda (2, 14) eritromisinin duodenum, oddi sifinkteri, özafagus ve midede motiliteyi artırıcı etkisi ortaya konulurken sidik kesesinin tonusunda değişiklik yapmadığı, bu durumun sidik kesesinde motilin reseptörlerinin bulunmamasıyla açıklanmıştır. Yapılan in vitro çalışmalarda (6, 8) ise sidik kesesi düz kaslarında eritromisinin kontraksiyonları inhibe ettiği de gösterilmiştir.

Bir başka çalışmada (13), eritromisinin barsak longitudinal kaslarında elektrik, sinirsel, karbakol ve P maddesi ile uyarılan kontraksiyonları inhibe ederken, sirküler kaslarda sadece sinirsel kontraksiyonları inhibe ettiği, bu farklılığın eritromisinin etkisinin kontraksiyon mekanizmasına bağlı olarak değiştiğini bildirilmiştir. Longitudinal kaslarda kontraksiyon hücre dışındaki kalsiyumun hücre içine girmesi ile sirküler kaslarda ise hücre içinde depolanmış kalsiyumun serbest hale geçmesi ile oluşmaktadır (4).

Oksitosin gerek hücre dışı kalsiyumun içeri girişini, gerekse hücre içinde depo kalsiyumu serbest hale getirerek hücre içerisinde serbest kalsiyum düzeyini yükseltmek suretiyle kontraksiyonların amplitüt ve frekansını artırmaktadır (15, 17). Longitudinal ve sirküler düz kaslardan oluşan myometrial kesitlerde oksitosin aracılı kontraksiyonlara eritromisinin etkisi, oksitosinin de etkisi göz önüne alındığında her iki kas tipinde de hücre içi serbest kalsiyum düzeyini etkilemesine bağlı olduğu kanatındeyiz.

Rat myometriumu üzerinde yapılan bir çalışmada (3), eritromisinin oksitosin ile oluşan kontraksiyonların hem amplitütü hem de frekansını inhibe ettiğini, insan myometriumu üzerinde yapılan bir başka çalışmada (1) ise eritromisinin düşük dozlarda amplitütü inhibe ettiği ancak frekansını artırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 1.2 mM dozundan itibaren amplitütlerde inhibisyon ve 0.6 mM dozundan itibaren de frekans sayısında artış gözlenmiş ancak 2.4 mM konsantrasyonda hem frekans ve hemde amplitütlerde inhibisyon gözlenmiştir. Bunun nedeni türler arası farklılık olabileceği gibi çok yüksek yoğunluklarda bu etkinin non-spesifik olduğu kanaatindeyiz. Nitekim Granovsky ve ark.(3) ile Çelik ve ark. (1) benzer sonuçları bildirmişlerdir.

Normal veya erken doğumda rol oynayan PGE_2 ve $PGF_2 \alpha$ aracılı kontraksiyonlarında hücre dışı kalsiyumun hücre içine girişi ile meydana geldiğinden (7) eritromisinin bu kontraksiyonları da inhibe edebileceği düşüncesindeyiz.

Çalışmada kullanılan eritromisin miktarlarının antibakteriyal amaçla kullanıldığında oluşan serum konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Değişik mikrobiyel kaynaklı erken doğum eylemi söz konusu olduğunda ve mikroorganizma türlerinin eritromisine karşı duyarlı olduğu durumlarda bu grup antibiyotiklerin tercih edilmesi, doğum sonrası olaylarda ise uterusun erken involusyonu için bu grup antibiyotiklerin kullanımından kaçınmanın yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Bu çalışma sığır myometriumunda eritromisinin direkt etkisinin gösterildiği ilk in vitro çalışmadır. Aynı etkinin oksitosin yerine prostaglandin ve gerim ile oluşturulan kontraksiyonlarda ve in vivo koşullarda olup olmayacağını araştırılması gerekmektedir. Ayrıca eritromisinin amplitütü azaltıcı fakat frekans üzerindeki etkisinin kararsız oluşu mekanizmasını tam olarak açıklayabilmek için moleküler düzeyde araştırmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

1. Çelik H, Sapmaz E, Ayar, A. Oksitosinle uyarılan izole gebe insan myometriumuna eritromisin'in etkisi. *Firat Tıp Dergisi*, 2000, 2(2): 90- 97.
2. Frederick H, Weber JR, Robert D, Rirhards MD, Rirhard W, McCallum D. Erythromycin: A motilin agonist and gastrointestinal prokinetic agent. *The Am J Gastroenterology*, 1993, 88: 4-6.
3. Granovsky GS, Ilan D, Grisaru D, Lavie O, Aboulofia I, Diamant S. Effect of erythromycin on contractile of isolated myometrium from pregnant rats. *Am J Obstet Gynecol*, 1998, 178: 171-174.
4. Grider JR, Makhlof GM. Contraction mediated by Ca⁺⁺ release in circular and Ca⁺⁺ influx in longitudinal intestinal muscle cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, 244: 432-436.
5. Kapusnik-Uner JE, Sande MA, Chambers HF. Antimicrobial agents, tetracyclines, Chloramphenicol, erythromycin and miscellaneous antibacterial agents. In: Hardman JG, Limbird, L.E. Molinof PB., Ruddon, RW, editors. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics. 9 th ed. p-1123-53, New York, McGraw-Hill; 1996.
6. Kaufman HS, Ahrenndt SA, Pitt HA, Lillemoe KD. The effect of erytromycin on motility of duodenum, sphincter of oddi and gall bladder in the prairie dog. *Surgery*, 1993, 114: 543-548.
7. Kaya S, Kemoterapötikler, Editörler; Kaya S, Pirinçi İ, Bilgili A. Uygulamalı Veteriner Farmakoloji, 283-398, C:2, Medisan Yayınevi Ankara, 1997,
8. Kirschbaum T. Antibiotics in the treatment of preterm labor. *Am J Obstet Gynecol*, 1993, 168: 1239-1246.
9. Mannisto PT, Havas HA, Komulainen VA Rauramaa V. Efficacy of Erythromycin Acistrate (2-Acetyl Erythromycin Stearate) and Erythromycin Stearate in experimental infections in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 1989, 250: 1028-1033.
10. McGregor JA, French JJ, Raller LB, Todd JK Makowski EL. Adjunctive erythromycin treatment for idiopathic preterm labor: result of a randomized, double-blinden, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 1986, 154: 98-103.
11. McGregor JA, French JJ, Seo K. Antimicrobial therapy in preterm premature rupture of membranes: result of a prospective, double-blind, placebo-controlled trial of erytromycin. *Am J Obstet Gynecol*, 1991, 165: 632-640.
12. Milwidsky A, Yeheskel ZF, Mayer M. Direct inhibition of proteases and servical plasminogen activator by antibiotics. *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 166: 606-612.
13. Minocha A, Galligan JJ. Erythromycin inhibits contractions of nerve-muscle preparations of the guinea pig small intestine. *J Pharmacol Exp Ther*, 1991, 257: 1248-1253.
14. Peeters T, Matthijs G, Depoortere I, Cachet T, Hoogmartens J, Vantrappen G. Erytromycin is a motilin receptor agonist. *Am J Physiol*, 1989, 257: G, 470-474.
15. Pettibone DJ, Clineschmidt BV, Lis EV, Reiss DR. et al. In vitro pharmacological profile of a novel structural class of oxytocin antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*, 1991, 256: 304-308.
16. Romero R, Sibai B, Caritis S, et al. Antibiotic treatment of preterm labor with intact membranes: A multicenter, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*, 1993, 169: 764-774.
17. Wray S. Uterine contraction and physiological mechanism of modulation. *Am J Physiol*, 1993, 264: 1-8.