

İNSAN KORPUS KAVERNOZUM ÇALIŞMALARINDA DİMETİL SULFOKSİTİN (DMSO) OPTİMUM KONSANTRASYONU

OPTIMUM CONCENTRATION OF DMSO IN HUMAN CORPUS CAVERNOSUM STUDIES

Nergiz MURAT*, Ömer DEMİR**, Ertan CAN***, Sedef GİDENER*, Adil ESEN**

* Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, İZMİR

** Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İZMİR

*** Tepecik SSK Hastanesi Üroloji Kliniği, İZMİR

ABSTRACT

Introduction: Dimethyl Sulphoxide (DMSO), with exceptional solvent properties, is used in various pharmacological studies on corpus cavernosum as a vehicle. However, there is little known regarding the relaxing characteristics of this solvent. Thus we aimed to determine the highest noneffecious concentration of DMSO as a solvent in isolated human corpus cavernosum (HCC).

Materials and Methods: Strips (3x3x7 mm) were cut longitudinally from human corpus cavernosum (HCC) tissues and mounted in 10 ml organ bath with the Krebs solution. The strips were oxygenated with 95% O₂ and 5% CO₂ and the temperature was maintained at 37°C. HCC tissues were contracted with 3x10⁻⁶ M phenylephrine and relaxation responses were evaluated by cumulative (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) and (10⁻¹² - 10⁻⁹ M) addition of DMSO.

Results: Cumulative application of phenylephrine (10⁻⁸ - 10⁻⁵ M) caused concentration dependent contraction response in HCC tissue (pD₂ 6.24±0.14). DMSO (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) had dose dependent relaxing effects on precontracted HCC tissues with phenylephrine (3x10⁻⁶ M). HCC tissues exhibited relaxation response to DMSO 29±5.4% of phenylephrine-induced tone (IC₅₀ 6.63±0.4). At lower concentration (10⁻¹² - 10⁻⁹ M) DMSO did not cause relaxation response curve.

Conclusion: In this study we demonstrated that DMSO could be used in isolated HCC studies as a solvent at concentrations lower than 10⁻⁹ M.

Key words: Dimethyl sulphoxide, corpus cavernosum, smooth muscle

ÖZET

Dimetil sülfoksit (DMSO) korpus kavernoza yapılan pek çok farmakolojik çalışmada çözücü olarak kullanılan bir kimyasaldır. Bununla birlikte düz kas dokuları üzerine gevşetici özellikleriyle ilgili bilgiler sınırlıdır. Bu çalışmadaki amacımız DMSO'nun izole korpus kavernoza düz kasında (KKDK) gevşeme etkisi oluşturmeyen maksimum konsantrasyonunu saptamaktır.

KKDK dokuları 3x3x7 mm uzunluğunda longitudinal olarak hazırlanan şerit halinde, %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan 37°C'deki Krebs solüsyonu içinde 10 ml'lik organ banyolarına asıldı. 3x10⁻⁶ M fenilefrinle kasılan dokularda kümülatif olarak denen (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) ve (10⁻¹² - 10⁻⁹ M) doz aralığındaki DMSO konsantrasyonlarına bağlı gevşeme yanıtları değerlendirildi.

Kümülatif olarak uygulanan fenilefrin (10⁻⁸ - 10⁻⁵ M) insan KKDK'da konsantrasyona bağımlı kasılma oluşturdu (pD₂ 6.24±0.14). Fenilefrinle kasılan KKDK, DMSO'nun kümülatif olarak uygulanan (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) konsantrasyon aralığında doza bağımlı gevşeme yanıtlarına neden olurken (maksimum gevşeme %29±5.4, IC₅₀ 6.63±0.4), 10⁻¹² - 10⁻⁹ M konsantrasyon aralığında ise herhangi bir etkiye neden olmadı.

Çalışmamızda DMSO'nun korpus kavernoza dokusunda 10⁻⁹ M'den daha düşük konsantrasyonlarda çözücü olarak kullanılabileceği gösterilmektedir.

Anahtar Kelimeler: dimetilsülfoksit, korpus kavernoza, düz kas

GİRİŞ

Suda çözünemeyen bir çok ilaç için başka çözücülere gereksinim vardır. Yapısal özelliklerinden dolayı dimetilsülfoksit (DMSO) bir çok kimyasal maddenin çözücüsü olarak kullanılan bir ajandır. Farmakolojik çalışmalarda DMSO ile

ilgili olarak, membran transportu ve bağ dokusu üzerine etkileri, inflamasyon, diğer ilaçların etkisini artırma veya azaltma yönündeki etkileri, kolinesteraz enzim inhibisyonu ve düz kas gevşetici etkileri bildirilmiştir¹.

Dergiye Geliş Tarihi: 03.05.2004

Yayına Kabul Tarihi: 03.01.2005 (Düzeltilmiş hali ile)

Serbest oksijen radikal üretimi düz kas kasılmasının önemli mekanizmalarından biridir. DMSO ağırlıklı olarak hidroksil radikallerine spesifik bir serbest oksijen radikal toplayıcısıdır. Bu özelliğinden dolayı ince bağırsak, böbrek gibi farklı dokuların kaslarında reperfüzyona bağlı zedelenmeyi de önlemektedir²⁻⁵.

Suda çözünmeyen terapötik ve toksik ajanların çoğu DMSO'da çözünmektedir⁶. DMSO'nun etkileri konsantrasyona bağımlı olarak değişmekte ve başka bir madde ile birleştiğinde oluşan yeni madde dokular üzerinde beklenenden daha fazla veya daha az etki oluşturabilmektedir¹. Bu da in vitro ve/veya in vivo çalışma sonuçlarını önemli ölçüde değiştirebilecek bir etkidir. İn vitro olarak yapılan düz kas çalışmalarında DMSO'nun çözücü olarak farklı konsantrasyonları kullanılmaktadır^{7,8}. İn vitro organ banyosu çalışmalarında çözücü olarak kullanılan DMSO'nun korpus kavernozum düz kası (KKDK) üzerinde etkisiz olduğu konsantrasyon hakkında bir bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmadaki amacımız DMSO'nun KKDK üzerindeki etkisini değerlendirip gevşeme oluşturmeyen konsantrasyonunu saptamaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, bilgilendirilmiş olup bilgilendirme formu imzalatılmış hastalardan alınmış korpus kavernozum düz kası (KKDK) preparatlarında yapıldı. İnsan kavernozaal düz kas dokuları erektil disfonksiyon nedeniyle diğer tedavi seçeneklerinden fayda görmeyen ve penil protez implantasyonu önerilen 19 yaş üzeri hastalardan alındı. Alınan materyal penil protez implantasyonu sırasında protezin yerleştirilmesi için tahrip edilen KKDK dokusu olduğu için hasta doku alınması işlemine bağlı ameliyat sonrası ek problem yaşamadı. Çalışmada her bir hastadan 3-4 şerit elde edilecek büyüklükte KKDK dokusunun alınması ile 5 hasta üzerinden tamamlandı.

Organ banyosu çalışmaları: Ameliyat esnasında alınan KKDK dokusu Krebs solüsyonu içinde taşınıp ve çalışma anına kadar 4°C'de saklandı. 3x3x7 mm boyutlarında longitudinal olarak hazırlanan doku şeritleri %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan 37°C'de ısıtılan Krebs solüsyonu içeren (mM: NaCl 119; KCl 4.6; CaCl₂ 1.5; MgCl₂ 1.2; NaHCO₃ 1.2; NaH₂ PO₄ 1.2; glikoz

11) 10 ml'lik organ banyolarına asıldı. 1 gr izometrik gerilim uygulanan dokular 90 dakika dinlenme periyoduna bırakılmış, dinlenme periyodu boyunca banyo içerisindeki Krebs solüsyonu 15 dakikalık aralarla değiştirildi. İzometrik gerilim değişiklikleri TDA 95, Transducer Data Aquisition System programına bağlı Grass 7PT 03E-force-displacement transducer aracılığıyla kaydedildi.

Dokular fenilefrinle (10⁻⁸ - 10⁻⁵ M) kümülatif olarak kasılıp doz-cevap eğrileri elde edildikten sonra fenilefrinin EC₈₀ değeri bulunmuştur. Kasılma cevapları 120 mM KCl'nin oluşturduğu kasılma esas alınarak yüzde (%) yanıt olarak hesaplandı.

DMSO'nun KKDK preparatları üzerindeki farklı konsantrasyonlarındaki etkilerini değerlendirmek için dokular EC₈₀ fenilefrinle kasıldıktan sonra DMSO kümülatif olarak bir gruba (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) diğer gruba ise (10⁻¹² - 10⁻⁹ M) eklendi.

Kullanılan ilaçlar: Phenylephrine hydrochloride (Sigma), DMSO (Sigma)

İstatistiksel analiz: Sonuçlar ortalama± standart hata şeklinde gösterildi. Grup içi ortalamalar arası fark için Wilcoxon testi kullanıldı, p<0.05 olması halinde aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

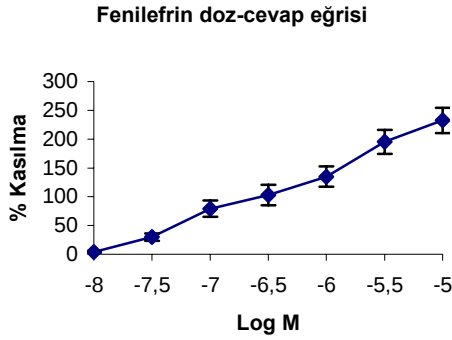
Fenilefrin doz-cevap eğrisi: Kümülatif (10⁻⁸ ile 10⁻⁵ M) fenilefrin uygulanması sonucu insan KKDK dokularında doza bağlı kasılma yanıtları görüldü (n=9) (pD₂=6.06±0.14, Şekil 1). Fenilefrine ait EC₈₀ dozu 3x10⁻⁶ M olarak hesaplandı.

Fenilefrinle kasılan KKDK üzerinde DMSO'nun etkileri: 3x10⁻⁶ M fenilefrinle kasıtılan KKDK preparatlarında DMSO'nun kümülatif olarak (10⁻⁹ - 10⁻⁵ M) (n=8) konsantrasyonlarda uygulanmasıyla doza bağımlı gevşeme yanıtları gözlemlendi (maksimum gevşeme %29±5.4, IC₅₀ 6.63±0.4, Şekil 2). Buna karşın 10⁻¹² - 10⁻⁹ M konsantrasyon aralığında ise DMSO herhangi bir gevşemeye neden olmadı.

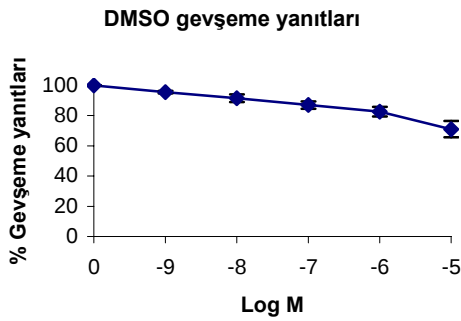
TARTIŞMA

Toz halindeki kimyasal ajanların deneysel çalışmalarda kullanılabilmesi için uygun çözücü ortamda çözünerek solüsyon halinde hazırlan-

maları gerekmektedir. Distile su, serum fizyolojik, plazma ve DMSO gibi çözücüler kullanılabilir. İdeal çözücü, kimyasal ajanı tam olarak çözebilmeli ve üzerinde çalışılan dokuya etki etmemelidir. Distile su en ideal çözücü olarak kabul edilir. Ancak suda çözünemeyen bir çok ilaç için başka çözücülere gereksinim vardır. Genel olarak çözücülerin sistemler üzerine etkileri konusunda çok az bir bilgi vardır. Yapısal özelliklerinden dolayı DMSO bir çok kimyasal maddenin çözücüsü olarak organ banyosu çalışmalarında sıklıkla kullanılan bir ajandır. Günümüzde kimyasal ajanların DMSO'da çözündürülerek kavernoza dokusu üzerindeki etkilerinin test edildiği çok sayıda çalışma vardır. DMSO yapısı nedeniyle iyi çözücü özellik göstermekte birlikte dokular üzerinde farklı etkiler oluşturur. Terapötik ve toksik etkileri arasında hızlı penetrasyon, serbest oksijen radikal toplayıcılığı, düz kaslar üzerine etkileri ve bunun gibi bir çok etki sayılabilir⁶.



Şekil 1. İnsan korpus kavernoza dokusunda fenilefrin doz-cevap eğrisi. Veriler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.



Şekil 2. 3×10^{-6} M fenilefrinle kastırılan insan korpus kavernoza dokularının DMSO'ya verdiği gevşeme yanıtları. Veriler ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.

DMSO'nun test edilen dokulara etki etmeyen maksimum konsantrasyonlarını saptamak amacıyla çeşitli çalışmalar gerçekleştirildi. Peters ve ark.⁷ DMSO'nun aort düz kasında 7.7×10^{-2} M konsantrasyonda ROS sisteminde indüklenen vazokonstriksiyonu azalttığı bildirdiler. Lawrence ve ark.⁸ domuz pulmoner arterlerinde DMSO'ya bağlı gevşeme yanıtları endotelyumdan bağımsız buldular ve 1.7×10^{-1} M konsantrasyonda %55 oranında gevşeme yanıtı gözlediler. McAuley ve ark.⁹ ise DMSO'nun kavernoza dokuda 7 M konsantrasyonda etki etmeye başladığını iddia etmişlerdir. Sildenafil kavernoza doku üzerindeki etkilerini araştırmak için gerçekleştirdikleri çalışmada DMSO'nun 10^{-7} M'de vehikel etkisi olduğunu belirtmişlerdir⁹. Söz konusu çalışmada çözücünün dokuda oluşturduğu gevşeme oranları gösterilerek sildenafil kavernoza doku üzerine olan net etkisi ortaya konulmuştur. Ancak değişken konsantrasyonlarda kavernoza doku üzerinde DMSO'nun etkileri ile ilgili bir yorumları yoktur. Çalışmamız DMSO'nun çözücü olarak korpus kavernoza dokusu üzerinde etkisiz olan konsantrasyonunun özellikle araştırıldığı ilk çalışmadır. Bulgularımıza göre DMSO düşük konsantrasyonlarda bile ($>10^{-9}$ M) kavernoza dokusu üzerinde gevşeme oluşturduğunu gözledik.

Yapılan farmakolojik çalışmaların çözücünün doku üzerinde yaptığı etki göz ardı edilerek sadece denenen kimyasal ajana ait veriler belirtilmektedir. Bizim ve McAuley ve ark. yaptığı çalışmada da belirtildiği gibi çözücü olarak kullanılan ajan denenen kimyasal maddenin doku üzerine olan etkilerini büyük oranda etkilemektedir. Çalışmada kullanılan kimyasal ajanın dokuya olan etkileri araştırılırken çözücünün doku üzerindeki etkilerinin bilinmesi, araştırılan kimyasal ajanın etkilerinin net olarak ortaya konulması açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılan maddenin net etkisinin ortaya konulabilmesi için çözücü ajanın da doku üzerindeki etkileri araştırılmalıdır. Eğer çalışmada dokuya etkili çözücü ajan kullanılıyorsa çalışma başlamadan önce (denenen kimyasalında çözünürlüğünü etkilemeyecek şekilde) çözücünün dokudaki etkisiz konsantrasyonunun bulunması gerektiği kanısındayız.

Sonuç olarak, biz çalışmamızda DMSO'nun korpus kavernoza dokusu üzerine en az etkili olan do-

zunu bulmayı amaçladık. Her madde DMSO'nun aynı konsantrasyonunda çözünebilme olanağı yoktur. Ancak en az etkili olduğu dozu kullanmak çalışmaların güvenilirliği açısından önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- **Stanley W, Jacob H:** Pharmacology of DMSO. Department of surgery. Oregon Health Science University, Portland, Oregon.
- 2- **Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell J:** Free radicals: Basic concepts concerning the chemistry, pathophysiology and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 79: 990, 1987.
- 3- **Manson PN, Anthenelli RM, Im RJ, Bulkley GB, Hoopes JE:** The role of oxygen free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 87, 1983.
- 4- **Huang L, Privalle CT, Serafin D, Klitzman B:** Increased survival of skin flaps by scavengers of superoxide radical. *Faseb J*. 69:469, 1987.
- 5- **Angel MF, Narayanan K, Swartz WM:** Deferoxamine increases skin flap survival: Additional evidence of free radical involvement in ischemic flap surgery. *Br J Plast*. 69: 469, 1986.
- 6- **Brayton CF:** Dimethyl sulfoxide: A review. *Cornell Vet*. 76: 61-90, 1986.
- 7- **Peters SL, Mathy MJ, Pfaffendorf M, Van Zwieten PA:** Reactive oxygen species-induced aortic vasoconstriction and deterioration of functional integrity. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*. 361: 127-33, 2000.
- 8- **Lawrence RN, Dunn WR, Wilson VG:** Endothelium-dependent relaxation in response to ethanol in the porcine isolated pulmonary artery. *J Pharm*. 50: 888-90, 1998.
- 9- **McAuley IW, Kim NN, Min K, Goldstein I, Traish AM:** Intracavernosal sildenafil facilitates penile erection independent of the nitric oxide pathway. *J Androl*. 22: 623-8, 2001.