

# Oksitosin ile Kasılan İzole İnsan Miyometriyumunda COX-2 Selektif İnhibitör Valdecoxibin Etkisinin İncelenmesi

## EXAMINATION THE EFFECT OF COX-2 SELECTIVE INHIBITOR, VALDECOXIB ON ISOLATED HUMAN MYOMETRIUM

Dr. Aygen ÇELİK,<sup>a</sup> Dr. Ahmet AYAR,<sup>b</sup> Dr. Ekrem SAPMAZ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, <sup>b</sup>Fizyoloji AD, Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi, ELAZIĞ

### Özet

**Amaç:** Spesifik COX-2 inhibitörü valdecoxibin, izole insan miyometriyumunda oksitosin ile oluşturulan kasılmalara tokolitik etkisinin incelenmesi.

**Gereç ve Yöntemler:** On dört miyad gebeden sezaryen sırasında alt segment transvers kesinin üst insizyon hattından 1x0.2x0.2 cm boyutlarında tam kat miyometriyum alındı. İzole organ banyosundaki kaslar 2 g istirahat geriminde bir saat bekletildikten sonra 0.5 nmol/L oksitosin ile indüklendi. 20 dk.lık düzenli kasılmalar elde edildi ve bu kasılmalar kayıt edilerek kontrol değerler oluşturuldu. Grup 1'de (n=6) ortama 0.3 mM valdecoxib, Grup 2'de (G2, n=8) ise 1 mM valdecoxib eklenerek 20 dk.lık kasılma kaydedildi. Kontrol grubunda ve deney grubunda elde edilen kasılmaların peak amplitüd (PA)(gr), eğri altında kalan alan (AUC) ve frekansları (f) (adet/dak) deney değerleri ile arasında olan yüzde farklar hesaplandı.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon Rank testi ile gruplar arası karşılaştırmalarda ve yüzde farkların karşılaştırılmasında Mann Whitney-U testi kullanıldı. p<0.05 anlamlı kabul edildi.

**Bulgular:** Her iki grupta da kontrol grubu değerleri (PA, AUC,f) ve ilaç uygulandıktan sonraki değerler arasında kasılmaların inhibisyonu lehine istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. (p<0.05 Wilcoxon Rank Test) Grup 2 de 1mM valdecoxib ile yapılan inhibisyon Grup 1'de 0.3 mM'a göre istatistiksel olarak daha etkili bulundu (p<0.05 Mann Whitney U Test).

**Sonuç:** COX-2 selektif inhibitör olan valdecoxib çalışılan her iki dozda da tokolitik etki gösterdi; ancak 1mM konsantrasyonda daha etkin bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** COX-2, erken doğum, kontraksiyon, valdecoxib, tokoliz

Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2005, 15:286-289

### Abstract

**Objective:** To examine the tocolytic effects of valdecoxib on oxytocin-induced contracting isolated pregnant human myometrium in isolated organ bath.

**Material and Methods:** Full thickness, 1x 0.2 x 0.2 cm. myometrium obtained during low segment transverse cesarian section from the upper margin of the incision from 14 patients. Oxytocin (0.5 nmol/L ) induced contractions for twenty minutes randomly divided into two groups after 2 gr stretch at isolated organ bath. At G1 (n=6) 0.3 mM valdecoxib, at G2 (n=8) 1 mM valdecoxib, added into the bath and tocolytic effects followed for 20 minutes. Area under curve (AUC), frequency (number/ min)and peak amplitude (g) were obtained. Wilcoxon Rank test is used for comparisons in the group and Mann Whitney-U test used for inter-group and percent differences. p<0.05 considered as statistically significant.

**Result:** Valdecoxib inhibited the peak amplitude, area under curve, and frequencies of the spontaneous contractions significantly (p<0.005) at both doses. However 1mM dose was more effective than 0.3 mM (p<0.05 ).

**Conclusion:** Valdecoxib,a selective COX-2 inhibitor, suppressed oxytocin induced contractions especially at a higher concentration.

**Key Words:** COX-2, contraction, preterm delivery, tocolysis, valdecoxib

**E**rken doğum bütün gebeliklerin %10'unda görülür aynı zamanda majör malformasyonu olmayan yeni doğanlardaki perinatal

mortalitenin %75-80'ini oluşturur.<sup>1</sup> Preterm veya termde oluşan uterus kasılmalarını başlatan mekanizma henüz netliğe kavuşmamış olsa da prostaglandinlerin miyometriyal aktivitede anahtar rol oynadığı saptanmıştır.<sup>2</sup> Siklooksijenaz enzimleri prostaglandin sentez yol ağının en önemli parçasıdır. İki izoformu bulunmuştur: Siklooksijenaz 1 (COX-1) ve siklooksijenaz 2 (COX-2).<sup>3</sup> COX-1 prostaglandin sentezleyen bütün dokularda bulunur. COX-2 indüklenebilir formdur ve infla-

Geliş Tarihi/Received: 17.02.2005

Kabul Tarihi/Accepted: 06.06.2005

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Aygen ÇELİK  
Fırat Üniversitesi Fırat Tıp Merkezi,  
Yeni Araştırma Hastanesi,  
Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, 23040, ELAZIĞ  
aygencelik@hotmail.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

masyon durumunda meydana gelir. İndüklenebilir izoform olan COX-2'in keşfi ile prostaglandin sentezi sadece inflamasyonun olduğu yerde baskılabilmıştır. COX-2 ve inhibitörlerinin bulunması ile patofizyolojik prostaglandin üretiminin seçici baskılanması normal fizyolojik fonksiyonlar için gerekli olan prostaglandin oluşumunu etkilemeden mümkün olmuştur.<sup>4</sup> İnsanlarda özellikle preterm olmak üzere, preterm ve term doğumların başlangıcında COX 2 up regulasyonu olur. Böylece COX-2'nin etkili inhibisyonu preterm eylemin kontrolünde merkezi rol oynar.<sup>5</sup> COX-2 inhibitör miyometriyal aktivasyonda majör rol oynar. Çünkü COX-2; agonist reseptörleri kodlayan gen ekspresyonunu, iyon kanallarını ve gap junctionları artırır.<sup>6,7</sup> Bütün otörler COX-1 varlığının doğum sırasında değişmediğinde hemfikirdir.

Prostaglandin üretimi hem term hem de preterm doğumda önemli olduğundan antiprostaglandinler tokolitik ajanlar olarak araştırılmaya başlandı. 1973'lü yıllarda yüksek doz salisilat kullananlarda ortalama gebelik süresinin uzadığı saptandı.<sup>8</sup>

Konvansiyonel nonsteroidal anti inflamatuvar ilaçların (NSAID) fetus üzerine olan istenmeyen etkilerinden arınmış olan selektif COX-2 inhibitörlerinin etkin tokolitik ajanlar olarak kullanılabilmesi düşünülebilir. Bu grupta yeni geliştirilen valdecoxib ile izole insan miyometriyumu kontraktilesi üzerine bu ilacın etkinliğini inceleyen çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu yönüyle çalışmamız orijinaldir.

Bu çalışma da spesifik COX-2 inhibitörü valdecoxibin, izole insan miyometriyumu oksitosin ile oluşturulan kasılmalara tokolitik etkisinin incelenmesini amaçladık.

### Gereç ve Yöntemler

Fırat Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Haziran 2003 ile Ağustos 2003 tarihleri arasında sezaryen operasyonu ile doğum yapan hastalar çalışma hakkında detaylı olarak bilgilendirildikten sonra önceden hazırlanmış "bilgilendirilmiş olur formu" imzaladılar. Çalışma Fırat Üniversitesi Etik Komitesi tarafından onaylandı. Medikal problemleri olan, diyabet, hipertiroidi, hipertansiyon, pre-eklamps, eklamps, plasenta dekol-

manı, konnektif doku hastalığı, enfeksiyon ve bu gebeliğinin herhangi bir döneminde preterm eylem öyküsü olan veya herhangi bir sebepten dolayı NSAID tedavisi almış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya dahil edilen hastaların hiçbirinde düzenli ilaç kullanımı öyküsü yoktu.

On dört miyad gebeden sezaryen sırasında bebeğin alınmasından sonra alt segment tranvers kesinin üst insizyon hattından 1 x 0.2 x 0.2 cm boyutlarında tam kat miyometriyum alındı. Alınan örnekler hemen Kreps solüsyonu içerisine koyuldu. Fizyoloji Laboratuvarına hızla sevk edilerek izole organ banyosuna ipek ile asıldı.

### Deney protokolü

Alınan kesitler içinde %95 oksijen ve %5 karbondioksitle sürekli gazlandırılan 37°C'de Krebs solüsyonu bulunan, ısı ceketli, çift çeperli izole organ banyosuna (Çalışkan cam teknik, Ankara, Türkiye) alındı. İstirahat şartlarını oluşturmak için kesitler, 2 gramlık (g) istirahat gerimi altında asıldı. 0.5 nmol/L oksitosin (Sympitan iv, 5IU/mlt, Deva, İstanbul, TÜRKİYE) ile düzenli kontraksiyon sağlanan kesitler kendi bazal verilerini oluşturdu. Yirmi dakika kayıt sonrası Grup 1'de (G1, n= 6) ortama 0.3 mM valdecoxib (VA) (Bextra®, 10 mg tablet, Pfizer Inc, New York, ABD), Grup 2'de (G2, n= 8) ortama 1 mM valdecoxib eklendi ve yirmi dakikalık kayıt alınarak deney verileri hesaplandı. Organ banyosunun pH'sı her uygulamayı takiben kontrol edildi.

İzometrik kasılmalar "izometrik güç çevirgeci" (Harvard Apparatus Limited, Kent, İngiltere) ve arabirim ile osilografa (Harvard Apparatus Limited, Kent, İngiltere) aktararak yazdırıldı. Ölçüm ve değerlendirmeler bu kayıtlar üzerinden yapıldı.

Deney boyunca hem kesitlerin transportu için hem de organ banyosunda ve kesitlerin hazırlamasında kullanılan Krebs solüsyonu içeriği (mM/L): NaCl, 121; KCl, 4,5; MgSO<sub>4</sub>, 1,2; glukoz, 11,5; CaCl<sub>2</sub>, 2,5; MgCl<sub>2</sub>, 1,2; NaPO<sub>4</sub>, 1,2; NaHCO<sub>3</sub>, 15,5; olmak üzere her gün taze olarak hazırlandı ve pH'sı ortofosforik asitle gerektiğinde (Acide orthophosphorique 85%, Merck, D-6100 Darmstadt, FR Almanya) 7.4'e ayarlandı.

Verilerin değerlendirilmesinde, grup içi Wilcoxon Rank testi, gruplar arası Mann Whitney-U testi kullanıldı. p<0.05 değeri anlamlı olarak

kabul edildi. Bütün istatistiksel değerlendirmeler ve SPSS 10.0 (versiyon 6.0,1, SPSS Inc. Chicago Illinois) bilgisayar programında yapıldı.

### Sonuçlar

Kesit veren hastaların sosyodemografik özellikleri benzer bulundu ( $p<0.05$  Mann Whitney U test) Değerler Tablo 1’de gösterildi. Grup 1’de (G1) altı kasa 0.5 nmol/L oksitosin uygulandıktan sonra düzenli kasılmalar elde edildi. 20 dk.lık düzenli kasılmadan sonra ortama 0.3 mM valdecoxib eklendi ve sonrasında 20 dk.lık kasılma kaydedildi. Oksitosin sonrası elde edilen bazal değerler ortalama peak amplitüd (PA)= 4495 ± 115 g, ortalama eğri altında kalan (EKA)= 4118 ± 548 ve ortalama frekans (f)= 7±0.1/20 d. idi. 0.3 mM valdecoxib uygulandıktan sonra elde edilen deney değerleri ortalama PA=2404 ± 607 g, ortalama EKA= 2145 ± 803 ve ortalama f= 2.8 ± 1.1/20 d. olarak saptandı (Tablo 2). Kontrol şartları ile 0.3 mM valdecoxib uygulandığı deney şartları karşılaştırıldığında ortalama PA, ortalama EKA, ve ortalama frekansta istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon saptandı ( $p<0.05$  Wilcoxon Rank Test) (Şekil 1).

Grup 2’de (G2) 8 kasa 2 g. istirahat geriminde bir saat bekleddikten sonra 0.5 nmol/L oksitosin uygulandı ve düzenli kasılmalar elde edildi. Yirmi dk.lık düzenli kasılmadan sonra ortama 1 mM valdecoxib eklendi ve sonrasında 20 dk.lık kasılma kaydedildi. Oksitosin sonrası ortalama PA= 5485 ± 527 g, ortalama EKA= 4501 ± 963 ve ortalama f =6.1 ± 1.2 /20 d. idi. 1 mM valdecoxib uygulandıktan sonra ortalama PA= 0.0 ± 0.0g, ortalama EKA= 0.0 ± 0.0ve ortalama f= 0.0 ± 0.0 /20 d. olarak saptandı. Kontrol şartları ile 1 mM valdecoxib uygulandığı deney şartları karşılaştırıldığında ortalama

**Tablo 1.** Miyometrium örneği veren hastaların sosyo-demografik özellikleri. Değerler ortalama ±standart deviasyon olarak gösterildi.

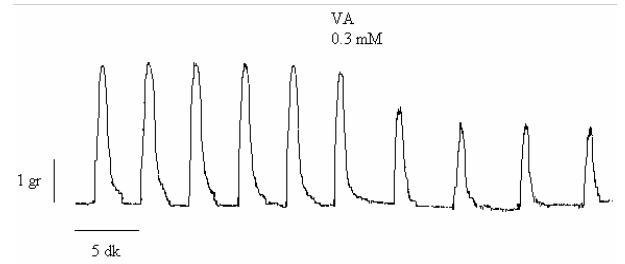
Parametre	Grup 1	Grup 2	p
Yaş (yıl)	29±6.5	28±8.2	Ns
Gebelik sayısı	2.4±1.1	2.1±2.4	Ns
Parite	2.2±0.5	2.6±1.6	Ns
Gestasyonel yaş (gün)	275.1±7	277±5	Ns

Ns=nonsignificant= $p>0.05$  Mann Whitney U Test

**Tablo 2.** Paracoksibin eğri altında kalan alan (EKA), peak amplitüd (PA), frekans (F) değerleri ve yüzde farkları (% f) üzerine olan etkisi. Değerler ortalama ± standart sapma (SD) verilmiştir-tir.

Parametre	G1	G2	p
EKA1	4117±547	4501±963	<0.05
EKA2	2145±803	0.0±0.0	<0.05
EKA%f	49±19	100±0.0	<0.05
PA1	4495±115	5485±527	<0.05
PA2	2404±607	0.0. ±0.0	<0.05
PA%f	47±8	100±0.0	<0.05
F1	6.8±0.8	6.1±1.2	<0.05
F2	2.8±1.1	0.0±0.0	<0.05
F % f	56±26	100±0.0	<0.05

$P<0.05$  Man Whitney U test



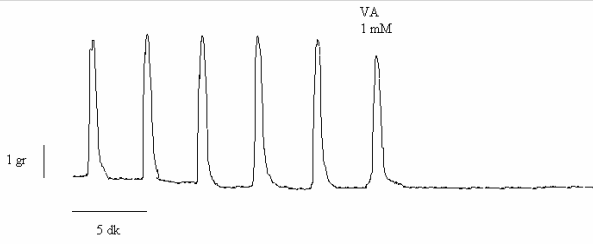
**Şekil 1.** Oksitosin ile indüklenen kontraksiyonlara 0.3 mM valdecoxibin (VA) etkisi.

PA, ortalama EKA ve ortalama frekansta istatistiksel olarak çok anlamlı inhibisyon saptandı ( $p<0.05$  Wilcoxon Rank Test) Şekil 2’de gösterildi.

G1 ve G2’de ki verilerin yüzde farkları karşılaştırıldığında 1 mM valdecoxibin uygulanmasında tüm değerlerde anlamlı olarak fark tespit edildi ( $p<0.05$  Man Whitney U test).

### Tartışma

Yaptığımız çalışmada, yeni üretilmiş olan COX-2 selektif inhibitörlerinden valdecoxibin oksitosin ile indüklenmiş gebe insan miyometrium kasılmalarını baskıladıkları saptandı. Özellikle 1 mM konsantrasyonda daha etkili bulundu. Bu ilaçlarla daha önce yapılmış invitro deney bulunmamaktadır. Bu yönüyle çalışmamızın konvansiyonel tokoliz tedavisine yeni bir bakış açısı kazandıracığı görüşüdeyiz.



**Şekil 2.** Oksitosin ile indüklenen kontraksiyonlara 1 mM valdecoxibin (VA) etkisi.

Prostaglandin inhibitörlerinden indometasin etkili bir tokolitik olmasına rağmen fetal ve neonatal yan etkilerinden dolayı kullanımı kısıtlı kalmıştır. Mekanizması ve yapısı indometazine benzeyen yeni ilaç sulindak'da prostaglandin inhibitörü olup yan etki profilinin benzerlik göstermesi nedeniyle kullanımı sınırlı kalmıştır.<sup>9</sup> İndometazinin bu yan etkilerinin nedeni COX-1 ve COX-2 'yi birlikte inhibe etmesidir. Bu nedenle daha spesifik inhibitörler geliştirilmiştir. COX-2 spesifik inhibitörlerin fetal ve neonatal yan etkilerinin daha düşük olduğu düşünülmektedir. Bizim kullandığımız ajan spesifik COX-2 blokeridir.

Nimesulid de spesifik ajanlardan biridir ve COX-2'ye selektivitesi COX-1'e göre 16 kat fazladır. Miyometriyal aktiviteyi invitro olarak çok iyi baskılar ancak fetal yan etkiler indometazin ile benzerdir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle beraber yüksek dozlarda COX-2 selektivitesinin yitilmesi, fetal dolaşımında ilacın birikmesi veya fetal böbrekte COX-2 izoenzimlerinin bulunması olabilir.<sup>10</sup> Yapılan bir çalışmada da spesifik COX-2 inhibitörü olan rofecoxib ile indometazin, ritodrin, nikardipin ve atosiban karşılaştırılmış ve invitro olarak rofecoxib düşük dozlarda güçlü inhibisyon sağlamıştır.<sup>11</sup> Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak deney dozlarımız oldukça düşüktür.

COX-2 inhibitörler terapötik olarak değerli tokolitik ajanlardır ve COX-2 selektivitesi arttıkça uterus kasılmalarını inhibe eden doz konsantrasyonları azalır ve yan etkiler aza iner.<sup>12</sup>

Bizim çalışmamızda kullandığımız ilaç COX-2 spesifik inhibitör ajandır ve kullanılan dozlarda oksitosin ile indüklenen kasılmaları güçlü ve istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde inhibe etti ki bu

literatürle uyumludur. İlacımızın COX-2'ye 28 bin kat daha duyarlı olduğundan (COX-2 IC<sub>50</sub> =0.005µM, COX-1 IC<sub>50</sub> =140µM) yan etki profilinin daha düşük olmasını beklemekteyiz.<sup>13</sup>

Sonuç olarak, valdecoxib in vitro olarak güçlü tokolitik ajan olup oksitosin indüklenen kasılmaları etkili olarak inhibe etmiştir. İnhibisyon dozlarında COX-1 aktivite olmadığından fetal yan etkilerin az olacağı beklenir. Ancak COX-2'nin dağılımı ve görevleri net değildir. Bu açıdan daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### KAYNAKLAR

1. Black RS, Flint S, Lees C, Campbell S. Preterm labour and delivery. Eur J Pediatr 1996;155;2-7.
2. Olson DM, Mijovic JE, Sadowsky DW. Control of human parturition. Semin Perinatol 1995;19:263.
3. Smith WL, Devwitt DL. Prostaglandin endoperoxidase H synthases -1 and 2. Adv.Immunol 1996;2:67-215.
4. Kniss DA, Zimmerman PD, Fertel LH, Samuels P, Landon MB, Iams JD. Inhibition of cyclooxygenase -2- mediated prostaglandin biosynthesis by NS-398. J Soc Gynecol Invest 1996;3:325-9.
5. Karadas B, Kaya T, Bağcıvan I, Kaloglu C, Guvenal T, Cetin A, Soydan AS. Comparison of effects of cyclooxygenase inhibitors on myometrial contraction and constriction of ductus arteriosus in rats. Eur J Pharmacol 2004 6;485:289-98.
6. Challis JRG, Lye SJ. Parturition. In Knobil Neil JD (eds): The physiology of reproduction. 2nd ed, Vol II. New York, Raven, s985, 1994.
7. Nibasheka BM, Nathanielsz PW. In vivo administration of nimesulide, a selektif PGHS-2 inhibitor, increases in vitro myometrial sensitivity to prostaglandins while lowering sensitivity to oxytocin. J Soc Gynecol Invest 1998; 5: 296-9.
8. Lewis RB, Schulman JD. Influence of acetylsalicylic acid, an inhibitor of prostaglandin synthesis, on duration of human gestation and labor. Lancet 1973;2:1159-61.
9. Kramer WB, Sade Gr, Belfort M, Dorman K, Mayes M, Moise KJ. A randomised double blind study comparing the fetal side effect of sulindac to terbutaline during the management of preterm labor. Am J Obstet Gynecol 1999;180:396-401.
10. Locatelli A, Vergani P, Bellini P, Strobelt N, Ghidini A. Can a cyclooxygenase type-2 selective tocolytic agent avoid the fetal side effects of indomethacin? BJOG 2001; 108:325-6.
11. Doret M, Mellier G, Bechaib M, Piacenza JM, Gharib C, Pasquier JC. In vitro study of tocolytic effect of rofecoxib, a specific cyclo-oxygenase inhibitor. Comparison and combination with other tocolytic agents. BJOG 2002; 109:983.
12. Slattery MM, Friel AM, Healy DG, Morrison JJ. Uterine relaxant effects of cyclooxygenase -2 inhibitors in vitro. Obstet Gynecol 2001;98:563-9.
13. Reynolds LW, Hoo RK, Brill RJ, North J, Pecker PD, Verburg MK. The COX-2 specific inhibitor valdecoxib is an effective, opioid sparing analgesic in patients undergoing total knee arthroplasty. Journal of Pain & Symptom management 2003;25:133-41.