



**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ENDOKANNABİNOİDLERİN UTERUS DÜZ KAS YANITLARI  
ÜZERİNE PEROKSİZOM-PROLİFERATÖRLERİNCE AKTİVE  
OLAN RESEPTÖRLER ARACILI ETKİSİ**

**Dr. Gülhan ÜNLÜ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ  
UZMANLIK TEZİ**

**2014-KIRIKKALE**



**T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ENDOKANNABİNOİDLERİN UTERUS DÜZ KAS YANITLARI  
ÜZERİNE PEROKSİZOM-PROLİFERATÖRLERİNCE AKTİVE  
OLAN RESEPTÖRLER ARACILI ETKİSİ**

**Dr. Gülhan ÜNLÜ**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Zühal AKTUNA**

**2014-KIRIKKALE**

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29.09.2014

Prof. Dr. Zühal AKTUNA  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Farmakoloji AD Başkanı  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Üçler KISA  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Biyokimya AD Başkanı  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Derya Beyza SAYIN  
Kırıkkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik AD Başkanı  
Üye

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürem içinde her açıdan büyük desteğini gördüğüm tez danışman hocam Prof.Dr. Zühal AKTUNA'ya,

Over dokularının makroskopik incelemesini yaparak katkı sağlayan Prof. Dr. Hakan KALENDER ve Doç. Dr. Ceyhun MACUN'a,

Uzmanlık eğitimimde katkıları bulunan hocam Doç.Dr. Aslı CEYLAN'a,

Yardımlarıyla destek olan Uzman Dr. Şeniz YILDIRIM'a,

Moral desteklerini her zaman hissettiğim Araştırma Görevlisi arkadaşlarım Dr. Murat Emrah AÇIKGÖZ, Dr. İsmail ATÇEKEN, Dr. Elif YILMAZ, Dr. Hasan DEMİRTAŞ ve Dr. Muhammed SEVİNDİK'e,

Uzmanlık eğitim sürecimde bana daima destek olan eşim Erdal'a ve aileme,

İçten teşekkürlerimle...

## **PROJE DESTEK**

Bu alışma Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir. Proje No: 2011/54

## ÖZET

**Ünlü G, Endokannabinoidlerin uterus düz kas yanıtları üzerine peroksizom-proliferatörlerince aktive olan reseptörler aracılı etkisi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale, 2014.**

Endokannabinoidler pek çok dokuda fonksiyonların düzenlenmesine katkısı olduğu gösterilmiş endojen mediyatörlerdir. Endokannabinoidler etkilerini kannabinoid reseptörü tip 1 (CB<sub>1</sub>), kannabinoid reseptörü tip 2 (CB<sub>2</sub>), geçici reseptör potansiyeli olan vanilloid tip 1 kanal (TRPV1) reseptörleri, peroksizom proliferatörlerince aktive olan reseptör (PPAR)'ler ve vasküler G-proteinleri ile eşleşmiş reseptörler aracılığıyla gösterirler. Uterus düz kas fonksiyonlarında bir endokannabinoid olan anandamid (AEA)'in PPAR'lar aracılı etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla PPAR agonist (GW0742) ve antagonistleri (GW6471 ve GSK0660) uygulanmış sıçanların izole uterus düz kas preparatlarında AEA yanında Oksitosin (OT) ve Prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) gibi agonistlerin etkileri incelenmiştir. Elde edilen yanıtlar Kruskal Wallis varyans analizi ve post-hoc Dunn testi ile değerlendirilmiştir. PPAR β/δ antagonist grubunda AEA (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) ile maksimum gerimler ve amplitüdlerin artmış, PPAR β/δ agonist grubunda ise maksimum gerimler ve amplitüdlerin azalmış olduğu görülmüştür. OT'nin düşük konsantrasyonlarında PPAR-α antagonist grubunda minimum gerimler ve EAA azalmış iken, yüksek konsantrasyonlarında minimum gerim, maksimum gerim, amplitud, frekans ve EAA artmış olarak gözlenmiştir. PPAR β/δ antagonist deney grubunda PGF<sub>2α</sub>'nın düşük konsantrasyonlarında minimum ve maksimum gerimler, EAA ve amplitud artmış, PPAR-α antagonist grubunda ise zıt yönde etkiler görülmüştür. Elde edilen veriler uterus düz kas fonksiyonları üzerinde PPAR'ların farklı etkileri olabileceğini düşündürmüştür. Bu etkilerin mekanizmaları ile birlikte aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Uterus, endokannabinoid, anandamid, PPAR, *in vitro*

## ABSTRACT

Endocannabinoids are endogenous mediators which contribute to the regulation of the functions of most tissues. They activate cannabinoid CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> receptors, transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV1), peroxisome proliferator-activated receptors and vascular G-protein-coupled receptor. To determine the role of PPAR's on uterine smooth muscle function we examined the effects of PPAR agonists (GW0742) and antagonists (GW6471 and GSK0660) on anandamide (AEA), oxytocine (OT) and Prostaglandin F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) induced responses. Data were evaluated by Kruskal-Wallis analysis of variance and post hoc Dunn's test. PPAR-β/δ antagonist increased the AEA (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) induced maximum tensions and amplitude responses, while PPAR-β/δ agonist decreased them. At lower concentrations of OT, PPAR-α antagonist decreased AUC and minimums while at higher concentrations amplitude, frequency, and AUC were all increased. PPAR-α antagonist increased minimum and maximum tensions as well as amplitude and AUC at lower concentrations of PGF<sub>2α</sub>. On the contrary PPAR-α antagonist decreased PGF<sub>2α</sub> induced uterine contractile responses. The data obtained on uterine smooth muscle may suggest different effects of PPARs. Further studies are needed to be carried out in order to clarify this, together with the mechanism of action.

**Keywords:** Uterus, endocannabinoid, anandamide, PPAR, *in vitro*

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa No:</b>
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET .....	iv
YABANCI DİLDE ÖZET (ABSTRACT).....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR .....	viii
ŞEKİLLER.....	xii
TABLolar .....	xvi
GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Endokannabinoidler .....	3
2.2. PPAR'lar .....	7
2.2.1. PPAR- $\alpha$ .....	11
2.2.2. PPAR- $\gamma$ .....	12
2.2.3. PPAR- $\beta/\delta$ .....	13
2.2.4. PPAR'ler ve Üreme Sistemi .....	14
2.3. Endokannabinoidler ve PPAR'lar.....	17
2.3.1. Endokannabinoidler ve PPAR- $\alpha$ .....	17
2.3.2. Endokannabinoidler ve PPAR- $\gamma$ .....	18
2.3.3. Endokannabinoidler ve PPAR- $\beta/\delta$ .....	18
2.4. Uterus Düz Kasının Fizyolojik ve Farmakolojik Genel Özellikleri ....	19
2.4.1. Oksitosin .....	19
2.4.2. Prostaglandin F <sub>2<math>\alpha</math></sub> .....	22
MATERYAL VE METOD .....	25
3.1. Deney Hayvanları .....	25
3.2. Dokuların Hazırlanması .....	25
3.3. Deney Protokolü .....	26
3.4. İstatistiksel Analizler .....	29
3.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	32
3.6. Kullanılan Deney Araç ve Gereçleri.....	33



BULGULAR.....	34
4.1. Uterus Düz Kasında Agonist Uygulamaları Öncesinde Spontan Kontraksiyonların Değerlendirilmesi .....	34
4.2. Anandamid Yanıtları .....	40
4.2.1. Frekanslar .....	40
4.2.2. Minimum Gerimler.....	40
4.2.3. Maksimum Gerimler .....	43
4.2.4. Amplitüd Değişikliği .....	43
4.2.5. Eğri Altında Kalan Alan .....	43
4.3. Oksitosin Yanıtları .....	47
4.3.1. Frekanslar .....	47
4.3.2. Minimum Gerimler.....	47
4.3.3. Maksimum Gerimler .....	50
4.3.4. Amplitüd Değişikliği .....	50
4.3.5. Eğri Altında Kalan Alan .....	50
4.4. Prostaglandin F <sub>2α</sub> Yanıtları.....	54
4.4.1. Frekanslar .....	54
4.4.2. Minimum Gerimler.....	54
4.4.3. Maksimum Gerimler .....	57
4.4.4. Amplitüd Değişikliği .....	57
4.4.5. Eğri Altında Kalan Alan .....	57
4.5. Tokrisolve Yanıtları.....	62
4.5.1. Frekanslar .....	62
4.5.2. Minimum Gerimler.....	62
4.5.3. Maksimum Gerimler .....	62
4.5.4. Amplitüd Değişikliği .....	66
4.5.5. Eğri Altında Kalan Alan .....	66
TARTIŞMA.....	69
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	74
KAYNAKLAR .....	75

## SİMGELER ve KISALTMALAR

AEA	: Anandamid (araşidoniletanolamid)
AF-1	: Aktifleştirme fonksiyonu-1
2-AG	: 2-araşidonil gliserol
AMPK	: AMP aktive protein kinaz
AP-1	: Aktivatör protein-1
AS	: Adenilat siklaz enzimi
AT	: Anjiotensin
ATP	: Adenozin trifosfat
BK <sub>Ca</sub>	: Kalsiyum bağımlı potasyum iyon kanalı
Ca <sup>+2</sup>	: Kalsiyum iyonu
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum klorür
CB <sub>1</sub>	: Kannabinoid reseptörü tip 1
CB <sub>2</sub>	: Kannabinoid reseptörü tip 2
CCAAT/EBP	: CCAAT/ Enhancer binding protein (Bağlanmayı arttıran protein)
CD40L	: CD40 ligand
CGRP	: Kalsitonin geni ile ilişkili peptid
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
COX	: Siklooksijenaz
CRP	: C-reaktif protein
DBD	: DNA binding domain (DNA bağlayan bölge)
dk	: Dakika
DOCA	: Dezoksikortikosteron asetat
DHA	: Dokazoheksaenoik asit
EAA	: Eğri altında kalan alan
EDHF	: Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
F	: Frekans (kontraksiyon sayısı)
FA	: Yağ asidi
FAAH	: Yağ asidi amid hidrolaz
FSH	: Folikül stimüle edici hormon

g	: Gram
GS	: Guanilat siklaz
GTP	: Guanozin trifosfat
hCG	: İnsan koryonik gonadotropin
5-HT	: 5-hidroksitriptamin
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HD	: Hinge domain (Esas bölge)
HL-60	: İnsan lösemi hücresi
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
3- $\beta$ HSG	: 3- beta hidroksisteroid dehidrogenaz
ICAM	: İntersellüler adezyon molekülü (Hücreler arası adezyon molekülü)
IF- $\gamma$	: İnterferon gama
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
i.p.	: İnteraperitoneal
IP <sub>3</sub>	: İnozitol 1,4,5-trifosfat
IVF	: <i>In vitro</i> fertilizasyon
K <sup>+</sup>	: Potasyum iyonu
K <sub>ATP</sub>	: ATP'ye duyarlı potasyum kanalı
KCl	: Potasyum klorür
kg	: Kilogram
LBD	: Ligand binding domain (Ligand bağlayan bölge)
LH	: Luteinleştirici hormon
LOX	: Lipoksijenaz
M	: Molar
MAGL	: Mono açıl gliserol lipaz
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MCP	: Monosit kemoatraktan protein
Mg <sup>+2</sup>	: Magnezyum iyonu
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre

mM	: Milimolar
MMP-9	: Matriks metalloproteinaz-9
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asid
Na <sup>+</sup>	: Sodyum iyonu
NAPE	: N-açil-fosfatidil etanolamin
NAPE-PLD	: N-açil-fosfatidil etanolamin spesifik fosfolipaz D
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NMDA	: N-metil D-aspartat
NO	: Nitrik oksid
O <sub>2</sub>	: Oksijen
OEA	: Oleiletanolamid
OT	: Oksitosin
OTR	: Oksitosin reseptörü
PEA	: Palmitoiletanolamid
PECAM	: Platelet ve endotelyal hücre adezyon molekülü
PCOS	: Polikistik over sendromu
PG	: Prostaglandin
PGD <sub>2</sub>	: Prostaglandin D <sub>2</sub>
PGE <sub>2</sub>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
PGF <sub>2α</sub>	: Prostaglandin F <sub>2α</sub>
PKC	: Protein kinaz C
PLC	: Fosfolipaz C
PPAR	: Peroksizom proliferatörlerince aktive olan reseptör
PPRE	: Peroksizom proliferatör yanıt elementi
RXR	: Retinoik X reseptör
s	: Saniye
sAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
sGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
SHR	: Spontan hipertansif sıçan
SOD	: Süperoksit dismutaz
THK	: Tetrahidrokannabinol
Δ-9-THK	: Delta-9-Tetrahidrokannabinol

TG	: Trigliserid
TNF- $\alpha$	: Tümör nekrotizan faktör alfa
TRPV1	: Geçici reseptör potansiyeli olan vanilloid tip 1 kanal reseptörü
TZD	: Tiazolidindion
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
VLDL	: Çok düşük dansiteli lipoprotein
VR	: Vanilloid reseptörü
VSMC	: Vasküler düz kas hcreci

## ŞEKİLLER

### Sayfa No:

<b>Şekil 1.</b>	Araşidonik asit sentez yolağı.....	4
<b>Şekil 2.</b>	PPAR proteinlerinin yapısının şematik olarak gösterilmesi .....	9
<b>Şekil 3.</b>	PPAR agonistleri aynı reseptör aracılığı ile farklı biyolojik cevapları başlatma yeteneğine sahiptir. ....	10
<b>Şekil 4.</b>	PPAR'ın çalışma mekanizmasının şematik olarak gösterilmesi.....	10
<b>Şekil 5.</b>	Peroksizom proliferatörlerince aktive olan reseptörlerin çalışma mekanizması.....	11
<b>Şekil 6.</b>	Eikozanoid sentezi .....	23
<b>Şekil 7.</b>	Sıçan uterusunun izole edilmesi .....	28
<b>Şekil 8.</b>	İzole organ banyosu sistemi.....	28
<b>Şekil 9.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında uygulanan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ( $PGF_{2\alpha}$ ), oksitosin (OT), anandamid (AEA) ve tokrisolve (TS) uygulaması sonrası frekans, maksimum gerim değerlerinin hesaplanması.....	31
<b>Şekil 10.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında uygulanan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ( $PGF_{2\alpha}$ ), oksitosin (OT), anandamid (AEA) ve tokrisolve (TS) sonrası maksimum, minimum ve amplitud değerlerinin hesaplanması .....	31
<b>Şekil 11.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulaması öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları. ....	36
<b>Şekil 12.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulamaları öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri.....	37
<b>Şekil 13.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulamaları	

	öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri.....	38
<b>Şekil 14.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulanmaları öncesi 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları. ....	39
<b>Şekil 15.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları. ....	41
<b>Şekil 16.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri. ....	42
<b>Şekil 17.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri. ....	44
<b>Şekil 18.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri.....	45
<b>Şekil 19.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471 DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları. ....	46
<b>Şekil 20.</b>	İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları .....	48

- Şekil 21.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri.....49
- Şekil 22.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri.....51
- Şekil 23.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri.....52
- Şekil 24.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları.....53
- Şekil 25.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları.....55
- Şekil 26.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri.....56
- Şekil 27.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri.....59
- Şekil 28.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri.....60



- Şekil 29.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları .....61
- Şekil 30.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları .....63
- Şekil 31.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri .....64
- Şekil 32.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri .....65
- Şekil 33.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri .....67
- Şekil 34.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları .....68

## TABLolar

### Sayfa No:

<b>Tablo 1.</b> Kannabinoid reseptör agonist ve antagonistleri .....	6
<b>Tablo 2.</b> İnsan ve fare/sıçanda PPAR'ın dokularda dağılımı .....	8
<b>Tablo 3.</b> PPAR- $\alpha$ ve $\beta/\delta$ ligandları .....	12
<b>Tablo 4.</b> PPAR- $\gamma$ ligandları .....	14
<b>Tablo 5.</b> Deney hayvanlarından elde edilen over dokularının makroskopik olarak incelenerek östrus siklusunun fazlarının gruplara göre dağılımının değerlendirilmesi .....	26
<b>Tablo 6.</b> İzole sıçan uterus preparatlarında 45 dk'lık dengelenme süresinin ardından kontrol, GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında agonist uygulamaları öncesinde dokuların başlangıç gerimleri .....	35

## GİRİŞ VE AMAÇ

Uterus fonksiyonlarının normal olması sağlıklı bir gebelik ve doğum süreci için çok önemlidir. Fertilizasyonun oluşumunda, gebeliğin sürdürülmesi ve doğum eyleminin gerçekleşmesinde uterusun kontraksiyonu ve relaksasyonu önemli roller oynamaktadır.

Uterus duvarı tunika seroza (perimetriyum), tunika subseroza, tunika muskularis (myometriyum) ve tunika mukoza (endometriyum) olarak dört tabakadan oluşmaktadır. Uterus yapısının büyük bir kısmını myometriyum oluşturmaktadır. Myometriyum longitudinal ve sirküler seyreden düz kaslar içermektedir (1). Bu düz kaslar üzerinde gevşetici ve kasıcı faktörler arasındaki denge myometriyumun ve dolayısıyla uterusun gebelik ve doğum sürecindeki fonksiyonunu belirlemektedir. Bu nedenle uterus düz kası ve uterus düz kası fonksiyonları üzerinde etkili olan faktörler birçok araştırmaya konu olmuştur. Uterus düz kası aktivitesinin düzenlenmesinde nöral, hormonal ve metabolik faktörler, nöromedyatörler ile hücre membran reseptörleri, iyon kanalları ve intraselüler sinyal sistemleri arasında kompleks bir etkileşim söz konusudur. Uterus düz kas kontraktilesinin majör belirleyicileri intraselüler kalsiyum  $Ca^{+2}$  miktarı ve uterin prostaglandin (PG) üretimidir (2).

Günümüzde uterus düz kası fonksiyonları üzerinde etkili farmakolojik ajanlar doğum indüksiyonunda, preterm doğumu önlemek amacıyla ve uterus atonisi gibi fonksiyonel bozukluklarda sıklıkla kullanılmaktadır. Oksitosin (OT), asetilkolin, endotelin-1, prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ), ergonovin ve metilergonovin gibi ajanlar uterus düz kasında kasılmaya neden olurken; ritodrin, isoproterenol, nifedipin, magnezyum sülfat gibi ajanlar uterus düz kasında gevşeme oluştururlar (2-4).

İzole uterus dokusu; çeşitli kimyasal ajanların fizyolojik ve farmakolojik etkilerinin incelenmesi, reproduktif dönemde görülen çeşitli fizyopatolojik durumların araştırılıp aydınlatılması, onların teşhis, profilaksi ve tedavisine

katkıda bulunacak yeni ajanların geliştirilebilmesi amacıyla üzerinde eskiden olduğu gibi bugün de pek çok çalışmanın yapıp, yürütüldüğü bir dokudur.

Endokannabinoidler, anandamid (AEA) ve 2-araşidonil gliserol (2-AG) yaptığı etkiler açısından tetrahidrokannabinol (THK)'e benzeyen ve vücutta membran fosfolipidlerinden sentez edilen maddelerdir (5). Endokannabinoidler etkilerini kannabinoid reseptörü tip 1 (CB<sub>1</sub>), kannabinoid reseptörü tip 2 (CB<sub>2</sub>), geçici reseptör potansiyeli olan vanilloid tip 1 kanal (TRPV1) reseptörleri, peroksizom proliferatörlerince aktive olan reseptör (PPAR)'ler ve vasküler G-proteinle eşleşmiş reseptörler aracılığıyla gösterirler (6,7). Endokannabinoidlerin etkilerini ve etki mekanizmalarını incelemek amacıyla yapılan çalışmalarda; kardiyovasküler, gastrointestinal ve üriner sistemdeki değişik düz kas dokularında kasılma ve gevşeme yanıtları oluşturdukları gösterilmiştir (8-10). Ancak endokannabinoidlerin uterus düz kası üzerindeki etkileri, hangi reseptörlerin bu etkiye aracılık ettiği, PPAR'ların bu etkideki rolü henüz aydınlatılmış değildir.

Bu çalışmada endokannabinoidlerin uterus düz kası üzerindeki etkilerinde PPAR'ların rollerini araştırdık.

Hipotezimiz "Endokannabinoidler PPAR'lar aracılığı ile uterus düz kasında kontraktıl yanıtlarda azalmaya neden olur" olup elde ettiğimiz verilerin uterus fizyopatolojisine, preterm eylem ve abortus gibi olayların fizyopatolojisine yeni bir bakış açısı getirebileceğini düşünmekteyiz. Bu amaçla izole sıçan uterus düz kas preparatlarında PPAR agonist ve antagonist deney gruplarında AEA yanında OT ve PGF<sub>2α</sub> gibi agonistlerin etkilerini inceledik.

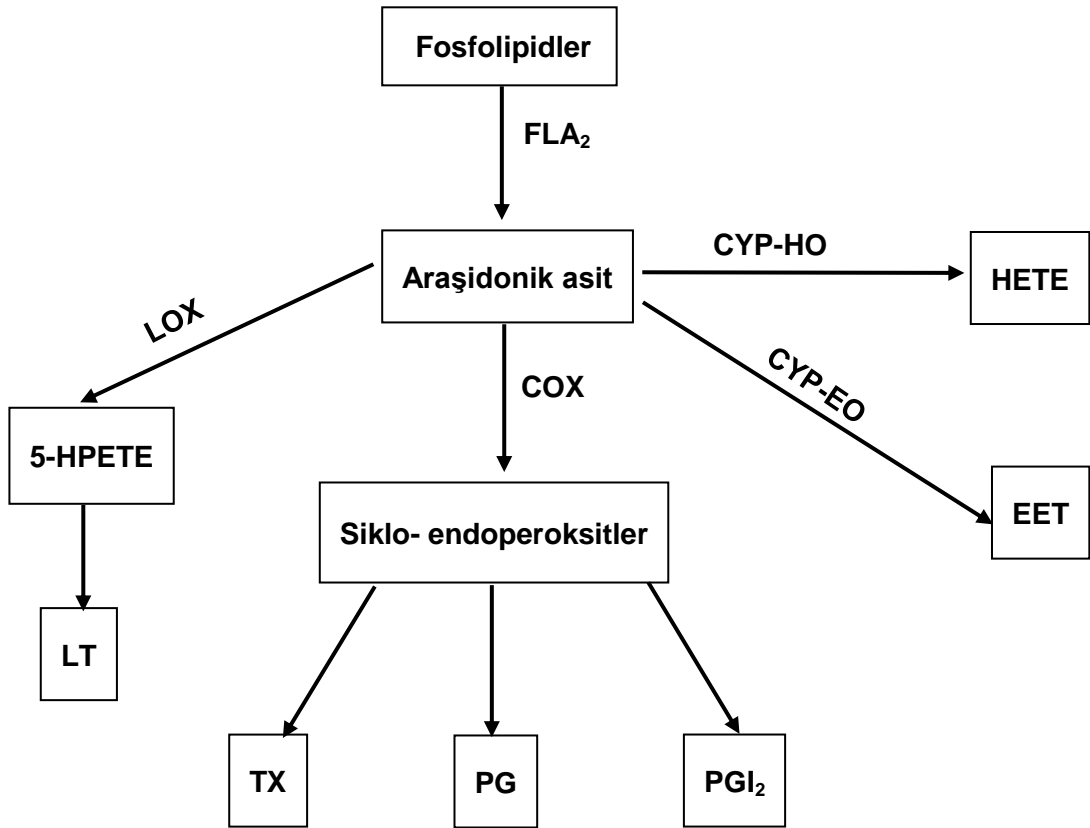
## GENEL BİLGİLER

### 2.1. Endokannabinoidler

Kannabinoidlerin psikoaktivite açısından zayıf üyesi kannabinol ve inaktif üyesi kannabidiyol ilk olarak 1940'larda birbirinden bağımsız iki araştırmacı, İngiltere'de Lord ve ABD'de Roger Adams tarafından izole edildi. 1960' ların başında kannabidiyolün yapısı aydınlatıldı. Aktif kannabis bileşeni Delta-9-Tetrahidrokannabinol ( $\Delta$ -9-THK) ilk olarak 1964 yılında saf şekliyle izole edildi ve yapısı aydınlatıldı. Bunu izleyen dönemde pek çok bitkisel ve doğal cannabinoidin yapıları ortaya çıkarıldı ve kannabimimetik aktivite ile ilgili temel yapı-etki ilişkileri yanında metabolik yolları da ortaya kondu (5, 6, 7)

Yaklaşık 25 yıl önce sıçan serebral korteks cDNA'sından THK için bir reseptör klonlandı (11) ve araşidonil etanolamin bu reseptör için yüksek afiniteli bir ligand olarak tanımlandı (7). Bu ligand aynı zamanda AEA (Sanskrit dilinde 'a-nanda' mutluluk, neşe, zevk anlamında) olarak adlandırıldı (12). İnsan beyinde ve periferik dokularda yüksek miktarda AEA ve cannabinoid reseptör ekspresyonu tanımlandı. Bu dağılım onun santral ve periferik etkili bir madde olduğu fikrini desteklemektedir (7, 13). Serum, plazma ve serebrospinal sıvılarda düşük miktarlarda bulunması da hormon olmasından çok dokularda sentezlenip metabolize edildiğini göstermektedir (13).

Endokannabinoidler, AEA ve 2-AG, yaptığı etkiler açısından THK'e benzeyen ve vücutta membran fosfolipidlerinden sentez edilen maddelerdir (5).



**Şekil 1.** Araşidonik asit sentez yolağı. FLA<sub>2</sub>: Fosfolipaz A<sub>2</sub>, COX: Siklooksijenaz, LOX: Lipoksijenaz, CYP: Sitokrom P450, PG: Prostaglandin, PGI<sub>2</sub>: Prostasiklin, TX: Tromboksan, LT: Lökotrien, CYP-HO: CYP hidroksilaz, CYP-EO: CYP epoksijenaz, EET: Epoksieikozatrienoik asit, HETE: Hidroksieikozatetraenoik asit (14).

Endokannabinoidler etkilerini CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, TRPV1, PPAR ve vasküler G-proteinle eşleşmiş reseptörler aracılığıyla gösterirler (6,7). Endokannabinoidlerin ilk tanımlanan reseptörü CB<sub>1</sub> daha sonra tanımlanan reseptörü CB<sub>2</sub> reseptörüdür. Her iki reseptör de G<sub>i/o</sub> proteini ile eşleşmiştir (15, 16). CB<sub>1</sub> reseptörü kannabinoidlerin insan, sıçan ve fare myokardındaki etkilerine yol açmakta ve stimülasyonu negatif inotropik etkilere neden olmaktadır (17, 18, 19). Buna rağmen izole sıçan kalbindeki bazı olaylar kardiyak etkileri ile uyumsuzdur (20). AEA'in CB<sub>2</sub> reseptörlerine afinitesi CB<sub>1</sub>'e olan afinitesinden daha düşüktür (12). 2-AG, CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> reseptörlerine bağlanmaktadır; fakat, CB<sub>2</sub> reseptörleri üzerindeki aktivitesi daha yüksektir (21).

Birçok kannabinoid reseptör agonistinin *in vitro* deneylerle PPAR agonisti olduğu rapor edilmiştir. Bunlar içerisinde AEA, 2-AG, THK, WIN55212 ve ajulemik asit vardır. THK ve WIN55212 PPAR- $\gamma$ 'yı, Rimonabant ve AM 251, hem PPAR- $\gamma$  hem de PPAR- $\alpha$ 'yı aktive eder (22-25).

Merkezi sinir sisteminde AEA sentezinin  $Ca^{+2}$  bağımlı olduğu bilinmektedir (26). Satüre veya monosatüre açiletanolamidler gibi fosfolipaz D benzeri bir enzim varlığında N-açil-fosfotidiletanolamin (NAPE)'den AEA oluşur. Fosfotidiletanolamin sn-1,2-diarasidonil-fosfotidilkolinin sn-1 pozisyonundaki arasidonik asiti kullanarak arasidonillenir. Bu olay  $Ca^{+2}$  bağımlıdır (26, 27). Fizyolojik koşullarda nanomolar düzeyde endokannabinoid üretilip hücrelerde hızla tutulup hidrolize uğratıldığından, AEA yıkımı ile oluşan ürünün eikozanoidlere dönmediği düşünülmektedir. Ancak AEA yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında, endokannabinoidlerin bazı etkilerinin arasidonik asit türevlerine dönüşümü ile ortaya çıkabileceği bazı farmakolojik çalışmalarda bildirilmiştir (8, 28, 29).

AEA'in hidrolizinden temel olarak sorumlu enzim anandamid amidohidrolaz (yağ asidi amid hidrolaz, FAAH)'dir (5). AEA katabolizması için önerilen diğer mekanizma arasidonik asit yolağındaki lipoksijenazlar (LOX), sitokrom p450 oksijenazlar ve siklooksijenaz-2 (COX-2) gibi enzimlerce maddenin enzimatik oksidasyonudur (30, 31). Farklı dokularda FAAH enzim aktivitesi araştırılmış olup; enzim aktivitesi özellikle karaciğer ve beyinde yüksek bulunmuştur. Kalp, böbrek, barsak, mide, akciğer, dalak ve kasta daha düşük olarak saptanmıştır. Beyinde globus pallidus, hipokampus, substantia nigra, striatum, serebellum ve medullada amidohidrolaz aktivitesi gösterilmiştir (32).

AEA'in santral ve periferik etkilerini ortaya koymak için birçok kannabinoid reseptör agonist ve antagonist kullanılmaktadır (33, 34, 35).

**Tablo 1.** Kannabinoid reseptör agonist ve antagonistleri (33, 34, 35)

Kannabinoid reseptör agonist ve antagonistleri				
CB <sub>1</sub> reseptör		CB <sub>2</sub> reseptör		CB <sub>1</sub> ve CB <sub>2</sub> reseptör agonist
agonist	antagonist	agonist	antagonist	
HU-210	AM 251	JWH 133	AM 630	WIN55212
Δ-9-THC	AM 281	JWH 015	SR 144528	CP 55,940
O-689	SR 141716A	HU308		
O-585	LY-320135	AM 1241		
L-759633		GW 405833		
L-759656				

AEA hücre içi etkilerini CB<sub>1</sub> ve/veya CB<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden N veya P/Q tipi Ca<sup>+2</sup> kanallarının inhibisyonu, içe doğru potasyum (K<sup>+</sup>) kanalları ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK)'ın aktivasyonu ile gösterir. Bu etki yolu her iki reseptöre özgü selektif reseptör antagonistleri aracılığı ile çalışılmıştır. Ayrıca kannabinoidler TRPV1 reseptörlerini, PPAR'ları ve G proteini ile eşleşmiş reseptörleri aktive ederek de etki göstermektedir (6). Son yıllarda yapılan araştırmalarda endokannabinoidlerin G proteini ile eşleşmiş GPR55 ve GPR119 gibi nadir bulunan (orfan) reseptörlerine bağlanarak bu reseptörleri aktive ettikleri gösterilmiştir. GPR55'in ağrı iletiminde rol alabileceği düşünülmektedir (36, 37). GPR55'in kannabinoidler tarafından aktive edildiği fakat kannabinoidlerin vazodilatör etkilerinden sorumlu olmadığı gösterilmiştir (38).

Endokannabinoidlerin santral ve periferik etkileri ile etki mekanizmalarının incelendiği pek çok çalışma mevcut olup, kardiyovasküler, gastrointestinal, genitoüriner sistem düz kaslarında AEA aracılı etkiler araştırılmıştır (9, 39, 40). AEA'in çeşitli düz kas yapıları üzerinde kannabinoid reseptörleri aracılı mekanizmalarla gevşeme yanıtı oluşturduğu belirtilmiş olup, farklı düz kas hücrelerinde nitrik oksit (NO) ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) salıverilmesi, adenilat siklaz (AS) ve guanilat siklaz (GS) enzimlerinin aktivasyonu, L-tipi Ca<sup>+2</sup> kanallarının inhibisyonu,



kalsiyum bağımlı potasyum iyon kanallarının ( $BK_{Ca}$ ) aktivasyonu bu mekanizmada rol almaktadır (9, 39-41).

Genital sistemde doğum süreci üzerinde etkili faktörler arasında AEA'in yer alıp almadığı pek çok araştırmanın konusu olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda AEA'in gebeliği engellediği, implantasyon bozukluğuna neden olduğu ve embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir (42).

AEA blastokist ve uterusu eksprese edilmektedir (43). Fare uterusunda 2-AG seviyeleri AEA seviyelerine göre daha yüksek olup, doku dağılım paterni benzerlik göstermektedir. Her ikisi de implantasyon alanlarında düşük seviyelerde iken implantasyon alanlarının arasında daha yüksek seviyelerdedirler (43). AEA'in implantasyon süreci üzerine etkilerine  $CB_1$  reseptörleri aracılık etmektedir. AEA blastokist fonksiyonlarını ve implantasyonu  $CB_1$  reseptörleri aracılığıyla  $Ca^{+2}$  kanal aktivitesini ve MAPK sinyalini düzenleyerek regüle etmektedir (44, 46).

İnsan myometriyumunda  $CB_1$  ve  $CB_2$  reseptörleri tanımlanmış olup, AEA ve  $\Delta$ -9-THK'ün OT ile kasılan myometriyal preparatlarda gevşetici etki oluşturduğu gösterilmiştir. Bu gevşetici etkileri spesifik  $CB_1$  reseptör antagonisti, SR141716A ile antagonize edilirken; spesifik  $CB_2$  reseptör antagonisti, SR144528 ile değişmemektedir (39).

## 2.2. PPAR'lar

PPAR'lar ilk olarak kemirgen karaciğerinde ksenobiyotiklere cevap olarak peroksizom proliferasyonuna neden olan nükleer faktörler olarak gösterilmiştir (47). Daha sonra lipid ve glukoz metabolizmasını regüle eden genleri modüle ettiği, oksidan stres ve inflamasyona katıldığı gösterilmiştir (48-52).

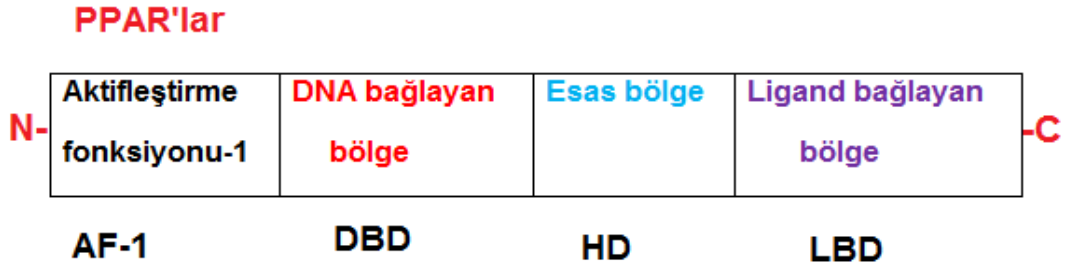
Bilinen üç tane PPAR vardır:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ ,  $\gamma$ . PPAR- $\alpha$  karaciğer, böbrek, kalp ve iskelet kası gibi yağ asit katabolizmasının önemli olduğu dokularda bulunur. Yağ asitleri ve eikozanoidler (örneğin lökotrien B4) gibi doğal

ligandlar ve lipid düşürücü fibratlar gibi sentetik ligandlarla stimule olur (53). PPAR- $\alpha$  yağ asitlerinin  $\omega$  ve  $\beta$  oksidasyonuna katılan hedef genleri etkiler. PPAR- $\beta/\delta$  birçok dokuda eksprese olur (54, 55). Son çalışmalar özellikle iskelet kasında, kardiyovasküler dokularda PPAR- $\beta/\delta$ 'nin yağ asidi ve lipid metabolizmasına katıldığını göstermektedir (48, 56, 57). PPAR- $\gamma$  yağ hücrelerinin farklılaşması ve yağ depolanmasını kontrol eder ve yağ dokusunda yüksek miktarda eksprese edilir (58). Yağ dokusu ve iskelet kasındaki etkilerinden başka PPAR- $\gamma$  insülinin etkilerini de regüle eder. PPAR- $\gamma$ 'nin selektif aktivatörleri insülin duyarlılığını artırıcı etki gösteren tiazolidindion (TZD) veya diğer adıyla glitazonlardır (59).

**Tablo 2.** İnsan ve fare/sıçanda PPAR'ın dokularda dağılımı (60)

	<b>İnsan</b>	<b>Fare/sıçan</b>
<b>PPAR-<math>\alpha</math></b>	Karaciğer, primer hepatosit, HepG2 hepatom hücresi, kalp, HepaRG hepatom hücresi, GIS, beyin, monosit, dendritik hücre, böbrek, uterus, gonadlar	Karaciğer, hepatosit, GIS, beyin, FAO hepatom hücresi, beyaz yağ dokusu, uterus, gonadlar
<b>PPAR-<math>\beta/\delta</math></b>	HepG2 hepatom hücresi, ince bağırsak, kolon, böbrek, monosit, makrofaj, dendritik hücre, böbrek, uterus, gonadlar	Karaciğer, FAO hepatom hücresi, beyaz yağ dokusu, GIS, beyin, makrofaj, kolon, uterus, gonadlar
<b>PPAR-<math>\gamma</math></b>	Karaciğer, primer hepatosit, HepG2 hepatom hücresi, beyaz yağ dokusu, GIS, beyin, monosit, dendritik hücre, böbrek, izole adiposit, uterus, gonadlar	Hepatosit, makrofaj, GIS, beyin, beyaz yağ dokusu, dalak ve timus, uterus, gonadlar

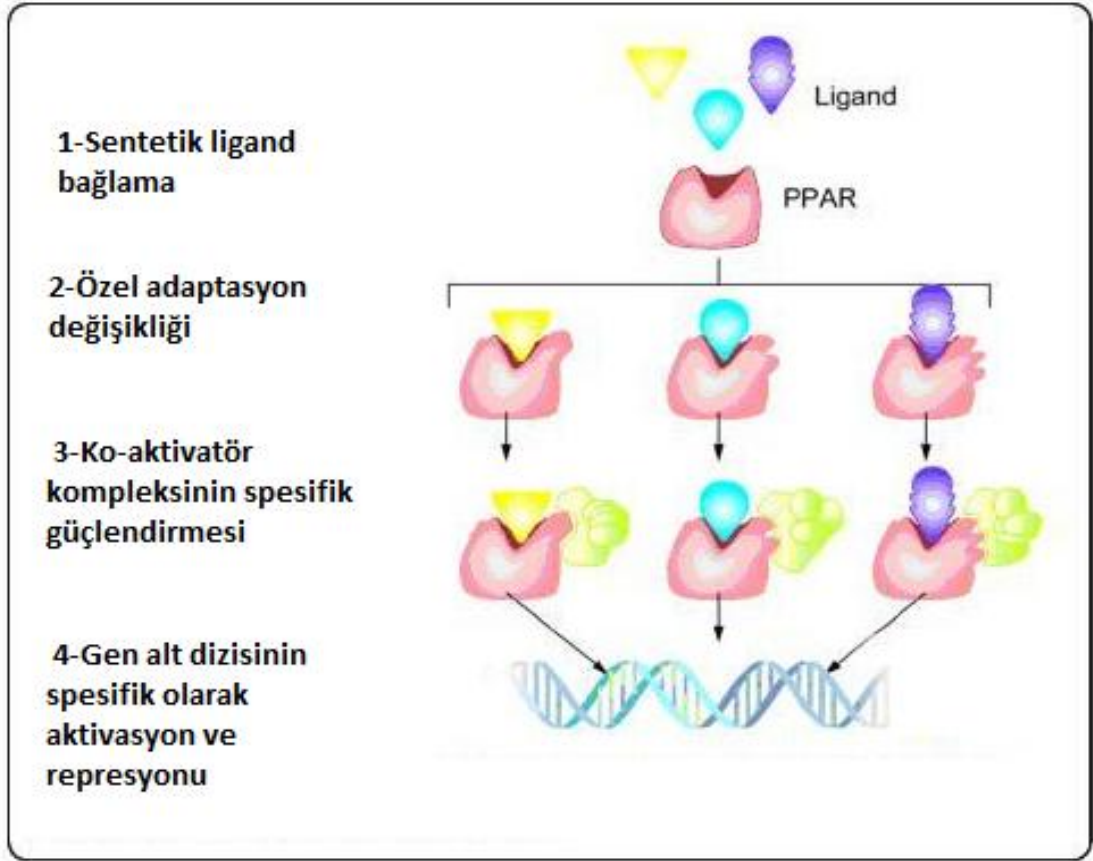
PPAR'lar PPAR aktivitesini regüle eden NH<sub>2</sub>-terminal bölge, hedef gendeki promoter bölgede bulunan PPAR yanıt elementi (PPRE)'nin bağlandığı DNA bağlayan bölge, kofaktör için bir bölge ve ligand spesifitesini belirleyen COOH-terminal ligand bağlayıcı bölge içermektedir (61).



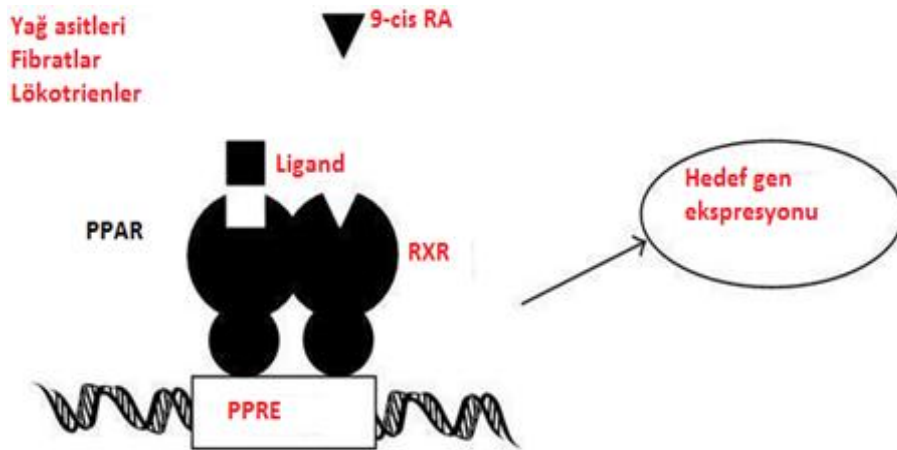
**Şekil 2.** PPAR proteinlerinin yapısının şematik olarak gösterilmesi, AF-1: Aktifleştirme fonksiyonu-1, DBD: DNA bağlayan bölge, HD: Esas bölge, LBD: Ligand bağlayan bölge (62).

PPAR'lar korepresör proteinlerle bağlandığı zaman inaktif olur. PPAR aktivatörleri ile stimülasyondan sonra PPAR'lar korepresörden ayrılır ve PPAR-bağlayan protein ve steroid reseptör koaktivatör-1 gibi koaktivatörler güçlenir ve retinoid X reseptör  $\alpha$  ile heterodimerize olur (63). Daha sonra gen transkripsiyonunu modüle etmek için hedef gendeki PPRE'e bağlanır (61).

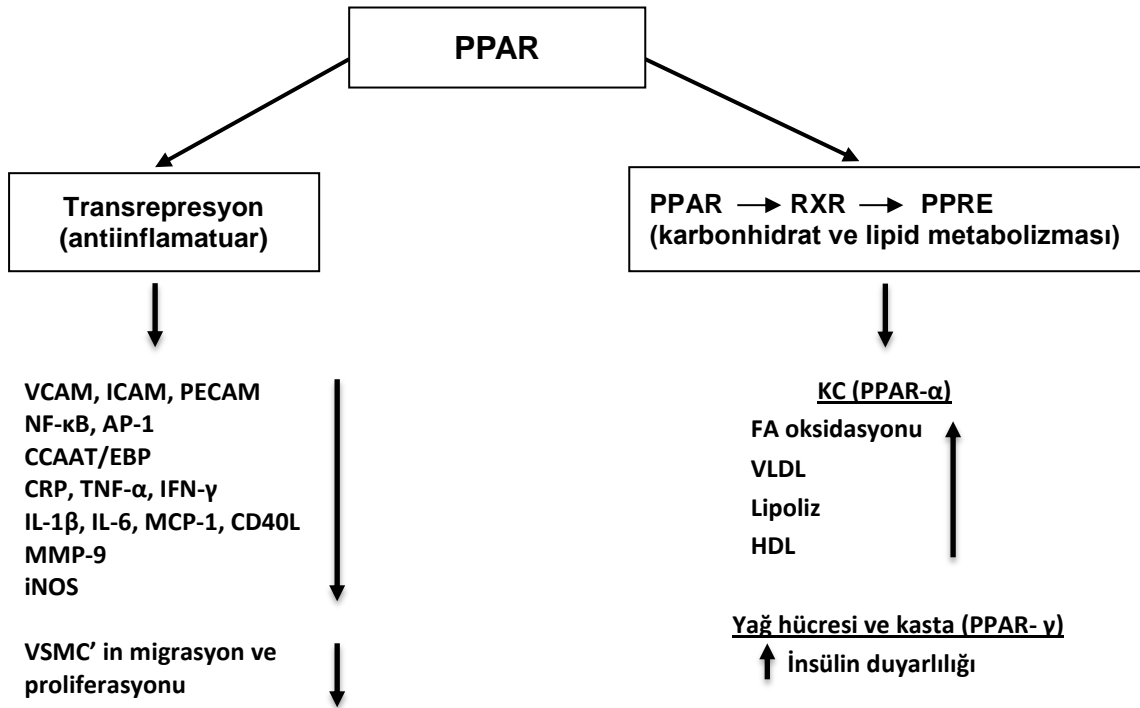
Bu mekanizma ile gen regülasyonu PPAR'ların karbonhidrat ve lipid metabolizmasındaki etkileri ile sonuçlanır. PPAR- $\alpha$  ve PPAR- $\gamma$  proinflamatuvar genleri baskılar ve bunun için farklı transkripsiyon faktörleri ile etkileşime girer (64).



**Şekil 3.** PPAR agonistleri aynı reseptör aracılığı ile farklı biyolojik cevapları başlatma yeteneğine sahiptir (65).



**Şekil 4.** PPAR'ın çalışma mekanizmasının şematik olarak gösterilmesi. PPAR: Peroksizom proliferatörlerince aktive olan reseptörler, RXR: Retinoid X reseptör, PPRE: PPAR yanıt elementi, RA: Retinoik asit (62).



**Şekil 5.** Peroksisom proliferatörlerince aktive olan reseptörlerin çalışma mekanizması, AP: aktivatör protein, CCAAT/EBP: CCAAT/ enhancer binding protein, IL: interlökin, CRP: C-reaktif protein, MCP: monosit kemoatraktan protein, CD40L: CD40 ligand, MMP: matriks metalloproteinaz, iNOS: indüklenebilir nitrik oksit sentaz, VSMCs: vasküler düz kas hücreleri, FA: Yağ asidi, VCAM: Vasküler hücre adezyon molekülü, ICAM: interselüler hücre adezyon molekülü, PECAM: platelet ve endotel hücre adezyon molekülü, PPAR: peroksisom proliferatörlerince aktive olan reseptör, RXR: retinoik X reseptör, PPRE: PPAR yanıt elementi (64).

### 2.2.1. PPAR-α

PPAR-α ve PPAR-γ kardiyovasküler sistemde eksprese olur (66). PPAR-α endotel hücreleri, vasküler düz kas hücreleri (VSMC) ve monosit/makrofajda bulunur (66-69). PPAR-α ligandı olan dokozahekzaenoik asit (DHA) kültüre VSMC'de proapoptotik etki yapar (70). P38 mitojen aktive protein kinaz bu olaya aracılık eder (71). PPAR-α aktivatörleri aynı zamanda sitokin ile indüklenen genleri, vasküler hücre adezyon moleküllerini ve

endotel hücrelerindeki doku faktörlerini down regüle eder (72). PPAR- $\alpha$  knock-out fareler lipopolisakkaritten sonra artmış bir inflamatuvar cevap verirler (73). PPAR- $\alpha$  aktivatörü olan fenofibrat hiperlipoproteinemi IIb'li hastalarda interferon gama (IF- $\gamma$ ) ve tümör nekrotizan faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) miktarını azaltır. Goya ve arkadaşları fenofibratın endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunu sığır aortik endotel hücrelerinde arttırdığını göstermiştir (74).

Oleiletanolamid (OEA), AEA ile yapı ve metabolik olarak benzerlikler gösterir; fakat kannabinoid reseptörlerine bağlanmaz. OEA PPAR- $\alpha$ 'yı aktive eder ve yağ asitlerinin absorpsiyonu sırasında ince bağırsak hücrelerinden salgılanır ve beslenme davranışının inhibisyonuna neden olur. OEA'in sıçan ve farelere (5-10 mg/kg) intraperitoneal (i.p.) olarak enjeksiyonu hipotalamustan OT sentezini artırır. PPAR- $\alpha$  knock-out farelerde OEA artışından sonra OT sentez artışı görülmemektedir. OT reseptörlerinin L-368,899 ile farmakolojik olarak inhibe edilmesinden sonra OEA'in anoreksik etkileri görülmemektedir. Bu sonuçlar OEA'in hipotalamustan OT sentezini artırıp beslenme davranışını inhibe ettiğini desteklemiştir (75).

**Tablo 3.** PPAR- $\alpha$  ve  $\beta/\delta$  ligandları (76)

PPAR- $\alpha$ ligandları		PPAR- $\beta/\delta$ ligandları	
PPAR- $\alpha$ agonist	PPAR- $\alpha$ antagonist	PPAR- $\beta/\delta$ agonist	PAR- $\beta/\delta$ antagonist
GW7647	GW6471	L-796449	GSK0660
GW9578	N-açilsulfonamid	L-165461	
LY-518674		L-783483	
		GW501516	
		GW0742	

### 2.2.2. PPAR- $\gamma$

PPAR- $\alpha$ 'lara benzer şekilde PPAR- $\gamma$  da vasküler sistemde bulunmuş olup, endotel hücreleri, VSMC ve monosit/makrofajda gösterilmiştir (48, 77-79). PPAR- $\gamma$  aktivatörleri VSMC'in migrasyon ve proliferasyonunu inhibe eder (49, 80). PPAR- $\gamma$  aktivatörleri PPAR- $\gamma$ 'nın makrofajlardaki ekspresyonunu

arttırır ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu, matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9) ve süpürücü reseptör A'yı inhibe eder. PPAR- $\gamma$  aktivatörleri TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , iNOS, MMP-9 ve süpürücü reseptör A'yı monositlerde inhibe eder (81, 82). PPAR- $\gamma$  aktivatörlerinden rosiglitazon ve pioglitazon kan basıncı yükselmesini önler. Anjiyotensin II ile indüklenen yapısal, fonksiyonel, moleküler değişiklik ve kan basıncı yüksekliği rosiglitazon ve pioglitazon tarafından inhibe edilir (83). Dezoksikortikosteron asetat (DOCA)-tuz hipertansif sıçanlarda basınç artışı, PPAR- $\gamma$  aktivatörü olan rosiglitazon ile önlenemez; fakat, PPAR- $\alpha$  aktivatörü fenofibrat ile önlenemez. Rosiglitazon, endotel disfonksiyonunu önler. Hipertansif DOCA-tuz sıçanlarda kan damarlarında hem rosiglitazon hem de fenofibrat reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu önler. Calnek ve arkadaşları tarafından PPAR- $\gamma$  aktivasyonunun endotel fonksiyonlarını üzerine etkisi araştırılmıştır (84). PPAR- $\gamma$  ligandları, 15d-PGJ2 veya ciglitazon domuz ve insan aortik endotel hücrelerinden NO saliverilmesini arttırır. PPAR- $\gamma$ 'nın overekspresyonu NO saliverilmesini arttırır. Hem 15d-PGJ2 hem de ciglitazon eNOS mRNA'yı değiştirmez. Endotel hücrelerinden PPAR- $\gamma$  ligandları tarafından NO saliverilmesinin stimülasyonu eNOS ekspresyonu ile bağlantılı değildir (84).

### 2.2.3. PPAR- $\beta/\delta$

PPAR- $\beta/\delta$  karaciğer, yağ dokusu, iskelet kası, deri gibi birçok dokuda bulunur. PPAR- $\beta/\delta$  vasküler sistemde de eksprese edilir ve vasküler biyolojide önemli bir rol oynar. Birçok çalışmada PPAR- $\beta/\delta$ 'ın hücre büyümesi, hücre farklılaşması, plasentanın gelişimi ve yara iyileşmesinde rolü olduğu gösterilmiştir. Son yıllarda özellikle PPAR- $\beta/\delta$ 'ın lipid metabolizması ve insülin duyarlılığı üzerindeki etkilerine yoğunlaşmıştır (85, 86, 87).

**Tablo 4.** PPAR- $\gamma$  ligandları (76)

<b>Doğal PPAR-<math>\gamma</math> agonist</b>		Linoleik asit Linolenik asit Araşidonik asit, Eikozapentaenoik asit, Oleik asit 15-Deoxy-d 12,14- prostaglandin J2 (15d-PGJ2) 12, 15-hidroksieikozatetraenoik asit (HETE) 9,13-hidroksioktadekadienoik asit (HODE) Lizofosfatidik asit (LPA) Okside fosdolipidler
<b>Sentetik PPAR-<math>\gamma</math> agonist</b>	<b>TZD</b>	Ciglitazon Troglitazon Rosiglitazon Pioglitazon
	<b>TZD olmayanlar</b>	GW1929 GW7845
	<b>PPAR-<math>\alpha/\gamma</math> agonist</b>	Muraglitazor GW409544 Naveglitazor Tesaglitazor Netoglitazon
	<b>PPAR-<math>\alpha/\gamma/\delta</math> agonist</b>	Bezafibrat
<b>PPAR-<math>\gamma</math> antagonist</b>		BADGE GW9662 LG100641 PD068235 SR202

#### 2.2.4. PPAR'lar ve Üreme Sistemi

Hipotalamus, hipofiz, over, uterus ve testis gibi üreme sisteminin değişik kompartmanlarında PPAR'ların üç değişik izoformu gösterilmiştir (88-90).

PPAR- $\gamma$  çoklu doymamış yağ asitleri, prostaglandin metabolitleri ve TZD gibi sentetik ligandlarla aktive olur (91).

Glukoz, insülin veya leptin gibi yakıt algılayıcıları hipotalamo-hipofiz-gonad aksının her aşamasında fertilitenin regülasyonunda rol oynar (92, 93). Örneğin farelerde insülin sinyal yolağındaki bir yokluk (insülin reseptör



substrat 2 veya insülin reseptör) dışı ve erkekte infertilite ile sonuçlanır (94, 95). PPAR- $\gamma$ 'ın aktivasyonu enerji hemostazındaki farklı anahtar regülatörlerin transkripsiyonunu ve aktivitesini regüle eder (96).

Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada fare ve koyun hipofiz bezinde, sıçan hipotalamusunda PPAR- $\gamma$  ekspresyonu gösterilmiştir (90, 97). PPAR- $\gamma$ 'nın hipofiz bezinde antiproliferatif etkisi vardır. TZD'nin insan ve fareye verilmesi hipofiz adenomlarının gelişimini inhibe eder (97). PPAR- $\gamma$ 'nın üreme fonksiyonunu hipofiz seviyesinde etkilediği düşünülmektedir. *In vitro* olarak prolaktin (PRL), büyüme hormonu (GH), folikül stimule eden hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) gibi koyun hipofiz hormonlarının gonadotropik hipofiz tümör hücrelerinden sekresyonu TZD tedavisinden etkilenmemektedir (89).

Testis somatik ve germ hücrelerinde PPAR'ların üç izoformu da eksprese edilmektedir (98-100). PPAR- $\alpha$  ve PPAR- $\beta/\delta$  yoğun bir şekilde interstisyel leydig hücreleri ve seminifer tübüllerde gösterilmiştir (98, 101). Diğer taraftan sertoli hücrelerinde PPAR- $\gamma$  ekspresyonu kısıtlıdır (99, 102). Testislerde bu reseptörlerin rolü çok açık değildir ve bu reseptörlerin fertilitede önemli bir rolü olmadığı düşünülmektedir. Gerçekten de PPAR- $\alpha$  ve PPAR- $\beta/\delta$  null farelerin yaşayabildiği ve fertilitelerini sürdürdüğü görülmüştür (103, 104). PPAR- $\alpha$ , lipidlerin beta oksidasyonu ve germ hücrelerinde fosfolipidlerin yağ asit kompozisyonunu regüle eder. Spermatozoanın lipid içeriği mobilite ve canlılığı açısından önemlidir (105).

Overlerde PPAR- $\alpha$  ve -  $\beta/\delta$  izoformları primer olarak teka ve stroma hücrelerinde gösterilmiştir. Farelerde PPAR- $\alpha$  delesyonu fertilité üzerinde etkili değilken, PPAR- $\gamma$  ve PPAR- $\beta/\delta$  delesyonu fertilitéyi etkiler (104, 106, 107). Kemirgen ve geviş getiren canlıların overinde PPAR- $\gamma$  granülosa hücreleri, teka hücreleri ve korpus luteumda eksprese edilmektedir (108-110).

TZD'nin over granülosa hücrelerinde steroid sekresyonunda çelişkili bir aktivitesi vardır. TZD *in vitro* olarak sıçan ve koyun granülosa hücreleri, sığır lutein hücreleri ve domuz teka hücrelerinde steroid sekresyonunu

stimüle ederken, domuz granülosa hücreleri ve *in vitro* fertilizasyon (IVF) tedavisi altındaki insan granülosa hücrelerinde progesteron ve östradiol sekresyonunu inhibe eder (109-112).

Korpus luteumda PPAR- $\gamma$  ekspresyonu ovulasyondan sonra artar. Bununla beraber fertilizasyon olmadığı zaman korpus luteum geriler ve PPAR- $\gamma$  ekspresyonu azalır (111, 113). Benzer durum tavuklarda da görülür, yumurtlama döneminde PPAR- $\gamma$  seviyesi artar (114). Farelerde over, epitel hücreleri ve lenfositlerde PPAR- $\gamma$  delesyonu fertilitede azalma ile sonuçlanır (114).

PPAR- $\gamma$ 'nın foliküler gelişim, ovulasyon, oosit maturasyonu ve korpus luteum devamı için gerekli olan genlerin ekspresyonunu regüle ettiği düşünülmektedir (115).

TZD'lerden rosiglitazon ve pioglitazon periferal insülin rezistansını, serbest yağ asidi ve trigliserid (TG) konsantrasyonu ve androjen seviyesini azaltır. Bu özelliklerinden dolayı TZD PCOS tedavisinde kullanılır (116, 117, 118).

PPAR- $\gamma$  embriyonun endometriyuma bağlanması için gereklidir (108). PPAR- $\gamma$ 'nın inaktivasyonu plasental vaskülarizasyonda azalma ve embriyo ölümüne neden olur. PPAR- $\alpha$ , - $\beta/\delta$ , - $\gamma$  amniyon, plasenta gibi gestasyonel dokularda eksprese edilir (119). PPAR- $\beta/\delta$  desidualizasyon süresinde embriyo implantasyonunu regüle eder (120). PPAR- $\beta/\delta$  implantasyon bölgesinde bulunur ve PPAR- $\beta/\delta$  null farelerde erken gebelikte embriyo ölümü ve plasental malformasyonlar gelişir (108). Prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) gebelik boyunca sentez edilen major prostaglandin (PG)'dir ve *in vivo* olarak PPAR- $\gamma$ 'nın doğal ligandı olan 15d-PGJ<sub>2</sub>'ye döner ve PPAR- $\gamma$  sıçanlarda trofoblast hücrelerinde kolokelize olur (121). Araşidonik asit ürünleri, PPAR- $\gamma$  ligandıdır ve implantasyon boyunca uterus epitel hücrelerinden üretilir (122). Kısa dönem TZD tedavisi (2 gün) fetal mortaliteyi %50 oranında azaltır (123). Bunlara ilave olarak gebelik boyunca PG'lerin endometriyum, myometriyum ve fetal membranlardan üretimi doğum esnasında myometriyum kontraksiyonlarını indükler. COX-2 PG üretimini katalize eder ve PPAR- $\gamma$

tarafından down regüle edilir (124). PPAR'lar östrus siklusunun luteal fazında ve implantasyon döneminde domuz endometriyumundan PGE<sub>2</sub> sentez ve salıverilmesini arttırmaktadır (125).

### **2.3. Endokannabinoidler ve PPAR'lar**

Kannabinoid ligandlar CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, GPR55 ve TRPV1 ve PPAR reseptörleri aracılığı ile etkilerini gösterir. PPAR'lar yağ asit seviyesini algıyan reseptörlerdir ve endokannabinoidler de yağ asit türevidir. Bundan dolayıannabinoidler PPAR'ları aktive eder. Kannabinoidlerin antiinflamatuvar, beslenme üzerine etkileri ve analjezi özelliği bu reseptörler aracılığı ile olur (126).

#### **2.3.1. Endokannabinoidler ve PPAR-α**

PPAR'ınannabinoidlerle ilişkili olduğunu gösteren ilk çalışma 2002 yılında yapılmıştır. Endokannabinoidlerden lipoksijenaz metabolizması sonucunda 2-AG üretir ve 2-AG PPAR-α'nın aktivitesini arttıran bir metabolittir (127). OEA, AEA ile yapı ve metabolik olarak benzerlikler gösterir; fakat,annabinoid reseptörlerine bağlanmaz. OEA oleik asit ve etanolamin'e amid bağlanmasıyla oluşur ve AEA'nın biyosentetik yolağına benzer şekilde üretilir. OEA, PPAR-α'ya bağlanır ve PPAR-α aktivitesini artırır (128, 129). PPAR-α knock-out farelerde OEA (10 mg/kg)'in iştah azalması ve kilo kaybı etkisinin olmadığı görülmüştür. OEA (5 mg/kg, 2 hafta) ile tedavi sıçanlarda kolesterol seviyesini azaltır ve farelerde obeziteyi azaltır (128). OEA'in lipoliz üzerindeki stimülatör etkisinin PPAR-α knock-out farelerde olmadığı gösterilmiştir ve bu çalışmalar, OEA'e fizyolojik yanıtların PPAR-α aracılığı ile olduğunu desteklemiştir (130).

Palmitoiletanolamid (PEA) bir endokannabinoiddir ve gelenekselannabinoid reseptörleri haricinde PPAR-α'lar aracılığı ile de etki gösterir (131). PEA (1-30 µM), PPAR-α transkripsiyonel aktivitesini artırır. Daha sonraki çalışmalarda PEA (50 µg, intraplantar enjeksiyon) 'in *in vivo* olarak birçok modelde analjezik etkisi olduğu gösterilmiştir. PPAR-α'a bağlanan

diğer endokannabinoidler AEA, noladin eter ve virodamindir (129). CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> agonisti olan WIN55212 PPAR- $\alpha$ 'nın transkripsiyonel aktivitesini artırır (129).

### 2.3.2. Endokannabinoidler ve PPAR- $\gamma$

Ajulemik asit bir endokannabinoiddir ve 2003 yılında Ajulemik asitin PPAR- $\gamma$ 'a bağlandığı gösterilmiştir (132). Ajulemik asit aynı zamanda PPAR- $\gamma$  ligandlarının özelliği olan fibroblastların adipositlere farklılaşmasını stimule eder (133). AEA'in 10-20  $\mu$ M dozu proinflamatuvar sitokin ve IL-2 sekresyonunu inhibe eder ve PPAR- $\gamma$  antagonizması ile bu etki inhibe edilmektedir (134). Devam eden çalışmalar AEA'in direkt olarak PPAR- $\gamma$ 'a bağlandığını (3-100  $\mu$ M), PPAR- $\gamma$  transkripsiyonel aktivitesini (3-30  $\mu$ M) arttırdığını ve fibroblastların adipositlere farklılaşmasını stimule ettiğini göstermiştir (10  $\mu$ M) (135, 136).

2-AG, AEA ile aynı güçte PPAR- $\gamma$ 'a bağlanır (135). Adipogenezisin stimülasyonu PPAR- $\gamma$  ligandlarının bir özelliğidir (133). İlginç olarak endokannabinoid seviyeleri, adiposit farklılaşması sürecinde artar (137). Adipositlerin farklılaşmasından sonra CB<sub>1</sub> reseptör ekspresyonu ve FAAH ekspresyonu artar (136). Kannabislerden  $\Delta$ -9-THK (100 nM-10  $\mu$ M) PPAR- $\gamma$ 'nın transkripsiyonel aktivitesini artırır, adipogenezisi stimule eder, izole kan damarlarında zamana ve PPAR- $\gamma$ 'a bağlı damar dilatasyonuna neden olur (22). Bu cevap NO ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) üretimi ile süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin artışına bağlıdır. *In vitro* olarak izole arterde THK (10  $\mu$ M) ile 2 saatlik inkübasyonun kontraktıl cevabı azalttığı, vazodilatatör cevabı arttırdığı ve bu cevapların PPAR- $\gamma$  antagonist ile inhibe edildiği gösterilmiştir (138). PPAR- $\gamma$ 'nın transkripsiyonel aktivitesini arttıran diğer kannabinoidler, WIN55212, CP55940 ve kannabidiol (1-20  $\mu$ M) (137)'dür.

### 2.3.3. Endokannabinoidler ve PPAR- $\beta/\delta$

PPAR- $\beta/\delta$  PPAR izoformları arasında en az araştırılmıştır; fakat, metabolik bir grup fonksiyonları olduğu bilinmektedir. Kannabinoidlerin bu

reseptörler üzerinden etkili olduğuna dair elimizde kısıtlı sayıda bilgi vardır (139).

#### **2.4. Uterus Düz Kasının Fizyolojik ve Farmakolojik Genel Özellikleri**

Uterus düz kası tek üniteli tipte olup eksitasyon, hücreden hücreye sıkı bağlantılar (tight junctionlar) aracılığı ile gerçekleşir. Hücrenin depolarizasyonu ile kontraksiyon meydana gelir ve depolarizasyon  $Ca^{+2}$  ve  $Na^{+}$  a karşı permeabilite artışı ile gerçekleşir (140).

Uterus düz kası zayıf bir sempatik ve parasempatik inervasyona sahiptir. Sempatolitik ve parasempatolitik ilaçlar uterusun motor fonksiyonlarında önemli bir etki oluşturmazlar. Uterus düz kasında  $\alpha$ -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu kasılmaya,  $\beta_2$ -adrenerjik reseptörlerin aktivasyonu ise gevşeme ve motilitede azalmaya neden olur (140).

Uterus motilitesinin düzenlenmesinde esas olarak hormonlardan östrojen sorumludur ve östrojen uterus düz kasının stimule edici etkenlere karşı duyarlılığını artırır. İnsanda menstrüel siklusun östrojenlerin egemen olduğu ilk iki haftasında spontan motilite artar. Luteal dönemde motilite azalır ki bu azalmadan progesteronun sorumlu olması muhtemeldir (140).

##### **2.4.1.Oksitosin**

Oksitosin (OT) arka hipofizde, hipotalamus supraoptik ve paraventricüler çekirdeklerindeki magnoselüler nöronlarının aksonlarının ucundan salgılanan yapıcı vazopressine benzeyen siklik bir nanopetiddir (140).

OT salgılanmasına yol açan etkenlerden biri uterus ve vajinanın genişlemesi ve mekanik olarak uyarılmasıdır. Meme areolasındaki dokunma reseptörlerinin uyarılması da OT salgısını artırır. Hemoraji ve psikojenik stres de OT salgılanmasını artırır (140).

OT sinir uçlarında nörofizin-1 ile bağlanmış olarak bulunur. Bu sinir uçlarında OT ile birlikte met-enkefalin de depolanır ve met-enkefalin sinir uçlarında OT salgılanmasını negatif feedback ile inhibe eder (140).

OT'in plazmadaki miktarı ovulasyon, doğum eylemi, laktasyon, erkek ve kadında bazı stres durumlarında artar. Gebelik sırasında myometriyum hücrelerinde oksitosin reseptör sayısının giderek arttığı bulunmuştur (140).

OT çeşitli hedef hücrelerdeki etkilerini kendine özgü oksitosin reseptörleri (OTR) ve vazopressin  $V_1$  ve  $V_2$  reseptörleri aracılığı ile oluşturur (146). Günümüzde OTR geninin hipofiz, böbrek, overler, myometriyum, endometriyum, testis, timus, kalp, vasküler endotel, adiposit ve bazı kanser hücresi gibi birçok farklı yerde eksprese edildiği bulunmuştur (141,142).

Kadın genital sisteminde OTR'nin dağılımı, doku tipine göre farklılık göstermektedir. *In situ* hibridizasyon ve ligand bağlama yöntemi ile myometriyum, desidua, koryon ve plasentada OTR mRNA ekspresyonu incelendiğinde; ekspresyon en fazla myometriyumda görülmüş, desidua ve koryonda düşük bulunmuş, plasentada ise saptanamamıştır. Gebelik term myometriyumunda, OTR mRNA ekspresyonu preterm myometriyumundan daha fazladır. Fakat doğum eyleminin başlangıcında mRNA ekspresyonunda daha fazla artış olmamaktadır. Desiduada ise OTR mRNA ekspresyonu gestasyonel yaştan etkilenmemiştir (143).

Menstrüel siklusun fazına göre reseptör sayısı değişmekte ve gebeliğin sonlarında da reseptör sayısı ve uterusun OT'e duyarlılığı artmaktadır (143, 144). Gebeliğin sonlarında progesterondaki düşüş ve östrojen artışı OTR ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (154). Sıçan gebe myometriyumunda OTR mRNA ekspresyonu doğum sırasında tüm gebelik dönemindeki miktarına göre belirgin olarak yüksek olduğu gösterilmiştir. Spontan doğum sırasında OTR mRNA ekspresyonunun östrojen aracılı indüklenmesinde esas olarak östrojen alfa reseptörleri ( $E_\alpha$ ) rol oynamaktadır (149). Gebe olmayan insan uterusunda OTR gen ekspresyonu östradiol ve OT varlığında artmaktadır (146).

OTR'leri G proteini ile kenetli reseptörler ailesindedir (147). Myometriyal düz kas hücrelerine lokalize olmuş OTR'nin uyarılması, fosfolipaz C (PLC) aktivasyonunu sağlar. Bunun sonucunda inozitol trifosfat (IP<sub>3</sub>) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. IP<sub>3</sub> hücre içi depolardan Ca<sup>+2</sup> salıverilmesini stimüle ederken, DAG da protein kinaz C (PKC)'nin aktivasyonuna sebep olur (148, 149). İzole gebe insan myometriyumunda PKC ve tirozin kinaz inhibitörlerinin OT aracılı kontraktıl yanıtları belirgin şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir (150). OT koyun endometriyumunda PGF<sub>2α</sub> sentezini stimüle etmektedir. Ancak ekstraselüler sinyalle regüle edilen protein kinaz 1/2 (ERK1/2) aktivitesinin spesifik inhibitörü PD98059 ile doz bağımlı olarak inhibe olmaktadır. Sonuçta koyun endometriyumunda OT aracılı PGF<sub>2α</sub> sentezine ERK<sub>1/2</sub>'in proliferasyonu ve MAPK aracılık etmektedir (151).

OTR'ne spesifik bağlanma zamana, sıcaklığa ve membran protein konsantrasyonuna bağlıdır (152). OTR'ne bağlanma oranı gebelikte term döneme gelmeden önce yükselmekte ve daha sonra artmamaktadır (143).

OT sıçan myometriyum hücre kültüründe hücre içi Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunda artışa neden olmaktadır. Bu ekstraselüler ya da intraselüler Ca<sup>+2</sup> mobilizasyonu ile olmaktadır. İntraselüler mobilizasyon pertussis toksinine duyarlı mekanizmalar aracılığı ile olmaktadır (153).

OT insan uterus düz kas hücrelerinde konsantrasyon bağımlı olarak hiperplaziyi ve hücre içi Ca<sup>+2</sup> konsantrasyonunu arttırmaktadır. Bu artış OTR antagonistleri ile geri dönüşlüdür (152).

Uterus düz kasını stimüle ederek uterusun motilitesini arttıran ilaçlara oksitosik ilaçlar denilmektedir. OT doğum eylemini başlatmak, plasentanın atılmasını hızlandırmak, postpartum kanamayı önlemek veya kontrol altına almak amacıyla kullanılan oksitosik bir ajandır (140). OT doğum indüksiyonunda, OTR antagonistleri de preterm doğumu engellemek amacıyla tokolitik ajan olarak kullanılmaktadır (141, 154). Myometriyum kontraksiyonlarının sıklığını ve tonusunu arttırmaktadır. Yüksek dozda gevşemeyi engelleyerek tonusu arttırmakta ve kontraktür oluşumuna neden

olabilmektedir. OT uterin kontraksiyonlara sebep olmasının yanında myoepitelyal hücrelerde kontraktil etki, vazodilatör etki, antidiüretik etki göstermekte ve santral sinir sistemi üzerindeki etkisiyle annelik davranışını stimule etmektedir (140).

#### 2.4.2. Prostaglandin $F_{2\alpha}$

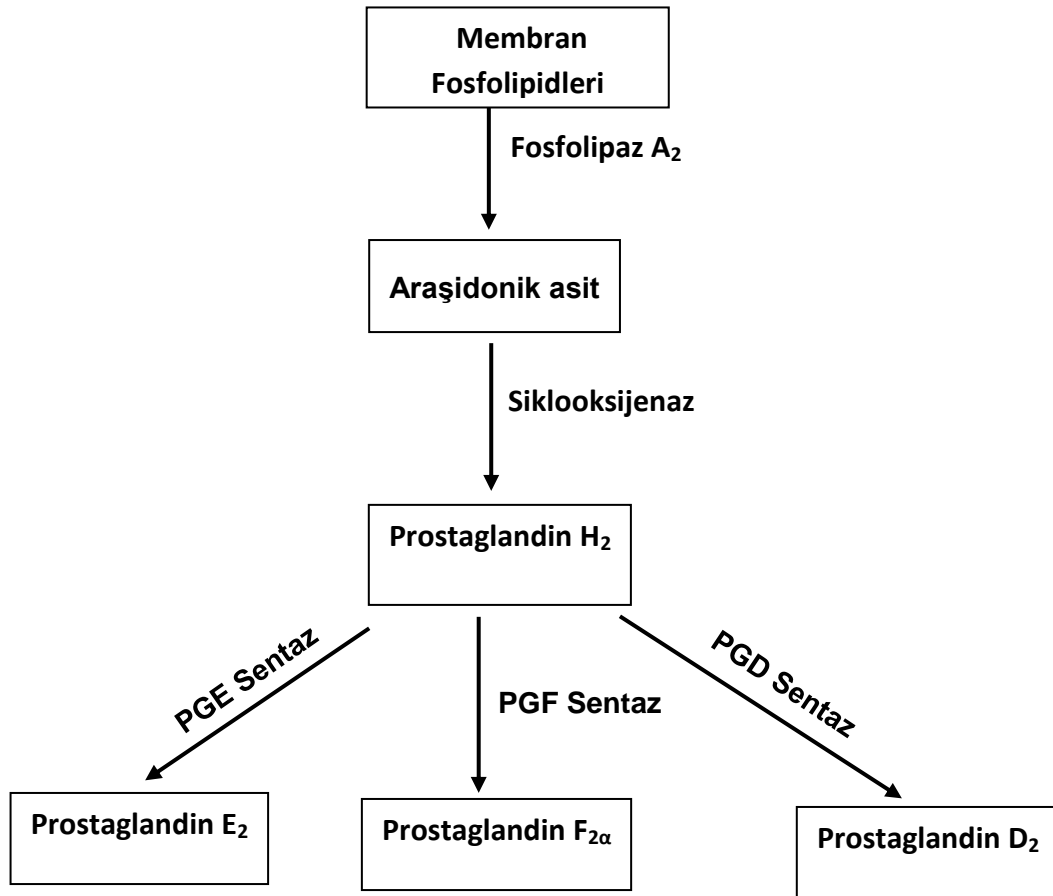
Eikozanoidler araşidonik asitten oluşan endojen yağ asit derivelerinin önemli bir grubudur. Başlıca eikozanoid alt grupları prostaglandinler (PG), prostasiklin ( $PGI_2$ ), tromboksanlar (TX) ve lökotrienler (LT)'dir. Membran fosfolipidlerinden Fosfolipaz  $A_2$  aracılığı ile araşidonik asit oluşur; araşidonik asitten de lipoksijenaz yolağı ile LT, siklooksijenaz yolağı ile  $PGI_2$ , TX ve PG'ler oluşur (155).

Eikozanoidler biyolojik sistemlerde birçok değişik etkiler gösterirler. Eikozanoidlerden  $PGF_{2\alpha}$ , damar yatağında türe ve damar yatağına göre değişen etkiler oluşturur. İnsanlarda ven ve pulmoner arterlerde güçlü vazokonstriktördür (157).

Eikozanoidler inflamasyon ve bağışıklıkta önemli rol oynarlar. Bunun klinikteki en iyi göstergesi NSAİ ilaçların yararlı etkileridir. LT'ler genellikle proinflamatuvar iken, lipoksinler antiinflamatuvar etkilidir (157).

Prostanoidler ise her iki etkiyi de gösterebilir. Genel olarak  $PGF_{2\alpha}$  bronş ve trakea kasını kasar. Gebe olmayan insanlarda  $PGF_{2\alpha}$  uterusu kasarken E serisi prostaglandinler uterusu gevşetir. Gebelerde ise  $PGF_{2\alpha}$  ve düşük konsantrasyonlarda  $PGE_2$  uterusu kasar.  $PGI_2$  ve yüksek konsantrasyonda  $PGE_2$  gevşemeye neden olur.  $PGF_{2\alpha}$  gözde iris sfinkter kasını kasmaına rağmen, uveaskleral ve trabeküler ağdan aköz hümörün çıkışını artırarak göz içi basıncını düşürür. Santral sinir sisteminde  $PGF_{2\alpha}$  ve  $PGI_2$  dışardan uygulandığında ateşe neden olduğu halde pirojen ile oluşan yanıtta katkıda bulunmaz (157).





**Şekil 6.** Eikozanoid sentezi (156)

PGF<sub>2α</sub> myometriyum için önemli fizyolojik bir agonist olmasına rağmen, reseptör stimülasyonun sonucu oluşan downstream sinyali hakkında çok az şey bilinmektedir. Aslında literatürde PGF<sub>2α</sub>'nın fizyolojik etkileri hakkında birbiriyle çelişen veriler mevcuttur. PGF<sub>2α</sub>'nın kontraksiyonları güçlü bir şekilde uyarması şüphesiz bir gerçektir; ancak kasılmalara IP<sub>3</sub> salıverilmesi ve intraselüler/ekstraselüler Ca<sup>+2</sup> oranının etkisi sorgulanmalıdır (158, 159, 160). Gebe kadınlarda, myometriyal hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda PGF<sub>2α</sub>'nın IP<sub>3</sub> üretimini ve sarkoplazmik retikulumdan intraselüler Ca<sup>+2</sup> salıverilmesini stimüle ettiği gösterilmiştir. Ancak başka bir çalışmada buna ters olarak; PGF<sub>2α</sub>'nın gebe kadınlardan yeni alınan izole myometrial striplerde IP<sub>3</sub>'ı stimüle edemediği, fakat hem OT hem de karbakol ile stimüle edilebildiği gösterilmiştir (161). Gebe olmayan kadınlardan elde

edilen myometriyal hücrelerde  $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın extraselüler  $\text{Ca}^{+2}$  girişine bağımlı olan,  $\text{IP}_3$ 'e bağımlı olmayan  $\text{Ca}^{+2}$  geçişini stimüle ettiği gösterilmiştir (160). Bu çalışmalar  $\text{IP}_3$  saliverilmesinin OT ile artıp artmadığı konusunda kontrol grubu olmadığı için  $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın  $\text{IP}_3$  saliverilmesinin potent bir uyarıcısı olduğunu söyleyememektedir.  $\text{PGF}_{2\alpha}$  reseptörlerinin  $\text{G}_{\alpha q}$  sınıfı G proteinleriyle kenetli olması bu çelişkiyi arttırmaktadır (162), bu nedenle  $\text{IP}_3$  saliverilmesi OT ile olduğu gibi fosfolipaz C ile de artacaktır (163).

İnsan myometriyum striplerinde spontan kasılma oluşturmak için  $10^{-5}$  M  $\text{PGF}_{2\alpha}$  uygulanmasının depolarizasyona neden olan büyük miktarda intraselüler  $\text{Ca}^{+2}$  artışına neden olduğu gösterilmiştir. İntraselüler  $\text{Ca}^{+2}$  artışı L-tipi  $\text{Ca}^{+2}$  kanal blokörünün verilmesiyle neredeyse tamamen ortadan kaybolmuştur. OT etkisiyle uyumlu olarak  $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın aksiyon potansiyelini stimüle etmesinden sonra hem depolarizasyon süresinde hem de şiddetinde plato görülmüştür. OT'nin etkilerine ters olarak  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ; -85 mV bir kontraksiyonun hemen sonrasında ortalama 23 dakika (dk) süren uzun bir hiperpolarizasyonu indüklemektedir. Hiperpolarizasyon, ouabain,  $\text{K}^+$  içermeyen veya düşük  $\text{Na}^+$  seviyeli solüsyonlarla inhibe olmaktadır; bu sonuçlar sürecin  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz pompasına bağımlı olduğuna işaret etmektedir. Hiperpolarizasyon süresince myometriyal kontraksiyonlar görülmez; çünkü,  $\text{PGF}_{2\alpha}$  spontan aksiyon potansiyelini artırır ve durasyonu güçlendirirken kontraksiyon sıklığı yavaşlama gösterir. Böyle bir etkinin kuvvetli kasılmalar ortaya çıkararak doğumu hızlandırabileceği ve kontraksiyonlar arasındaki ayılma süresini arttırarak hipoksi ve fetal distresi önleyebileceği düşünülmektedir (158).

## MATERYAL VE METOD

### 3.1. Deney Hayvanları

Deneylerde 180-200 gram (g) ağırlığında 2-3 aylık dişi Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Deneysel çalışmalara başlamadan önce Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (11. 02. 2011 tarihli ve 11/02/11 nolu karar). Deneyler, Laboratuvarda Deney Hayvanlarının kullanımı ile ilgili uluslararası kurallara uygun olarak yürütülmüştür. Deney hayvanlarına herhangi bir kısıtlama yapılmaksızın çeşme suyu verilmiş ve standart sıçan yemi ile beslenmiştir.

### 3.2. Dokuların Hazırlanması

Deneylerde kullanılan sıçanlara i.p. olarak GW6471, GSK0660, GW0742 ve DMSO enjeksiyonundan 30 dk sonra tiyopental sodyum (20-40 mg/kg i.p.) verilerek anestezi uygulanmıştır (169). Ardından karın ön duvarı orta hattın açılarak uterus düz kasları izole edilmiştir. Uterus dokularının ve over dokularının izolasyonu sonrası her bir deney hayvanı abdominal aortadan kanatılarak ötenazi işlemi yapılmıştır. Her iki over dokusu daha sonra makroskopik incelemelerin yapılması amacıyla derin dondurucuya kaldırılmıştır. Östrus siklusunun fazı makroskopik olarak aktif folikül varlığı ve korpus luteum varlığına göre luteal ve foliküler faz olarak belirlenmiştir.

İzolasyonun hemen ardından uterus preparatları Dale solüsyonu içeren petri kutularına alınmış ve çevre dokuları dikkatlice temizlenmiştir. Her sıçandan dört adet, yaklaşık olarak 3mm x 1mm x 10mm boyutlarında uterus düz kas preparatı hazırlanmıştır. Dokular, paslanmaz çelik tellerden hazırlanan kancalar aracılığı ile 10 ml'lik, 37 °C Dale solüsyonu içeren ve %5 CO<sub>2</sub>, %95 O<sub>2</sub> ile havalandırılan organ banyolarına 1 g ön gerim verilerek asılmıştır.

**Tablo 5.** Deney hayvanlarından elde edilen over dokularının makroskopik olarak incelenerek östrus siklusunun fazlarının gruplara göre dağılımının değerlendirilmesi

### ÖSTRUS SİKLUSUNUN FAZLARININ GRUPLARA GÖRE DAĞILIMI

DENEY GRUPLARI		ÖSTRUS SİKLUSUNUN FAZLARI		TOPLAM
		FOLİKÜLER FAZ	LUTEAL FAZ	
<b>Kontrol grubu</b>	n sayısı	0	5	5
	%	0.0	16.1	16.1
<b>GSK0660 grubu</b>	n sayısı	1	4	5
	%	3.2	12.9	16.1
<b>GW 0742 grubu</b>	n sayısı	1	4	5
	%	3.2	12.9	16.1
<b>GW6471 grubu</b>	n sayısı	2	6	8
	%	6.5	19.4	25.8
<b>DMSO grubu</b>	n sayısı	3	5	8
	%	9.7	16.1	25.8
<b>TOPLAM</b>	n sayısı	7	24	31
	%	22.6	77.4	100

Deneylerde kullanılan Dale solüsyonunun içeriği şöyledir (mM): NaCl 154, KCl 5.63, NaHCO<sub>3</sub> 5.95, CaCl<sub>2</sub> 1.63, MgCl<sub>2</sub> 0.024 ve dekstroz 2.77.

Uterus düz kasının ritmik osilasyonları ve kontraktıl yanıtları gerim iletici (LSI; LETICA Scientific Instruments) aracılığıyla izometrik olarak kaydedilmiştir.

### 3.3. Deney Protokolü

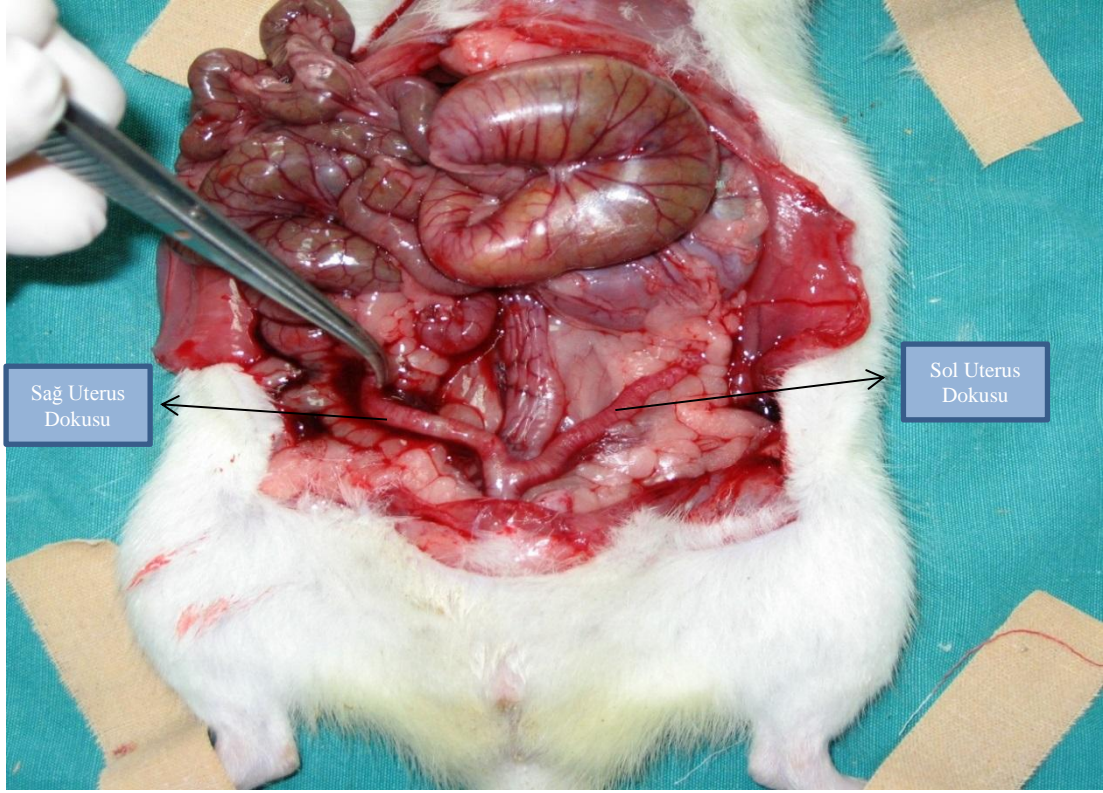
Uterus preparatları organ banyosuna asıldıktan sonra 1 g ön gerim verilmiş ve 45 dk'lık dengelenme periyodunun ardından deney protokolüne

geçilmiştir. Dengelenme periyodu sırasında preparatlar 15 dk aralarla yıkanarak banyolardaki Dale solüsyonu değiştirilmiştir.

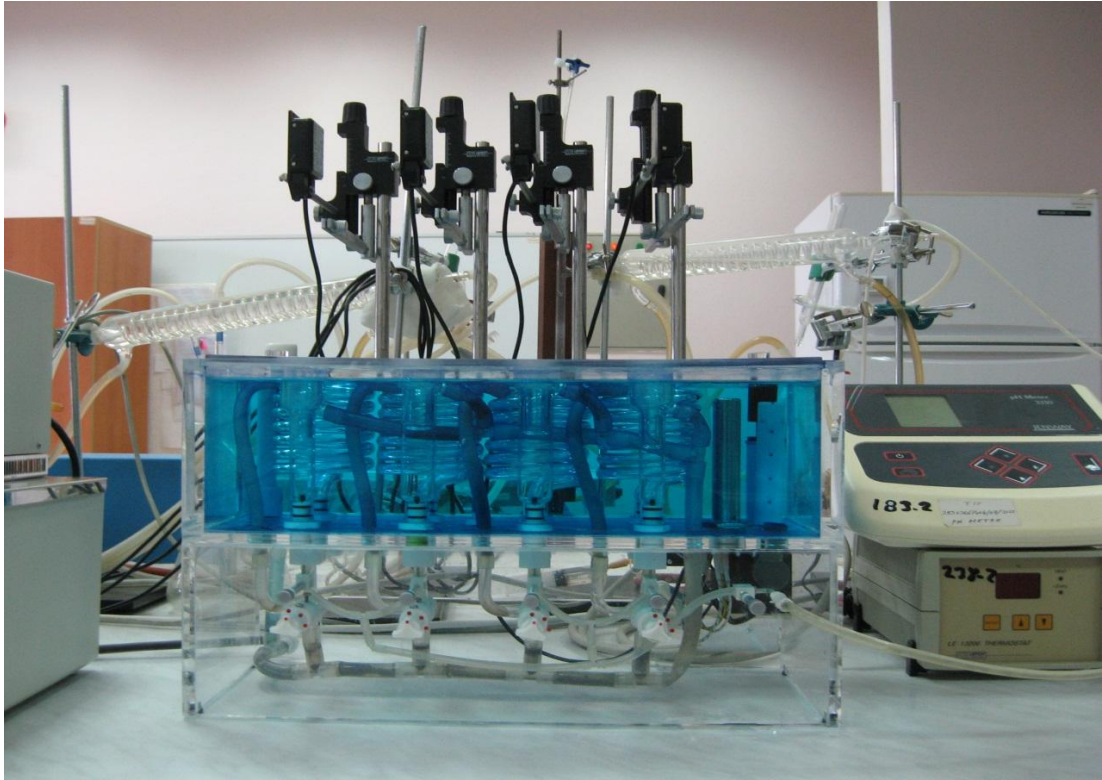
**1. Kontrol grubu (n=13):** Herhangi bir ilaç uygulaması yapılmaksızın, uterus dokularının izole edilmesinin ardından organ banyolarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ve Tokrisolve (TS) ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz yanıtları alınmıştır. Her dozdan sonra 10 dk bekleme ardından 3 yıkama yapılmıştır. İlk iki yıkamadan sonra 5 dk, son yıkamadan sonra 15 dk bekleme yapılmıştır. Tekli doz yanıtları alındıktan sonra tüm kanallara 30 mM KCl verilmiştir.

**2. GW6471 grubu (n=8):** PPAR- $\alpha$  antagonisti olan GW6471'in deney hayvanına 1mg/kg olacak şekilde i.p. olarak uygulanmasından 30 dk sonra uterus dokuları izole edilmiş ve ardından organ banyolarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ve Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz yanıtları alınmıştır. Her dozdan sonra 10 dk bekleme, ardından 3 yıkama yapılmıştır. İlk iki yıkamadan sonra 5 dk, son yıkamadan sonra 15 dk bekleme yapılmıştır. Tekli doz yanıtları alındıktan sonra tüm kanallara 30 mM KCl verilmiştir.

**3. GSK0660 grubu (n=5):** PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti olan GSK0660'in deney hayvanına 0.3 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak uygulanmasından 30 dk sonra uterus dokuları izole edilmiş ve ardından organ banyolarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ve Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz yanıtları alınmıştır. Her dozdan sonra 10 dk bekleme, ardından 3 yıkama yapılmıştır. İlk iki yıkamadan sonra 5 dk, son yıkamadan sonra 15 dk bekleme yapılmıştır. Tekli doz yanıtları alındıktan sonra tüm kanallara 30 mM KCl verilmiştir.



Şekil 7. Siçan uterusunun izole edilmesi



Şekil 8. İzole organ banyosu sistemi

**4. GW0742 grubu (n=5):** PPAR- $\beta/\delta$  agonisti olan GW0742'nin deney hayvanına 0.3 mg/kg olacak şekilde i.p. olarak uygulanmasından 30 dk sonra uterus dokuları izole edilmiş ve ardından organ banyolarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ve Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz yanıtları alınmıştır. Her dozdan sonra 10 dk bekleme, ardından 3 yıkama yapılmıştır. İlk iki yıkamadan sonra 5 dk, son yıkamadan sonra 15 dk bekleme yapılmıştır. Tekli doz yanıtları alındıktan sonra tüm kanallara 30 mM KCl verilmiştir.

**5. DMSO grubu (n=8):** GW6471, GSK0660, GW0742'nin çözücüsü olarak kullanılan DMSO'nun deney hayvanına 0.1 cc olacak şekilde i.p. olarak uygulanmasından 30 dk sonra uterus dokuları izole edilmiş ve ardından organ banyolarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ve Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz yanıtları alınmıştır. Her dozdan sonra 10 dk bekleme, ardından 3 yıkama yapılmıştır. İlk iki yıkamadan sonra 5 dk, son yıkamadan sonra 15 dk bekleme yapılmıştır. Tekli doz yanıtları alındıktan sonra tüm kanallara 30 mM KCl verilmiştir.

### 3.4. İstatistiksel Analizler

Deneyler sırasında uterus spontan kontraksiyonlarının frekansları (kontraksiyon sayısı), minimum ve maksimum gerimleri, amplitüdüleri ve spontan kontraksiyonların eğri altında kalan alanları (EAA) değerlendirilmiştir.

Minimum gerim değerleri agonist uygulamalarından önceki ve sonraki 10 dk'lık periyotta oluşan spontan kontraksiyonların minimum gerimlerinin aritmetik ortalaması alınarak elde edilmiştir (Şekil 10).

Maksimum gerim yanıtı olarak ise agonist uygulaması öncesi ve sonrasındaki 10 dk'lık periyotta elde edilen en yüksek maksimum yanıt kullanılmıştır (Şekil 9, 10).

Frekanslar agonist uygulaması öncesi ve sonrasındaki 10 dk'lık periyotta oluşan spontan kontraksiyonların tepe noktaları sayılarak bulunmuştur (Şekil 9).

Amplitüdüleri belirlerken kasıcı agonistler için spontan kontraksiyonların minimum gerim değerleri ile 10 dk'lık periyottaki maksimum gerim yanıtı arasındaki fark elde edilmiştir (Şekil 10).

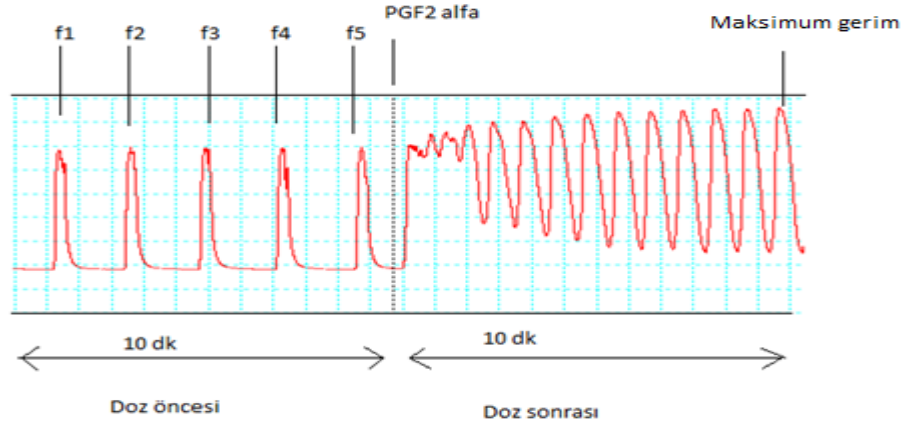
EAA hesaplanırken agonist uygulaması öncesi ve sonrasındaki 10 dk'lık periyotta oluşan spontan kontraksiyonların integralleri alınmıştır. Bu amaçla Powerlab hardware unit (ADInstruments) ve Chart v5 for Windows (ADInstruments) kullanılmıştır.

Veriler n sayıda preparatın aritmetik ortalaması  $\pm$  ortalamanın standart hatası (SH) olarak ifade edilmiştir. Kontrol, GW6471, GSK0660 ve GW0742 gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M), ve Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) tekli doz kasılma yanıtları parametrik olmayan (Kruskal Wallis) varyans analizi ve post-hoc Dunn testi ile değerlendirilmiştir.  $P < 0.05$  ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar arasında östrus siklusunun fazları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığını tesbit etmek amacı ile Ki-kare ve Fisher testleri yapılmıştır.  $P < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tez çalışması sırasında Chart Software (Chart v5 for Windows, ADInstruments), "InStat"© (GraphPad, U.S.A.), "Prism 3.0"© (GraphPad, U.S.A.), Excell'2007 (Microsoft U.S.A.) ve Microsoft Word'2007 (Microsoft U.S.A.) programları kullanılmıştır.

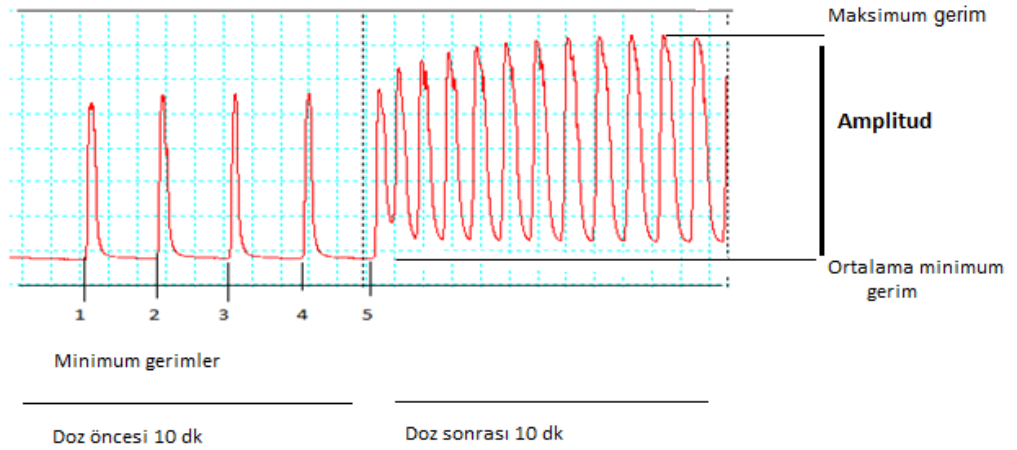


A



**Şekil 9.** İzole sıçan uterus preparatlarında uygulanan prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), oksitosin (OT), anandamid (AEA) ve tokrisolve (TS) uygulaması sonrası frekans, maksimum gerim değerlerinin hesaplanması.

B



**Şekil 10.** İzole sıçan uterus preparatlarında uygulanan prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), oksitosin (OT), anandamid (AEA) ve tokrisolve (TS) sonrası maksimum, minimum ve amplitud değerlerinin hesaplanması.

### 3.5. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Anandamid	(Tocris)
Tokrisolve	(Tocris)
Oksitosin	(Sigma)
GW6471 $\geq 98\%$ (HPLC)	(Sigma)
GSK0660 $\geq 98\%$ (HPLC)	(Sigma)
GW0742 $\geq 98\%$ (HPLC)	(Sigma)
Prostaglandin F <sub>2<math>\alpha</math></sub> tris salt	(Sigma)
DMSO	(Riedel-deHaen)
Sodyum klorür (NaCl)	(Merck)
Potasyum klorür (KCl)	(Merck)
Sodyum bikarbonat (NaHCO <sub>3</sub> )	(HIMEDIA)
Kalsiyum klorür (CaCl <sub>2</sub> )	(Merck)
Magnezyum klorür (MgCl <sub>2</sub> )	(Merck)
Dekstroz	(Merck)

AEA  $10^{-2}$  M stok olacak şekilde distile suda sulandırılarak suda çözünür formu kullanılmıştır. TS  $10^{-2}$  M ana stok olarak, OT ve PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  ise  $10^{-3}$  M ana stok olarak distile suda sulandırılarak hazırlanmıştır. Deneyler sırasında hergün bir adet stok solüsyonu çıkarılarak, distile su ile kullanılacak konsantrasyonlar hazırlanmıştır. GW6471, GSK0660, GW0742 ise DMSO'da çözülerek deney hayvanlarına i.p. olarak verilmiştir (DMSO'da çözünürlük sırasıyla 10 mg/ml, 10 mg/ml, >5 mg/ml).

### 3.6. Kullanılan Deney Araç ve Gereçleri

Veri elde etme sistemi (Data acquisition system)	PowerLab/4SP ADInstruments MC118 Quad Bridge Chart v5 for Windows, DInstruments
Gerim iletici	LSİ, LETICA Scientific Instruments Made in Spain by PANLAB, S.L. (Cornelia) (202P/ 0-25 g)
Organ banyosu	PANLAB, S.L. (Cornelia)
Termostat	LE 13206 Thermostat LSİ LETİCA
Sirkülasyonlu Su Pompası	Grant Instruments (Cambridge) Lt
pH metre	Jenway, Model 3310
Tartı	BJ 610C Precisa
Hassas Tartı	SHIMADZU AY 220
Manyetik Karıştırıcı	LABINCO L32
Karıştırıcı	VELP SCIENTIFICA 2X <sup>3</sup>
Derin Dondurucu	NUAIRE -86 °C Ultralow Freezer
Distile Su Cihazı	MILLIPORE Elix-5

## BULGULAR

### 4.1. Uterus Düz Kasında Agonist Uygulamaları Öncesinde Spontan Kontraksiyonların Değerlendirilmesi

Sıçan uterus düz kas dokusunda GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun deney hayvanına i.p. enjeksiyonundan 30 dk sonra elde edilen dokularda, agonist konsantrasyon yanıt eğrileri alınmadan önce spontan kontraksiyonlarının frekansı (kasılma sayısı), maksimum gerimleri (g), amplitüdü (g) ve eğri altında kalan alanları (g.s.) değerlendirilmiştir.

Kontrol, GSK0660, GW0742, GW 6471 ve DMSO gruplarında frekans değerleri incelendiğinde deney grupları arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ( $P=0.0095$ ). GSK0660 ve DMSO gruplarının frekansları kontrole göre düşük olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $P>0.05$ ), GSK0660 ve DMSO frekanslarının GW6471 grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla  $P< 0.05$ ,  $P< 0.05$ ) (Şekil 11).

Deney gruplarında maksimum gerimler değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ( $P<0.0001$ ). GSK0660 grubundan elde edilen maksimum gerimlerin kontrol, GW0742, GW6471 ve DMSO gruplarından anlamlı olarak yüksek olduğu (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ), diğer gruplardan elde edilen maksimum gerimlerin ise kontrole göre düşük olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür ( $P>0.05$ ) (Şekil 12).

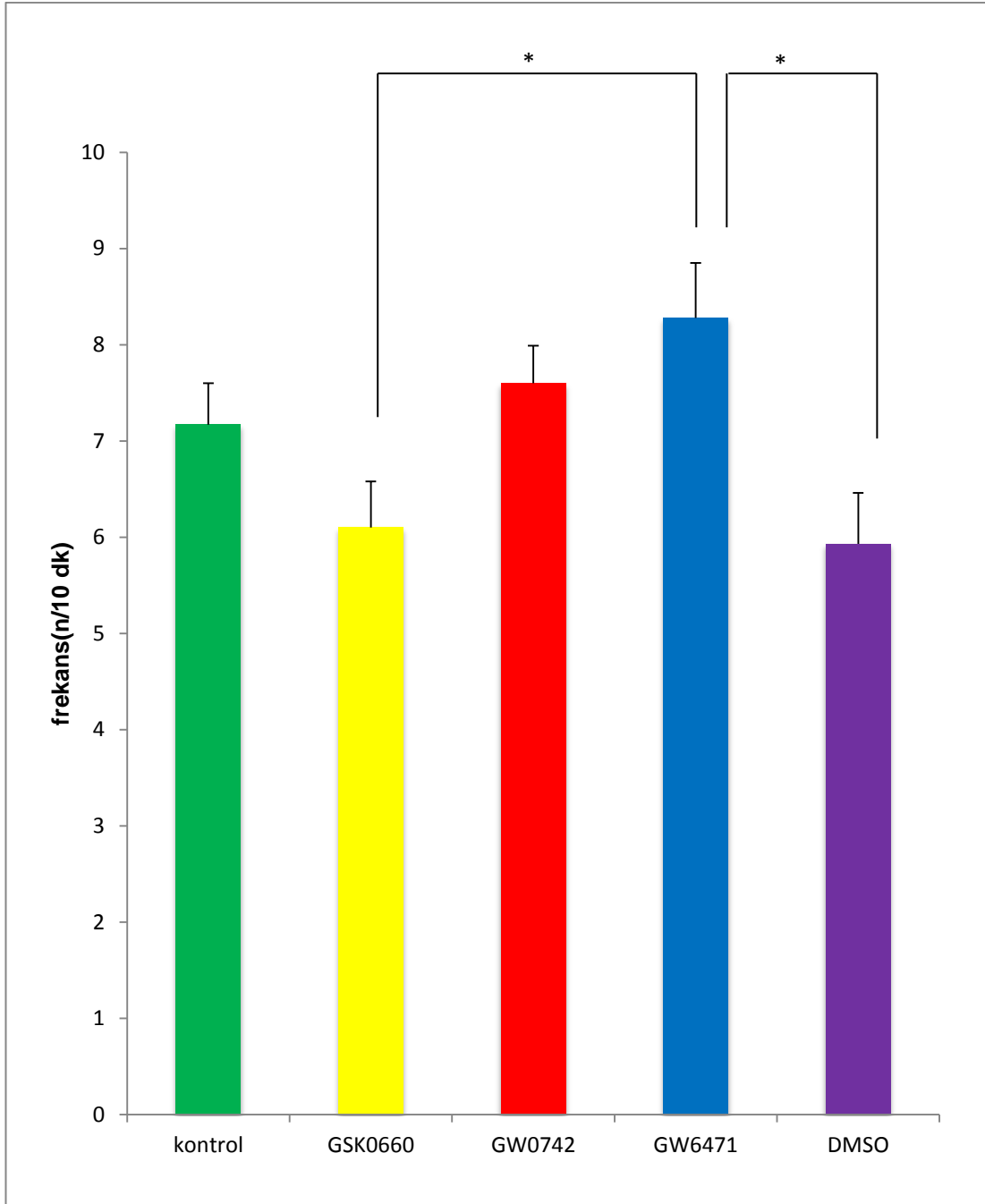
İzole uterus düz kas dokusunun amplitüd değerleri incelendiğinde deney grupları arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ( $P<0.0001$ ). GSK0660 grubunun amplitüd değerlerinin kontrol, GW0742, GW6471 ve DMSO gruplarından anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ) (Şekil 13).

Deney gruplarında eğri altında kalan alan (EAA) incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık olduğu gözlenmiştir ( $P<0.0001$ ). GSK0660 ve GW0742 gruplarından elde edilen yanıtlarda EAA'nın kontrol grubuna göre artmış olduğu görülmekle beraber sadece GW0742 grubunun istatistiksel

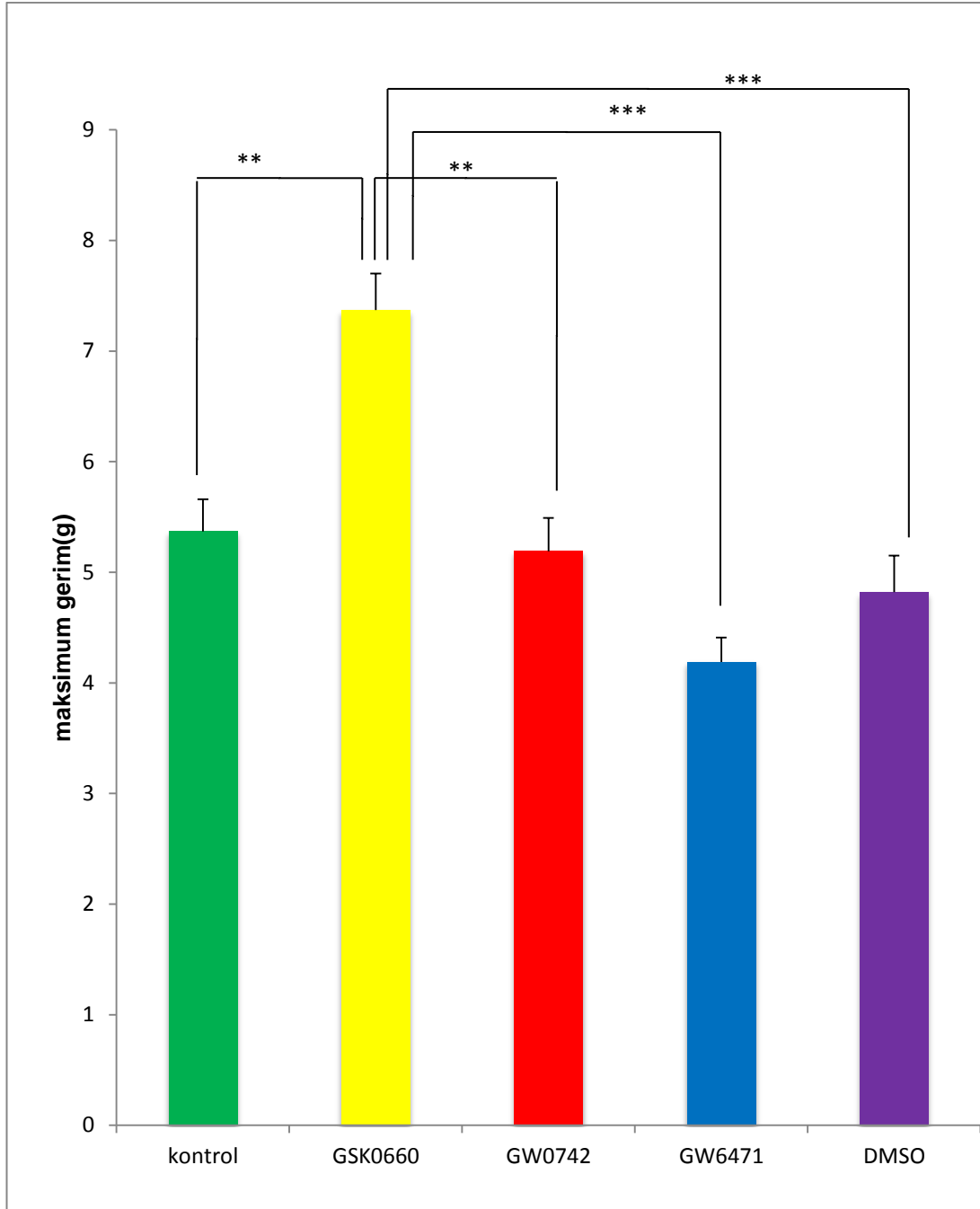
olarak anlamlı farklılık gösterdiği tesbit edilmiştir ( $P<0.05$ ). GW6471 grubunun EAA'ı ise diğer tüm gruplardan istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla  $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.001$ ) (Şekil 14).

**Tablo 6.** İzole sıçan uterus preparatlarında 45 dk'lık dengelenme süresinin ardından kontrol, GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında agonist uygulamaları öncesinde dokuların başlangıç gerimleri

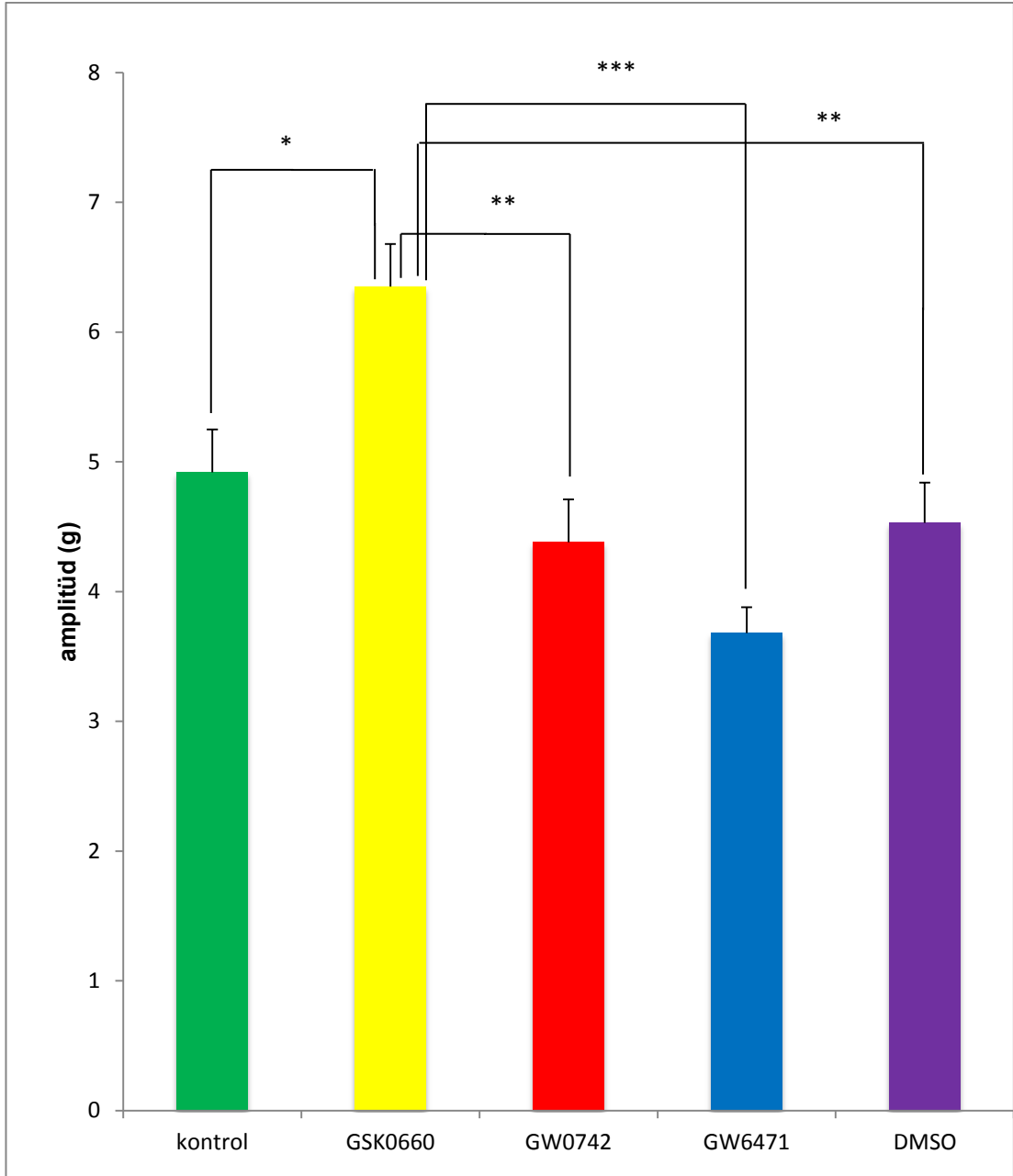
<b>Deney grupları</b>	<b>Ortalama Başlangıç Gerimi <math>\pm</math> SH</b>
Kontrol	0.62 $\pm$ 0.05
GSK0660	0.94 $\pm$ 0.04
GW0742	0.81 $\pm$ 0.06
GW6471	0.36 $\pm$ 0.07
DMSO	0.73 $\pm$ 0.14



**Şekil 11.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulaması öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları (n/10 dk). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=34), GSK0660 (n=20), GW0742 (n=20), GW6471 (n=32), DMSO (n=31). \*P<0.05

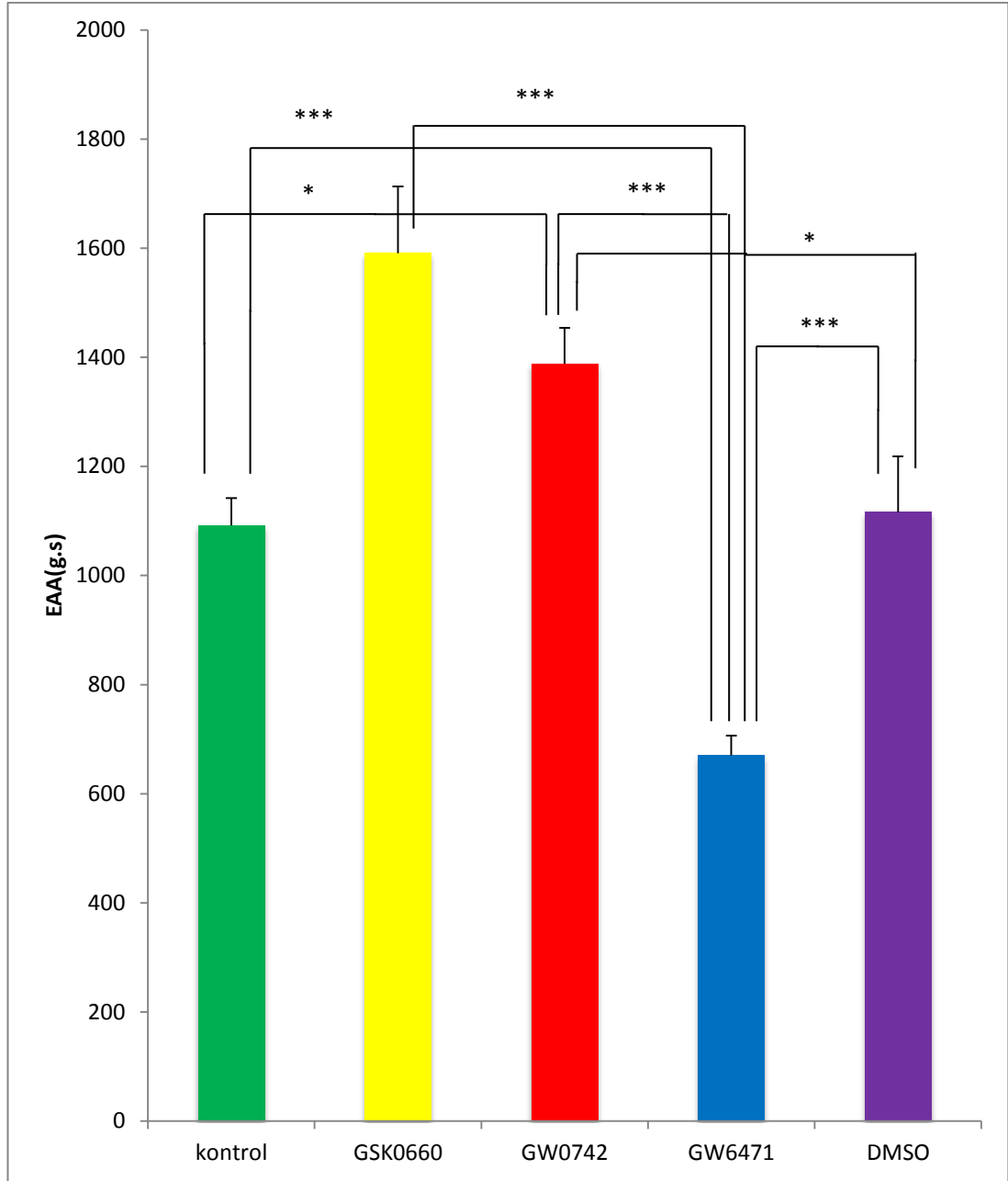


**Şekil 12.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulamaları öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=33), GSK0660 (n=20), GW0742 (n=20), GW6471 (n=32), DMSO (n=31). \*\* P <0.01, \*\*\* P <0.001.



**Şekil 13.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulamaları öncesi 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=32), GSK0660 (n=20), GW0742 (n=19), GW6471 (n=29), DMSO (n=27). \* P <0.05, \*\* P <0.01, \*\*\* P <0.001





**Şekil 14.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, agonist uygulanmaları öncesi 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları (EAA). Yanıtlar g.s. olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=36), GSK0660 (n=24), GW0742 (n=20), GW6471 (n=32), DMSO (n=31). \* P <0.05, \*\* P <0.01, \*\*\* P <0.001.

## 4.2. Anandamid Yanıtları

Deney hayvanına GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun i.p. enjeksiyonundan 30 dk sonra elde edilen izole rat uterus preparatlarında 45 dk'lık dengelenme periyodunun ardından Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon yanıt eğrileri elde edilmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon bağımlı yanıtlar elde edilmiştir.

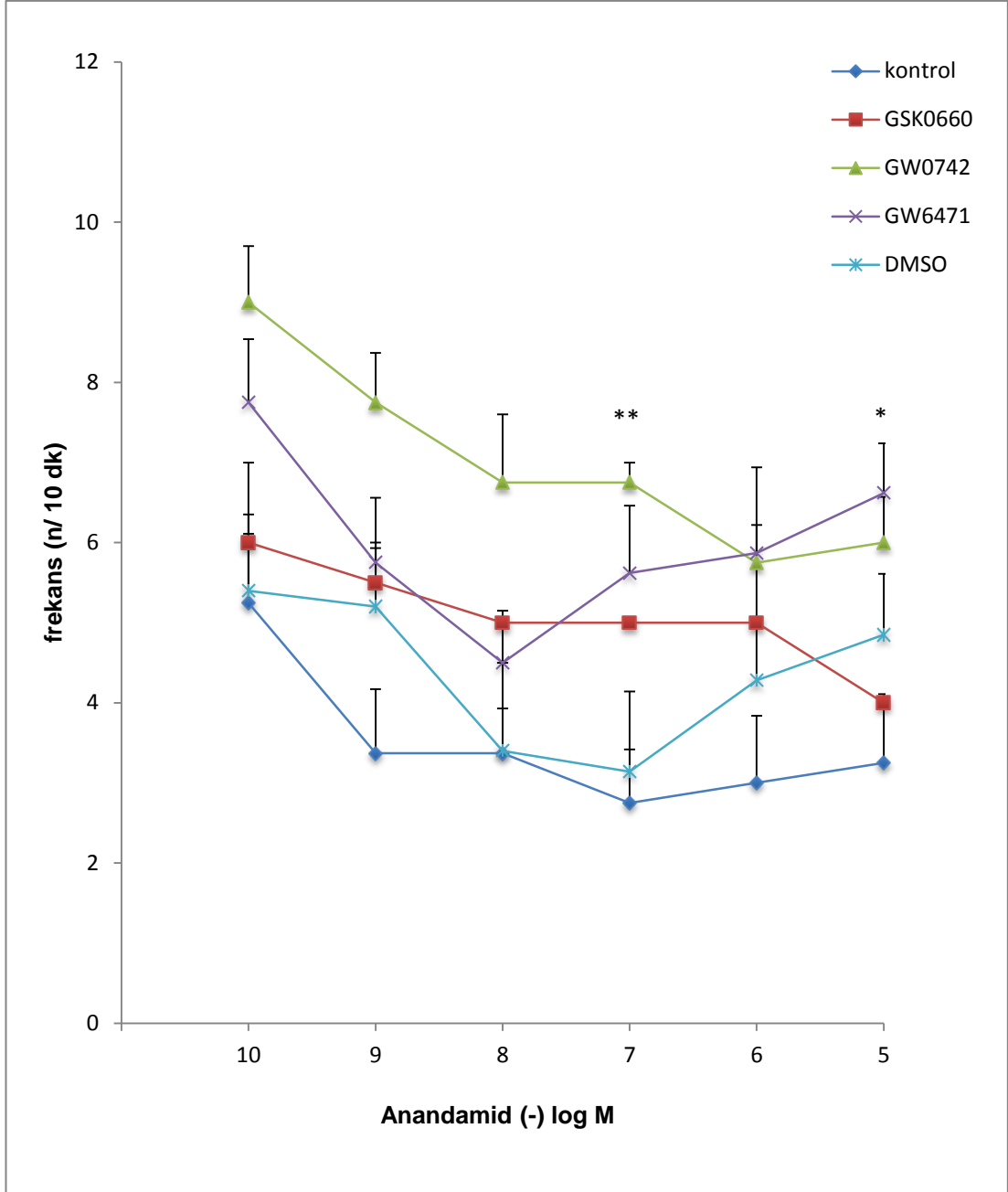
Her tekli doz uygulaması arasında 5 dk arayla 3 yıkama yapılmıştır. AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) uygulaması ile 10 dk'lık periyodlarda izole uterus düz kas preparatlarının spontan kontraksiyonlarının frekansı (kasılma sayısı), minimum gerimleri (g), maksimum gerimleri (g), amplitüdüleri (g) ve EAA' ları (g.s.) değerlendirilmiştir.

### 4.2.1. Frekanslar

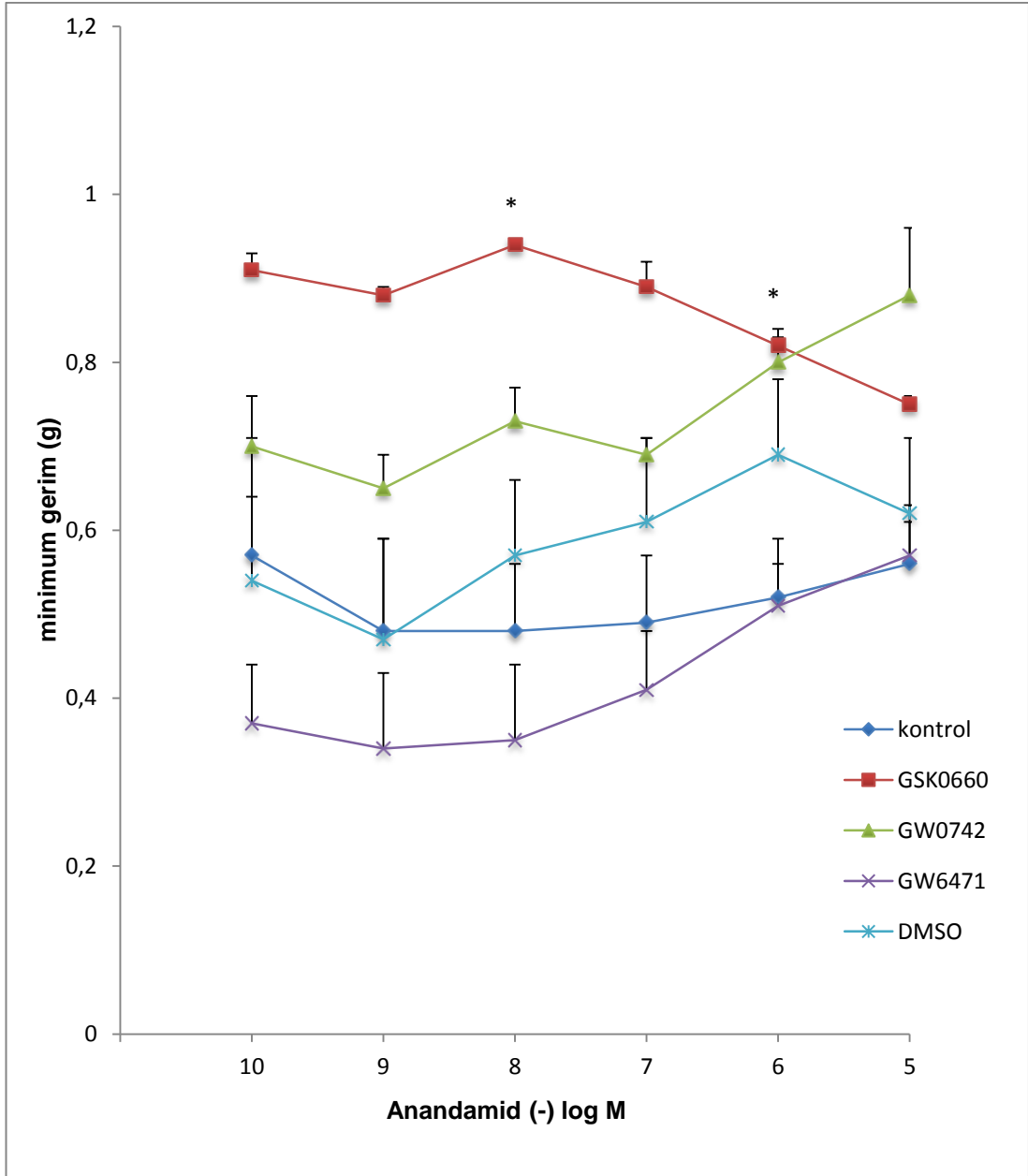
Kontrol, GSK0660, GW0742, GW 6471 ve DMSO gruplarında AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyonda uterus düz kas kontraksiyonlarının frekansları incelendiğinde kontrole göre yüksek olduğu görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlılık AEA  $10^{-9}$  ve  $10^{-7}$  M konsantrasyonunda kontrol ve GW0742 arasında ( $P<0.05$ ), AEA  $10^{-5}$  M konsantrasyonunda ise kontrol ve GW6471 arasında saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 15).

### 4.2.2. Minimum Gerimler

Deney gruplarında organ banyolarına AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) eklenmesinin ardından minimum gerimler incelendiğinde, AEA'in  $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M konsantrasyonları arasında GSK0660 grubunda artmış olduğu ve AEA'in  $10^{-7}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonları arasında konsantrasyon bağımlı olarak azaldığı görülmüştür. AEA  $10^{-8}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile GW6471 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tesbit edilmiştir ( $P<0.05$ ) (Şekil 16).



**Şekil 15.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları (n/10 dk). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=8), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=7). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01.



**Şekil 16.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri. Yanıtlar g kasılma olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=6), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=7). \* P < 0.05.

### 4.2.3. Maksimum Gerimler

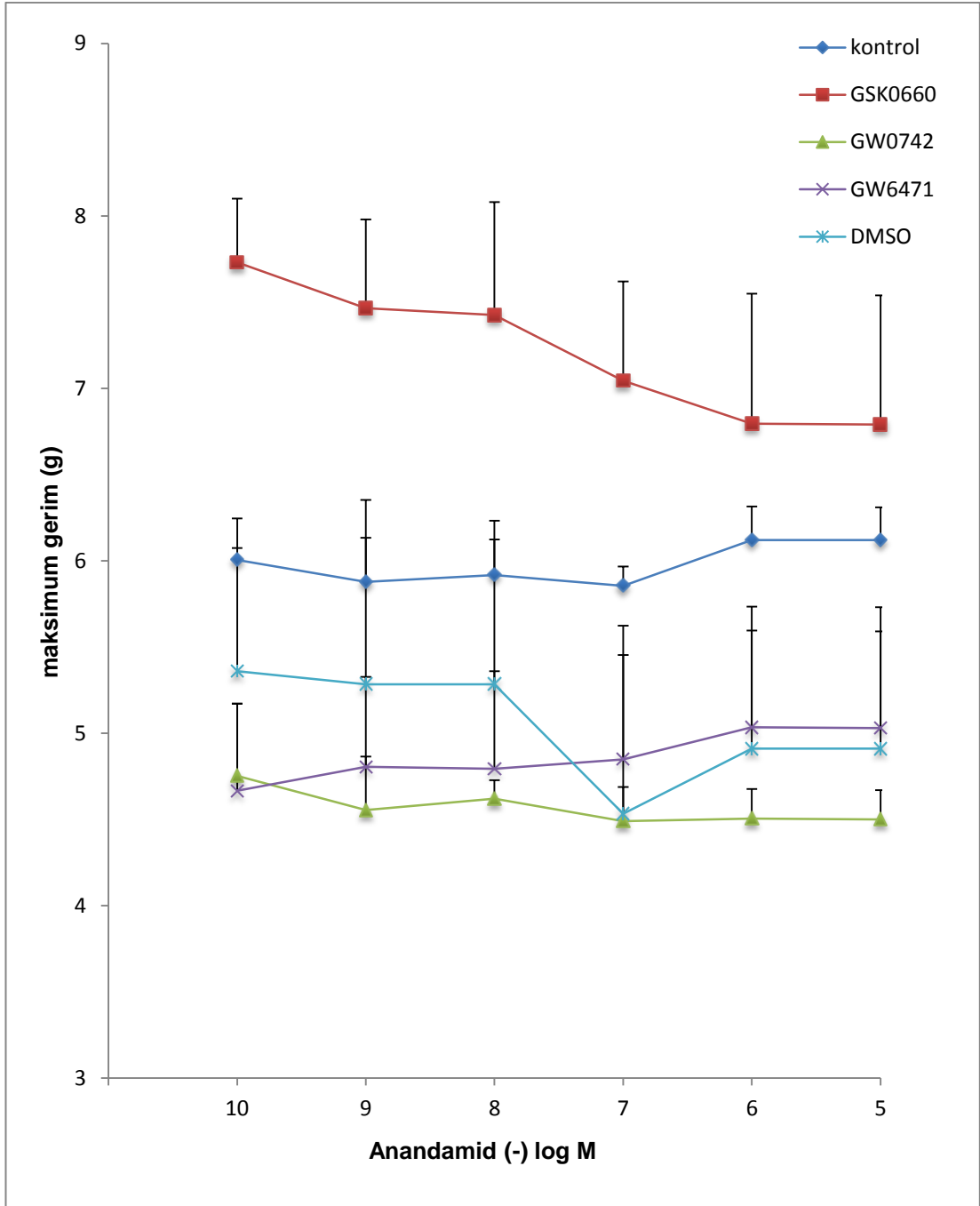
AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun deney gruplarında uterus düz kas kontraksiyonlarının maksimum gerimleri üzerine etkisi incelendiğinde, GSK0660 grubunda tüm konsantrasyonlarda yanıtların artmış olduğu ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür ( $P>0.05$ ) (Şekil 17).

### 4.2.4. Amplitüd Değişikliği

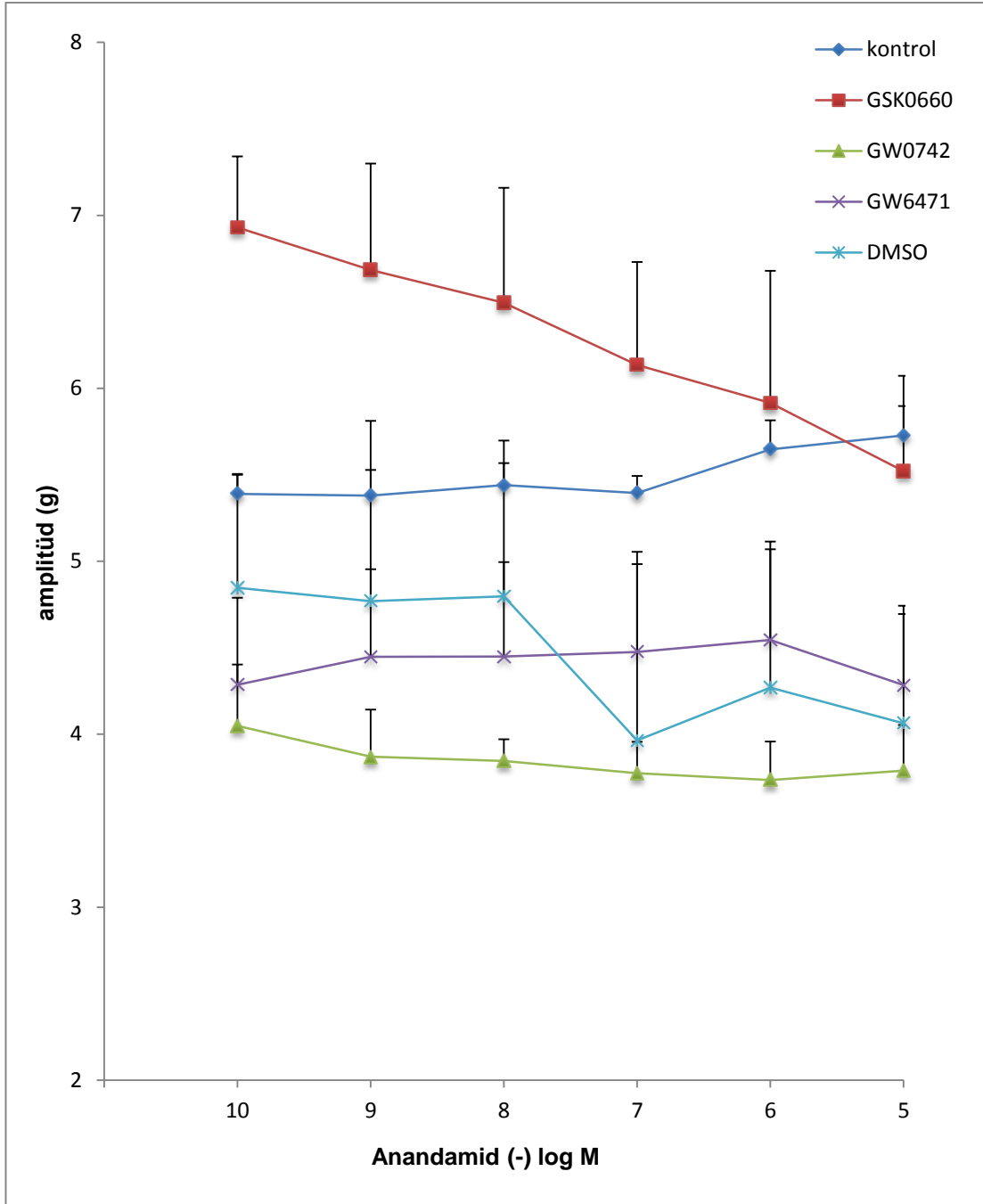
AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun deney gruplarında uterus düz kas kontraksiyonlarının amplitüdü üzerine etkisi incelendiğinde, AEA'in  $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M konsantrasyonları arasında GSK0660 grubunda yanıtlarda artış görülmekle birlikte, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $P>0.05$ ) (Şekil 18).

### 4.2.5. Eğri Altında Kalan Alan

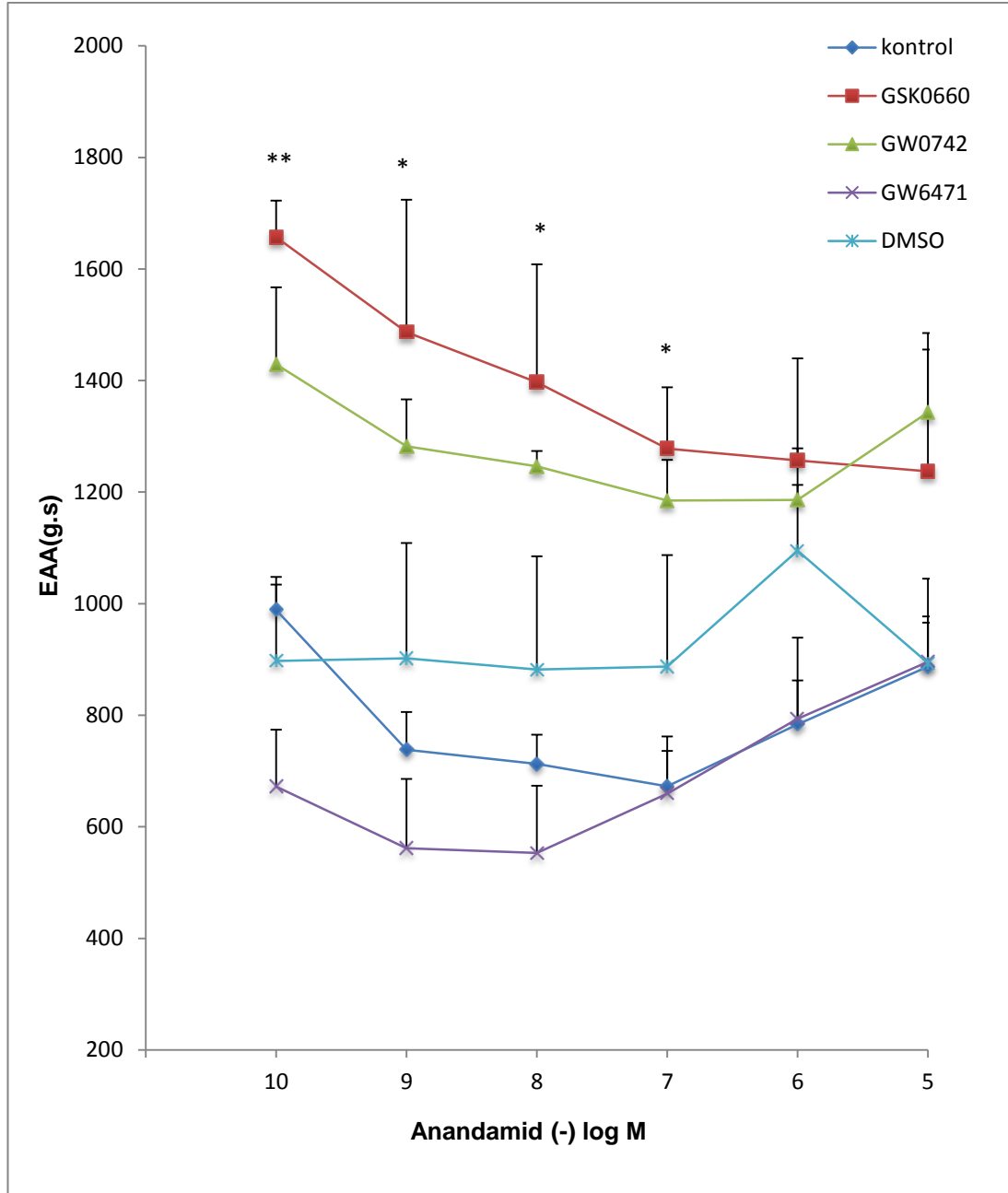
Deney gruplarında organ banyolarına AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) eklenmesinin ardından uterus düz kas kontraksiyonlarının EAA'ı incelendiğinde AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-6}$  M) konsantrasyonda GSK0660 ve GW0742 gruplarında kontrole göre artmış olmakla beraber, AEA  $10^{-10}$  M konsantrasyonda GW6471 ile GW0742 ve GSK0660 arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ), AEA ( $10^{-9}$ - $10^{-8}$  M) konsantrasyonda GW6471 ve GW0742 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ) (Şekil 19).



**Şekil 17.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=6), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=7).



**Şekil 18.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=6), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=7).



**Şekil 19.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471 DMSO deney gruplarında, Anandamid ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları (EAA). Yanıtlar g.s. olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=8), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=7). \* P < 0.05, \* P < 0.01.



### 4.3. Oksitosin Yanıtları

GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun deney hayvanına i.p. enjeksiyonundan 30 dk sonra elde edilen izole sıçan uterus preparatlarında 45 dk'lık dengelenme periyodunun ardından Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon yanıt eğrileri elde edilmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon bağımlı yanıtlar elde edilmiştir.

Her tekli doz uygulaması arasında 5 dk arayla 3 yıkama yapılmıştır. OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) uygulaması ile 10 dk'lık periyotlarda izole uterus düz kas preparatlarının spontan kontraksiyonlarının frekansı (kasılma sayısı), minimum gerimleri (g), maksimum gerimleri (g), amplitüdüleri (g) ve EAA'ları (g.s.) değerlendirilmiştir.

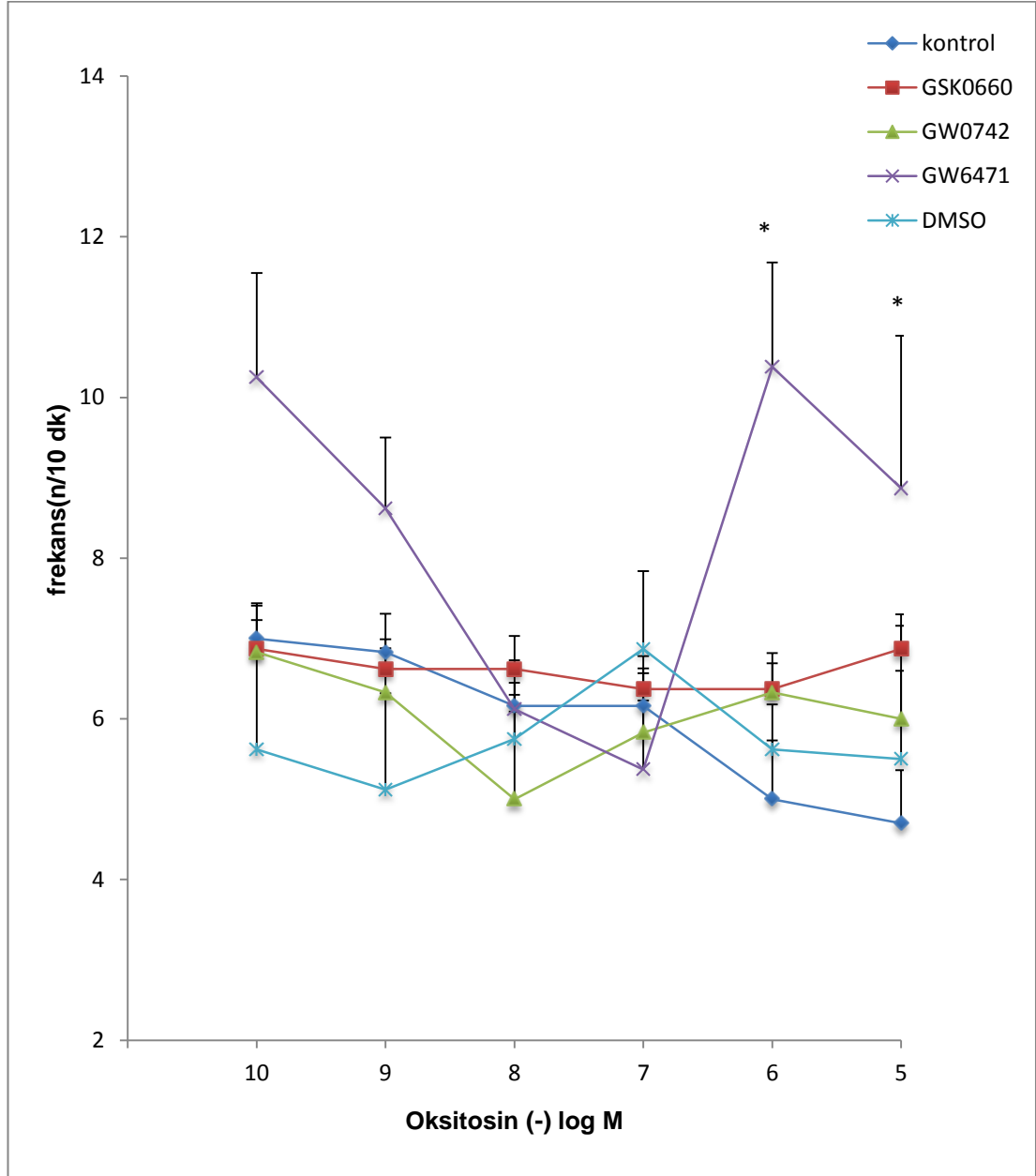
#### 4.3.1. Frekanslar

Kontrol, GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO gruplarında OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun uterus düz kas dokusunun spontan kontraksiyonlarının frekansları üzerine etkisi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık ( $P>0.05$ ) görülmemekle birlikte OT  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda kontrol ve GW6471 arasında P değerinin anlamlı olduğu tesbit edilmiştir ( $P<0.05$ ) (Şekil 20).

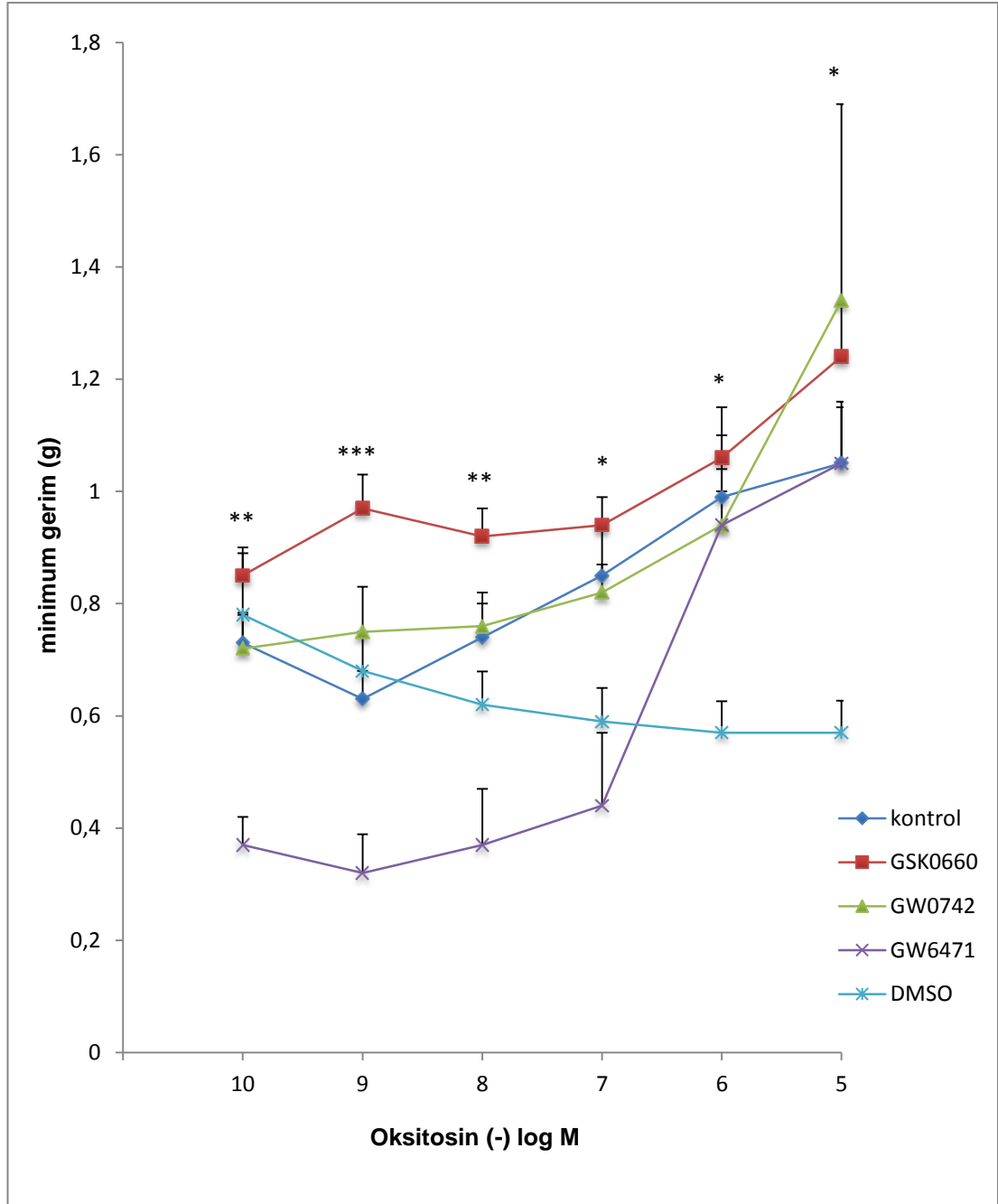
#### 4.3.2. Minimum Gerimler

Deney gruplarında OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun uterus düz kas dokusunun minimum gerimleri üzerine etkisi incelendiğinde OT ( $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M) konsantrasyonlarında GW6471 yanıtlarının anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ). GW6471 grubu yanıtları, OT  $10^{-10}$ 'da kontrol, GSK0660 ve DMSO'dan (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ),  $10^{-9}$  M'da GSK0660'dan ( $P<0.001$ ),  $10^{-8}$  M'da GSK0660'dan ( $P<0.01$ ), anlamlı olarak farklılık göstermiştir. OT ( $10^{-6}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonda elde edilen uterus yanıtlarında DMSO grubundan elde edilen yanıtların anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ).

DMSO,  $10^{-6}$  M'da GSK0660'dan ve kontrolden ( $P<0.05$ ),  $10^{-5}$  M'da ise GSK0660'dan ( $P<0.01$ ), anlamlı olarak farklılık göstermiştir (Şekil 21).



**Şekil 20.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları (n/10 dk). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P < 0.05.



**Şekil 21.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=6). \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$ .

### 4.3.3. Maksimum Gerimler

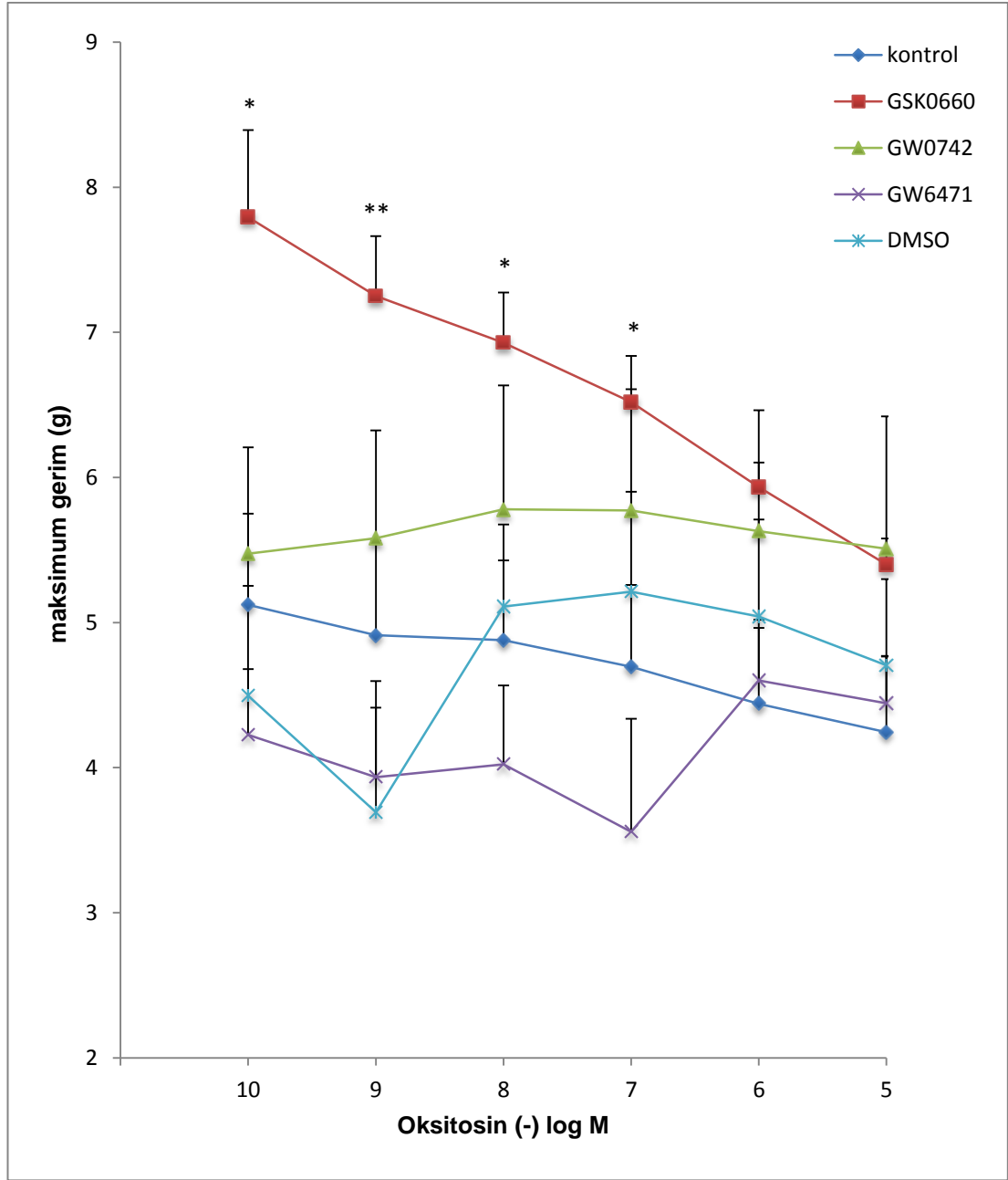
OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile maksimum kasılma yanıtları incelendiğinde, GSK0660 grubundan elde edilen OT maksimum yanıtlarının, diğer gruplardan yüksek olmakla birlikte, doz bağımlı olarak maksimum gerimleri azalttığı bulunmuştur. OT  $10^{-10}$  M'da GSK0660 ile GW6471 arasında ( $P<0.05$ ),  $10^{-9}$  M'da GSK0660 ve GW6471, DMSO arasında ( $P<0.05$ ),  $10^{-8}$  ve  $10^{-7}$  M'da ise GSK0660 ve GW6471 arasında ( $P<0.05$ ) istatistiksel olarak anlamlı farklılık tesbit edilmiştir (Şekil 22).

### 4.3.4. Amplitüd Değişikliği

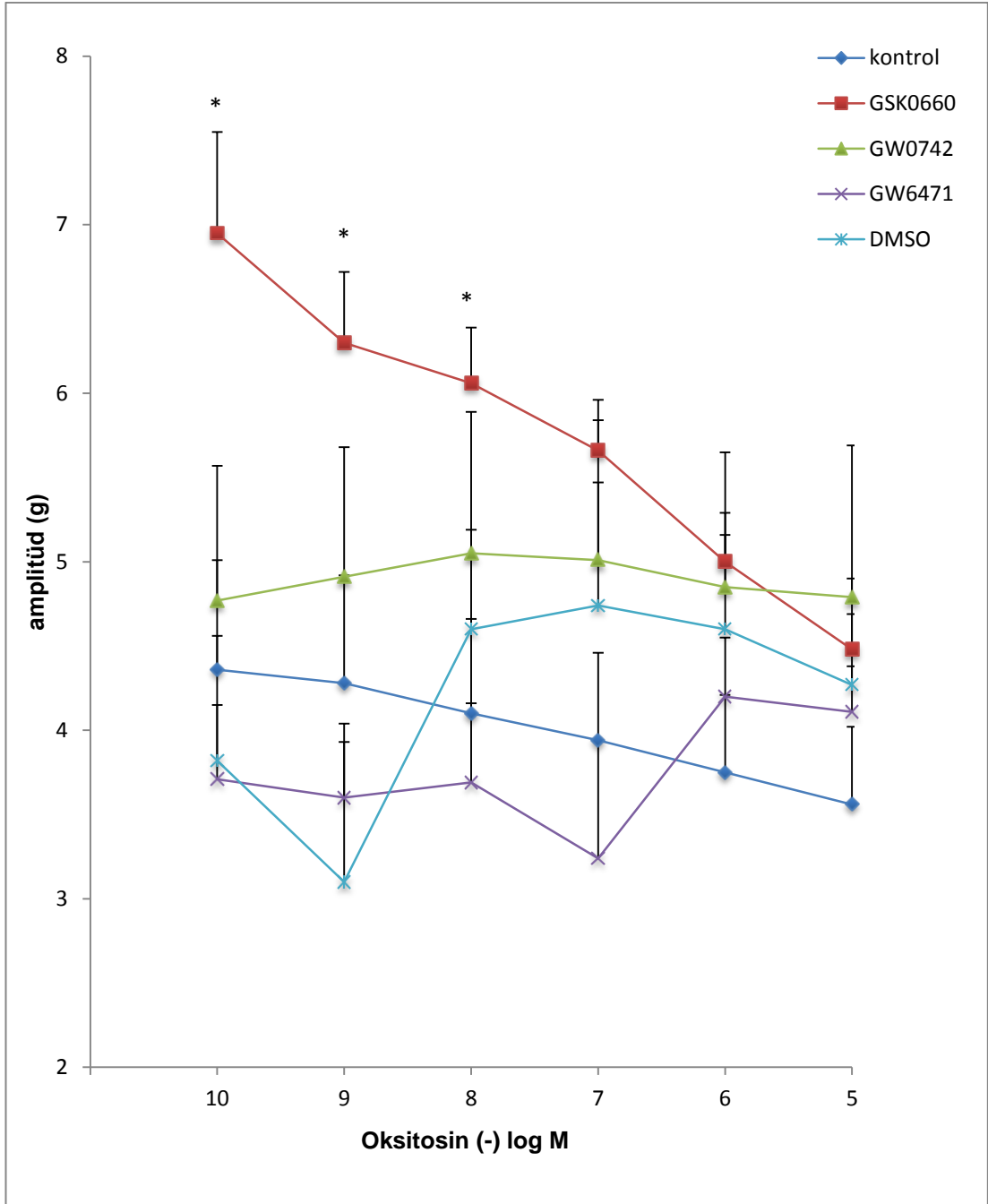
OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun uterus düz kas dokusunun amplitüdü üzerine etkisi incelendiğinde kontrol ve GSK0660 gruplarında konsantrasyon bağımlı bir azalma görülmüştür. İstatistiksel olarak anlamlılık ise OT  $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  M konsantrasyonlarda bulunmuştur (sırasıyla  $P=0.0174$ ,  $P=0.0258$ ,  $P=0.0463$ ). OT  $10^{-10}$  M konsantrasyonda GSK0660, kontrol ve GW6471'den anlamlı olarak farklı iken ( $P<0.05$ ), OT  $10^{-9}$  M'da GSK0660 ile DMSO grubu arasında anlamlı farklılık görülmüştür ( $P<0.05$ ) (Şekil 23).

### 4.3.5. Eğri Altında Kalan Alan

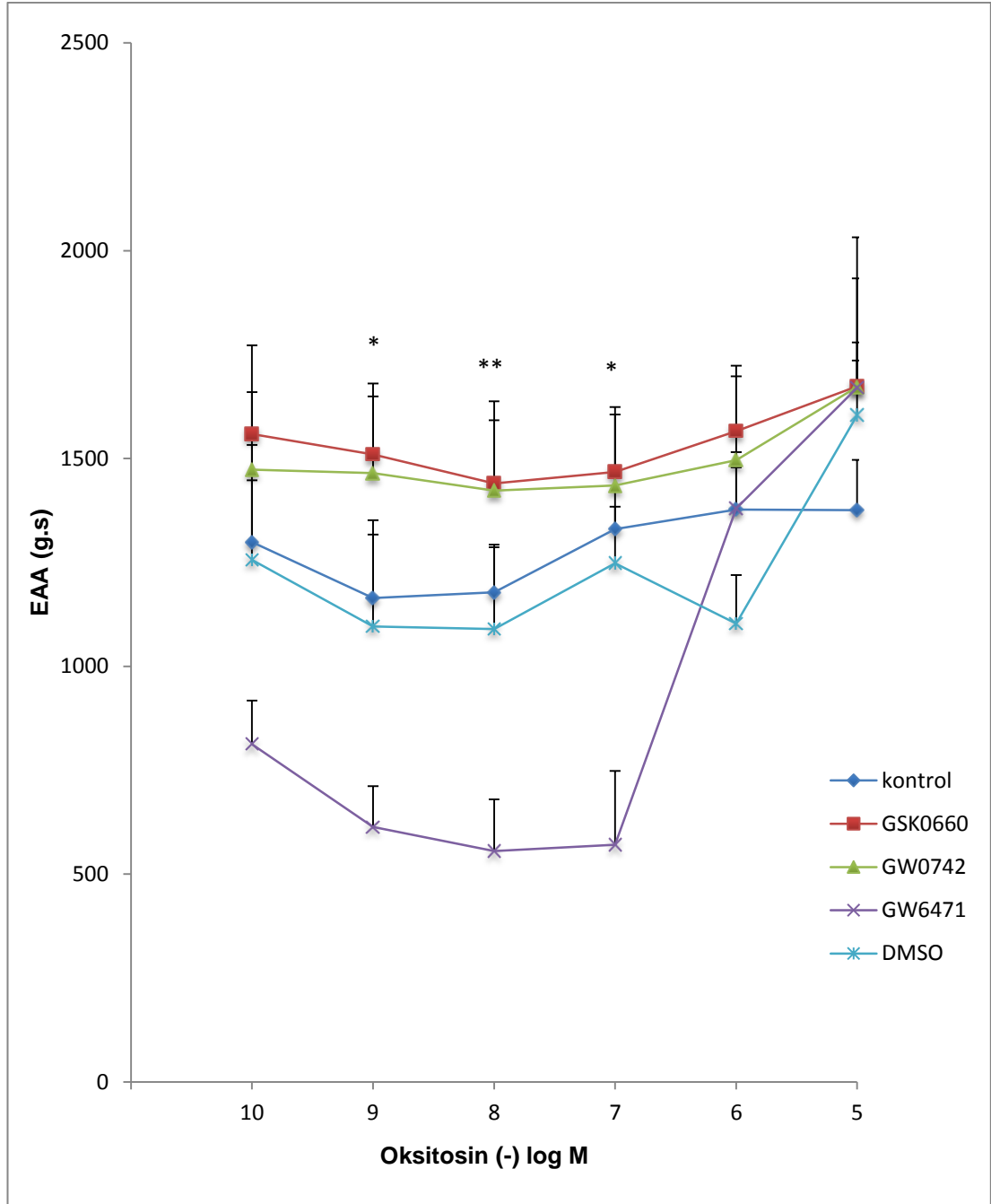
Sıçan uterus düz kas dokusunda organ banyosuna OT ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) eklenmesinin ardından konsantrasyon yanıt eğrileri incelendiğinde OT ( $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$  M) konsantrasyonlarında EAA hesaplandığında GW6471 grubunda anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (sırasıyla  $P=0.0131$ ,  $P=0.0075$ ,  $P=0.0136$ ).  $10^{-9}$  M OT konsantrasyonunda GSK0660 ve GW6471 arasında anlamlı farklılık ( $P<0.05$ ) varken, OT  $10^{-8}$  M konsantrasyonlarında EAA hesaplandığında GW6471'in hem GSK0660 hem de GW0742'den anlamlı olarak düşük olduğu (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), OT  $10^{-7}$  M konsantrasyonlarında GW6471'in hem GSK0660 hem de GW0742'den istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ) saptanmıştır (Şekil 24).



**Şekil 22.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri. Yanıtlar g kasılma olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01.



**Şekil 23.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri. Yanıtlar g kasılma olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P < 0.05.



**Şekil 24.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında Oksitosin ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtlarının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları (EAA). Yanıtlar g.s. olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P <0.05, \*\* P <0.01.

#### 4.4. Prostaglandin F<sub>2α</sub> Yanıtları

GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun deney hayvanına i.p. enjeksiyondan 30 dk sonra elde edilen izole sıçan uterus düz kas preparatlarında 45 dk'lık dengelenme periyodunun ardından PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) ile konsantrasyon yanıt eğrileri elde edilmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) ile konsantrasyon bağımlı yanıtları elde edilmiştir.

Her tekli doz uygulaması arasında 5 dk arayla 3 yıkama yapılmıştır. PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) uygulaması ile 10 dk'lık periyodlarda izole uterus düz kas preparatlarının spontan kontraksiyonlarının frekansı (kasılma sayısı), minimum gerimleri (g), maksimum gerimleri (g), amplitüdlere (g) ve EAA'ları (g.s.) değerlendirilmiştir.

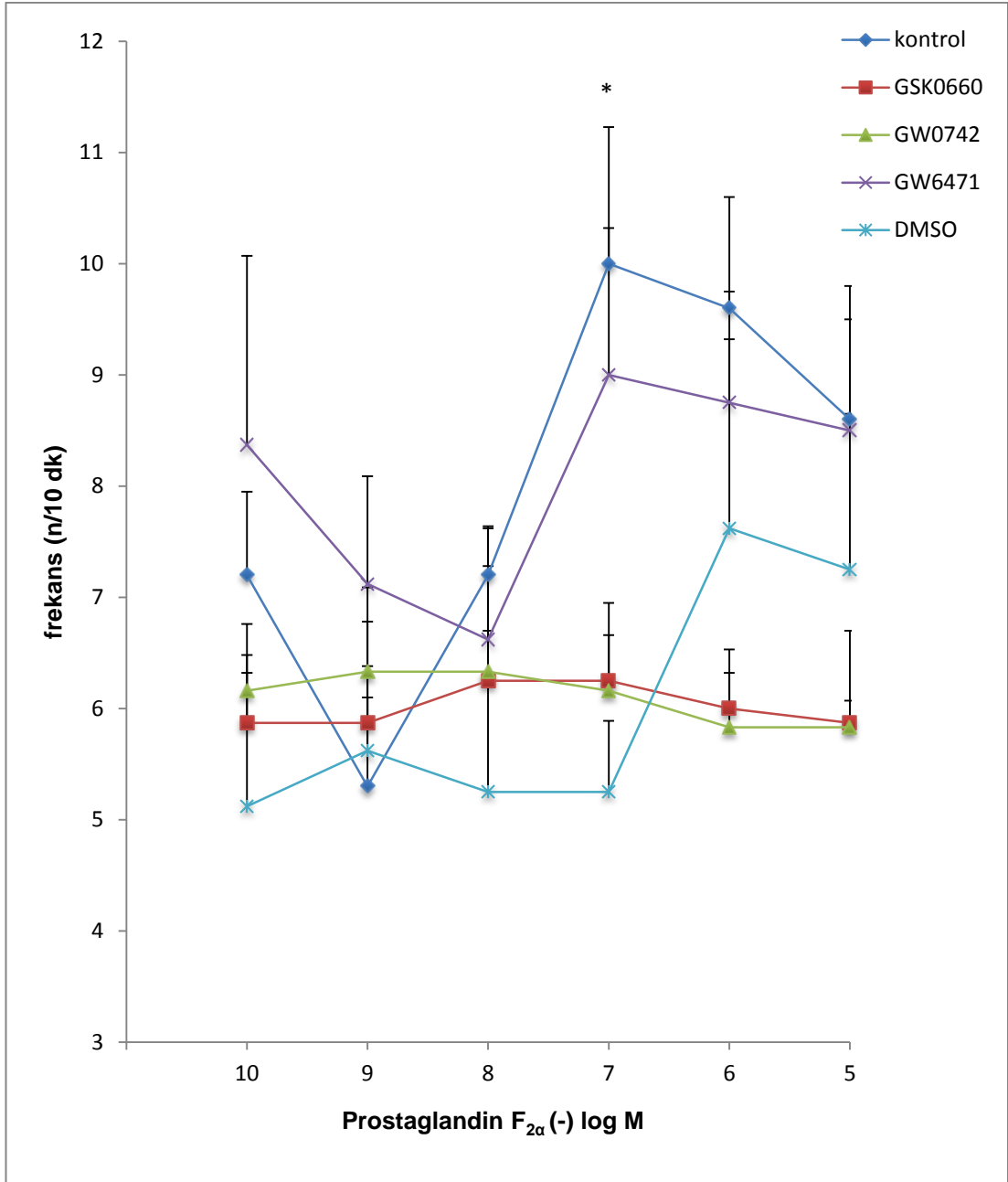
##### 4.4.1. Frekanslar

Deney gruplarında PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) konsantrasyonunun uterus düz kas dokusunun frekansları üzerine etkisi incelendiğinde PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-8</sup>-10<sup>-5</sup> M) konsantrasyonda grupların frekans değerleri kontrole göre düşük olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlılık sadece PGF<sub>2α</sub> 10<sup>-7</sup> M konsantrasyonda kontrol ve DMSO arasında saptanmıştır (P<0.05) (Şekil 25).

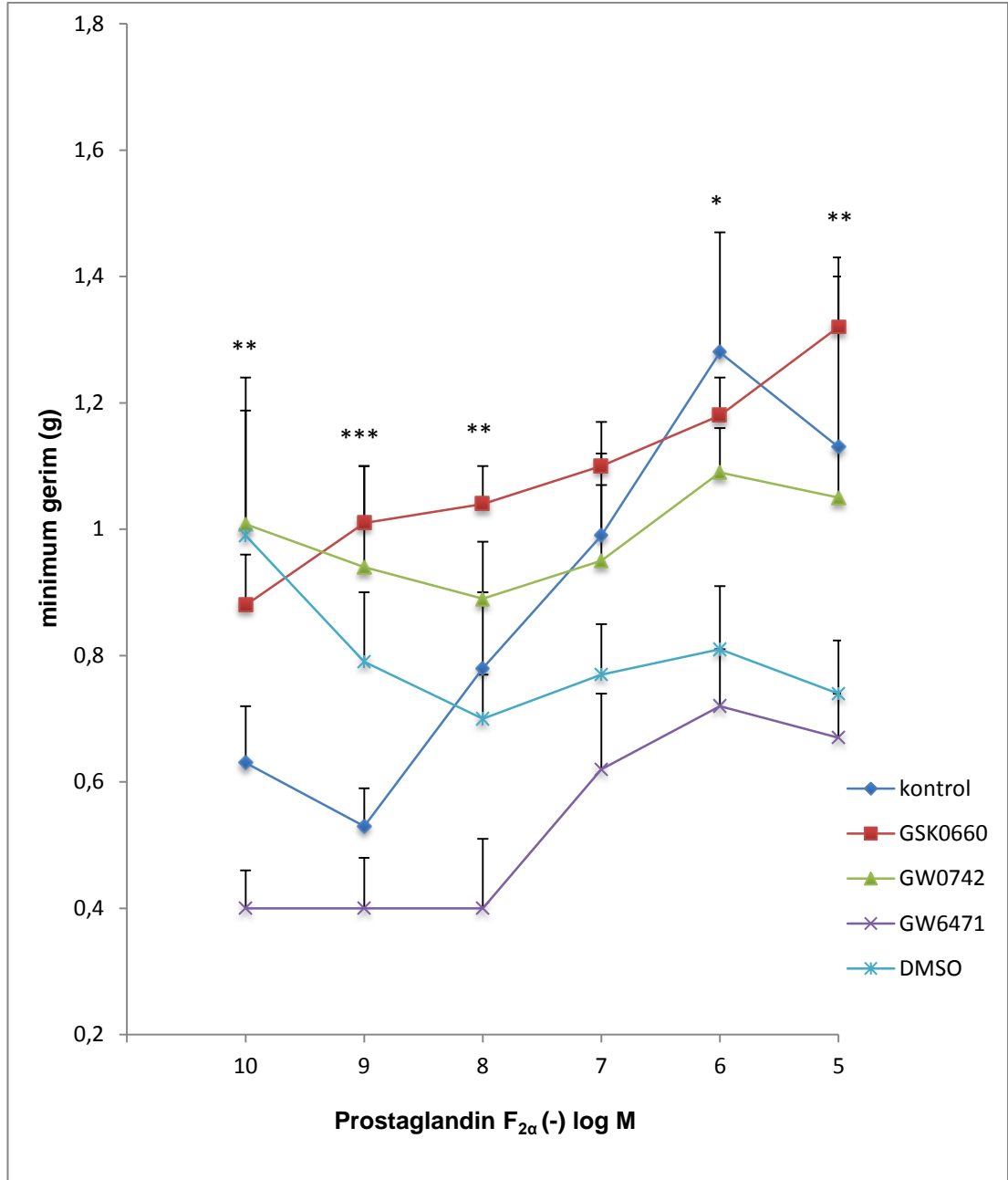
##### 4.4.2. Minimum Gerimler

GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO gruplarında PGF<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) konsantrasyon yanıtları incelendiğinde GSK0660 ile elde edilen minimum gerimler konsantrasyon bağımlı olarak artmıştır. PGF<sub>2α</sub> 10<sup>-10</sup> M konsantrasyonda GW6471 grubunun yanıtlarının, GSK0660 ve GW0742' den anlamlı olarak düşük olduğu (sırasıyla P<0.05, P<0.05), PGF<sub>2α</sub> 10<sup>-9</sup> M konsantrasyonda GSK0660'ın kontrol (P<0.05) ve GW6471'den (P<0.01), PGF<sub>2α</sub> 10<sup>-8</sup> M ve 10<sup>-5</sup> M konsantrasyonda ise GSK0660'ın GW6471'den anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (P<0.01) (Şekil 26).





**Şekil 25.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin F<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları (n/10 dk). Değerler ortalama ± SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=10), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P <0.05.



**Şekil 26.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri. Yanıtlar g kasılma olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=10), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=6). \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001.

#### 4.4.3. Maksimum Gerimler

Deney gruplarında  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon bağımlı yanıtlar incelendiğinde, GSK0660 grubunda uterus düz kas dokusunun maksimum gerimlerinin konsantrasyon bağımlı olarak azaldığı görülmüştür.  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-5}$  M konsantrasyonda maximum gerimler arasında anlamlı bir farklılık görülmezken diğer tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı fark tesbit edilmiştir.  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-10}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile kontrol ve GW6471 arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.001$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-9}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile kontrol, GW6471 ve DMSO arasında (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ),  $10^{-8}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile GW6471 ve DMSO arasında (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ),  $10^{-7}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile GW6471 ve DMSO arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),  $10^{-6}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile GW6471 ve DMSO arasında ( $P<0.05$ ) istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır (Şekil 27).

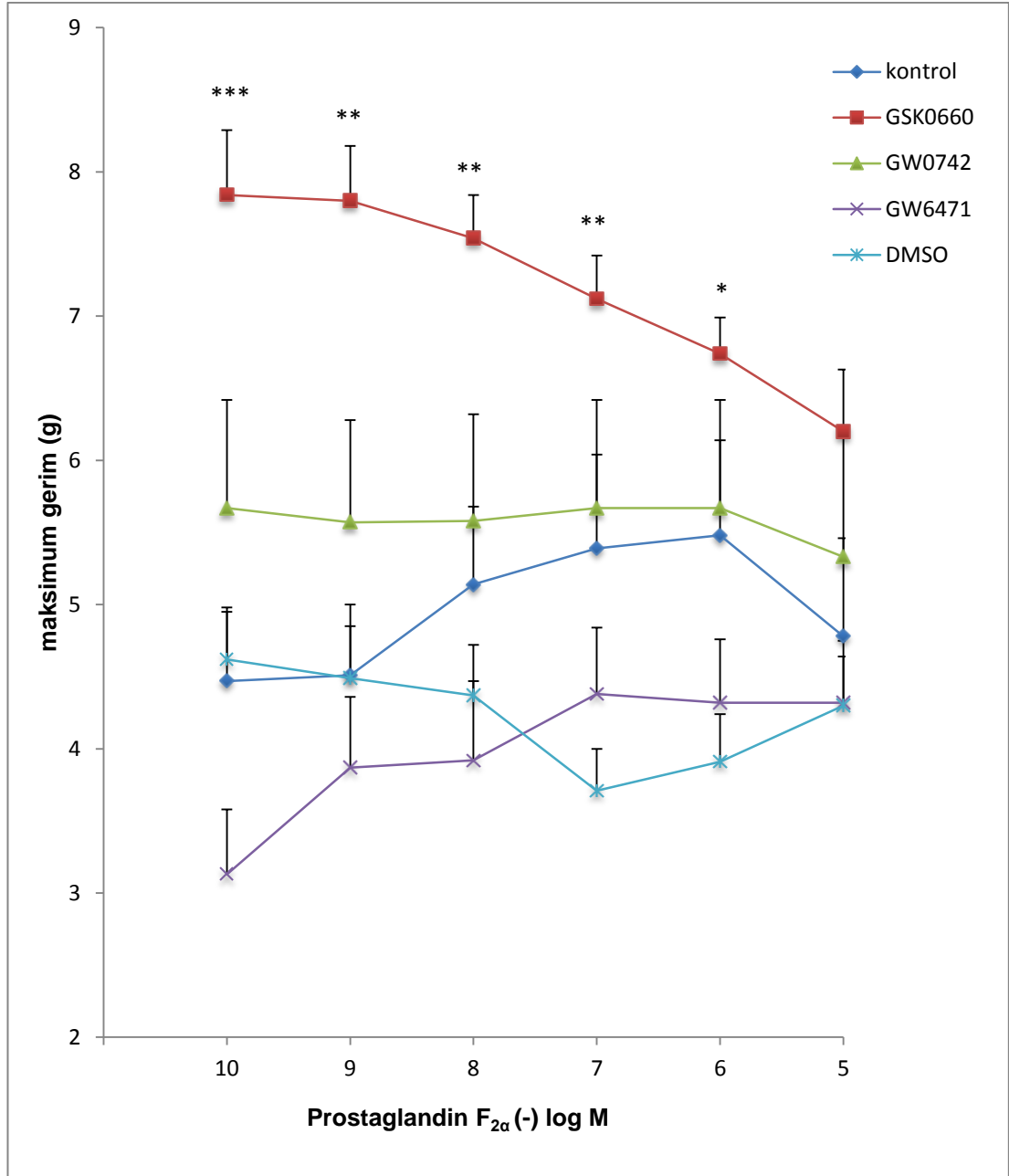
#### 4.4.4. Amplitüd Değişikliği

İzole sıçan düz kas dokusunda  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonunun amplitüd değerleri üzerine etkisi incelendiğinde GSK0660 grubunda konsantrasyon bağımlı olarak azaldığı görülmüş,  $10^{-10}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile GW6471 arasında ( $P<0.001$ ),  $10^{-9}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile kontrol ve GW6471 grubu arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-8}$  M konsantrasyonda ise GSK0660 ile GW6471 ve DMSO arasında istatistiksel olarak anlamlılık tesbit edilmiştir (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ) (Şekil 28).

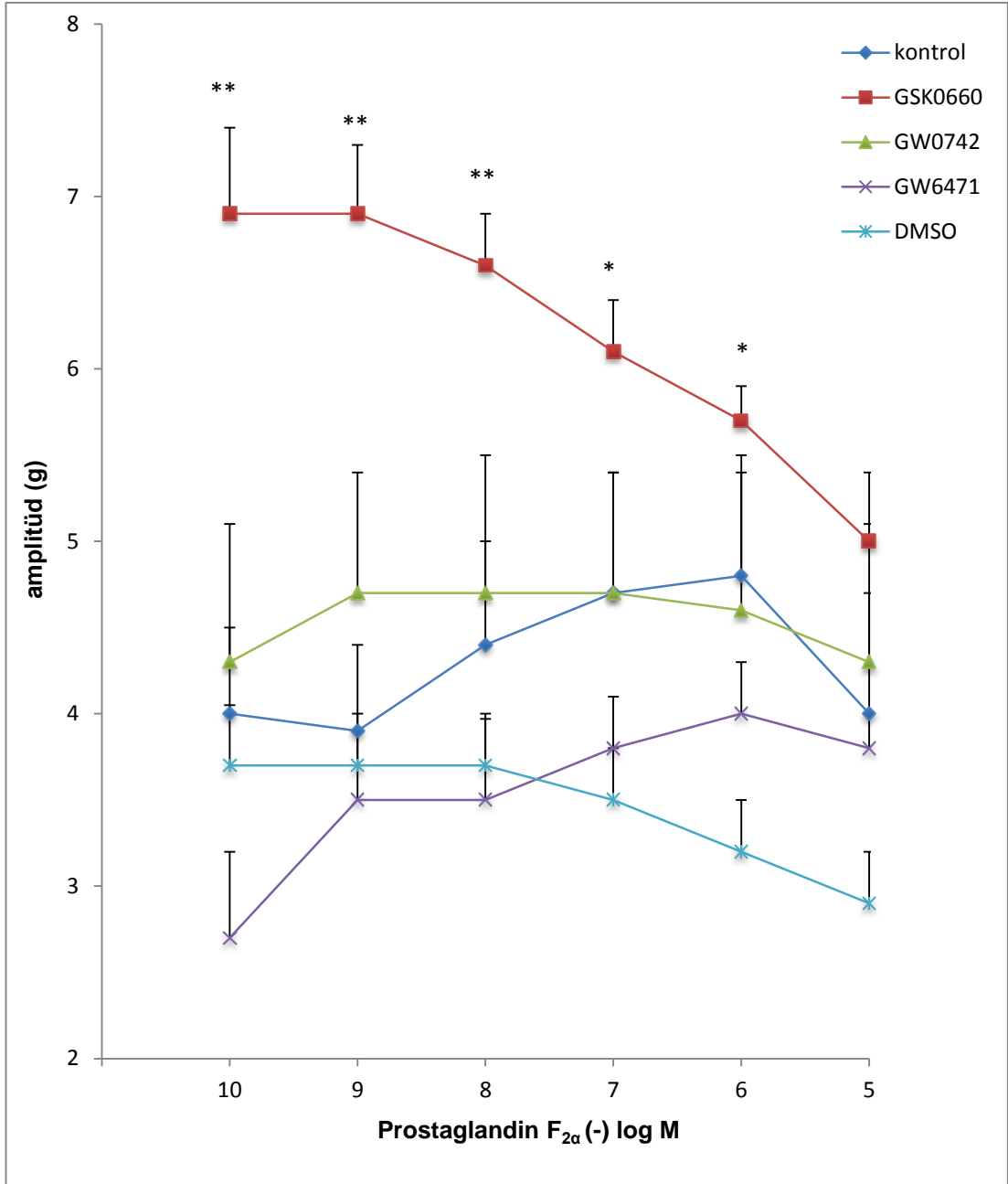
#### 4.4.5. Eğri Altında Kalan Alan

Deney gruplarında  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarının uterus düz kas dokusunun spontan kontraksiyonlarının EAA üzerine etkisi incelendiğinde GSK0660'da kontrol grubuna göre yüksek olmakla beraber GW6471 grubunda kontrole göre düşük olduğu saptanmıştır.  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-10}$  M

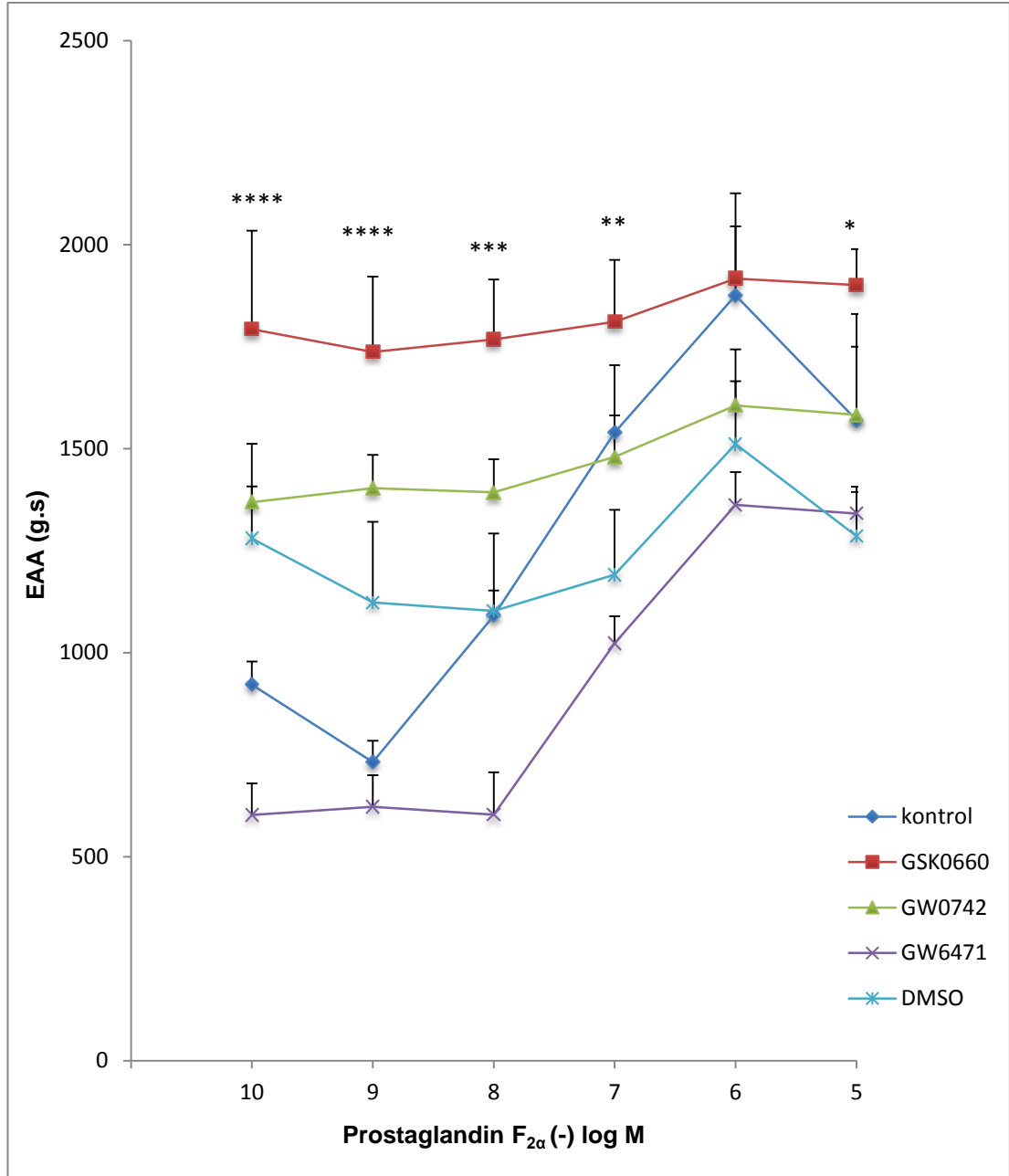
konsantrasyonda GW6471 ile GSK0660, GW0742 ve DMSO arasında (sırasıyla  $P<0.001$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), GSK0660 grubu ile kontrol grubu arasında ( $P<0.05$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-9}$  M konsantrasyonda kontrol ile GSK0660 ve GW0742 (sırasıyla  $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), GW6471 grubu ile GSK0660 ve GW0742 arasında (sırasıyla  $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-8}$  M konsantrasyonda GSK0660 ile kontrol ve GW6471 arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.001$ ) ve GW6471 ile GW0742 arasında ( $P<0.05$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-7}$  M konsantrasyonda GW6471 ve GSK0660 arasında ( $P<0.01$ ),  $\text{PGF}_{2\alpha}$   $10^{-5}$  M konsantrasyonda GSK0660 ve DMSO arasında anlamlılık saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 29).



**Şekil 27.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin F<sub>2α</sub> (10<sup>-10</sup>-10<sup>-5</sup> M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri (g kasılma). Değerler ortalama ± SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=10), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=6). \* P <0.05, \*\* P <0.01, \*\*\* P <0.001.



**Şekil 28.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=6). \* P <0.05, \*\* P <0.01.



**Şekil 29.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları (EAA). Yanıtlar g.s. olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=12), GSK0660 (n=8), GW0742 (n=6), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P <0.05, \*\* P <0.01, \*\*\* P <0.001, \*\*\*\* P <0.0001.

#### 4.5. Tokrisolve Yanıtları

Deney hayvanına GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun i.p. enjeksiyonundan 30 dk sonra elde edilen izole sıçan uterus düz kas preparatlarında 45 dk'lık dengelenme periyodunun ardından TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) konsantrasyon bağımlı yanıtları elde edilmiştir. Kontrol grubunda ise herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) ile konsantrasyon bağımlı yanıtlar elde edilmiştir.

Her tekli doz uygulaması arasında 5 dk arayla 3 yıkama yapılmıştır. TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) uygulaması ile 10 dk'lık periyodlarda izole uterus düz kas preparatlarının spontan kontraksiyonlarının frekansı (kasılma sayısı), minimum gerimleri (g), maksimum gerimleri (g), amplitüdlere (g) ve EAA'ları (g.s.) değerlendirilmiştir.

##### 4.5.1. Frekanslar

Kontrol, GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO gruplarında TS  $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonda kullanıldığında uterus düz kas dokusunun spontan kontraksiyonlarının frekans değerleri üzerine etkisi incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $P>0.05$ ) (Şekil 30).

##### 4.5.2. Minimum Gerimler

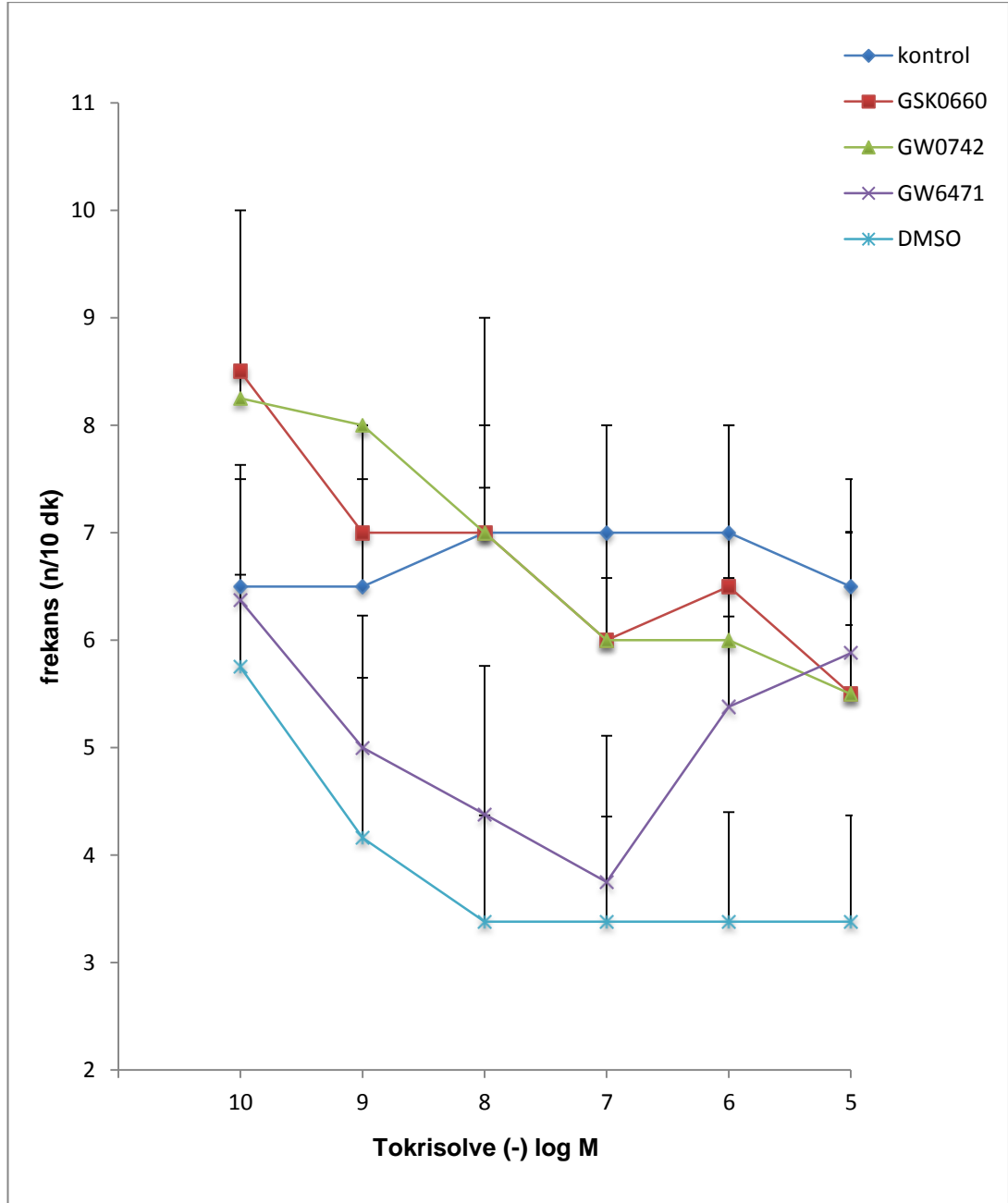
Deney gruplarında organ banyosuna TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) eklenmesinin ardından uterus düz kas dokusunun minimum gerimleri incelendiğinde GSK0660 ve GW0742 gruplarında kontrole göre artmış, GW6471 ve DMSO gruplarında kontrole göre azalmış olduğu ancak istatistiksel olarak anlamlılık sadece TS  $10^{-8}$  M konsantrasyonda GW0742 ve GW6471 arasında saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 31).

##### 4.5.3. Maksimum Gerimler

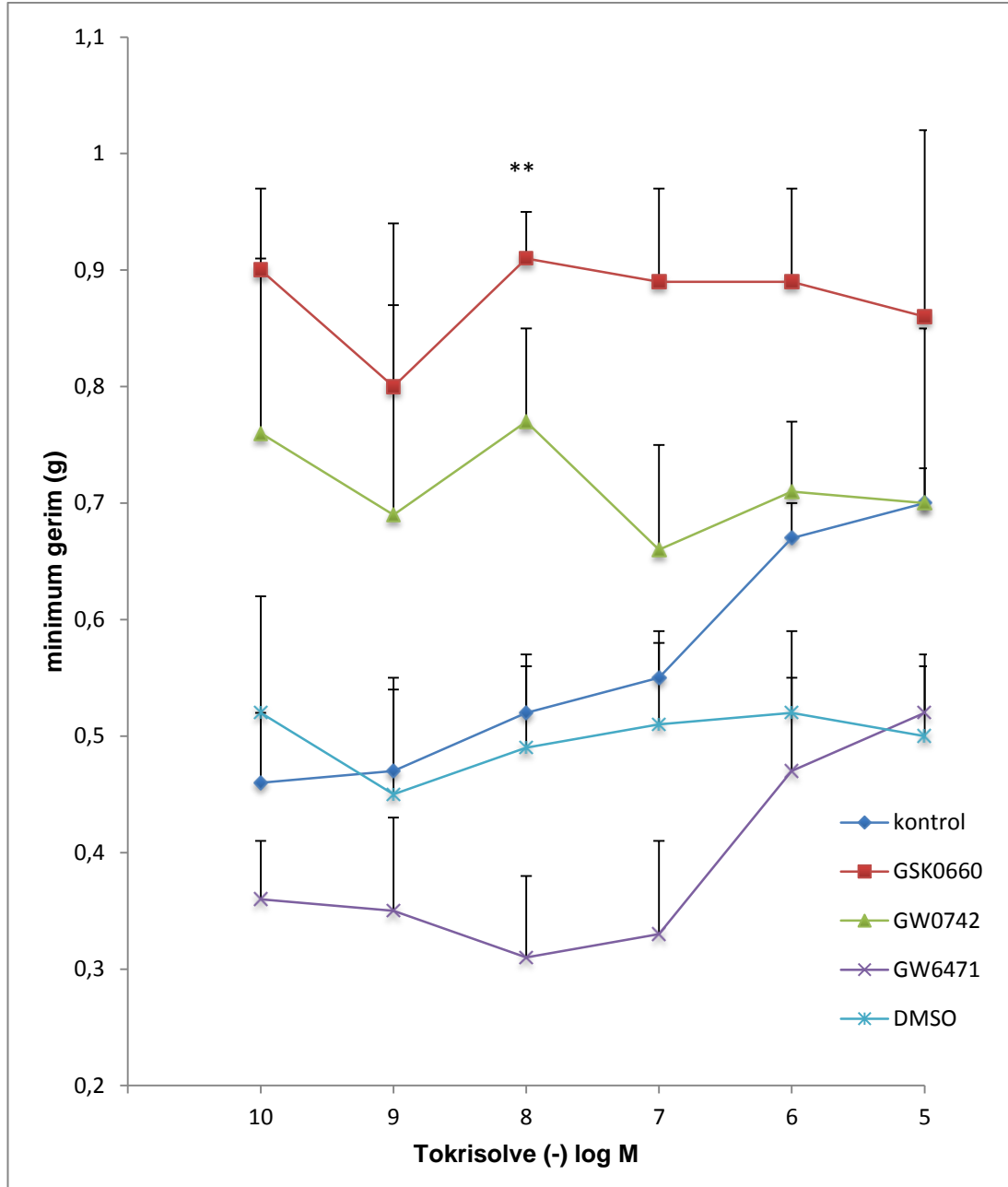
İzole sıçan uterus düz kas dokusunda deney gruplarında TS  $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonda kullanıldığında maksimum gerimler GSK0660



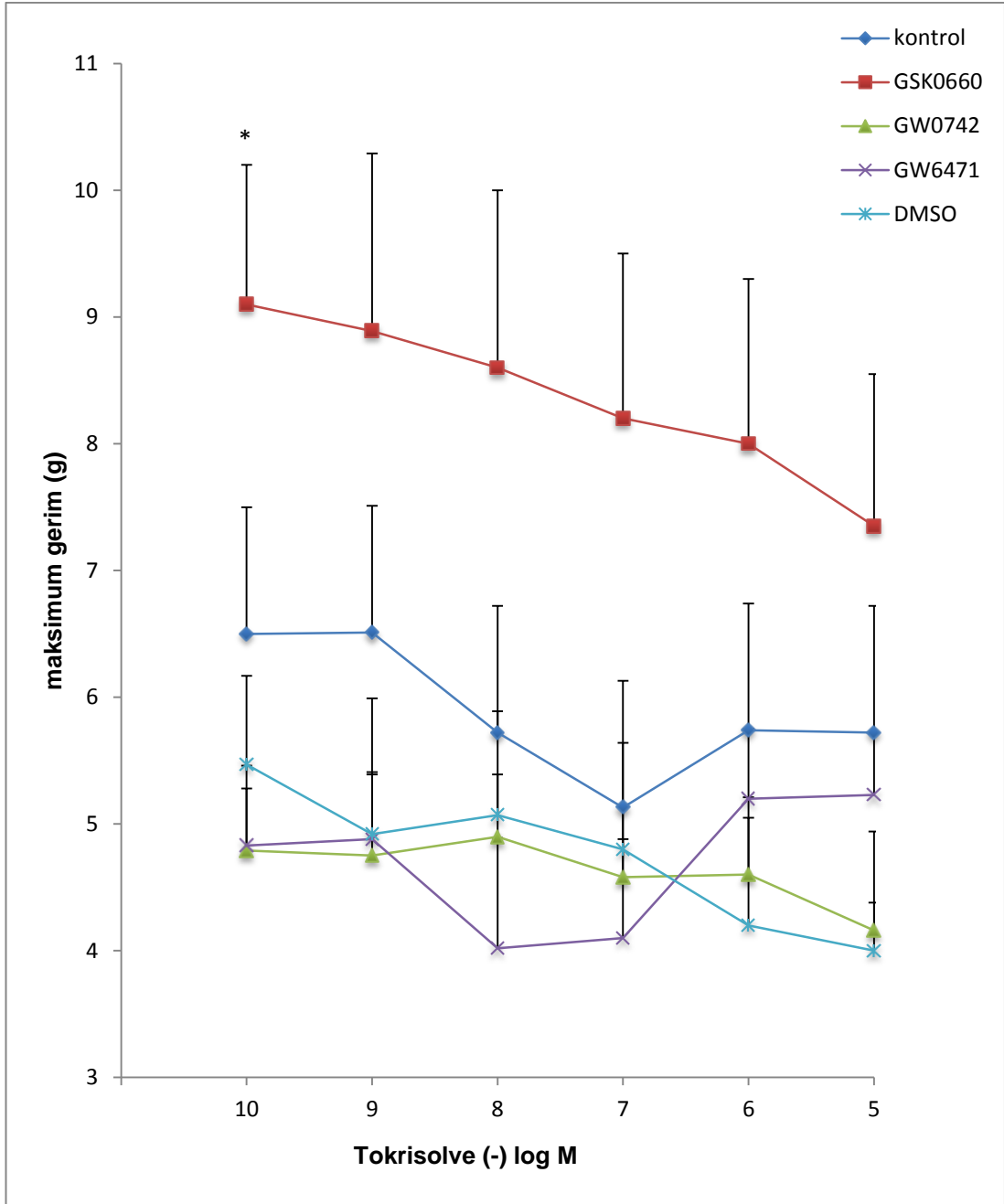
grubunda yüksek olmakla beraber gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 32).



**Şekil 30.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların frekansları. Yanıtlar n/10 dk olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=4), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=8).



**Şekil 31.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların minimum gerimleri. Yanıtlar g kasılma olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=4), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \*\* P <0.01.



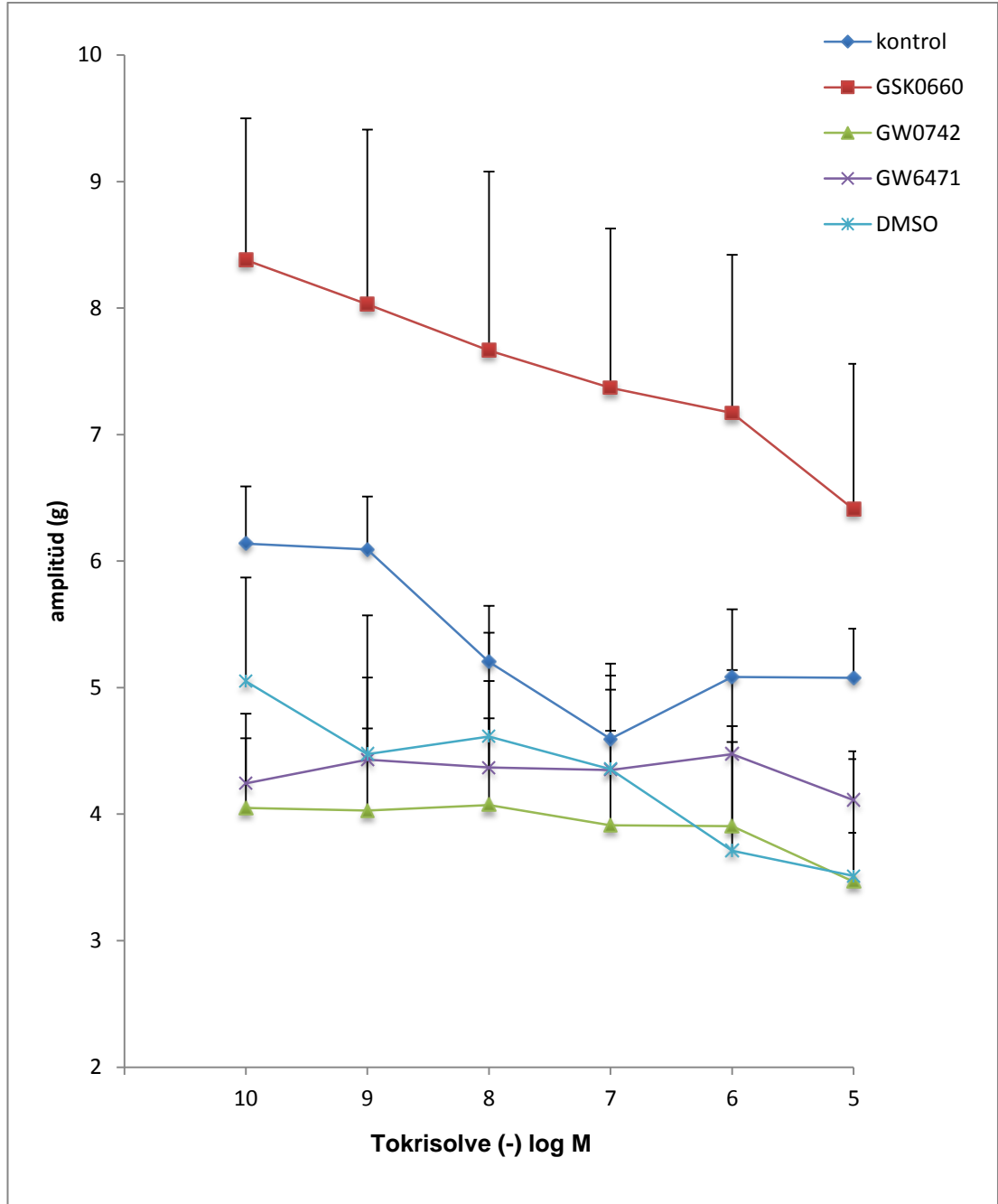
**Şekil 32.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların maksimum gerimleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=4), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* P < 0.05.

#### 4.5.4. Amplitüd Değişikliği

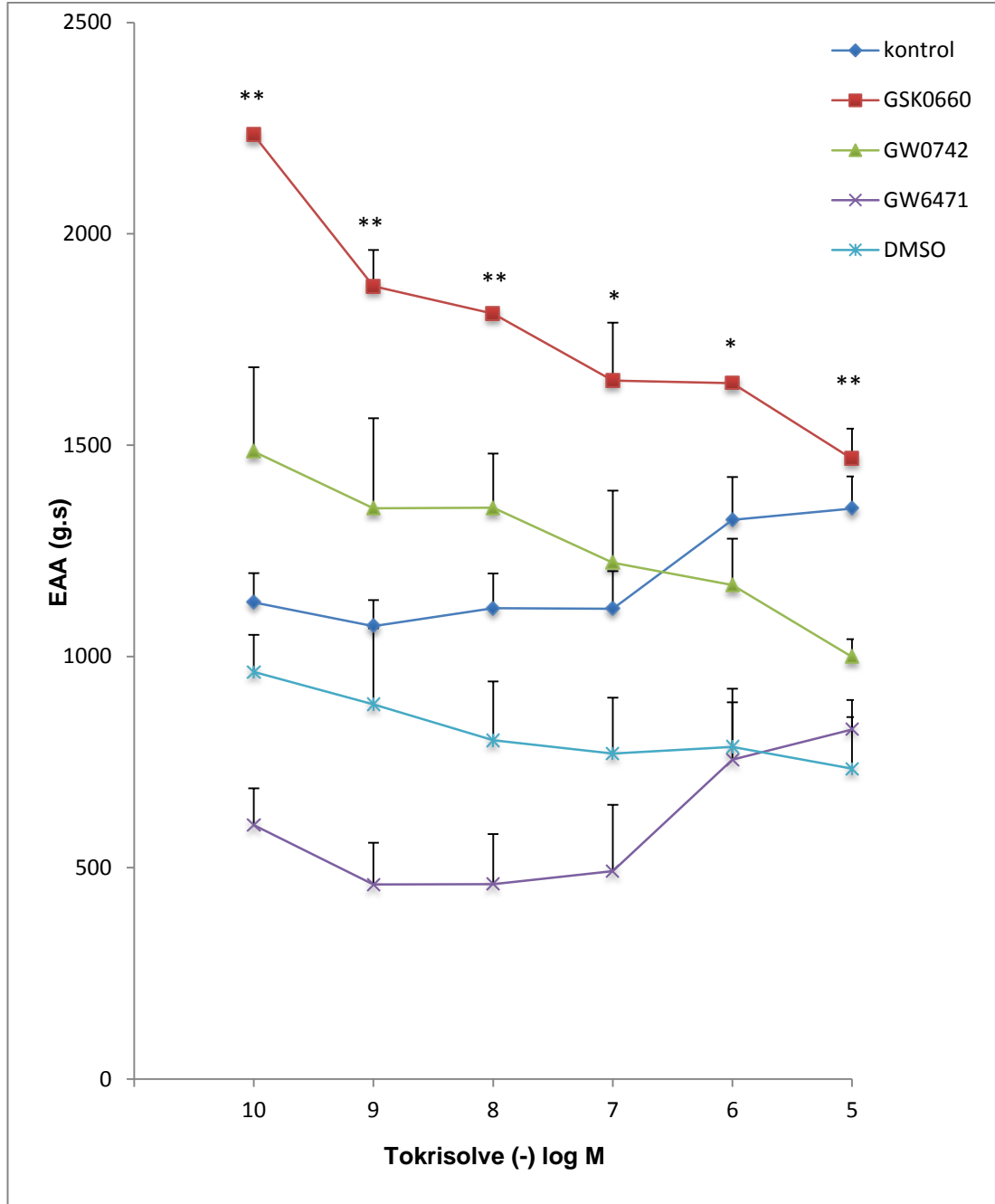
İzole sıçan uterus düz kas dokusunda deney gruplarında TS  $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M konsantrasyonda amplitüdlar istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde değişmemiştir ( $P>0.05$ ) (Şekil 33).

#### 4.5.5. Eğri Altında Kalan Alan

Deney gruplarında organ banyolarına TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) eklenmesinin ardından uterus düz kas dokusunun EAA incelendiğinde gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu tesbit edilmiş, GSK0660 grubunda kontrole göre artmış, GW6471 ve DMSO gruplarında kontrole göre azalmış yanıtlar olduğu görülmüştür. TS ( $10^{-10}$ ,  $10^{-8}$  M) konsantrasyonunda GW6471 ile GSK0660 ve GW0742 arasında (sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ), TS  $10^{-5}$  M konsantrasyonunda ise kontrol ve DMSO arasında anlamlı farklılık saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Şekil 34).



**Şekil 33.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$ M) varlığında 10 dk'lık periyottaki spontan kontraksiyonların amplitüdüleri (g kasılma). Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak verilmiştir. Kontrol (n=4), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=6), DMSO (n=7).



**Şekil 34.** İzole sıçan uterus preparatlarında GSK0660, GW0742, GW6471, DMSO deney gruplarında, Tokrisolve ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) varlığında 10 dk'lık periyottaki kasılma yanıtının konsantrasyon bağımlı eğri altında kalan alanları (EAA). Yanıtlar g.s. olarak verilmiştir. Değerler ortalama  $\pm$  SH olarak belirtilmiştir. Kontrol (n=4), GSK0660 (n=2), GW0742 (n=4), GW6471 (n=8), DMSO (n=8). \* p <0.05, \*\* p <0.01.

## TARTIŞMA

Endokannabinoidler kardiyovasküler, gastrointestinal ve üriner sistem gibi birçok düz kas dokusunda farklı mekanizmalar aracılığı ile kasılma ve gevşeme yanıtı oluşturmaktadır (8-10). CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> kannabinoid reseptörleri yanında, geçici reseptör potansiyeli olan vanilloid tip 1 kanal (TRPV1) reseptörlerini, PPAR'ları ve G proteini ile eşleşmiş reseptörleri aktive ederek etki gösterdiği bildirilmiştir (6).

Endokannabinoidler CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> reseptörleri aracılığı ile gastrointestinal sistem motilitesini azaltıcı etkinin yanısıra CB<sub>1</sub> reseptörlerinin aktivasyonu ile alt özafagus sfinkterinde de gevşeme yanıtı oluşturmaktadırlar (9, 165). Ayrıca endokannabinoidlerin izole fare ileum düz kasının spontan mekanik aktivitesinin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı ve CB<sub>1</sub> reseptörleri aracılı bu etkinin BK<sub>Ca</sub> kanallarını da kapsadığı belirtilmiştir (166). Kardiyovasküler sistemde, AEA aracılı gevşetici etkiye CB<sub>1</sub> reseptörleri yanı sıra (10), TRPV1 reseptörler aktivasyonu ile CGRP saliverilmesi, BK<sub>Ca</sub> kanallarının aktivasyonu, G proteinine bağımlı ve bağımsız NO aracılı mekanizmalar, NOS ve sGMP aktivasyonu, vanilloid reseptör aracılı mekanizmalar ve endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör (EDHF) saliverilmesi de aracılık etmektedir (167-172). AEA tavşan akciğerinde pulmoner arter basıncını arttırmaktadır ve bu etkisine metabolitlerinin aracılık ettiği belirtilmiştir (8). AEA'nin siklooksijenaz metaboliti olan PGE<sub>2</sub> etanolamidin, PG reseptörleri aracılığı ile trakea dokusunda kontraksiyon oluşturduğu rapor edilmiştir (29).

Kannabinoid reseptör agonistlerinden AEA, 2-AG, THK, WIN55212 ve ajulemik asit gibi, bazılarının *in vitro* deneylerle PPAR agonisti olduğu gösterilmiştir. THK ve WIN55212'nin PPAR-γ'yı, rimonabant ve AM251'in ise hem PPAR-γ hem de PPAR-α'yı aktive ettiği belirtilmiştir (22-25).

Genital sistemde doğum süreci üzerinde etkili faktörler arasında AEA'nin yer alıp almadığı pek çok araştırmanın konusu olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda AEA'nin gebeliği engellediği, implantasyon bozukluğuna

neden olduğu ve embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu bildirilmiştir (42).

AEA blastokist ve uterusu eksprese edilmektedir (43). Fare uterusunda 2-AG seviyeleri AEA seviyelerine göre daha yüksek olup, doku dağılım paterni benzerlik göstermektedir. Her ikisi de implantasyon alanlarında düşük seviyelerde iken implantasyon alanlarının arasında daha yüksek seviyelerdedirler (43). AEA'in implantasyon süreci üzerine etkilerine CB<sub>1</sub> reseptörleri aracılık etmektedir. AEA hücrede programlanmış hücre ölümü olan apoptozu indükleyerek, implantasyon için blastokistlerde yetersizliğe neden olmaktadır (44-46). AEA blastokist fonksiyonlarını ve implantasyonu CB<sub>1</sub> reseptörleri aracılığıyla Ca<sup>+2</sup> kanal aktivitesini ve MAPK sinyalini düzenleyerek regüle etmektedir (46).

İnsan myometriyumunda CB<sub>1</sub> ve CB<sub>2</sub> reseptörleri tanımlanmış olup, AEA ve Δ-9-THK'ün OT ile kasılan myometriyal preparatlarda gevşetici etki oluşturduğu gösterilmiştir. Bu gevşetici etkileri spesifik CB<sub>1</sub> reseptör antagonisti, SR141716A ile antagonize edilirken; spesifik CB<sub>2</sub> reseptör antagonisti, SR144528 ile değişmediği gösterilmiştir (39). Ancak endokannabinoidlerin uterus düz kas üzerindeki etkilerinde, PPAR'ların rolü henüz aydınlatılmış değildir.

Bu çalışmamızda daha önce yapılan araştırmalardan yola çıkarak endokannabinoidlerin uterus düz kası üzerindeki etkilerinde PPAR'ların aracılığı ve bu etkide PPAR agonist ve antagonistlerinin rollerini araştırdık.

Uterus düz kas fonksiyonlarında endokannabinoidlerin PPAR aracılı etkilerini belirlemek amacıyla izole sıçan uterus preparatları kullanılarak spontan kontraksiyonlar üzerinde PPAR agonist (GW0742) ve antagonistleri (GW6471 ve GSK0660) deney gruplarında bir endokannabinoid olan AEA ile uterus düz kas dokusunda kontraktıl etkisi olduğu bilinen OT ve PGF<sub>2α</sub> etkileri incelenmiştir.

Sıçan uterus düz kas dokusunda GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO'nun deney hayvanına i.p. enjeksiyonundan 30 dk sonra elde edilen dokularda, agonist konsantrasyon yanıt eğrileri alınmadan önce spontan



kontraksiyonların frekansı, maksimum gerimleri, amplitüdü ve EAA'ı değerlendirilmiştir.

GSK0660, GW0742, GW6471 ve DMSO deney gruplarında agonist uygulamaları öncesi 10 dk'lık periyottaki uterus spontan kontraksiyonlarının frekanslarının PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti GSK0660 ile azalmış olmakla birlikte, kontrol grubuna göre anlamlı olarak değişmediği gözlenmiştir. Bunun yanında GSK0660' nin maksimum gerimi, amplitüdü ve EAA'nı arttırdığı görülmüştür. Oysa PPAR- $\beta/\delta$  agonisti olan GW0742, frekans, maksimum gerim ve amplitüdü değiştirmezken, EAA'da hafif bir artışa neden olmuştur. PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471 ise frekansı hafif arttırırken, amplitüdü ve maksimum gerimi hafif düşürdüğü gözlenmiştir. Bu gruptan elde edilen dokuların EAA'ı ise, tüm gruplardan daha düşük olarak elde edilmiştir. Dolayısı ile herhangi bir agonist uygulaması olmaksızın, izole sıçan uterus dokularından elde edilen spontan kontraksiyonlar üzerine PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti ve PPAR- $\alpha$  antagonisti'nin birbirine zıt etkileri olduğu söylenebilir. PPAR- $\alpha$  agonisti aktif bir fibrat ilacı olan gemfibrozil'in daha önce *in vitro* olarak arter düz kasları üzerinde direkt olarak vazorelaksan etki gösterdiği ve aynı zamanda uterus, duodenum ve mesane gibi dokularda normal olarak görülen spontan ritmik fazlı düz kas kontraksiyonlarını inhibe ettiği gösterilmiştir (173). Bu bulgular bizim verilerimizle tam olarak uyum göstermemektedir; çünkü izole uterus dokusunda PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471'in maksimum gerimi, amplitüdü ve EAA'ı düşürdüğü görülmüştür. Antagonistlerin varlığında elde ettiğimiz verilere göre uterus PPAR- $\beta/\delta$  aracılı tonüs azalırken, PPAR- $\alpha$  aracılı olarak tonüsün arttığı söylenebilir.

İzole sıçan uterus düz kasında AEA ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M)'in spontan kontraksiyonların minimum gerimleri, maksimum gerimleri, amplitüd, frekans ve EAA'ı üzerine olan etkilerini, PPAR- $\beta/\delta$  agonisti olan GW0742, PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti olan GSK0660 ve PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471 ve DMSO'nun varlığında değişip değişmediği araştırıldığında: PPAR- $\beta/\delta$  agonistinin maksimum gerimleri, amplitüdü düşürdüğü, PPAR- $\beta/\delta$  antagonistinin ise arttırdığı görülmüştür. Aynı zamanda GSK0660 deney grubunda EAA'nın, AEA'in düşük konsantrasyonlarında ( $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M) anlamlı olarak arttığı

görülmüştür. PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471 ve DMSO'nun ise anlamlı bir etkisi görülmemiştir.

Deney gruplarında AEA'in çözücüsü olan TS'in spontan kontraksiyonlara olan etkisini incelemek amacıyla TS ( $10^{-10}$ - $10^{-5}$  M) kullanılarak spontan kontraksiyonların minimum gerimleri, maksimum gerimleri, amplitüd, frekans ve EAA'ı değerlendirildi. Deney grupları arasında minimum gerimler, maksimum gerimler, amplitüd, frekans açısından fark yok iken GSK0660 grubunun EAA'ı, AEA yanıtlarında elde edilen verilerle uyumlu olarak, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur.

Hipotalamustan sentezlenip, nörohipofizden salıverilen OT, OTR'leri aracılığı ile myometriyumda etkisini göstermektedir (148). Uterus düz kasında ekstraselüler ya da intraselüler  $Ca^{+2}$  mobilizasyonu ile hücre içi  $Ca^{+2}$  konsantrasyonunu artırarak uterus düz kasını stimüle eder, motilitesini artırır (155, 157, 158). OT'in uterus düz kası üzerinde bu etkilerine PPAR'ların katkısını incelerken PPAR agonist (GW0742) ve antagonistleri (GW6471 ve GSK0660) kullanarak spontan kontraksiyonlar değerlendirilmiştir. PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471 OT'nin ( $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M) konsantrasyonlarında minimum gerimleri ve EAA'ı azaltırken frekans üzerinde arttırıcı etkileri OT'nin ( $10^{-10}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarında tesbit edilmiştir. Bunun yanında PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti olan GSK0660, OT'nin ( $10^{-10}$ - $10^{-7}$  M) konsantrasyonlarında maksimum yanıt ve amplitüdları arttırırken, PPAR- $\beta/\delta$  agonist ve antagonistinin her ikisinin de OT'nin frekans ve EAA üzerine olan etkilerini değiştirmemişlerdir. Dolayısıyla bu yanıtlar bize PPAR- $\beta/\delta$  agonistinin yanıtları değiştirmedigini düşündürürken, PPAR- $\beta/\delta$  antagonistinin sadece maksimum yanıtları ve amplitüdları arttırdığını göstermiştir. PPAR- $\alpha$  antagonisti GW6471 OT'nin yüksek konsantrasyonlarında farklı bir mekanizmanın devreye girmesine neden oluyor olabilir zira minimum ve maksimum yanıtlar yanında amplitüd, frekans ve EAA da OT'nin ( $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M) konsantrasyonlarında artmış olarak elde edilmiştir. Elde ettiğimiz bu veriler OT'nin uterus düz kası üzerine olan etkisinin PPAR- $\alpha$  ağırlıklı bir etki olabileceğini ve doz bağımlı olduğunu düşündürmüştür.

Eikozanoidler biyolojik sistemlerde birçok değişik etkiler gösterirler. Eikozanoidlerden  $PGF_{2\alpha}$  damar yatağında türe ve damar yatağına göre değişen etkiler oluşturur. İnsanlarda ven ve pulmoner arterlerde güçlü vazokonstriktördür (157).

Genel olarak  $PGF_{2\alpha}$  bronş ve trakea kasını kasar. Gebe olmayan insanlarda  $PGF_{2\alpha}$  uterusu kasarken E serisi PG'ler uterusu gevşetir. Gebelerde ise  $PGF_{2\alpha}$  ve düşük konsantrasyonlarda  $PGE_2$  uterusu kasar.  $PGI_2$  ve yüksek konsantrasyonda  $PGE_2$  gevşemeye neden olur.  $PGF_{2\alpha}$  gözde iris sfinkter kasını kasmaına rağmen, uveaskleral ve trabeküler ağıdan aköz hümrün çıkışını artırarak göz içi basıncını düşürür (157).

İnsan myometriyum striplerinde spontan kasılma oluşturmak için  $10^{-5}$  M  $PGF_{2\alpha}$  uygulanmasının depolarizasyona neden olan büyük miktarda intraselüler  $Ca^{+2}$  artışına neden olduğu gösterilmiştir (158).

Deney gruplarında uterus düz kası üzerine PPAR agonist (GW0742) ve antagonistleri (GW6471 ve GSK0660)'nin  $PGF_{2\alpha}$  aracılı spontan kontraksiyonlar üzerine olan etkisini incelendiğinde, PPAR- $\beta/\delta$  antagonisti olan GSK0660 minimum ve maksimum gerimleri, EAA'nı ve amplitüdü özellikle  $PGF_{2\alpha}$ 'in düşük konsantrasyonlarında arttırmıştır. PPAR- $\beta/\delta$  agonisti GW0742 yanıtları değiştirmemiştir. Burada elde ettiğimiz yanıtlar değerlendirildiğinde PPAR- $\beta/\delta$  antagonistin ve PPAR- $\alpha$  antagonisti  $PGF_{2\alpha}$ 'in spontan kontraksiyonlar üzerine olan etkisini birbirine zıt yönde değiştirdikleri söylenebilir.

PPAR- $\alpha$  agonisti aktif bir fibrat ilacı olan gemfibrozil *in vitro* olarak arter düz kasları üzerinde direk olarak vazorelaksan etki göstermekte aynı zamanda uterus, duodenum ve mesane gibi dokularda normal olarak görülen spontan ritmik fazlı düz kas kontraksiyonlarını inhibe etmektedir (173). Daha önceki çalışmalarda troglitazon, pioglitazon ve rosiglitazon gibi tiazolidindionlar diye bilinen antidiyabetik ilaçların da arter düz kasları üzerinde direk olarak vazorelaksan etkisi olduğu gösterilmiştir (174-177). Bizim elde ettiğimiz verilere göre ise uterus düz kas dokusunda PPAR- $\alpha$  antagonisti spontan kontraksiyonları azaltıcı yönde etki göstermiştir.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmanın sonunda elde edilen veriler AEA'nın uterus düz kas dokusundaki yanıtlarına aracılık eden PPAR'ların alt tiplerine göre farklı etkileri olabileceğini ve bu etkilerin agonist konsantrasyonlarına bağımlı olarak değişebileceğini düşündürmüştür.

- AEA'in etkilerine aracılık eden PPAR tiplerinin tesbit edilmesi,
- AEA'in etkilerinde rol alan PPAR'ların etki mekanizmasının aydınlatılması,
- PPAR'ların diğer agonistler ile ilişkilerinin araştırılması,
- Uterus düz kas fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol alan PPAR tiplerinin belirlenebilmesi,

amacıyla PPAR agonist ve antagonistleri ile ileri çalışmalar yapılmasına gerek vardır.

## KAYNAKLAR

1. Ayhan A, Durukan T, Günalp S, Gürgan T, Önderođlu LS, Yaralı H, Yüce K: Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Cumhuriyet M. Kadın Üreme Organları Anatomisi. 2. Baskı. Ankara, 2008. Öncü Basımevi, 3-21.
2. Sultatos LG: Mechanisms of drugs that affect uterine motility. J Nurse Midwifery 1997, 42(4):367-370.
3. Tan TC, Devendra K, Tan LK, Tan HK: Tocolytic treatment for the management of preterm labour: a systematic review. Singapore Med J 2006, 47(5):361-366.
4. Falkay G, Kovacs L: Affinity of tocolytic agents on human placental and myometrial beta-adrenergic receptors. J Perinat Med 1986, 14(2):109-113.
5. Gaoni Y, Mechoulam R: Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of haschish. J Am Chem Soc 1964, 86: 1646–1648.
6. Hiley CR: Endocannabinoids and the heart. J Cardiovasc Pharmacol 2009, 53(4):267-276.
7. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R: Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. Science 1992, 258(5090):1946-1949.
8. Wahn H, Wolf J, Kram F, Frantz S, Wagner JA: The endocannabinoid arachidonyl ethanolamide (anandamide) increases pulmonary arterial pressure via cyclooxygenase-2 products in isolated rabbit lungs. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2005, 289(6): 2491-2496.

9. Izzo AA: Cannabinoids and intestinal motility: welcome to CB2 receptors. *Br J Pharmacol* 2004, 142(8):1201-1202.
10. Lake KD, Compton DR, Varga K, Martin BR, Kunos G: Cannabinoid induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997, 281(3):1030-1037.
11. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI: Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990, 346:561–564.
12. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M: Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993, 365: 61–65.
13. Felder CC, Nielsen A, Briley EM, Palkovits M, Priller J, Axelrod J, Nguyen DN, Richardson JM, Riggan RM, Koppel GA et al: Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett* 1996, 393(2- 3):231-235.
14. Yan Liang, Samantha M. Yeligar, and Lou Ann S. Brown: Exhaled Breath Condensate: A Promising Source for Biomarkers of Lung Disease. *The Scientific World Journal* 2012, Volume 2012: 1-7.
15. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG: International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002, 54:161–202.
16. Hiley CR, Ford WR: Cannabinoid pharmacology in the cardiovascular system: potential protective mechanisms through lipid signalling. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2004, 79: 187–205.

17. Bonz A, Laser M, Kullmer S, Kniesch S, Babin-Ebell J, Popp V, Ertl G, Wagner JA: Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003, 41: 657–664.
18. Bátkai S, Pacher P, Osei-Hyiaman D, Radaeva S, Liu J, Harvey-White J, Offertaler L, Mackie K, Rudd MA, Bukoski RD, Kunos G. Endocannabinoids acting at cannabinoid-1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension. *Circulation* 2004, 110:1996–2002.
19. Pacher P, Batkai S, Osei-Hyiaman D, Offertaler L, Liu J, Harvey-White J, Brassai A, Jarai Z, Cravatt BF, Kunos G: Hemodynamic profile, responsiveness to anandamide, and baroreflex sensitivity of mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Am J Physiol* 2005, 289: 533–541.
20. Ford WR, Honan SA, White R, Hiley CR: Evidence of a novel site mediating anandamide-induced negative inotropic and coronary vasodilator responses in rat isolated hearts. *Br J Pharmacol* 2002, 135:1191–1198.
21. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, Pertwee RG, Griffin G, Bayewitch M, Barg J, Vogel Z: Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995, 50: 83–90.
22. O'Sullivan SE, Tarling EJ, Bennett AJ, Kendall DA, and Randall MD: Novel time-dependent vascular actions of Delta-9-tetrahydrocannabinol mediated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Biochem Biophys Res Commun* 2005, 337: 824–831

23. Giuliano M, Pellerito O, Portanova P, Calvaruso G, Santulli A, De Blasio A, Vento R, and Tesoriere G: Apoptosis induced in HepG2 cells by the synthetic cannabinoid WIN: involvement of the transcription factor PPAR  $\gamma$ . *Biochimie* 2009, 91: 457–465.
24. O'Sullivan SE, Bennett AJ, Kendall DA, and Randall MD: Cannabinoid ligands as activators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR  $\gamma$ ), in 16th Annual Symposium of the Cannabinoids; 2006 Jun 25–28; Budapest, Hungary. p. 59. International Cannabinoid Research Society, Burlington, Vermont.
25. Sun Y, O'Sullivan SE, Alexander SPH, Kendall D, and Bennett A: Both agonists and antagonists of cannabinoid receptors can activate PPAR  $\alpha$ , in 17th Annual Symposium of the Cannabinoids; 2007 Jun 26–Jul 1; St-Sauveur, Canada. p.16. International Cannabinoid Research Society, Burlington, Vermont.
26. Cadas H, Gaillet S, Beltramo M, Venance L, Piomelli D: Biosynthesis of an endogenous cannabinoid precursor in neurons and its control by calcium and cAMP. *J Neurosci* 1996, 16(12):3934-3942.
27. Bisogno T, Sepe N, Melck D, Maurelli S, De Petrocellis L, Di Marzo V: Biosynthesis, release and degradation of the novel endogenous cannabimimetic metabolite 2-arachidonoylglycerol in mouse neuroblastoma cells. *Biochem J* 1997, 322 (2):671-677.
28. Jarrahian A, Hillard CJ: Arachidonylethanolamide (anandamide) binds with low affinity to dihydropyridine binding sites in brain membranes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997, 57(6):551-554.
29. Ross RA, Craib SJ, Stevenson LA, Pertwee RG, Henderson A, Toole J, Ellington HC: Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide. *J Pharmacol Exp Ther* 2002, 301(3):900-907.



30. Yu M, Ives D, Ramesha CS: Synthesis of prostaglandin E2 ethanolamide from anandamide by cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 1997, 272(34):21181-21186.
31. Hampson AJ, Hill WA, Zan-Phillips M, Makriyannis A, Leung E, Eglen RM, Bornheim LM: Anandamide hydroxylation by brain lipoxygenase: metabolite structures and potencies at the cannabinoid receptor. *Biochim Biophys Acta* 1995, 1259(2):173-179.
32. Desarnaud F, Cadas H, Piomelli D: Anandamide amidohydrolase activity in rat brain microsomes. Identification and partial characterization. *J Biol Chem* 1995, 270(11):6030-6035.
33. Lake KD, Compton DR, Varga K, Martin BR, Kunos G: Cannabinoid induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997, 281(3):1030-1037.
34. Pertwee RG: Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 1997, 74(2):129-180.
35. Underdown NJ, Hiley CR, Ford WR: Anandamide reduces infarct size in rat isolated hearts subjected to ischaemia-reperfusion by a novel cannabinoid mechanism. *Br J Pharmacol* 2005, 146(6):809-816.
36. Brown AJ: Novel cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol* 2007, 152(5):567-575.
37. Ryberg E, Larsson N, Sjogren S, Hjorth S, Hermansson NO, Leonova J, Elebring T, Nilsson K, Drmota T, Greasley PJ: The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 2007, 152(7):1092-1101.

38. Johns DG, Behm DJ, Walker DJ, Ao Z, Shapland EM, Daniels DA, Riddick M, Dowell S, Staton PC, Green P et al: The novel endocannabinoid receptor GPR55 is activated by atypical cannabinoids but does not mediate their vasodilator effects. *Br J Pharmacol* 2007, 152(5): 825-831.
39. Denedy MC, Friel AM, Houlihan DD, Broderick VM, Smith T, Morrison JJ: Cannabinoids and the human uterus during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2004, 190(1):2-9.
40. O'Sullivan SE, Kendall DA, Randall MD: Heterogeneity in the mechanisms of vasorelaxation to anandamide in resistance and conduit rat mesenteric arteries. *Br J Pharmacol* 2004, 142(3):435-442.
41. Steffens S, Mach F: Cannabinoid receptors in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2006, 17(5):519-526.
42. MacCarrone M, De Felici M, Bari M, Klinger F, Siracusa G, Finazzi-Agro A: Down-regulation of anandamide hydrolase in mouse uterus by sex hormones. *Eur J Biochem* 2000, 267(10):2991-2997.
43. Wang H, Xie H, Sun X, Kingsley PJ, Marnett LJ, Cravatt BF, Dey SK: Differential regulation of endocannabinoid synthesis and degradation in the uterus during embryo implantation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2007, 83(1-2):62-74.
44. Maccarrone M, Valensise H, Bari M, Lazzarin N, Romanini C, Finazzi-Agro A: Relation between decreased anandamide hydrolase concentrations in human lymphocytes and miscarriage. *Lancet* 2000, 355(9212):1326-1329.

45. Turco MY, Matsukawa K, Czernik M, Gasperi V, Battista N, Della Salda L, Scapolo PA, Loi P, Maccarrone M, Ptak G: High levels of anandamide, an endogenous cannabinoid, block the growth of sheep preimplantation embryos by inducing apoptosis and reversible arrest of cell proliferation. *Hum Reprod* 2008, 23(10):2331-2338.
46. Wang H, Matsumoto H, Guo Y, Paria BC, Roberts RL, Dey SK: Differential G protein-coupled cannabinoid receptor signaling by anandamide directs blastocyst activation for implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003, 100(25):14914-14919.
47. Issemann I and Green S: Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990, 347: 645–650.
48. Marx N, Duez H, Fruchart JC, and Staels B: Peroxisome proliferator activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res* 2004, 94: 1168–1178.
49. Law RE and Hsueh WA: PPAR- $\gamma$  and atherosclerosis: effects on cell growth and movement. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 1891–1895, 2001.
50. Diep QN, Amiri F, Touyz RM, Cohn JS, Endemann D, and Schiffrin EL: PPAR- $\alpha$  activator effects on ANG II-induced vascular oxidative stress and inflammation. *Hypertension* 2002, 40: 866–871.
51. Tao L, Liu HR, Gao E, Teng ZP, Lopez BL, Christopher TA, Ma XL, Batinic-Haberle I, Willette RN, Ohlstein EH, and Yue TL: Antioxidative, antinitrative, and vasculoprotective effects of a peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonist in hypercholesterolemia. *Circulation* 2003, 108: 2805–2811.
52. Delerive P, Fruchart C, and Staels B: Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. *J Endocrinol* 2001, 169: 453–459.

53. Desvergne B and Wahli W: Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 1999, 20: 649–688.
54. Braissant O, Fougère F, Scotto C, Dauca M, and Wahli W: Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- $\alpha$ , - $\beta$ , and - $\gamma$  in the adult rat. *Endocrinology* 1996, 137: 354–366.
55. Kliewer SA, Forman BM, Blumberg B, Ong ES, Borgmeyer U, Mangelsdorf DJ, Umesono K, and Evans RM: Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. *Proc Natl Acad Sci* 1994, 91: 7355–7359.
56. Chawla A, Lee CH, Barak Y, He W, Rosenfeld J, Liao D, Han J, Kang H, and Evans RM: PPAR- $\gamma$  is a very low-density lipoprotein sensor in macrophages. *Proc Natl Acad Sci* 2003, 100: 1268–1273.
57. Gilde AJ, van der Lee KAJM, Willemsen PHM, Chinetti G, van der Leij FR, van der Vusse GJ, Staels B, and van Bilsen M: Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- $\alpha$  and PPAR- $\beta/\delta$ , but not PPAR- $\gamma$ , modulate the expression of genes involved in cardiac lipid metabolism. *Circ Res* 2003, 92: 518–524.
58. Tontonoz P, Hu E, and Spiegelman BM: Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994, 79: 1147–1156.
59. Ernesto L. Schiffrin: Peroxisome proliferator-activated receptors and cardiovascular remodeling *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005, 288: 1037–1043.
60. Mandard S, Patsouris D: Nuclear control of the inflammatory response in mammals by peroxisome proliferator-activated receptors. *PPAR Research* 2013, Volume 2013: 1-23.

61. Ijpenberg A, Jeannin E, Wahli W, and Desvergne B: Polarity and specific sequence requirements of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)/retinoid X receptor heterodimer binding to DNA. A functional analysis of the malic enzyme gene PPAR response element. *J Biol Chem* 1997, 272: 20108–20117.
62. Satoru Matsuda, Mayumi Kobayashi, and Yasuko Kitagishi: Expression and Function of PPARs in Placenta. *PPAR Research Volume 2013*, 1-7 .
63. Llopis J, Westin S, Ricote M, Wang Z, Cho CY, Kurokawa R, Mullen TM, Rose DW, Rosenfeld MG, Tsien RY, Glass CK and Wang J: Ligand-dependent interactions of coactivators steroid receptor coactivator- 1 and peroxisome proliferator-activated receptor binding protein with nuclear hormone receptors can be imaged in live cells and are required for transcription. *Proc Natl Acad Sci* 2000, 97: 4363–4368.
64. Ernesto L. Schiffrin: Peroxisome proliferator-activated receptors and cardiovascular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004, 288:1037-1043.
65. Gervois P, Fruchart JC, Staels B: Drug Insight: mechanisms of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator activatedreceptors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007, 3: 145–156.
66. Bishop-Bailey D: Peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system. *Br J Pharmacol* 129: 823–834, 2000.
67. Inoue I, Shino K, Noji S, Awata T, and Katayama S: Expression of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  (PPAR  $\alpha$ ) in primary cultures of human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998, 246: 370–374.

68. Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Torra IP, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, and Tedgui A: Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR  $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Nature* 1998, 393: 790–793.
69. Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Torra IP, Delerive P, Majd Z, Fruchart JC, Chapman J, Najib J, and Staels B: Activation of proliferator-activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocyte derived macrophages. *J Biol Chem* 1998, 273: 25573–25580.
70. Diep QN, Intengan HD, and Schiffrin EL: Endothelin-1 attenuates  $\omega$ -3 fatty acid-induced apoptosis by inhibition of caspase 3. *Hypertension* 2000, 35: 287–291.
71. Diep QN, Touyz RM, and Schiffrin EL: Docosahexaenoic acid, a peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activator, induces apoptosis in vascular smooth muscle cells by activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *Hypertension* 2000, 36: 851–855.
72. Marx N, Sukhova GK, Collins T, Libby P, and Plutzky J: PPAR  $\alpha$  activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *Circulation* 1999, 99: 3125–3131.
73. Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters JM, Gonzalez FJ, Fruchart JC, Tedgui A, Haegeman G, and Staels B: Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1. *J. Biol Chem* 1999, 274: 32048–32054.

74. Goya K, Sumitani S, Xu X, Kitamura T, Yamamoto H, Kurebayashi S, Saito H, Kouhara H, Kasayama S, and Kawase I: Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonists increase nitric oxide synthase expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004, 24: 658–663.
75. Silvana Gaetani, Jin Fu, Tommaso Cassano, Pasqua Dipasquale, Adele Romano, Laura Righetti, Silvia Cianci, Leonardo Laconca, Elisa Giannini, Sergio Scaccianoce, Jérôme Mairesse, Vincenzo Cuomo and Daniele Piomelli: The Fat-Induced Satiety Factor Oleoylethanolamide Suppresses Feeding through Central Release of Oxytocin. *The Journal of Neuroscience* 2010 , 30(24):8096–8101.
76. Milton Hamblin, Lin Chang, Yanbo Fan, Jifeng Zhang, and Y. Eugene Chen: PPARs and the Cardiovascular System Antioxid. Redox Signal 2009, 11: 1415–1452.
77. Diep QN and Schiffrin EL: Increased expression of peroxisome proliferator- activated receptor- $\alpha$  and - $\gamma$  in blood vessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2001, 38: 249–254.
78. Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, and Freed MI: Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2002, 106: 679–684.
79. Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, and Glass CK: The peroxisome proliferator-activated receptor-  $\gamma$  is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 1998, 391: 79–82.
80. Law RE, Goetze S, Xi XP, Jackson S, Kawano Y, Demer L, Fishbein MC, Meehan WP, and Hsueh WA: Expression and function of PPAR  $\gamma$  in rat and human vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2000, 101: 1311–1318.

81. Jiang C, Ting AT, and Seed B: PPAR-  $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 1998, 391: 82–86.
82. Ricote M, Huang JT, Welch JS, and Glass CK: The peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) as a regulator of monocyte/macrophage function. *J Leukoc Biol* 1999, 66: 733–739.
83. Diep QN, El Mabrouk M, Cohn JS, Endemann D, Amiri F, Virdis A, Neves MF, and Schiffrin EL: Structure, endothelial function, cell growth, and inflammation in blood vessels of angiotensin II-infused rats: role of peroxisome proliferator-activated receptor-  $\gamma$ . *Circulation* 2002, 105: 2296– 2302.
84. Calnek DS, Mazzella L, Roser S, Roman J, and Hart CM: Peroxisome proliferator activated receptor-  $\gamma$  ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23: 52–57.
85. Barak Y, Liao D, He W, Ong ES, Nelson MC, Olefsky JM, Boland R, and Evans RM: Effects of peroxisome proliferator-activated receptor delta on placentation, adiposity, and colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2002, 99: 303–308.
86. Peters JM, Lee SS, Li W, Ward JM, Gavrilova O, Everett C, Reitman ML, Hudson LD, and Gonzalez FJ: Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta(delta). *Mol Cell Biol* 2000, 20: 5119–5128.
87. Tan NS, Michalik L, Noy N, Yasmin R, Pacot C, Heim M, Fluhmann B, Desvergne B, and Wahli W: Critical roles of PPAR beta/delta in keratinocyte response to inflammation. *Genes Dev* 2001, 15: 3263–3277.



88. Komar CM, Braissant O, Wahli W & Curry TE: Expression and localization of PPARs in the rat ovary during follicular development and the periovulatory period. *Endocrinology* 2001,142:4831–4838.
89. Froment P, Fabre S, Dupont J, Pisselet C, Chesneau D, Staels B & Monget P: Expression and functional role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in ovarian folliculogenesis in the sheep. *Biology of Reproduction* 2003, 69: 1665–1674.
90. Mouihate A, Boisse L & Pittman QJ: A novel antipyretic action of 15-deoxy-delta<sup>12,14</sup>-prostaglandin J<sub>2</sub> in the rat brain. *Journal of Neuroscience* 2004, 24:1312–1308.
91. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM & Kliewer SA: An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *Journal of Biological Chemistry* 1995, 270:12953–12956
92. Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z & Giudice LC: The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrine Reviews* 1999,20:535–582.
93. Froment P, Holzenberger M & Monget P: Insuline, métabolisme énergétique et fertilité. *Médecine sciences* 2001,17: 817–818.
94. Bruning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Muller-Wieland D & Kahn CR: Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 2000, 289: 2122–2125.
95. Burks DJ, Font de Mora J, Schubert M, Withers DJ, Myers MG, Towery HH, Altamuro SL, Flint CL & White MF: IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature* 2000,407:377–382.

96. Desvergne B & Wahli W: Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocrine Reviews* 1999, 20:649–688.
97. Heaney AP, Fernando M & Melmed S: PPAR-gamma receptor ligands: novel therapy for pituitary adenomas. *Journal of Clinical Investigation* 2003, 111:1381–1388.
98. Braissant O, Fougelle F, Scotto C, Dauca M & Wahli W: Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology* 1996, 137: 354–366
99. Elbrecht A, Chen Y, Cullinan CA, Hayes N, Leibowitz M, Moller DE & Berger J: Molecular cloning, expression and characterization of human peroxisome proliferator activated receptors gamma 1 and gamma 2. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1996, 224:431–437.
100. Bhattacharya N, Dufour JM, Vo MN, Okita J, Okita R & Kim KH: Differential effects of phthalates on the testis and the liver. *Biology of Reproduction* 2005, 72 : 745–754.
101. Schultz R, Yan W, Toppari J, Volkl A, Gustafsson JA & Peltö-Huikko M: Expression of peroxisome proliferator-activated receptor alpha messenger ribonucleic acid and protein in human and rat testis. *Endocrinology* 1999, 140:2968–2975.
102. Corton JC & Lapinskas PJ: Peroxisome proliferator-activated receptors: mediators of phthalate ester-induced effects in the male reproductive tract? *Toxicological Sciences* 2005, 83:4–17.

103. Lee SS, Pineau T, Drago J, Lee EJ, Owens JW, Kroetz DL, Fernandez-Salguero PM, Westphal H & Gonzalez FJ: Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Molecular and Cellular Biology* 1995,15: 3012–3022.
104. Peters JM, Lee SS, Li W, Ward JM, Gavrilova O, Everett C, Reitman ML, Hudson LD & Gonzalez FJ: Growth, adipose, brain, and skin alterations resulting from targeted disruption of the mouse peroxisome proliferator-activated receptor beta(delta). *Molecular and Cellular Biology* 2000, 20:5119–5128.
105. Douard V, Hermier D, Magistrini M & Blesbois E: Reproductive period affects lipid composition and quality of fresh and stored spermatozoa in turkeys. *Theriogenology* 2003, 59:753–764.
106. Lee SS, Pineau T, Drago J, Lee EJ, Owens JW, Kroetz DL, Fernandez-Salguero PM, Westphal H & Gonzalez FJ: Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Molecular and Cellular Biology* 1995,15: 3012–3022.
107. Barak Y, Liao D, He W, Ong ES, Nelson MC, Olefsky JM, Boland R & Evans RM: Effects of peroxisome proliferator-activated receptor delta on placentation, adiposity, and colorectal cancer. *PNAS* 2002, 99: 303–308
108. Gasic S, Bodenbun Y, Nagamani M, Green A & Urban RJ: Troglitazone inhibits progesterone production in porcine granulosa cells. *Endocrinology* 1998,139:4962–4966.
109. Komar CM, Braissant O, Wahli W & Curry TE: Expression and localization of PPARs in the rat ovary during follicular development and the periovulatory period. *Endocrinology* 2001,142: 4831–4838.

110. Froment P, Fabre S, Dupont J, Pisselet C, Chesneau D, Staels B & Monget P: Expression and functional role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in ovarian folliculogenesis in the sheep. *Biology of Reproduction* 2003, 69:1665–1674.
111. Lohrke B, Viergutz T, Shahi SK, Pohland R, Wollenhaupt K, Goldammer T, Walzel H & Kanitz W: Detection and functional characterisation of the transcription factor peroxisome proliferator-activated receptor gamma in lutein cells. *Journal of Endocrinology* 1998,159: 429–439.
112. Schoppee PD, Garmey JC & Veldhuis JD: Putative activation of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma impairs androgen and enhances progesterone biosynthesis in primary cultures of porcine theca cells. *Biology of Reproduction* 2002,66:190–198.
113. Viergutz T, Loehrke B, Poehland R, Becker F & Kanitz W: Relationship between different stages of the corpus luteum and the expression of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma protein in bovine large lutein cells. *Journal of Reproduction and Fertility* 2000, 118: 153–161.
114. Cui Y, Miyoshi K, Claudio E, Siebenlist UK, Gonzalez FJ, Flaws J, Wagner KU & Hennighausen L: Loss of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma (PPARgamma) does not affect mammary development and propensity for tumor formation but leads to reduced fertility. *Journal of Biological Chemistry* 2002,277:17830–17835
115. P Froment, F Gizard, D Defever, B Staels, J Dupont and P Monget: Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: from gametogenesis to parturition. *Journal of Endocrinology* 2006, 189: 199–209.

116. La Marca A, Egbe TO, Morgante G, Paglia T, Cianci A & De Leo V: Metformin treatment reduces ovarian cytochrome P-450c17 alpha response to human chorionic gonadotrophin in women with insulin resistance-related polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction* 2000,15: 21–23.
117. Holte J, Bergh T, Berne C & Lithell H: Serum lipoprotein lipid profile in women with the polycystic ovary syndrome: relation to anthropometric, endocrine and metabolic variables. *Clinical Endocrinology* 1994, 41: 463–471.
118. Brettenthaler N, De Geyter C, Huber PR & Keller U: Effect of the insulin sensitizer pioglitazone on insulin resistance, hyperandrogenism, and ovulatory dysfunction in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004, 89: 3835–3840.
119. Berry EB, Eykholt R, Helliwell RJ, Gilmour RS, Mitchell MD & Marvin KW: Peroxisome proliferator-activated receptor isoform expression changes in human gestational tissues with labor at term. *Molecular Pharmacology* 2003, 64:1586–1590.
120. Lim H & Dey SK: PPAR delta functions as a prostacyclin receptor in blastocyst implantation. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2000,11:137–142.
121. Hirata Y, Hayashi H, Ito S, Kikawa Y, Ishibashi M, Sudo M, Miyazaki H, Fukushima M, Narumiya S & Hayaishi O: Occurrence of 9-deoxy-delta 9,delta 12–13,14-dihydroprostaglandin D2 in human urine. *Journal of Biological Chemistry* 1988,263:16619–16625.
122. Li Q, Cheon YP, Kannan A, Shanker S, Bagchi IC & Bagchi MK: A novel pathway involving progesterone receptor, 12/15-lipoxygenase-derived eicosanoids, and peroxisome proliferator-activated receptor gamma regulates implantation in mice. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279 :11570–11581.

123. Asami-Miyagishi R, Iseki S, Usui M, Uchida K, Kubo H & Morita I: Expression and function of PPARgamma in rat placental development. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004, 315: 497–501.
124. Subbaramaiah K, Lin DT, Hart JC & Dannenberg AJ: Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands suppress the transcriptional activation of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of activator protein-1 and CREB-binding protein/p300. *Journal of Biological Chemistry* 2001,276:12440–12444
125. I. Bogacka, M. Bogacki, M. Gaglewska, A. Kurzynska, M. Wasielek: In vitro effect of peroxisome proliferator activated receptor (ppar) ligands on prostaglandin E2 synthesis and secretion by porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Journal of physiology and pharmacology* 2013, 64(1): 47-54.
126. SE O'Sullivan: Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *British Journal of Pharmacology* 2007, 152: 576–582
127. Kozak KR, Crews BC, Morrow JD, Wang LH, Ma YH, Weinander R et al: 15-Lipoxygenase metabolism of 2-arachidonylglycerol. Generation of a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist. *J Biol Chem* 2002, 277: 23278–23286.
128. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodriguez De Fonseca F et al: Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature* 2003, 425: 90–93.
129. Sun Y, Alexander SP, Kendall DA, Bennett AJ: Cannabinoids and PPAR alpha signalling. *Biochem Soc Trans* 2006, 34: 1095–1097.

130. Guzman M, Lo Verme J, Fu J, Oveisi F, Blazquez C, Piomelli D: Oleoylethanolamide stimulates lipolysis by activating the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR alpha). *J Biol Chem* 2004,279: 27849–27854
131. Lo Verme J, Fu J, Astarita G, La Rana G, Russo R, Calignano A et al: The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor-alpha mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. *Mol Pharmacol* 2005, 67: 15–19.
132. Liu J, Li H, Burstein SH, Zurier RB, Chen JD: Activation and binding of peroxisome proliferator-activated receptor gamma by synthetic cannabinoid ajulemic acid. *Mol Pharmacol* 2003,63: 983–992.
133. Mueller E, Drori S, Aiyer A, Yie J, Sarraf P, Chen H et al: Genetic analysis of adipogenesis through peroxisome proliferator-activated receptor gamma isoforms. *J Biol Chem* 2002, 277: 41925–41930.
134. Rockwell CE, Kaminski NE: A cyclooxygenase metabolite of anandamide causes inhibition of interleukin-2 secretion in murine splenocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2004, 311: 683–690.
135. Bouaboula M, Hilairat S, Marchand J, Fajas L, Le Fur G, Casellas P: Anandamide induced PPARgamma transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Eur J Pharmacol* 2005, 517: 174–181.
136. Gasperi V, Fezza F, Pasquariello N, Bari M, Oddi S, Agro AF et al: Endocannabinoids in adipocytes during differentiation and their role in glucose uptake. *Cell Mol Life Sci* 2007, 64: 219–229.
137. Matias I, Gonthier MP, Orlando P, Martiadis V, De Petrocellis L, Cervino C et al: Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2006, 91: 3171–3180

138. O'Sullivan SE, Kendall DA, Randall MD: Further characterization of the time-dependent vascular effects of delta-9-tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther* 2006, 317: 428–438.
139. Barish GD, Narkar VA, Evans RM: PPAR delta: a dagger in the heart of the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006,116: 590–597.
140. Kayaalp SO: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Kayaalp SO. Oksitosik ilaçlar.12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık LTD ŞTİ, Ağustos 2009: 1227-1234
141. Gimpl G, Fahrenholz F: The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol Rev* 2001, 81(2):629-683.
142. Fuchs AR, Fuchs F, Husslein P, Soloff MS, Fernstrom MJ: Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labor. *Science* 1982, 215(4538):1396-1398.
143. Wathes DC, Borwick SC, Timmons PM, Leung ST, Thornton S: Oxytocin receptor expression in human term and preterm gestational tissues prior to and following the onset of labour. *J Endocrinol* 1999, 161(1):143-151.
144. Murata T, Narita K, Honda K, Matsukawa S, Higuchi T: Differential regulation of estrogen receptor alpha and beta mRNAs in the rat uterus during pregnancy and labor: possible involvement of estrogen receptors in oxytocin receptor regulation. *Endocr J* 2003, 50(5):579-587.
145. Murata T, Murata E, Liu CX, Narita K, Honda K, Higuchi T: Oxytocin receptor gene expression in rat uterus: regulation by ovarian steroids. *JEndocrinol* 2000, 166(1):45 52.



146. Richter ON, Kubler K, Schmolling J, Kupka M, Reinsberg J, Ulrich U, van der Ven H, Wardelmann E, van der Ven K: Oxytocin receptor gene expression of estrogen-stimulated human myometrium in extracorporeally perfused non-pregnant uteri. *Mol Hum Reprod* 2004, 10(5):339-346.
147. Ivell R, Russell JA: Oxytocin: cellular and molecular approaches in medicine and research. *Rev Reprod* 1996, 1(1):13-18.
148. Sanborn BM, Yue C, Wang W, Dodge KL: G protein signalling pathways in myometrium: affecting the balance between contraction and relaxation. *Rev Reprod* 1998, 3(3):196-205.
149. Park ES, Won JH, Han KJ, Suh PG, Ryu SH, Lee HS, Yun HY, Kwon NS, Baek KJ: Phospholipase C-delta1 and oxytocin receptor signalling: evidence of its role as an effector. *Biochem J* 1998, 331 (1):283-289.
150. Morrison JJ, Dearn SR, Smith SK, Ahmed A: Activation of protein kinase C is required for oxytocin-induced contractility in human pregnant myometrium. *Hum Reprod* 1996, 11(10):2285-2290.
151. Burns PD, Mendes JO, Jr., Yemm RS, Clay CM, Nelson SE, Hayes SH, Silvia WJ: Cellular mechanisms by which oxytocin mediates ovine endometrial prostaglandin F2alpha synthesis: role of G(i) proteins and mitogen-activated protein kinases. *Biol Reprod* 2001, 65(4):1150-1155.
152. Tahara A, Tsukada J, Tomura Y, Wada K, Kusayama T, Ishii N, Yatsu T, Uchida W, Tanaka A: Pharmacologic characterization of the oxytocin receptor in human uterine smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2000, 129(1):131-139.
153. Anwer K, Sanborn BM: Changes in intracellular free calcium in isolated myometrial cells: role of extracellular and intracellular calcium and possible involvement of guanine nucleotide-sensitive proteins. *Endocrinology* 1989, 124(1):17-23.

154. Tan TC, Devendra K, Tan LK, Tan HK: Tocolytic treatment for the management of preterm labour: a systematic review. *Singapore Med J* 2006, 47(5):361-366.
155. Trevor A.J, Katsung B.G, Masters S.B: Lange Katsung&Trevor Farmakoloji. Prostaglandinler ve Diğer Eikozanoidler. 6. Baskı İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2005:174-180
156. Erb-Downward JR, Noggle RM, Williamson PR, Huffnagle GB: The role of laccase in prostaglandin production by *Cryptococcus neoformans* *Mol Microbiol* 2008, 68(6):1428-37.
157. Laurence L.Brunton, John S. Lazo, Keith L.Parker: Goodman&Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli. Lipid Kökenli Otakoidler: Eikozanoidler ve Trombosit Aktive Edici Faktör. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd Şti, 2009:653-670
158. Parkington HC, Tonta MA, Davies NK et al: Hyperpolarization and slowing of the rate of contraction in human uterus in pregnancy by prostaglandins E2 and f2alpha: involvement of the Na<sup>+</sup> pump. *J Physiol* 1999, 514: 229–243.
159. Carrasco MP, Phaneuf S, Asboth G et al: Fluprostenol activates phospholipase C and Ca<sup>2+</sup> mobilization in human myometrial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, 81: 2104–2110.
160. Molnar M & Hertelendy F: Regulation of intracellular free calcium in human myometrial cells by prostaglandin F2 alpha: comparison with oxytocin. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 71: 1243–1250.
161. Schrey MP, Cornford PA, Read AM et al: A role for phosphoinositide hydrolysis in human uterine smooth muscle during parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1988, 159: 964–970.

162. Abramovitz M, Boie Y, Nguyen Tet al: Cloning and expression of a cDNA for the human prostanoid FP receptor. *J Biol Chem* 1994, 269: 2632–2636.
163. Woodcock NA, Taylor CW & Thornton S: Prostaglandin F<sub>2</sub>alpha increases the sensitivity of the contractile proteins to Ca<sup>2+</sup> in human myometrium. *Am J Obstet Gynecol* 2006, 195: 1404–1406.
164. Neerupma Silswal, Nikhil K. Parelkar, Michael J. Wacker, Mostafa Badr, and Jon Andresen: PPAR $\alpha$ -Independent Arterial Smooth Muscle Relaxant Effects of PPAR $\alpha$  Agonists. *PPAR Research* 2012, Volume 2012:1-10.
165. Di Marzo V, Izzo AA: Endocannabinoid overactivity and intestinal inflammation. *Gut* 2006, 55(10):1373-1376.
166. Baldassano S, Serio R, Mule F: Cannabinoid CB(1) receptor activation modulates spontaneous contractile activity in mouse ileal longitudinal muscle. *Eur J Pharmacol* 2008, 582(1-3):132-138.
167. Akerman S, Kaube H, Goadsby PJ: Anandamide acts as a vasodilator of dural blood vessels in vivo by activating TRPV1 receptors. *Br J Pharmacol* 2004, 142(8):1354-1360.
168. White R, Ho WS, Bottrill FE, Ford WR, Hiley CR: Mechanisms of anandamide-induced vasorelaxation in rat isolated coronary arteries. *Br J Pharmacol* 2001, 134(4): 921-929.
169. Mukhopadhyay S, Chapnick BM, Howlett AC: Anandamide-induced vasorelaxation in rabbit aortic rings has two components: G protein dependent and independent. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002, 282(6): 2046-2054.

170. McCollum L, Howlett AC, Mukhopadhyay S: Anandamide-mediated CB1/CB2 cannabinoid receptor--independent nitric oxide production in rabbit aortic endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2007, 321(3): 930-937.
171. Romano MR, Lograno MD: Cannabinoid agonists induce relaxation in the bovine ophthalmic artery: evidences for CB1 receptors, nitric oxide and potassium channels. *Br J Pharmacol* 2006, 147(8):917-925.
172. O'Sullivan SE, Kendall DA, Randall MD: Heterogeneity in the mechanisms of vasorelaxation to anandamide in resistance and conduit rat mesenteric arteries. *Br J Pharmacol* 2004, 142(3):435-442.
173. Laura E. Phelps, Jacop D.Peuler: Evidence of direct smooth muscle relaxant effects of the fibrate gemfibrozil. *J. Smooth Muscle Res* 2010, 46 (3): 125-142.
174. Peuler, J.D., Miller, J.A., Bourghli, M., Zammam, H.Y., Soltis, E.E. and Sowers, J.R: Disparate effects of antidiabetic drugs on arterial contraction. *Metabolism* 1997, 46: 1199–1205.
175. Ali S.S., Igwe R.C., Walsh M.F. and Sowers J.R: Troglitazone and vascular reactivity: role of glucose and calcium. *Metabolism* 1999, 48: 125–130.
176. Peuler, J.D. and Phelps, L.E: Attenuating effects of sildenafil on vasorelaxant properties of oral antidiabetic agents. *Pharmacologist* 2004, 46: 95.
177. Peuler, J.D., Warfield, R.K. and Phelps, L.E: Attenuation by 4-aminopyridine of delayed vasorelaxation by troglitazone. *Metabolism* 2004, 53: 147–152.