

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



SIÇANLARDA AGOMELATİN
UYGULAMASININ UTERUS
KONTRAKSİYONLARI VE GEBELİK
SÜRESİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fatih TAN

2018

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

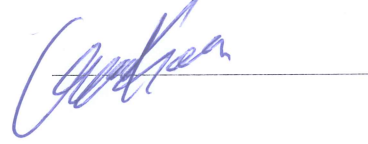


Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

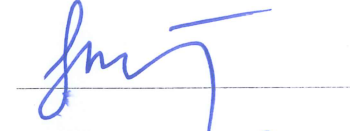
Dr. Öğr. Üyesi Emine KAÇAR



Danışman

Yüksek Lisans Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Selim KUTLU



Prof. Dr. Sinan CANPOLAT



Dr. Öğr. Üyesi Emine KAÇAR



.....

.....

.....

.....



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezde ki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Fatih TAN

26.11.2018

Dr. Öğr. Üyesi Emine KAÇAR

Fizyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilimsel ve akademik tecrübesiyle bana daima yol gösterip desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emine KAÇAR'a şükranlarımı sunarım.

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Sinan CANPOLAT'a, deney aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi İhsan SERHATLIOĞLU'na, Biyofizik Anabilimdalı doktora öğrencisi Gökhan ZORLU'ya, Biyofizik Anabilimdalı doktora öğrencisi Batuhan BİLGİN'e, Arş. Gör. Serdar ŞENTÜRK'e, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyeleri, Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN'a, Sayın Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR'a, Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ'a, Dr. Öğr. Üyesi Zübeyde ERCAN'a, Arş. Gör. Nazife ÜLKER'e, Arş. Gör. Ahmet YARDIMCI'ya ve her zaman olduğu gibi bu süreçte de yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	i
ETİK BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR	xiv
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Dişi Sıçanlarda Üremenin Fonksiyonel Anatomisi	9
3.2. Dişi Sıçanlarda Puberte Ve Üreme Fizyolojisi	11
3.2.1. Puberte	11
3.2.2. Üremeyi Etkileyen Sex Hormonları	14
3.2.2.1. Östrojen	14
3.2.2.2. Oksitosin	15
3.2.2.3. Progesteron	16
3.2.2.4. Prostaglandinler (Prostaglandin E, PGF _{2α})	17
3.2.2.5. FSH VE LH	18
3.2.3. Sıçanlarda Seksüel Siklus	18
3.2.3.1. Proöstrus	19
3.2.3.2. Östrus	20
3.2.3.3. Metöstrus	21
3.2.3.4. Diöstrus	21
3.2.4. Östrus Döngüsünde Meydana Gelen Hormonal Değişiklikler	23

3.3. Sıçanlarda Gebelik ve Gebeliğin Saptanması	25
3.3.1. Doğum	26
3.3.2. Laktasyon	27
3.4. Düz Kaslar	28
3.4.1. Düz Kas Kasılmasının Mekanizması	29
3.4.2. Düz Kas Kasılmasının Kalsiyum İyonları ile Düzenlenmesi	29
3.4.3. Kasılmanın Düzenlenmesi	29
3.4.4. Miyoplazmik Kalsiyum Konsantrasyonunun Düzenlenmesi	31
3.4.5. Sarkolemma	32
3.4.6. Düz Kasta Zar Potansiyelleri	33
3.4.7. Düz Kas Aksiyon Potansiyellerinin Oluşmasında Kalsiyum Kanallarının Önemi	33
3.5. Miyometriyum	34
3.5.1. Miyometriyumda Uyarılabilirlik ve Kasılma	34
3.5.2. Miyometriyumda Sarkoplazmik Retikulum	35
3.5.3. Miyometriyum Kasılmasının Elektrofizyolojik Özellikleri	37
3.5.3.1. Önder odaklar (Pacemaker)	37
3.5.3.2. Karakteristik Aksiyon Potansiyelleri	38
3.5.4. Hücre İçi Sinyal İletimi Mekanizmaları	38
3.5.4.1. G protein kenetli reseptör (GPCR)'ler	40
3.5.4.2. İyon kanalları	42
3.5.4.2.1. Na ⁺ kanalları	43
3.5.4.2.2. Cl ⁻ kanalları	43
3.5.4.2.3. GIRK (G protein-Gated inwardly rectifying (K ⁺) kanalı	43
3.5.5. Miyometriyumda G Protein Sinyal Yolları	44

3.5.5.1. Miyometriyumda Fosfolipaz C	45
3.5.5.2. Miyometriyumda Adenilat Siklaz	46
3.5.5.3. Miyozin Hafif Zincir Fosforilasyonu, Kasılma ve Gevşeme	46
4. MATERYAL METHOD	49
4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri	49
4.2. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	50
4.3. Krebs solüsyonunun hazırlanması	50
4.4. Ratlarda Siklus Takibi	51
4.4.1. Östrus Evresi Takibi	51
4.5. İzole Organ Banyosu Deney Düzenegi	52
4.5.1. Krebs Solüsyonunun Depolandığı Bölme	53
4.5.2. Organ Banyosu Hazneleri	53
4.5.3. Oksijen-Karbondioksit Kaynağı	53
4.5.4. Kanal ve Kapak Sistemleri	54
4.5.5. Termosirkülatör	54
4.5.6. İzometrik Transduser	54
4.5.7. Amplifikatör	54
4.5.8. Kayıt Ünitesi	55
4.6. Agomelatinin Hazırlanması	55
4.7. ELİSA Yöntemi	55
4.8. Deney Protokolleri	56
5. BULGULAR	60
5.1. Siklus Değişimi, Doğum Süresi ve Yavru Sayısına Ait Bulgular	60
5.1.1. Siklus Değişimine Ait Bulgular	60
5.1.2. Doğum Süresine Ait Bulgular	62

5.1.3. Yavru Sayısına Ait Bulgular	64
5.2. Elisa Çalışmalarına Ait Bulgular	66
5.2.1. Oksitosin Hormonuna Ait Bulgular	66
5.2.2. Progesteron Hormonuna Ait Bulgular	68
5.2.3. Östrojen Hormonuna Ait Bulgular	70
5.2.4. Prostaglandin E Hormonuna Ait Bulgular	71
5.3. İzole Organ Banyosuna Ait Bulgular	73
5.3.1. Her Deney Grubunun Kendi içinde Karşılaştırıldığı Kontraksiyon Bulguları	74
5.3.1.1. Birinci Deney Protokollerine Ait Kontraksiyon Bulguları	74
5.3.1.1.1. Diöstrus Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	74
5.3.1.1.2. Ago-Diöstrus Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	77
5.3.1.2. İkinci Deney Protokollerine Ait Kontraksiyon Bulguları	80
5.3.1.2.1. Kontrol (Gebe) Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	80
5.3.1.2.2. Gö Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	84
5.3.1.2.3. Gö2tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	87
5.3.1.2.4. 2tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	90
5.3.1.2.5. 3tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	93
5.3.1.2.6. Gö3tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları	95
5.3.2. Diöstrusta Dekapite Edilen Birinci Deney Protokollerinin (Diöstrus ve Ago-diöstrus) Karşılaştırılması	98
5.3.3. Doğumda Dekapite Edilen İkinci Deney Protokollerinin Karşılaştırılması	101
6. TARTIŞMA	106
7. KAYNAKLAR	117
8. ÖZGEÇMİŞ	131

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Siklus döngüsünde yapılan vajinal yayma sonucunda, siklus evrelerinde kaydedilen değişiklikler	24
Tablo 2: Krebs solüsyonu içeriği (nM/L)	51
Tablo 3: Siklus takibi yapılan deneklerin diöstrus, proöstrus ve östrus evresinde kalma süreleri	60
Tablo 4: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin kullanan deney gruplarının gebelik süreleri (saat).	63
Tablo 5: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin kullanan deney gruplarına ait yavru sayıları.	65
Tablo 6: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen oksitosin değerleri.	67
Tablo 7: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen progesteron değerleri	69
Tablo 8: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen östrojen değerleri	70
Tablo 9: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen prostoglandin-E değerleri.	72
Tablo 10: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Diöstrus deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	75
Tablo 11: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Ago-diöstrus deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	78
Tablo 12: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Kontrol (gebe) deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	82
Tablo 13: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	85
Tablo 14: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö2tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri	88

Tablo 15: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra 2tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	91
Tablo 16: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra 3tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri	93
Tablo 17: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö3tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.	96
Tablo 18: Diöstrusta dekapite edilen deney gruplarının (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları), agomelatinin farklı dozlarında frekans, genlik ve alan değerleri.	99
Tablo 19: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının (Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) farklı agomelatin dozlarında ki frekans değerleri.	102
Tablo 20: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının (Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) farklı agomelatin dozlarında ki genlik değerleri.	103
Tablo 21: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) farklı agomelatin dozlarında ki alan değerleri.	105

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Pinealosit içerisinde gerçekleşen melatonin üretiminin kontrol mekanizması.	6
Şekil 2: Melatoninin kimyasal yapısı.	7
Şekil 3: Agomelatinin kimyasal yapısı.	7
Şekil 4: Olgunluğa erişmiş dişi sıçanlarda ürogenital sistem anatomisi.	10
Şekil 5: Endojen GnRH sekresyonunun markerleri olarak periferik LH ve FSH serum ölçümü.	13
Şekil 6: Proöstrus: Epitelyal hücre kümeleri gözlenirken, epitelyal hücre kümeleri yerine iplikçiklerde görülebilir.	20
Şekil 7: Östrus: Keratinize edilmiş kornifiye hücreler gözlenirken, hücrelerin kenarları yuvarlatılmış olarak görülebilir.	20
Şekil 8: Metöstrus: Yuvarlatılmış hücreler, kornifiye hücreler ve lökositler birlikte görülür.	21
Şekil 9: Diöstrus: Az sayıda büyük epitelyal hücreler ile çok sayıda lökosit birlikte gözlemlenir.	22
Şekil 10: Deneklerin (sıçanların) bakım ve beslenmelerinin yapıldığı metal kapaklı plastik kafes.	49
Şekil 11: izole organ banyosu deney düzeneği.	52
Şekil 12: Siklus takibi yapılan deneklerin (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) diöstrus evresinde kalma süreleri.	61
Şekil 13: Siklus takibi yapılan deneklerin (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) proöstrus evresinde kalma süreleri.	61
Şekil 14: Siklus takibi yapılan deneklerin (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) östrus evresinde kalma süreleri.	62
Şekil 15: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulamasının deney gruplarında ki gebelik süresine etkisi.	63

Şekil 16: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulamasının gruplar arasında ki yavru sayısına etkisi.	66
Şekil 17: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen oksitosin değerleri.	68
Şekil 18: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen progesteron değerleri.	69
Şekil 19: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen östrojen değerleri.	71
Şekil 20: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen prostoglandin-E değerleri.	73
Şekil 21: Diöstrus deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	76
Şekil 22: Diöstrus deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	76
Şekil 23: Diöstrus deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	77
Şekil 24: Ago-diöstrus deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	79
Şekil 25: 2. deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	79
Şekil 26: Ago-diöstrus deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	80
Şekil 27: Kontrol (gebe) deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	82
Şekil 28: Kontrol (gebe) deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	83
Şekil 29: Kontrol (gebe) deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	83

Şekil 30: Gö deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	85
Şekil 31: Gö deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	86
Şekil 32: Gö deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	86
Şekil 33: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	89
Şekil 34: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	89
Şekil 35: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	90
Şekil 36: 2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	91
Şekil 37: 2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	92
Şekil 38: 2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	92
Şekil 39: 3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	94
Şekil 40: 3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	94
Şekil 41: 3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.	95
Şekil 42: Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.	96
Şekil 43: Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.	97

- Şekil 44:** Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri. 97
- Şekil 45:** Diöstrusta dekapite edilen deney gruplarının (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) frekans değerlerindeki değişim. 99
- Şekil 46:** Diöstrusta dekapite edilen deney gruplarının (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) genlik değerlerindeki değişim. 100
- Şekil 47:** Diöstrusta dekapite edilen deney gruplarının (Diöstrus, Ago-diöstrus grupları) alan değerlerindeki değişim. 100
- Şekil 48:** Doğumda dekapite edilen deney gruplarının (Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) agomelatinin farklı dozlarında frekans değerinin değişimi. 102
- Şekil 49:** Doğumda dekapite edilen deney gruplarının (Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) agomelatinin farklı dozlarında genlik değerinin değişimi. 104
- Şekil 50:** Doğumda dekapite edilen deney gruplarının (Kontrol, Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr grupları) agomelatinin farklı dozlarında alan değerinin değişimi. 105

KISALTMALAR

SR	: Sarkoplazmik Retikulum
SERCA	: Sarcoplamic or endoplazmic reticulum Ca^{+2} ATPase
IP₃	: İnozitol Trifosfat
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
PKC	: Protein Kinaz C
ADH	: Antidiüretik Hormon
FSH	: Follikülü Stimüle Edici Hormon
LH	: Luteinleştirici Hormon
NO	: Nitrik Oksit
ATP	: Adenozin trifosfat
ADP	: Adenozin trifosfat
PGF_{2α}	: Prostaglandin F2 Alfa
5-HT	: Serotonin
E2	: 17β östradiyol
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
CL	: Corpus luteum
MT	: Melatonerjik reseptör
ERα	: Östrojen reseptörü
PRα	: Progesteron reseptörü

CIF : Kalsiyum giriş faktörü.

GTP : Guanozin trifosfat.

EGF : Epidermal büyüme faktörü.

IGF : İnsülin, insülin-benzeri büyüme faktörü.

FGF : Fibroblast büyüme faktörü.

PDGF : Platelet kökenli büyüme faktörü.



1. ÖZET

Agomelatin melatonerjik etkinliğe sahip bir antidepresandır. Gebelikte kullanım açısından B katagorisinde olması ve melatoninin daha önce yapılan çalışmalarda gebelik ve üreme fizyolojisi üzerinde önemli etkinliğe sahip olması, melatonerjik bir ajan olan agomelatinin gebelik ve üreme fizyolojisi üzerinde melatonin benzeri veya farklı etkinliğinin var olup olmadığının sorgulanmasına ihtiyaç doğurmuştur. Bu bilgiler ışığında bu çalışmada temel amacımız, agomelatinin gebelik öncesi ve gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanmasının uterin kontraksiyonlar, siklus değişimi, bir batındaki fetal sayı ve doğumun başlama süresi üzerine olası etkinliğinin incelenmesi olmuştur. Bu amaçla çalışmamızda ortalama 200-250 g ağırlığında 74 adet Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Diöstrusta dekapite edilen gruplarda 7'şer hayvandan oluşturulurken, gebe bırakılan ve doğumda dekapite edilen deney gruplarımız ise 10'ar hayvandan oluşturularak 8 farklı deney grubu oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinde oksitosin, progesteron, östrojen ve prostoglandin E düzeyleri ELİSA yöntemiyle incelendi. Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre; kronik agomelatin kullanan sıçanlarda diöstrus evresinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde uzadığı, progesteron seviyelerinin de kontrole göre arttığı fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edildi. Uterin kontraksiyonlar üzerinde agomelatin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı inhibisyona yol açmıştır. Fetal sayının kontrol grubuna göre diğer tüm gruplarda arttığı görülmüştür. Ayrıca, agomelatinin gebelik öncesi dönemdeki kronik uygulanmasıyla birlikte gebelik süresi boyunca uygulanmasının oksitosin ve östrojen düzeylerini azaltarak doğumu geciktirdiği

tespit edildi. Sonuç olarak agomelatin uygulamasının uterin kontraksiyonlar üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu, kronik uygulanmasının diöstrus süresini uzattığı, fetal sayıyı arttırdığı ve gebelik süresini uzattığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Agomelatin, miyometrium, kontraksiyon, gebe, doğum, sıçan



2. ABSTRACT

EFFECT OF AGOMELATINE APPLICATION ON UTERINE CONTRACTIONS AND GESTATIONAL AGE IN RATS

Agomelatine is an antidepressant with melatonergic activity. The need for questioning whether there is melatonin-like or different activity of the agomelatine, which is a melatonergic agent, on the pregnancy and reproductive physiology came to exist due to the fact that the agomelatine is in category B for use in pregnancy and the melatonin has significant efficacy on pregnancy and reproductive physiology in previous studies. In the light of this information, the main aim of present study was to investigate the possible efficacy of agomelatine on uterine contractions, change of cycle, number of fetus in the abdomen and the beginning stage of labor in the different periods of pregnancy and before pregnancy. For this purpose, 74 Wistar Albino rats weighing 200-250 g were used in our study. While each of groups decapitated in diestrus phase were formed by 7 rats, each of experimental groups impregnated and decapitated in labour were formed by 10 rats. Thus, 8 different experimental groups were formed. Oxytocin, progesterone, estrogen and prostaglandin-E levels were examined by ELISA method in blood samples taken after decapitation. According to the results of the study; it was detected that there was a statistically significant elongation in diestrus phase of rats using chronic agomelatine compared to the control group. There was no any statistically significant in progesterone level of rats using chronic agomelatine compared to the control group. Agomelatine caused the statistically significant inhibition on uterine contractions in in all groups. It was observed that the number of fetus increased in all other groups compared to the control group. In addition, it was found that the agomelatine chronic use before

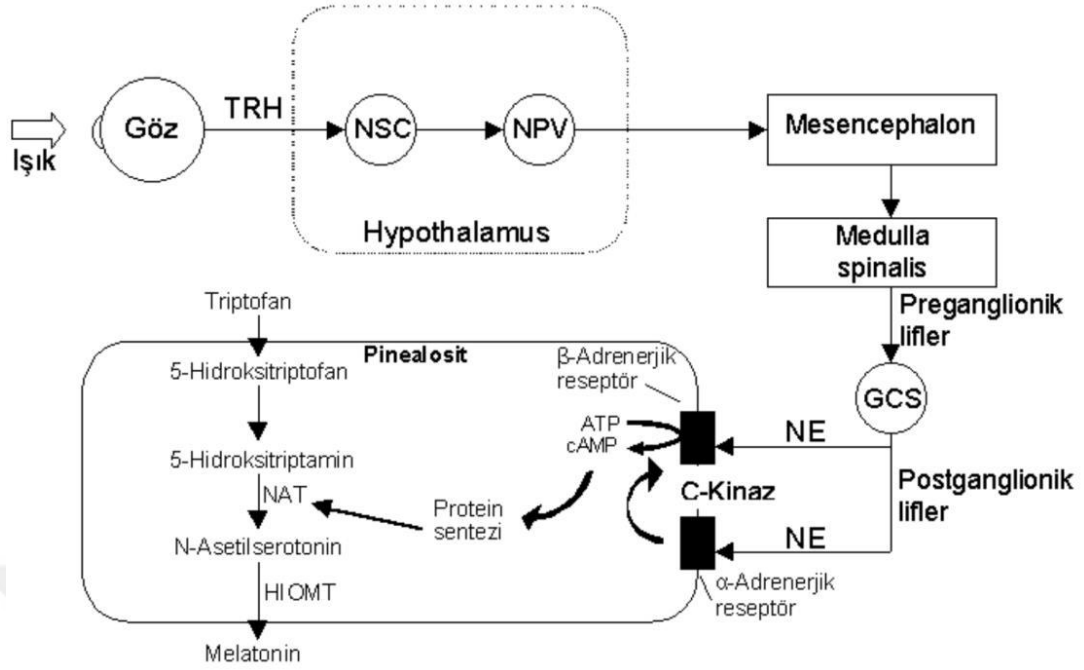
pregnancy period and use during pregnancy delayed pregnancy by reducing oxytocin and estrogen levels. As a result, it was found that agomelatine had an inhibitory effect on uterine contractions, and its chronic use prolonged the diöstrus phase and pregnancy period, increased the number of fetus.

Keywords: *agomelatine, myometrium, contraction, pregnant, labour, rat*



3. GİRİŞ

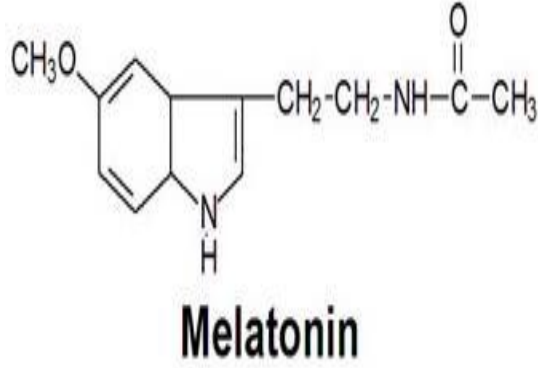
Melatoninin naftalenik analogu olan agomelatin (S20098), valdoksan ticari ismiyle 2009 yılında Avrupa Birliği İlaç Ajansı tarafından onaylanan yeni bir antidepresandır (1). Melatonin hormonunun sentetik bir analogu olan agomelatin (N-[2-(7-metoksinaftalen-1-yl) etil] asetamid ya da S20098) melatonerjik bir antidepresandır. Melatonin, spontan ve oksitosin ile indüklenen miyometriyum kontraksiyonları üzerinde inhibitör bir etki göstermektedir (2). Melatonin hormonu, pineal bez yapısında bulunan ve parankimal hücrelerin çoğunluğunu oluşturan pinealositler tarafından sentezlenmektedir ve melatonin sentezi için triptofan aminoasidine gereksinim duyulmaktadır (Şekil-1). Kan dolaşımında bulunan ve pinealosit içerisine alınan triptofan önce triptofan 5-hidroksilaz enzimi aracılığıyla 5-hidroksitriptofan'a, 5-hidroksitriptofan ise L-aromatik aminoasit dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) vasıtasıyla 5-hidroksitriptamin'e (serotonin) dönüştürülür. Son olarak N-asetilserotonin, hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimi tarafından melatonine dönüştürülmektedir (3).



Şekil 1: Pinealosit içerisinde gerçekleşen melatonin üretiminin kontrol mekanizması (Sharma ve ark.2007).

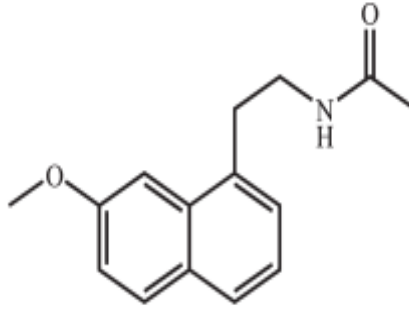
Önceki araştırmalarda, melatoninin overlerin işleyişini geliştirdiğini ve overler dahil follükül gelişim sürecine katkıda bulunduğunu göstermiştir. Melatoninin embriyo implantasyonunu kolaylaştırdığı, endometriyum ve uterin bezlerinin regülasyonunu, uterus reseptivitesini, blastosist aktivasyonunu arttırması nedeniyle bir batında doğan yavru sayısında artışa sebep olduğu bilinmektedir (4). Maternal dolaşımdaki melatoninin sirkadiyen varyasyonları gebelik süresince devam eder ve doğumun zamanlamasını düzenler (5, 6). Melatonin, MSS'de ki etkilerini G proteinlerine bağlı olan melatonerjik membran reseptörleri MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden sağlamaktadır (Maldonado ve ark. 2009). Agomelatini diğer antidepresanlardan ayıran farklı özelliği ise melatonerjik ve serotonerjik reseptörler üzerinde yeni etki mekanizmalarına sahip

olmasıdır. Agomelatinin kimyasal yapısı, melatonerjik bir yapıya sahip olmasıyla benzer şekilde melatonine oldukça benzemektedir (Şekil 2 ve 3).



Şekil 2: Melatoninin kimyasal yapısı (7).

Agomelatin



Şekil 3: Agomelatinin kimyasal yapısı (8).

Yüksek afiniteli MT1 ve MT2 melatonin reseptör agonisti ayrıca düşük duyarlılıkta 5-HT_{2C} reseptör antagonistidir (9, 10). Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) pineal bezden salınan, triptofandan sentezlenen bir indolamindir. Melatonin hormonu özellikle gece saatlerinde salgılanıyor olup

sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde etkili bir nörotransmitterdir. Melatonin hormonunun pineal bezin dışında retina, trombositler, eritrositler ve gastrointestinal sistemdeki bazı hücreler tarafından sentezlenebildiği bilinmektedir. Melatonin reseptörü olan MT1 ve MT2 insan ve memelilerde bulunurken, birdiğer melatonin reseptörü olan MT3 ise kuşlarda ve amfibilerde tespit edilmiştir (11, 12).

MT₁ ve MT₂ reseptörleri; suprakiazmatik nükleus, nükleus akkumbens, hipokampus ve prefrontal kortekte, 5-HT_{2C} reseptörleriye suprakiazmatik nükleus, ventral tegmental alan, frontal korteks, lokus seruleus, amigdala ve hipokampusda tespit edilmiştir. Melatonerjik bir antidepresan olan agomelatin, MT₁ ve MT₂ reseptörlerine bağlanarak reseptörlerin uyarılmasını sağlar ve 5-HT_{2C} reseptör aktivitesini de engeller. Bu sinerjik etki mekanizmasıyla birlikte agomelatin merkezi sinir sisteminde antidepresan ve psikotrop etkilerini göstermektedir (13).

Yapılan klinik çalışmalarında depresif hastaların anksiyete, duygudurum ve bazı fizyolojik fonksiyonlarının bozuklukları, hastanın sirkadiyen ritim bozukluklarından etkilendiği görülmüştür (14).

Sirkadiyen ritim bozuklukları depresyon ve anksiyete gibi bazı psikotik durumlarla iklişkilendirilmektedir. Agomelatinin suprakiazmatik nükleustaki MT1 ve MT2 reseptörleri aktive ederek ayrıca 5-HT_{2C} reseptörlerini inhibe ederek sirkadiyen ritim üzerinde resenkronize bir etki gösterebilmektedir (15). Agomelatin, sirkadiyen ritmi düzenleyerek ve bunun yanı sıra uyku kaltesini arttırarak depresif semptomlar üzerinde azaltıcı etki göstermektedir.

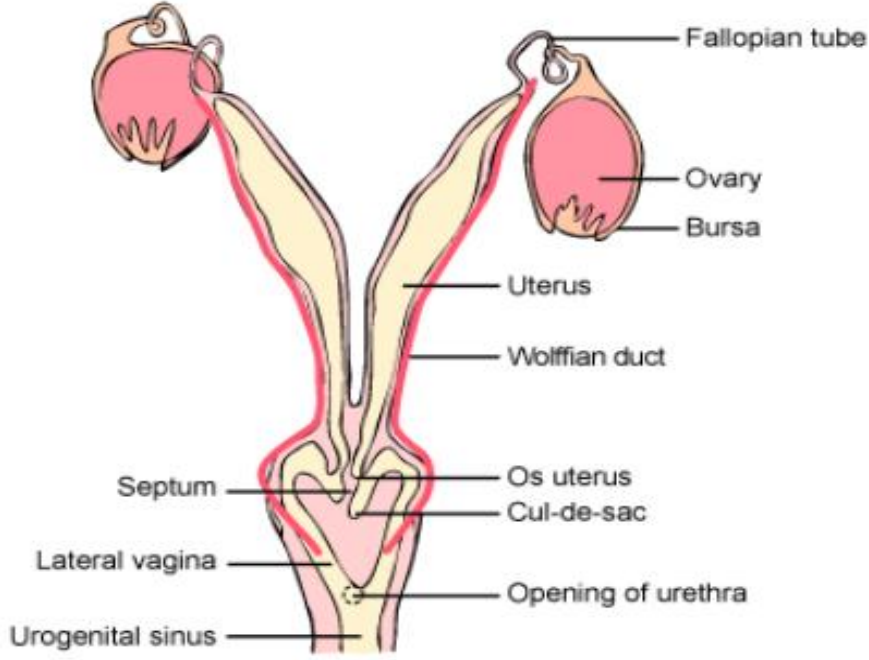
Agomelatinin çeşitli hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda anksiyete ve depresyon tedavisinde iyileştirici etki gösterdiği ayrıca bipolar bozukluk, mevsimsel duygu bozukluğu ve majör depresif bozukluk üzerinde de yararlı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Agomelatin, etkisinin hızlı başlaması ve sirkadiyen ritm üzerindeki düzenleyici etkisi ile uyku-uyanıklık döngüsü üzerinde belirgin bir etki göstermiştir (16). Agomelatinin antidepresan etkileri ve sirkadiyen ritim üzerindeki etki mekanizması düşünüldüğünde depresif hastaların bu tarz problemlerinin ortadan kaldırılabileceği düşünülmektedir (17).

Agomelatin oral kullanımlarda absorpsiyonu iyi olan bir antidepresandır. Ancak agomelatinin gıda ile birlikte alınması absorpsiyon hızını azaltmaktadır fakat bu azalma anlamlı düzeyde değildir. Agomelatin oral kullanımdan 1-2 saat sonra pik plazma konsantrasyonuna ulaşır veterminal yarılanma ömrü 2-3 saattir. Agomelatin, %85-95 oranında plazma proteinlerine bağlanır. Aynı zaman da %35 oranında albümine, %36 oranında ise α -1 asit glikoproteine bağlanmaktadır. Agomelatin, agomelatinden daha az aktif olan sitokrom P450 enziminin farklı izoformları (1A1, 1A2 ve 2C9) ile hidroksil, desmetil ve epoksit metabolitlerinde metabolize edilmektedir (10, 11).

3.1. Dişi Sıçanlarda Üremenin Fonksiyonel Anatomisi

Dişi üreme sistemi 2 tane over ve genital organlardan oluşmuştur (Şekil-4). Genital organlar ise vajina, serviks, uterus ve ovidüktlerden oluşmaktadır. Memelilerde dişi genital sistem; ovidüklerin ostiumu ile başlayan Müllerial kanallardan meydana gelir (18). Dişilerde iki tane uterus korpusu vardır ve uterusun iki boynuzu ortada ve aşağıda birleşir ve bu iki boynuz vajinaya iki ayrı serviksle açılır (19). Olgunluğa erişmiş dişi sıçanlarda ovaryumların lokalizasyonu

böbreklere yakın yerleşimdedir ayrıca foliküllerle dolu bir yapıya sahiptir. Helezonik yapıda olan ovidik ovaryumu iki kornulu yapıda ki uterusu bağlanır.



Şekil 4: Olgunluğa erişmiş dişi sıçanlarda ürogenital sistem anatomisi.

Olgunluğa erişmiş bir dişi sıçanda reproduktif parametrelerin referans aralıkları incelendiğinde, bir batında doğan ortalama yavru sayısı 10, doğan yavruların ortalama ağırlığı 6 gr, doğan dişi bir yavrunun puberte dönemine ulaşma süresi 8-10 hafta, puberteye ulaşmış bir dişinin siklus döngü süresi 4-5 gün, östrus süresi 12-24 saat ve ortalama gebelik süresi 20-22 gündür (20).

Sıçanlarda overler üzüm benzeri bir yapıya sahiptir ve korpus luteumların sayısı ve büyüklüğü ile orantılı olarak gebelik ve laktasyon dönemlerinde farklı büyüklük ve ağırlıkta olabilirler (21). Overler uterus boynuzlarına oviduktlarla bağlı ve erişkin bir sıçanda tek bir overin ağırlığı yaklaşık 60 mg olup 5x4x3 mm

ölçülerindedir (19). Seksüel yönden olgunlaşmış sıçanların ovaryumunun korteksinde, gelişimin farklı aşamalarında birçok folikül bulunmakta ve medulla ise lenfatikler, sinirler ve çok sayıda kan damarından oluşmaktadır. Foliküler olgunlaşma (folikülogenezis) 5 evreden oluşmaktadır (21).

1) Primordiyal folikül,

2) Primer folikül,

3) Sekonder folikül,

4) Tersiyer folikül,

5) Graaf folikül.

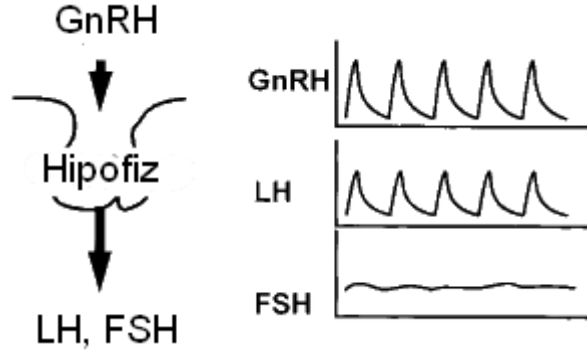
Sıçan uterusu “Y” şeklini andırmakta ve uterus boynuzlarının lümenleri ve ağızları birbirinden tamamen ayrı yerleşim göstermektedir. Uterus boynuzları 3-4 cm uzunluğunda olmakla beraber ve aşağıda birleştikten sonra da 0,7-1 cm kadar ortak gövdeyi oluştururlar (19). Uterus; endometriyum (iç mukoza), miyometriyum (orta kas tabakası) ve perimetriyum olmak üzere 3 tabakadan oluşmaktadır.

3.2. Dişi Sıçanlarda Puberte Ve Üreme Fizyolojisi

3.2.1. Puberte

Puberte ve adolesan terimleri farklı kavramlar olmasına rağmen, genelde aynı anlamı taşıyormuş gibi kullanılmaktadır. Puberte döneminde de adolesan döneminde çocukluktan yetişkinliğe geçiş söz konusudur ancak puberte dönemi, seksüel olarak üremenin elde edildiği peryot olarak tanımlanırken, adolesan dönem ise seksüel olgunlaşmanın yanı sıra kognitif, sosyal ve emosyonel

olgunlaşmanın da kazanıldığı dönem olarak nitelendirilmektedir. Klinik olarak puberte, ani büyüme ile ilişkilendirilmiş ikincil seksüel karakterlerin kazanılması olarak bilinmektedir. Puberte, çocukluk dönemi ile yetişkinlik dönemi arasında meydana gelmekle beraber kompleks bir biyolojik süreçtir. Genel olarak puberte seksüel gelişimi, hızlanmış doğrusal gelişimi ve adrenal olgunlaşmanın olduğu dönemdir. Gonadotropin serbestleştirici hormonun (GnRH) hipotalamustan salgılanmaya başlaması ile birlikte puberte başlamaktadır (22, 23). GnRH salınımı üremenin kontrolünde anahtar role sahiptir (24). Pubertenin başlamsıyla meydana gelen ilk endokrin olay ise yine GnRH'ın hipotalamustan salınmasına yanıt olarak hipofiz bezinden salınan nokturnal pulsatil luteinizan hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) sekresyonudur (25). Yapılan birçok çalışmada, GnRH'nın salınımını incelemek için LH ve FSH'nın ölçümü referans alınmıştır. İnsanda, periferik LH ve FSH serum ölçümü GnRH salınımının markerleri olarak bilinmektedir (Şekil-5). LH ve FSH'nın yarılanma ömürleri farklı olurken; LH'nın yarılanma ömrü 20-30 dakika iken, FSH'nın yarılanma ömrü 2-3 saat olarak bilinmektedir. FSH aktivitesinin daha az olmasından dolayı, GnRH salınımını anlamada LH kadar etkin bir rol oynayamamaktadır. Dolayısı ile GnRH sekresyonunun klasik belirteci olarak LH kayıtlara geçmiştir (26, 27, 28).



Şekil 5: Endojen GnRH sekresyonunun markerleri olarak periferel LH ve FSH serum ölçümü (28).

Puberte yaşı ratın soyuna ve çevre koşullarına göre farklılık gösterirken, iyi beslenen ve az sayıda kardeşi olan yavrular puberteye daha erken dönemde girmektedirler (29). Dişi ratlarda ise vajinal açıklığın oluşması ve ilk proöstrus pubertenin ilk belirteçidir. Ratlarda vajinal açıklık ilk kez 33-42. günlerde ve vücut ağırlığı yaklaşık 100 gr iken görülür. Dişide puberteyle beraber vajina açılır ve siklus döngüsünün proöstrus evresi oluşur. Düzenli siklus döngüsü ise vajinal açıklık başlangıcından itibaren yaklaşık bir hafta sonra oluşmaya başlar (30). Sonuç olarak dünyaya gelen dişi bir yavru sıçan doğumdan itibaren ortalama 7 hafta sonra yetişkin hale gelir.

3.2.2. Üremeyi Etkileyen Sex Hormonları

3.2.2.1. Östrojen

Dişi seks hormonlarından olan ve hipofizin gonadotropik hormonlarının etkisiyle salgılanan östrojen, kadınlarda sekonder seks karakterlerinin oluşumuna yol açan, üreme siklusunu ve endometriyumun kalınlaşmasını ve gelişmesini sağlayan 18 karbonlu steroid yapıda bir hormon olarak bilinmektedir. En çok sentezlendiği yer overler olan östrojenler, az miktarda da olsa plasenta, adrenal bezler ve testislerde de sentezlenmektedir. Östrojen hormonu hem erkek hem kadınlarda bulunmakla beraber, üreme yaşında kadınlarda seviyeleri çok daha yüksektir olmakla beraber kadınlarda göğüs gibi ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimini sağladığı tespit edilmiştir. Östrojen progesteron dediğimiz diğer bir hormonla belirli bir düzen içinde çalışmaktadır.

Östrojenin dişi üreme sistemi üzerindeki etkileri çok iyi bilinmektedir. Östrojenin damar sistemi üzerindeki etkileri ile ilgili araştırmalar, östrojenin önemli vasküler etkilerinin büyük çoğunluğu nitrik oksit aracılığıyla gerçekleştiğini ortaya koymaktadır (31, 32, 33). Nitrik oksit miktarı hamilelik boyunca artmakta ve menstrüel döngüdeki, östrojen seviyesinin en yüksek seviyede olduğu ovulasyon öncesi fazda bu artış en yüksek değere ulaşmaktadır (34, 35). Hangi mekanizma veya mekanizmalar ile östrojenin nitrik oksit üretimini arttırdığı tam olarak açıklanamamaktadır. Östrojen kaynaklı akut vazodilatasyon, saniyeler veya dakikalar içinde gerçekleşmekte olup, iyonik akış ve guanilil siklaz aktivasyonu sağlayarak düz kas hücrelerinde gevsemeyi tetikleyen nitrik oksit (NO) salınımı sayesinde gerçekleşmektedir. Düz kas hücrelerinde östrojen reseptörlerinin varlığı bu hücrelerin, östrojen için hedef doku olduğunun bir

göstergesidir. Vasküler düz kas hücrelerinde östrojen kontraktiletiyi, proliferasyonu, matriks bileşenlerini ve yapımını regüle eder (36). Yapılan in vitro çalışmalarda östrojenin düz kas hücrelerindeki hücre büyümesi üzerindeki düzenleyici etkilerini destekler niteliktedir. Bu aktivasyonu sağlayan net mekanizma tam anlamıyla anlaşılmış değildir ancak östrojenin fizyolojik konsantrasyonu vasküler düz kas hücrelerinin hücre membranında bulunan kalsiyum aktifli potasyum iyon kanallarının açılmasını stimüle etmektedir (31, 37). Bu da vasküler düz kas hücrelerinin gevsemesine katkı sağlamaktadır (31, 37).

3.2.2.2. Oksitosin

Bir nonapeptid olan oksitosin, hipofizden salınan ve doğum süresince rahim kasılmasını, laktasyon boyunca süt salınımını sağlayan, hipotalamik bir nöropeptid olarak bilinmektedir (38). Paraventriküler ve supraoptik çekirdeklerdeki, magnosellüler nörosekretuar hücreler, oksitosini büyük bir öncü molekül olan prepro-oksitosin-nörofizin I' in bir parçası olarak sentezlemektedirler ve oksitosin vermek üzere kırılmakta ve daha sonra da hipofizin arka lobu tarafından kana sekrete edilmektedir (39).

Bilinen en güçlü uterotonik madde olması sebebiyle sıklıkla doğumu kolaylaştırmak amacıyla kullanılır. Son yıllarda, oksitosin reseptör geninin hipofiz, böbrek, overler, testis, timus, kalp, vasküler endotel, adiposit ve birçok tip kanser hücresi gibi birçok farklı yerde ekspresye edilmesinin bulunması, klasik oksitosin konseptinde gelişmelerin önünü açmıştır (40).

Üreme ile ilgili fonksiyonlar üzerine olan etkisinin yanı sıra oksitosin, kalp-damar sisteminin ve böbreğin endokrin ve nöroendokrin regülasyonuna

katılmaktadır (40). Oksitosin, vasküler ve kardiak gevsemede ve hidromineral dengede önemli bir regülatör rolündedir (41, 42). Ayrıca seksüel davranışlarda, anneliğe ait davranışlarda, hafıza ve öğrenmede de önemli rol oynamaktadır (43, 44).

Birçok çalışma östrojen ve glukokortikodilerin myometrial ve kardiak oksitosin reseptörlerinin ekspresyon artışları üzerindeki pozitif etkilerini, progesteronun ise oksitosin reseptörleri üzerindeki negatif etkilerini ortaya koymuştur (45, 46). İnsanlarda hamileliğin sonuna doğru oksitosin artışı gözlenirken progesteron konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Oksitosin düz kaslardan oluşan uterus kaslarının hem kasılma gücünü hem de sıklığını arttırmaktadır. Oksitosinin bu etkisini gösterebilmesi için uterusun östrojen etkisinde kalmış olması gerekir. Ovulasyondan önce ve gebeliğin son zamanlarında östrojen düzeyi yüksek olduğundan uterusun oksitosine olan hassasiyeti oldukça yüksektir (Gündüz 2005).

3.2.2.3. Progesteron

Üreme hormonları içerisinde önemli bir yere sahip olan progesteron korpus luteum ve gebeliğin şekillenmesi durumunda plasentadan sentezlenmektedir. Ayrıca az miktarda adrenal korteks, testis ve overlerdeki foliküllerden de sentezlendiği bilinmektedir (Yılmaz 1999). Over cinsiyet hormonlarının bir diğeri de progestindir ve üç farklı progestin tipi vardır (progesteron, 17 α -hidroksiprogesteron ve 20 α hidroksiprogesteron). Bunlardan en önemlisi progesteron olarak kabul edilmekte ve gebe olmayan bir kadında progesteron, menstrüel siklusun luteal fazında sekrete edilmektedir. Sonuç olarak

progesteron, menstrual döngü sırasında uterusun olgunlaşması ve gebeliğin sürdürülmesi için kritik öneme sahip hormonlardan biridir (47, 48, 49).

Progesteron dişi üreme sisteminde; uterusu zigotun yerleşmesi ve beslenmesi için hazır hale getirip T-lenfositlerin etkisini kaldırarak embriyonun reddedilmesini önlemek, gebelik süresince uterus kaslarının kasılmasını engelleyerek gebeliğin devamını sağlamak, meme bezlerinin gelişmesine katkıda bulunmak ve hipotalamustan GnRH salınımını kısıtlayarak follikül gelişimi ve ovulasyonu engellemek gibi önemli bir çok fonksiyona sahiptir (Graham ve Clark 1997, Yılmaz 1999).

3.2.2.4. Prostaglandinler (Prostaglandin E, PGF_{2α})

Prostaglandinler ilk kez 1930'lu yıllarda prostat bezi tarafından üretildiğine inanılan ve düz kaslarda kontraksiyona ve kan basıncında değişime neden olan bir madde olarak bulunmuştur. Bu molekül arasidonik asidin parçalanma ürünüdür ve tüm prostaglandinler 5 siklopentan halkasına sahip prostanoik asidin varyantları olarak bilinmektedir. Vücut sıvılarında 10 kadar tipi belirlenen prostoglandinlerin bir bölümü (prostaglandin E1) damar permaabilitesini arttırır, vazodilatasyon ve bronkodilatasyona sebep olur; trombosit kümeleşmesini ve mideden hidroklorikasit salgılanmasını önlerken bir bölümü (prostaglandin E2), bu etkilere ilaveten uterus kasını kontraksiyona hazırlamaktadır. Prostaglandinlerin diğer bir bölümü (prostaglandin F2 alfa), uterus kasını uyarıcı etkisinin yanı sıra damar ve bronşlarda konstriktör etki gösterir. Sentetik PGF2 alfa analogları olarak prostol, cloprostenol, fenprostalene, luprostiol ve tiaprost yaygın kullanım alanları bulunmuştur (Murugavel 2003). Prostaglandin F serisinden olan PGF2 birçok memeli türünde luteolizisten

sorumlu olan ve reproduksiyon alanında sıklıkla kullanılan hormonlardandır (Auletta ve Flint 1988, Garverick ve ark 1992, Milvae ve ark 1996, Rathbone ve ark 2001). Corpus luteum (CL), östrüs siklusu ve gebelik boyunca luteotropik destek oluşturan ve siklus sonunda luteolizisi sağlayan bu hormonlar tarafından kontrol edilmektedir (Hansel ve Blair 1996).

3.2.2.5. FSH VE LH

GnRH salınımının başlamasından sonra birkaç dakika içinde FSH ve LH salınımı başlamaktadır. Ayrıca tüm yaşlarda gonadotropinler pulsatil olarak salgılanmaktadır (47, 50). LH salgılanması tam anlamıyla GnRH salınımına bağlı olarak gerçekleşmekte ve bu sebeple, GnRH aynı zamanda LH-serbestleştirici hormon olarak da nitelendirilmektedir. FSH salgısı ise GnRH salgılanmasındaki değişimlere bağlı olarak çok hafif artış ya da azalma şeklinde seyredebilir (51).

Erkeklerde FSH testislerden sperm oluşumunu (spermatogenez) düzenlerken, LH testosteron salgılanmasını uyarmaktadır. Kadınlarda ise FSH, ovaryan foliküllerin gelişimini ve salgısını uyarırken, LH ovulasyonun ve korpus luteumun oluşumunu sağlamakta ve bununla birlikte östrojen ve progesteron yapımını tetikler (52).

3.2.3. Sıçanlarda Seksüel Siklus

Seksüel siklusun diöstrus, proöstrus, östrus ve metöstrus olmak üzere dört farklı evresi vardır (Westwood, 2008). Sıçanlarda siklus kısadır ve ortalama 4-5 günde tamamlanmaktadır. (Mandle, 1951) Sıçanlarda meydana gelen siklus evrelerinin süreleri farklılık göstermektedir (Paccola ve ark. 2013). Proöstrus

yaklaşık 12 saat, östrus 9-15 saat, metöstrus (metöstrus1,metostrus2) 21 saat ve en uzun faz olan diöstrus ise 57 saati bulabilmektedir (53). İlk düzenli siklus döngüsü vajinal açıklık görüldükten yaklaşık bir hafta sonra başlar. Döngü uzunluğu yaşla beraber çok az oranda artmakta ve üreme döneminin sonunda yaklaşık 6 güne uzayarak tamamlanmaktadır (18).

Proestrus, yuvarlak ve çekirdekli epitelyal hücrelerin kümelerinin gözlemlenmesiyle tanımlanırken, proestrusu kornifiye hücreler tarafından tanımlanmasıyla östrus takip eder. Östrusu, östrusun erken döneminde geçiş dönemi olan metestrus takip eder ve bazı araştırmacılar metestrusu “diöstrus 1” (Maeda ve ark. 2000) veya “erken diöstrus” (Mandle, 1951) olarak adlandırmaktadır. Metöstrus, lökositlerin ve kornifiye ve yuvarlatılmış epitelyal hücrelerin bir kombinasyonu varlığında tespit edilir (Goldman ve ark. 2007). Diöstrus (diöstrus 2) ise çok sayıda lökosit ve az miktarda büyük hücrelerin varlığıyla tespit edilmektedir.

3.2.3.1. Proöstrus

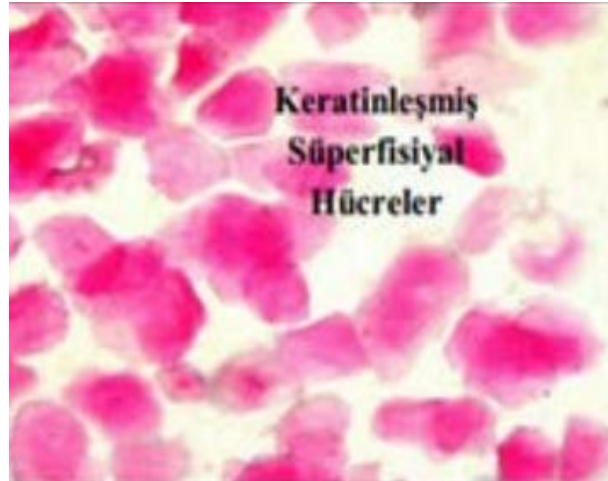
Proöstrus, siklus döngüsünün ilk evresidir, bu fazda over folikülü, daha sonra kana emilen ve genital bölgedeki hücre büyümesini stimüle eden östrojenleri salgılamaktadır. (Husveth, 2011). Yuvarlak ve çekirdekli epitelyal hücre görünümü hakimdir (Şekil-6).



Şekil 6: Proöstrus: Epitelyal hücre kümeleri gözlenirken, epitelyal hücre kümeleri yerine iplikçiklerde görülebilir.

3.2.3.2. Östrus

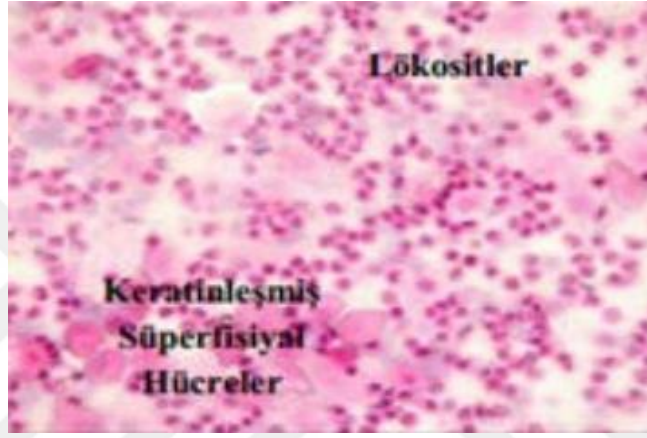
Proöstrusda evresinde meydana gelen corpus luteum değişikliklerinden sonra östrosjen seviyesinin yükselmesiyle başlayan östrus evresi başlamış olur (Westwood, 2008). Sıçanlarda, östrus evresinde yumurtlama başlar ve uterusun üreme aktivitesi en verimli halini alır (Slonaker, 1924). Östrus evresinde hücreler yaprak taneleri şeklinde parçalanmış yapıda gözlenmektedir (Şekil-7).



Şekil 7: Östrus: Keratinize edilmiş kornifiye hücreler gözlenirken, hücrelerin kenarları yuvarlatılmış olarak görülebilir.

3.2.3.3. Metöstrus

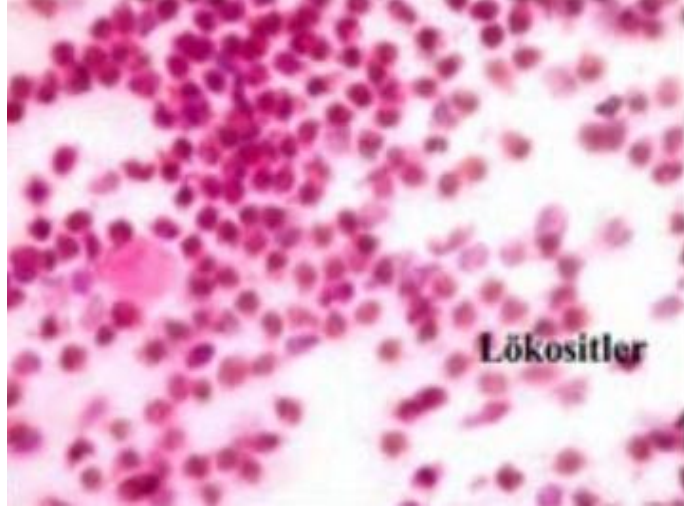
Siklusun bir diğer evresi, östrusu takip eden metöstrus evresidir. Metöstrusun başlangıcında, cinsel alıcılık durma noktasındadır. Metöstrusda korpus luteumun fonksiyonu ve progesteronun sekresyonu artmaya başlar (Husveth, 2011). Lökositlerin ve kornifiye ve yuvarlatılmış epitelyal hücrelerin bir kombinasyonu varlığında tespit edilir (Şekil-8) (Goldman ve ark. 2007).



Şekil 8: Metöstrus: Yuvarlatılmış hücreler, kornifiye hücreler ve lökositler birlikte görülür (Goldman ve ark., 2007).

3.2.3.4. Diöstrus

Östrus döngüsünün son evresi ise diöstrus evresidir. Büyük korpus luteum diöstrusda aktivitesini korur. (Westwood, 2008). Çok sayıda lökosit ve az miktarda büyük hücrelerin varlığıyla tespit edilmektedir (Şekil-9).



Şekil 9: Diöstrus: Az sayıda büyük epitelyal hücreler ile çok sayıda lökosit birlikte gözlemlenir (Goldman ve ark., 2007).

Döngünün görünümüne bağlı olarak, polestirel, mevsimlik polestes ve monoöstrus olmak üzere üç farklı biçim döngüsü bilinmektedir (54). Polestirel yıl boyunca tekrarlanan bir döngüdür ve proestrus, östrus, metestrus, diestrusdan evrelerinin tekrarlanmasıdır. Polestirel döngüde diestrus proöstrusa karışır (55). Mevsimlik polestes, sadece yılın bir mevsimi boyunca birçok östrus döngüsünü gösterir ve son evre olan diestrus anestrus'a karışmaktadır ve anestrus bir sonraki üreme dönemine kadar devam eder (56). Monoöstrous yılda sadece bir östrus evresi göstermektedir. Sıçanlar menopoza kadar yaşamları boyunca tekrarlayan bir östrus döngüsü göstermektedirler. Sıçanlarda ergenlik, vajinal açıklık ve ilk östrus döngüsü ile biter. İlk östrus döngüsü doğumdan yaklaşık 33-42 gün sonra vajinal açıklıktan yaklaşık bir hafta sonra gerçekleşir (Krinke, 2000). Sıçanlar doğumdan ortalama 755 gün sonra menopoza girer ve bu süre içerisinde ortalama 140 östrus döngüsü görülür (Slonaker, 1924). Bu fazların tanımlanması, vajinal

smear yöntemi ile hücre tiplerinin mikroskop altında gözlenmesi ile gözlemlenmektedir.

3.2.4. Östrus Döngüsünde Meydana Gelen Hormonal Değişiklikler

Dişi sıçanlarda östrus döngüsü; proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus evresi olmak üzere 4 evreden oluşmaktadır. Proöstrus yaklaşık 12 saat, östrus 9-15 saat, metöstrus (metöstrus1,metostrus2) 21 saat ve en uzun faz olan diöstrus ise 57 saati bulabilmektedir (53). Östrus döngüsünün fazları; davranışsal değişimlerin gözlenmesi ya da vajinal sitolojinin incelenmesi ile belirlenebilmektedir (53). Vajinal sitolojinin incelenmesi hızlı ve pratik bir yol olduğu için yaygın şekilde kullanılır.

Sıçanlarda östrus döngüsünü etkileyen bazı çevresel parametreler bilinmektedir. Bunlara; sıcaklık, fotoperiyot, gürültü, kısıtlama, dokunma ve araştırma prosedürleri örnek gösterilebilir. Örneğin yüksek çevresel sıcaklık (35 °C) döngünün süresini uzatır (57).

Östrus döngüsünde hormonlar önemli bir rol oynamakta ve ön hipofizden sekrete edilen FSH ve LH hormonlarıyla östrus döngüsü düzenlenmektedir. Hormonal dalgalanma ovaryan, foliküler ve vajinal sitolojideki değişimlerle sonuçlanmaktadır (58). Proöstrus evresinde LH seviyesi en üst düzeye ulaşırken, östrus evresinde en düşük düzeyde seyretmektedir. Östrus evresinde FSH seviyesi en yüksek değerine ulaşırken diöstrus evresinde ise FSH ve LH düzeyleri düşük seyretmektedir (59).

Over steroidleri (östrojen ve progesteron), prolaktin plazma konsantrasyonları ve gonadotropinlerde (FSH ve LH) östrus fazları sırasında artış-

azalış meydana gelebilir. Proestrus sırasında folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), progesteron, prolaktin ve 17-β Estradiol seviyeleri en yüksek seviyede seyrederek (Shaikh, 1971; Butcher ve ark., 1974; Kalra ve Kalra, 1974; Smith ve ark. al., 1975, Goldman ve arkadaşları, 2007; Krinke, 2000). Artmış östrojen seviyeleri (östrojenin fizyolojik seviyeleri yeterli değildir, ancak eksojen östrojen cinsel tepkisini tetikleyebilir) ve progesteron birlikte cinsel isteği arttırarak üremeyi tetikleyebilir (Powers, 1970). Proestrustan sonra, gonadotropin ve steroid seviyeleri başlangıçtaki halini alır (Smith ve ark. 1975). Östradiyol seviyesi metöstrusta artmaya başlarken proöstrusta pik seviyeye ulaşır ve östrusta ise başlangıçtaki seviyesine iner. Progesteron sekresyonu metöstrus ve diöstrus süresince artar ve sonrasında ise progesteron seviyesi proöstrusun sonuna doğru ikinci bir pik seviyeye ulaşmak için tekrar artar (60). Östrus siklusu süresince uterus, overler, vajina mukozası, davranış ve hormon seviyelerinde değişiklikler olduğu bilinmektedir (61, 62, 63). Östrus siklusunda vajinal yayma sonucunda kaydedilen değişiklikler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 1: Siklus döngüsünde yapılan vajinal yayma sonucunda, siklus evrelerinde kaydedilen değişiklikler (64).

		DÖNEMLER				
		Proöstrus	Östrus	Metöstrus-1	Metöstrus-2	Diöstrus
Yaymadaki hücre tipleri*	Epitelyal	+	+	0	+++	+
	Keratinize	+	++	+++	+++	0
	Lökositler	+	0	0	+++	+
Ovaryum Morfolojisi	Folikül sıvısıyla dolu geniş foliküller; yüzey epiteli ve foliküller hücrelerde birkaç mitoz.	Ovulasyon; yüzey epiteli ve foliküller hücrelerde aktif mitozlar.	İlk korpus luteum görülür; birçok folikül atreziye girer.	Korpus luteum gelişir; yüzey epiteli ve foliküller hücrelerde mitoz azalır.	Dönemin sonuna doğru foliküllerde hızlı büyüme görülür.	

0= Hiç yok; += az sayıda; += normal sayıda; +++= çok sayıda.

3.3. Sıçanlarda Gebelik ve Gebeliğin Saptanması

Sıçanlar, fuziform vücut yapısına sahip, vücudu tüylerle kaplı olan kemirgen memeli hayvanlardır. Dişi sıçanlarda olgunluğa erişim erkek sıçanlara göre çok erken dönemde gerçekleşir. Erkek sıçanlar 2 yaşına kadar büyüme devam ederken dişi sıçanlar 8-10 haftada olgunluğa erişebilirler. (65, 66). Vaginal smear'de sperm görülmesi gebeliğin saptanması açısından hata payının minimize edildiği bir yöntemdir. Abdominal palpasyon ile fetuslar gebeliğin 10. gününden itibaren hissedilebilir ancak 12. günden itibaren abdominal palpasyonla gebelik tespiti yapmak çok daha kolaydır. Abdominal genişleme gebeliğin 13. gününden itibaren gözle görünür haldedir (67). 14. Günde meme başlarında büyüme ve meme bezi gelişimi başlar. Progesteron değerleri ise gebeliğin 7. ve 13. günlerinde en yüksek düzeydedir (68). Gebelik ortalama 21-23 gün sürmektedir ancak anne önceki doğumdan olan yavrularını emziriyor ise bu sürenin uzama ihtimali vardır (68). Yırtılmış (hatched) blastosistin implantasyonu gebeliğin 5. gününde meydana gelmektedir (69). Diğer hayvan türlerinden farklı olarak rat embriyosu östrojen üretmezken maternal östrojen implantasyonu düzenlemektedir. Gebeliğin ilk yarısı boyunca, koitus tarafından indüklenen prolaktin dalgaları ile uyarılan ovaryumdan progesteron salınımı olur (70). Gebeliğin 2. yarısında plasenta da progesteron üretimi başlar (71). Ovaryum gebelik boyunca östrojen salgılar ve bunun amacı gebelik korpus luteumunun aktive edilmesi ve devamlılığını sağlamaktır. Östrojen rat plasentası tarafından üretilmez ayrıca plasental progesteron miktarının gebeliğin devam etmesi için yeterli olmadığı bilinmektedir. Ratlarda plasentasyon discoidal ve hemochorial olarak iki farklı şekilde olur (72). Plasenta, plasental laktojenler olarak bilinen

polipeptidleri salgılamakta ve bu polipeptidler meme bezi gelişimini ve korpus luteumları (progesteron salınımı için) stimule etmektedirler (73). Serum LH değerlerinde gebeliğin 11. gününde önemli düzeyde artış görülmekte (74) ve plasental Luteotrop hormonların gelişimi 16. günde gerçekleşmektedir. Ayrıca gebelik korpus luteumunun büyüklüğünde meydana gelen artış da bu dönemde görülmüştür (75). Dişi fertil bir sıçanda post partum östrusu doğumdan sonraki 24 saatte görülebilmektedir (76).

3.3.1. Doğum

Simfizis pubisin gevşemesi gebeliğin 17. gününde başlamaktadır ve doğumla tamamlanmaktadır. Korpus luteum tarafından gebeliğin ikinci yarısında üretilen relaksin hormonu, simfizis pubisin gevşemesini ve servikal gevşemeyi düzenlemektedir (77). Doğumun tüm fizyolojik uyarımı tam olarak anlaşılacakla beraber gebeliğin son 24 saatinde salınımı artan ovaryum kökenli östrojenin (östradiol) rolü olduğu düşünülmektedir. Higuchi ve arkadaşları hipofizden oksitosin hormonu salınımı artışının uterus kontraksiyonlarının nedeni olduğunu tespit etmişlerdir (78). Bir nöroendokrin refleks olan Ferguson refleksinde serviksin fetus kaynaklı gerilimi bir seri nöroendokrin cevabı stimule eder ve bu durum oksitosin üretimine neden olmaktadır. Arka hipofizden sentezlenen oksitosin hormonu myometriyal aktiviteyi artırmaktadır ve kendisi gibi bu aktiviteyi artıran maddelere 'oksitosik ajanlar' adı verilmektedir. Bu maddeler (oksitosin ve prostaglandinler) hücre içi kalsiyum düzeyini artırarak hücrelerin kasılmasını sağlamakta ve klinikte yaygın kullanıma sahip olmaktadır. (Arrowsmith ve ark. 2014). Östrojen salınımı gebeliğin son dönemlerinde kademeli bir şekilde artarken progesteron salınımı

azalmaktadır. İlk yavrunun doğumundan 1,5-4 saat önce belirgin bir vaginal akıntı artmaktadır (68). Doğum başlangıcı esnasında anne rat aralıklı olarak vücudunu uzatır esneme hareketi yapar. Sonunda arka bacakları extension pozisyonunda abdomeni üzerine uzanmaktadır. Doğumdan önce vulvayı yalar ve doğum esnasında yarım çömelmiş vaziyette pozisyon alır. Tüm doğum süreci yavru sayısına bağlı olarak değişmekle birlikte 55 dakika ile 4 saat (Ortalama 1,5 saat) arası sürmektedir (67). Uzun yıllar yapılan seleksiyonlar ve rasyonda yeterli A vitamini bulunması sonucu distocia (Güç doğum) ratlarda çok nadir gözlenen bir durum olarak kayıtlara geçmiştir (67, 68, 79, 80, 81). Yavru doğduktan sonra, anne plasentayı doğum kanalından çeker ve yemeye başlar (82), plasentayı yedikten sonra yavruyu yalayarak amniyotik örtünün uzaklaştırır. Tüm yavrular doğmadan emzirme olayı başlatılmaz. Yavru sayısını etkileyen faktörler arasında soy ve anne yaşı en çok etkileyen faktörlerdir. En çok yavru genellikle ikinci doğumda doğmaktadır (83).

3.3.2. Laktasyon

Normal bir laktasyon süreci periyotlar halinde 3 haftadan oluşmaktadır. Döllenmenin olması için sıçanın östrus evresinde olması gerekmektedir. Östrus siklusu ve ovulasyon dönemi laktasyon esnasında gecikmekte ve emzirmenin bitmesinden hemen sonra yeniden başlamaktadır. Doğumdan sonraki ilk 24 saatte meydana gelen bir LH dalgası postpartum ovulasyona sebep olur. (84). Postpartum ovulasyon sonucunda mutlak bir fertilizasyon olursa, implantasyon engellenmekle beraber blastosist laktasyon bitene kadar uterusu kalabilir. Ovaryumlardan salınan östrojen ve korpusluteumdan salgılanan progesteron baskısı sonucu implantasyon gecikir. Ayrıca laktasyon döneminin ilk iki

haftasında beslenme bozukluğuna (gıda kısıtlaması) bağlı laktasoyonel diöstrus evresi uzamaktadır. (85). Yani ovulasyon laktasyon döneminde olan bir sıçanda oluşmamaktadır.

3.4. Düz Kaslar

İnsan vücudunda kalp kası ile birlikte bulunan düz kas miktarı tüm kas dokunun %10'luk kısmını oluşturur. İskelet kası çapından otuz kat daha küçük, 1-5 mikrometre çapa ve 20-500 mikrometre boy ölçülerindedir. Düz kas kasılmasının birçok özelliği iskelet kasındaki gibidir fakat düz kas liflerinin iç fiziksel düzenlenmesi çizgili kasta olduğu gibi değildir (86). Her organın düz kası, diğer organlardaki düz kas yapısından çeşitli oranda farklıdır. Ancak genel olarak çok birimli ve üniter (tek birimli) düz kaslar olarak iki kısma ayrılır (87).

Çok birimli düz kaslar birbirinden ayrı düz kas liflerinden oluşmakla beraber en önemli özelliği her lifin bir diğer lifden bağımsız kasılabilmesi ve temel olarak sinir sinyalleriyle kontrolünün sağlanmasıdır (87). Gözün silyer ve iris kası ile piloerektör kas çok birimli düz kaslardan birkaçıdır. Üniter düz kaslar ise yüzlerce veya binlerce düz kas lifi kütesinin bir araya gelmesi ile oluşur. Hücre membranları birçok noktada birbirine yapışkıdır, bu sayede bir kas lifinde oluşturulan gücün bir diğer kas lifine aktarılması çok kolaydır (87). Ayrıca, hücre membranları, aksiyon potansiyelinde iyonların bir kas hücresinden yanındaki hücreye serbestçe akabilmesini veya aksiyon potansiyeli dışındaki basit iyon akımlarının bir liften diğerine geçebilmesini ve böylelikle kas liflerinin birlikte kasılmasını sağlayan birçok yarık bağlantı (gap junction) ile sağlanmıştır (87). Barsak, safra kanalları, üreterler, uterus ve kan damarları gibi birçok iç organın duvarında düz kas yapısı bulunmaktadır (87).

3.4.1. Düz Kas Kasılmasının Mekanizması

Düz kaslar yapısal olarak aktin ve miyozin filamentlerini bulundurarak iskelet kasına benzer ancak bu filamentlerin lokalizasyonları iskelet kaslarında ki gibi çizgili yerleşime sahip değildir. Dağınık halde birçok aktin filamentleri arasında az sayıda miyozin filamentleri serpilmiş halde bulunur. Düz kasların kasılma sürecinin başlaması kalsiyum iyonlarının aktifleşmesiyle başlar ve kasılmanın gerçekleşmesi için enerjiye ihtiyaç duyulur. Gerekli olan bu enerji adenozin trifosfat (ATP) ve adenozin difosfatın (ADP) yıkılması sonucu açığa çıkan enerjiden elde edilir.(87).

3.4.2. Düz Kas Kasılmasının Kalsiyum İyonları ile Düzenlenmesi

Düz kaslarda da iskelet kasında olduğu gibi kasılma için gerekli uyarıyı intraselüler sıvıdaki kalsiyum iyonu artışı sağlar. Kalsiyum iyonunun öncü uyarıyı oluşturmak için meydana gelen bu artışı farklı tiplerdeki düz kasların kas lifinin hormonal ya da sinirsel yolla uyarılması, lifin geilmesi veya lifin çevresinde oluşan kimyasal değişikliklerle olabilir (87).

3.4.3 Kasılmanın Düzenlenmesi

Kalsiyum iyonunun hücre içi konsantrasyonunda ki artış, iskelet kasında aktin filamentini etkilerken düz kaslarda miyozin filamentini etkiler. Yani düz kaslarda kasılma mekanizmasını harekete geçiren miyozin filamentinin kalsiyum iyonu tarafından uyarılmasıdır. Kalsiyum iyonu artışıyla uyarılan miyozindeki hafif zincir kalsiyum iyonu artışıyla fosforilize edilerek aktin filamentleriyle etkileşmesine ve kuvvet oluşumuna yol açan bir kalsiyum kalmodülüne bağlı bir proteinkinazı aktive eder (87). Fosforile edilen hafif zincir, fosforile değilken

miyozin filamentinin başının aktin filamentinin başı ile tutunma ayrılma döngüsü oluşması mümkün değildir. Fakat düzenleyici zincir fosforile olduğu andan itibaren tutunma ayrılma döngüsü başlar ayrıca bağlan ve sonrasındaki bütün döngüsel işlemler meydana gelebilir. Dolayısıyla düz kasda ki kasılma olayının meydana gelmesi sağlanmış olur. Flamentlerin bağlanmasını sağlayan çapraz köprünün aktif hale gelmesi için bir ATP molekülüne ihtiyaç vardır. (87).

Düz kastaki miyozin çapraz köprü siklusu çizgili kastaki miyozin çapraz köprüsü gibidir; aktin filamentine tutunmasının ardından çapraz köprü, ince filament kalın filamentleri merkeze doğru iterek kuvvet oluşmasını sağlamak için dişli çark mekanizması oluşturulur. Miyozin başından ADP ve P bırakılarak ATP'nin bağlanmasına izin verilir (87). ATP, miyozinin aktinden ayrılmasını sağlar. Yeni bağlanan ATP miyozin filamentinin baş kısmında şekil değişikliği için kullanılır. Miyozin başının değişmesinin sebebi siklusa hazır hale gelmesidir ve böylece çapraz köprü bir sonraki kasılma için hazır hale gelmiş olacaktır (87). Miyozin çapraz köprüsü fosforile kaldığı sürece çapraz köprü bir sonraki siklusu için hazır olacaktır ve devam edecektir. Çapraz köprü siklusu çizgili ve düz kas için benzer mekanizmaya sahiptir fakat düz kasta daha yavaş gerçekleşmektedir. (87).

Miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonu azalınca kadar çapraz köprü siklusu her siklus için bir ATP harcayarak devamlılık gösterir. Bununla birlikte düz kasta meydana gelen siklusun ardından kasın gevşemesi için aktin miyozin fosfataz miktarı gevşeme süresini belirler. (87).

3.4.4. Miyoplazmik Kalsiyum Konsantrasyonunun Düzenlenmesi

Düz kaslarda kasılma ile aktivasyon arasında ki bağlantıyı sağlayan iki mekanizma vardır bunlardan biri sarkoplazmik retikulumda ki kalsiyum havuzu diğeri ise sarkolemma da bulunan kalsiyum havuzudur. (87). Kasılma mekanizmasında bu iki faktörün farklı görevleri vardır. Sarkolemma hücrehücre dışında bulunan kalsiyumun içeriye giriş çıkışını kontrol ederken sarkoplazmatik retikulum miyoplazma ile hücre içi kalsiyum havuzu arasındaki kalsiyum hareketlerini kontrol eder. Düz kaslar kasılırken isket kasından farklı olarak hücre dışı kalsiyum iyonlarına ihtiyaç duyar fakat isket kasları kasılmak için hücre dışı kalsiyum iyonlarına ihtiyaç duymaz.(87).

Düz kas hücrelerinin uyarılması; sarkoplazmik retikulum kalsiyum kanallarının açılmasına yol açarken miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonu hızla artar (87). Meydana gelen kalsiyum salınımı ikinci haberci olan inozitoltrifosfat (IP3) 'ın sarkoplazmatik retikulumdaki reseptörlerine bağlanmasıyla ilişkilidir (87). IP3, fosfalipaz C' yi aktive eden guanin nükleotid protein (G protein) aracılığıyla bağlantılı sarkolemmal reseptörler üzerinde etkili bir uyarı oluşturur. (87). Daha sonra IP3 SR' ye difüze olarak IP3-kapılı kalsiyum kanalının açılmasına yol açar, bu da kalsiyumun sarkoplazmik retikulumdan miyoplazma içerisine alınması ile neticelenir (87). Bu süreçte sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salınımına izin verilebilir ve birçok nörotransmitterin ve hormonun düz kas kasılmasını etkilemesine de sebep olabilir. Kasılma mekanizmasının aktif olması için sarkoplazmik retikulum tarafından kalsiyum tekrar biriktirilir. Bu sebeple kalsiyum konsantrasyonunun miyoplazmada azalmasında rol alan bir etmen de kalsiyumun düz kas hücresinden çıkmasıdır (87). Bazı

nörotransmitterler ve hormonlar IP3 üretimini uyararak miyoplazmik kalsiyum konsantrasyonunu arttırabilir. Sarkoplazmik retikulumun tekrar kalsiyum iyonu biriktirmesi sadece sitozolik kalsiyumun yeniden birikmesine bağlı değildir, bununla birlikte hücre dışı kalsiyum konsantrasyonuna da bağlıdır.(87).

Sarkoplazmik retikulumda bulunan ryanodin reseptörü de IP3 reseptörü gibi sarkolemmadan kalsiyum girişi olduğunda aktive olabilir. Ryanodin reseptörüne kalsiyum kapılı kalsiyum kanalı olarak da adlandırılmaktadır. (87). Miyoplazmik kalsiyum düzeyinin düz kas hücrelerinde lokal olarak artması sonucu uzun süreli olmayan spontan RYR açılmaları oluşur. (87).

Bu spontan artışlar, kalsiyuma duyarlı floresan boyalarla çalışıldığı zaman kısa parlak flaşlar şeklinde görülür ve bu küçük flaş görüntülerine kalsiyum kıvılcımları adı verilir. (87). Bu kıvılcımların frekansının artması kalsiyum-kapılı K^+ kanalının aktivasyonu ile damar düz kasının hiperpolarize olmasına neden olur (87). Bu hiperpolarizasyon sayesinde hücre içindeki kalsiyum konsantrasyonu azalır ve kas gevşer (87).

3.4.5. Sarkolemma

Kalsiyum iyonunun düz kas hücresinden çıkışı bir $3Na^+/Ca^{+2}$ antiporteri (hücre dışına çıkan her kalsiyum iyonu için hücre içine üç sodyum iyonu girer) aracılığıyla ve sarkolemmal kalsiyum-ATPaz aktivitesiyle meydana gelir (87). Sarkoplazmatik retikulumda kalsiyum konsantrasyonunun azalması, sarkoplazmatik retikuluma yakın sarkolemmadaki kalsiyum deposu görevi gören kalsiyum kanalını aktive eden ve sarkoplazmatik retikulumun hücre dışı sıvıdan gelen kalsiyum ile dolmasını sağlayan kalsiyum giriş faktörünün sarkoplazmatik

retikulum ile sonuçlandırıldığı düşünülmektedir. (87). Kalsiyum giriş faktörü (CIF) ve depo görevi olan kalsiyum kanalının yapı ve mekanizması hakkında net bilgiler yoktur (87). Bu bilgilere dayanarak, düz kasın sürekli kasılma mekanizmasının hücre dışında bulunan kalsiyum iyonuna ihtiyaç duyduğu görülmektedir (87).

3.4.6. Düz Kasta Zar Potansiyelleri

Düz kas ile iskelet kası arasında zar potansiyellerinin nicel değeri farklılık göstermektedir. Düz kaslardaki zar potansiyelleri de kasın aktiflik durumuna göre değişmektedir. İstirahat halindeki düz bir kasın hücre içi potansiyel değeri -50 ile -60 milivolt referans aralığında değişirken iskelet kasıyla kıyaslandığında 30 milivolt kadar daha az negatif bir değer sahibidir (87).

3.4.7. Düz Kas Aksiyon Potansiyellerinin Oluşmasında Kalsiyum Kanallarının Önemi

Düz kas hücre zarı iskelet kası hücre zarı ile kıyaslandığı zaman, düz kas hücre zarının daha az voltaj kapılı sodyum kanallarına sahipken, çok daha fazla voltaj kapılı kalsiyum kanallarına sahip olduğu bilinmektedir. (87). Bu bilgiye dayanarak düz kaslarda aksiyon potansiyeli oluşumunda kalsiyum iyonuna kıyasla sodyum iyonun katkısı çok daha az olduğu bilinmektedir. Aksiyon potansiyeli oluşumunda sorumlu iyon olan kalsiyumun lifin içine doğru akması aksiyon potansiyeli oluşumunda ki en önemli olaydır. (87). Ancak kalsiyum kanalları sodyum kanallarına göre çok daha yavaş açılmakta ve daha uzun süre açık kalmaktadır. Aksiyon potansiyeli oluşurken uzamış platolu grafi çizmesinin düz kaslarda ki mekanizması bu olayla ilgilidir (87).

Aksiyon potansiyeli oluştuğu sırada kalsiyum iyonunun hücre içine girişinin diğer bir önemli özelliği ise, hücre içine giren kalsiyumun düz kas kasılma mekanizmasına doğrudan etki etmesidir (87).

3.5. Miyometriyum

Uterus dokusu, tunika seroza (perimetriyum), tunika muskularis (miyometriyum) ve tunika mukoza (endometriyum) olmak üzere üç tabakadan oluşmaktadır (88). Miyometriyum uterus dokusunu oluşturan en kalın tabakadır. Miyometriyumda bulunan düz kas hücreleri dışta longitudinal ite ise sirküler yapıdadır (89). Endometriyum ise düz bir örtü şeğinde görünür ve dış tarafındaki kas tabakasına yapışık durumda lokalize olmuştur (90).

Uterusun miyometriyum tabakası hem fazik hem de spontan kasılabilen bir düz kas yapısına sahiptir. Miyometriyum tabakada meydana gelen miyometrial kasılmalar hormonal ya da sinirsel bir uyarıya ihtiyaç duymadan kasılabilen miyojenik özelliktedir (91). Miyometrial kasılmalar gebelik süresi boyunca çok aktif olmayan ve koordineli olmayan kasılmalar (Braxton-Hicks kasılmaları) gösterirken gebeliğin sonuna doğru yani doğuma yakın dönemlerde daha aktif kasılmalar için uyarılara hazırdır (92, 93). Bu uyarılar fetal, maternal ve mekanik kaynaklı uyarılardır (94). Doğum sırasında meydana gelen koordineli spontan uterus kasılmaları, miyometriyumda yüksek genlikte ve frekanstaki kontraksiyonların oluşmasına neden olur (95, 96).

3.5.1. Miyometriyumda Uyarılabilirlik ve Kasılma

Uterusun miyometriyum tabakasında meydana gelen miyometrial kasılmalarda ve bu kasılmaların tetikleyici mekanizmasında ki en önemli iyon

kalsiyum iyonudur. Miyometriyumda kasılma ve uyarılmada en önemli iyon Ca^{+2} 'dur. Miyometriyal hücrelerin sitozolünde düşük konsantrasyonda serbest Ca^{+2} bulunurken ($<10^{-7}$ M), hücre dışı sıvıda ve sarkoplazmatik retikulumda daha yüksek konsantrasyonda (10^{-3} M) olduğu bilinmektedir. (97, 98). Miyometrial zarda voltaj kapılı ve ligant kapılı olmak üzere iki tür Ca^{+2} kanalı yer almaktadır (99, 100). İnsan miyometriyumunda yüksek voltajla aktive olan L-tipi (101, 102) ve düşük voltajla aktivasyon gösteren T-tipi (103, 104) olmak üzere 2 çeşit voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallı vardır (105). İnsan ve sıçanlarda düz kasların kasılması için ihtiyaç duyulan ekstrasellüler sıvıda bulunan Ca^{+2} 'un en önemli kaynağı yüksek voltajla aktive olan yani L-tipi Ca^{+2} kanallarıdır.(106, 107). T-tipi Ca^{+2} kanallarının görevi ise spontan Ca^{+2} geçişini kontrol ederek kasılmaların genliğini ve frekansını arttırmaktır (108). Miyometriyal hücre yüzey membranında bulunan Na^{+}/Ca^{+2} pompası aracılığıyla Ca^{+2} iyonları hücre dışına atılmaktadır. Na^{+}/Ca^{+2} pompası ile hücre içine 3 Na^{+} iyonu girerken hücre içinden 1 Ca^{+2} çıkışı sağlanır. Gebe sıçanlarda ise Na^{+}/Ca^{+2} pompası ile yapılan Ca^{+2} un transferinde Ca^{+2} konsantrasyonu % 60 azalırken, Ca^{+2} pompalarıyla bu oran sadece % 30'a kadar düşebilmektedir (109). Ca^{+2} pompasının Ca^{+2} iyonuyla olan afinitesi Na^{+}/Ca^{+2} pompasına göre çok daha yüksektir ve bu yüzden Ca^{+2} iyonunun hücre dışına çıkmasında en önemli rolü Ca^{+2} pompası oynamaktadır (110, 111).

3.5.2. Miyometriyumda Sarkoplazmik Retikulum

Sarkoplazmik retikulum membranında bulunam reseptöre bağlanan IP_3 'ün artışıyla sarkoplazmatik retikulumdan Ca^{+2} iyonunu salgılanır. Bu olay oksitosin gibi agonistlerin G-aracılı reseptörlere bağlanmasıyla olur. Sarkoplazmatik retikulumdan salgılanan Ca^{+2} miktarı intraselüler sıvıda bulunan Ca^{+2} , IP_3 ve

sarkoplazmatik retikulumda depolanan Ca^{+2} konsantrasyonuna bağlıdır.(100, 110, 112). Kalsiyumun sarkoplazmatik retikulumdan salgılanmasındaki 2. mekanizma, sarkoplazmatik retikulum membranındaki Ca^{+2} indüklemeli ryanodin reseptör kanal aracılıklı Ca^{+2} salgılanmasıdır. (110, 113). Sarkoplazmatik retikulumdan Ca^{+2} salgılanmasının bir diğer yolu ise sarkoplazmatik retikulumdan salgılanan Ca^{+2} iyonu konsantrasyonu ile intraselülersıvıda bulunan Ca^{+2} iyonu konsantrasyonu arasındaki konsantrasyon farkının (gradyent) oluşturduğu pasif Ca^{+2} akışıdır. (92).

Ca^{+2} 'nin SR'den salıverilmesinde bir diğer yol ise, SR'deki Ca^{+2} konsantrasyonu ile intraselüller Ca^{+2} konsantrasyonu arasındaki Ca^{+2} gradiyentine bağlı meydana gelen pasif Ca^{+2} akışıdır (92).

Ca^{+2} iyonunun sarkoplazmik retikulumda depolanması, Ca^{+2} gradiyentine karşı çalışan ve sarkoplazmatik retikulumda olan SERCA (sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase) yoluyla olur. Bu mekanizma intraselüler sıvıda bulun Ca^{+2} iyonu konsantrasyonunu azaltır (100, 110).

Sarkoplazmatik retikulumdan Ca^{+2} 'nin spontan olarak salgılanması ve küçük flaş görünümleri sebebiyle Ca^{+2} kıvılcımları olarak adlandırılmaktadır (114). Ca^{+2} kıvılcımları Ca^{+2} -kapılı K^{+} kanallarını aktive ederek hiperpolarizasyon oluştururlar (115). Ca^{+2} -bağımlı Cl^{-} kanallarının aktivasyonuna yol açarak depolarizasyona sebep olur veya diğer sinyal yollarının aktivasyonuyla membran uyarılabilirlik hassasiyetini artırır. (116, 117). Bu durum sadece gebe sıçanlarda görülmektedir (118). Sarkoplazmatik retikulumdan Ca^{+2} 'nin çıkışı,

intraselüler alana Ca^{+2} girişine sebep olur ve bu mekanizma doğum sırasında uyarılabilirliği artırır. (100, 119).

SERCA (sarcoplasmic or endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase) pompaları ve ryanodin reseptörlerinin hücre içinde periferik ve santral olmak üzere iki ayrı lokalizasyonları vardır. Miyometriyal SR; yüzey membranına yakın olan, periferik ya da yüzeysel sarkoplazmatik retikulum ve hücre merkezine yakın olan santral veya derin sarkoplazmatik retikulum olmak üzere iki kısımdan oluşur (92). Düz kaslardaki bu alanlar arasında fonksiyonel yönden de farklılıklar vardır (120). Yüzeysel sarkoplazmatik retikulum, depolarizasyon sırasında hücreye Ca^{+2} girişini sağlarken, derin sarkoplazmatik retikulum ise kasılma için Ca^{+2} iyonu sağlamaktadır. Bu fonksiyonel ayırım insan ve sıçan miyometriyal düz kaslarında gözlemlenmiştir. (92, 119).

3.5.3. Miyometriyum Kasılmasının Elektrofizyolojik Özellikleri

3.5.3.1. Önder odaklar (Pacemaker)

Miyometriyum kasının kasılması için sinirsel ya da hormonal uyarıya ihtiyaç olmaksızın kasılabilen bir kastır. Miyometriyumun spontan kasılmaları yine spontan bir şekilde depolarize olan ve aksiyon potansiyelini ateşleyen önder odak hücrelerinin depolarizasyonu sonucu başlar. Önder odaklar anatomik olarak belirgin veya lokalizasyonları sabit değildir ve özelleşmiş bir yapıya sahiptir (100, 110, 121). Sıçan miyometriyumunda miyozitlerin yaklaşık % 25' i yavaş dalga veya zirve olmaksızın ortaya çıkan aksiyon potansiyeli şeklinde spontan elektriksel aktivite göstermektedir (92). Bir başka çalışmada 18–19 günlük gebe farelerden elde edilen miyometriyal hücreler spontan aktivite gösterirken, 38–39

haftalık gebe insan miyometriyumlarında benzer koşullarda spontan kasılma olmadığı tespit edilmiştir. Uterin miyozitlerin yarık bağlantı yoluyla hücreler arası iletişimi ve bu miyozitlerin miyometriyal kasılmaların uterin sessizlik dönemindeki zayıf ve senkronize olmayan halinden doğumdaki güçlü senkronize kasılmalara geçişindeki etkisi yapılan deneylerde tespit edilmiştir (122, 123).

3.5.3.2. Karakteristik Aksiyon Potansiyelleri

Bazı türlerin miyometriyumlarında basit dikensi potansiyeller ve kompleks potansiyeller olmak üzere iki farklı aksiyon potansiyeli formu gözlenmiştir. Basit dikensi potansiyeller de hızlı bir depolarizasyonu takiben hızlı bir repolarizasyondan gerçekleşirken, L tipi Ca^{+2} kanalları aracılığıyla yayılan Ca^{+2} akımı depolarize fazın en büyük bölümünü oluşturmaktadır. Na^{+} akımının içeri girişiyle hızlı bir inaktivasyon olur. Dikensi potansiyeller 'burst' olarak adlandırılan gruplarda oluşur ve burstlarda ki artışların sayısı ve frekansı kasılma hızı ve amplitüdünü doğrudan etkiler. (124).

Kompleks aksiyon potansiyellerinde ise dikensi potansiyeli takiben sürekli bir depolarizasyon platosu çizen bir aktivasyon gösterir. Bu devamlı depolarizasyon, güçlü Ca^{+2} ve zayıf K^{+} geçişinin bir sonucudur. Oluşan aksiyon potansiyelindeki plato uzunluğu kontraksiyon süresininin uzunluğunu göstermektedir (111).

3.5.4. Hücre İçi Sinyal İletimi Mekanizmaları

Bu hücrelerin hepsi transmembran sinyal sistemlerine sahip olmakla beraber bu sinyal sistemleri, duyuşal uyarılar, hormonlar ve nörotransmitterler yoluyla bilgi alışverişi sağlarlar. Bu sayede hücrelerin birbirleri ile iletişim

kurmasını sağlamış olur. Transmembran sinyal sistemleri efektör bileşen ve reseptör bileşen olmak üzere iki farklı bileşenin bir araya gelmesi ile oluşur. Hücrelerdeki sinyal mekanizmalarında reseptörler hücre dışından gelen uyarıları farkedirken, efektörler ise reseptör denetiminde hücre içi sinyal oluşumunu sağlamaktadır (89). Hücre içi sinyallerin hücre içine girişi dört farklı yolla olmaktadır ancak genel olarak hidrofobik moleküllerin hücre zarından difüzyonu ile, iyon kanalları aracılığı ile, enzim aktivitesine sahip reseptör aracılığı ile ve G protein kenetli reseptör aracılığı ile olmaktadır. Heterotrimerik G proteinleri (Guanin Nükleotit Bağlayan Proteinler) hücre zarının stoplazmik yüzüne yerleşik lokalizasyona sahiptir. Heterotrimerik G proteinleri küçük monomerik GTP (Guanozin Trifosfat) bağlayan proteinleri de kapsayan GTPaz üyesidirler. G proteinleri binden fazla hücre yüzey reseptörü ile kenetlenerek, enzim ve iyon kanalı gibi pek çok efektör üzerinden sinyal iletimine yardımcı olmaktadır. Heterotrimerik G proteinleri aracılığıyla gerçekleşen olaylar, nöronal etkinlik, hormonal etkinlik, duyuşal algılama, hücre büyümesi ve farklılaşması gibi çeşitli sistemlerin düzenlenmesi ile meydana gelmektedir (89). Transmembran sinyal sistemlerinin moleküler düzenlenmesi oldukça karmaşık olması sebebi ile, bazı önemli sinyal moleküllerinin ve G proteinlerinin tarihsel keşfinden bahsetmek gerekmektedir. 1957 yılında Sutherland ve Rall (90, 91) adenilat siklazın, gulkagon, NaF ve epinefrin ile uyarıldığını tespit etmişler ve ürününün Camp (Siklik Adenozin Monofosfat) olduğunu saptamışlardır, ancak G proteinleri ve hormon reseptörlerinin varlığı hakkında yeterli bilgiye sahip değillerdir. Bundan 10 yıl sonra yapılan çalışmalarda hormona duyarlı adenilat siklazın düzenleyici alt birimindeki hormon ligandının allosterik etkileşiminin, katalitik birimin

aktivitesini düzenlediği tespit edilmiştir. 1960'ların sonunda Birnbaumer ve Rodbell (92) yağ hücresi adenilat siklazında yaptıkları çalışmalarda, adenilat siklaz enziminin çeşitli hormon reseptörleri tarafından uyarıldığı ve bu reseptörlerin katalizörlerinden farklı oldukları sonucu elde edilmiştir. Birkaç yıl sonra Orly ve Schramm reseptör ve adenilat siklazın birbirlerinden bağımsız olduğu sonucuna ulaşmışlardır (93). 1981'de Shorr ve arkadaşları β adrenerjik reseptörünü saflaştırmışlar ve hücre zarını yedikez kat eden ilk G protein reseptörünü karakterizasyonunu elde etmişlerdir.. Kısa bir süre sonra Rodbell ve Birnbaumer GTP (Guanozin Trifosfat)'nin adenilat siklaz enziminin hormonal uyarısındaki rolünü belirlemişlerdir (95). Pfeufer ve Helmreich adenilat siklaz kompleksinden GTP (Guanozin Trifosfat) bağlayan bir proteini ayırmışlar (96), 1977'de Ross ve Gilman ise hormona duyarısız adenilat siklaz sistemine GTP bağlayan bir proteini, GTP varlığında ekleyerek uyarının yeniden oluştuğunu saptamışlardır (97). Yani N_s olarak adlandırılan ve şimdi $G_{\alpha s}$ olarak bilinen bu protein yine Gilman ve ark. (97) tarafından saflaştırılarak karakterize edilmiş diyebiliriz.

3.5.4.1. G protein kenetli reseptör (GPCR)'ler

Klasik G protein kenetli reseptörler (G protein coupled receptor-GPCR) ailesi heptahelikal veya serpentin reseptörler olarak adlandırılmaktadır. Son zamanlarda kullanılan bu isimleri, G protein-kenetli reseptörlerin hücre zarını yedi kez kat eden ve hücre dışına bakan bir N ucu ile hücre içine bakan bir C-ucuna sahip olduğunu ifade edilmekte ve bununla birlikte son birkaç yıldır, heptahelikal veya serpentin olmayan bir grup reseptör veya proteinin, biyolojik etkilerinin bir kısmını heterotrimerik G proteinlerinin aracılığı ile gerçekleştirdikleri saptanmıştır

(98). Bu reseptörler, hücre dışı bir ligand bağlama bölgesi, bir transmembran bölge (domain) ve bir sitozolik bölgeye sahip, hücre zarını bir kez kat eden ve protein tirozin kinaz etkinliğine sahip proteinlerdir ve klasik olmayan GPCR'ler olarak bilinmektedirler (99). Epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin, insülinbenzeri büyüme faktörü (IGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) reseptörleri bu ailenin birer üyeleridir (100, 103). Klasik GPCR'ler lipitler, peptitler, proteinler, nükleotitler, biyojenik aminler, ışık veya koku gibi farklı tipteki pek çok uyarandan etkilendir ve guanin nükleotitlerini bağlayan heterotrimerik G proteinleri ile kenetlenerek enzim ve / veya iyon kanalları dahil olmak üzere çeşitli efektörlerin etkinliğini düzenlemektedirler. Salgı hızının kontrolü, kas kasılması ve metabolik işlemler gibi kısa dönemli etkiler ve büyüme ile farklılaşma gibi uzun dönemli etkiler GPCR'ler tarafından düzenlenmektedirler. Klasik GPCR'lerin 1000'den fazla üyesi olduğu bilinmekle beraber yapısal farklılıklarına göre üç grupta sınıflandırılmaktadırlar (104). Bu gruplar içinde en geniş ve en çok çalışılan, rodopsin / β -adrenerjik reseptör benzeri reseptörleri kapsayan A grubudur. A grubunun üyelerinin hepsinde korunmuş olan kalıntı Asp-Arg-Tyr motifindeki arjinin olarak bilinmektedir. A reseptör grubunun büyük bir bölümünde, ikinci ve üçüncü hücre dışı ilmikleri (ECL2 ve 3) bağlayan bir disülfid köprüsü bulunur; ayrıca karboksil ucunda palmitoyillenmiş bir sistein kalıntısı dördüncü hücre içi ilmiği oluşturmaktadır. B grubu reseptör üyeleri, disülfid köprü ağı oluşturduğu düşünülen, birçok sisteinin yer aldığı uzun bir amino ucu ile tanımlanmaktadır. B reseptör grubunda A reseptör grubuna benzer, ECL2 ve 3'ü bağlayan bir disülfid köprüsü bulunmakla birlikte, palmitoyillenme bölgesinin eksik olduğu

bilinmektedir. B reseptör grubu çeşitli peptit, hormon ve nöropeptitleri bağlar. C reseptör grubu üyeleri 500-600 amino asitten oluşmuş, olağan dışı uzunlukta bir amino ucu ile tanımlanmıştır. Metatropik glutamat reseptörler, GABA reseptörleri ve kalsiyum reseptörleri gibi üyeleri olan C reseptör grubu, ECL 2 ve 3'te yerleşik sisteinler dışında A ve B reseptör grubu üyeleri ile ortak amino asitler içermemektedirler (101).

3.5.4.2. İyon kanalları

G proteinlerinin K^+ , Na^+ ve Ca^{+2} seçici iyon kanallarının açılıp-kapanmasında ve modülasyonunda önemli rolleri olduğu bilinmektedir. Kalp K^+ kanalları gibi örneklerde iyon kanallarının G proteinlerince doğrudan düzenlenmesi çok olası olsa da, iyon kanal etkinliğinin ölçümlerindeki teknik zorlukları nedeniyle ikinci haberciler gibi dolaylı mekanizmaları göz ardı etmek mümkün değildir (125, 126). G proteinleri birçok Ca^{+2} kanalını düzenler ve Voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları fonksiyonel olarak L-, N-, T- ve P tipi olarak sınıflara ayrılmaktadır. Nöronlardaki w-conotoxin'e duyarlı L- ve N-tipi Ca^{+2} kanalları ile kalpteki L-tipi dihidropiridine duyarlı Ca^{+2} kanalı, G proteinleri ile düzenlenmektedir (127, 128). Voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarının G protein kenetli reseptörler tarafından inhibisyonu ilk kez civciv dorsal kök gangliyon preparasyonlarında ve hemen bunun arkasından pek çok hücre soyunda tespiti görülmüştür (129). Ayrıca bazı çalışmalar, opioid ve katekolamin reseptörleri ile kenetlenen $G_{\alpha o}$ 'nun Ca^{+2} kanallarının inhibisyonunda rolü olabileceğini işaret etmektedir (130).

3.5.4.2.1. Na⁺ kanalları

Kalp hücrelerinin β adrenerjik uyarılmasında, hızlı Na⁺ akımı baskılanmakta ve bu Na⁺ akımının baskılanmasında G α s' in doğrudan etkisi olduğu öngörülmektedir (131). Böbrek epitel hücre soyundaki amilorid' e duyarlı Na⁺ kanalının boğmaca toksinine duyarlı mekanizma ile uyardığı netleşmiştir. Bazı çalışmalar G α i3' ün Na⁺ kanalı aktivasyonunda rolü olduğunu öne sürmektedir (132). Bu kanalın düzenlenmesinde dolaylı mekanizmaların da rolü olduğu düşündürücüdür.

3.5.4.2.2. Cl⁻ kanalları

Kalp ve epitel hücrelerdeki Cl⁻ kanallarının uyarılmasının G protein bağımlı olarak gerçekleştiği bilinmekte ve hava yolu epitel hücrelerindeki kistik fibroz transmembran iletken düzenleyici (CFTR) kanalın, boğmaca toksinine duyarlı G proteinleri ile baskılanabileceği ısıpat edilmiştir. Henüz tanımlanmamış bir kalp Cl⁻ kanalının G α s ile doğrudan düzenlendiği bildirilmiş ancak ikinci habercilere bağımlı mekanizmalar da dikkate alınmalıdır (133).

3.5.4.2.3. GIRK (G protein-Gated inwardly rectifying (K⁺) kanalı

GIRK (G protein kapılı içe doğru düzeltilmiş K⁺) kanalları, kalpte, endokrin dokularda, merkezi ve periferel sinir sistemlerinde bulunurlar ve yavaş baskılayıcı postsinaptik sinyal ile hormon salgılanmasını, boğmaca toksinine duyarlı GPCR' ler aracılığı ile kontrol altına alırlar (134). GIRK kanallarının uyarılması, boğmaca toksinine duyarlı G protein (G α i / o ve G α q / 11)' inden serbestlenen $\beta\gamma$ dimerinin doğrudan kanala bağlanmasıyla olmaktadır (130). Merkezi sinir sisteminde hipokampusdaki GIRK kanalları, postsinaptik ucda K⁺ iletkenliğini artırılarak inhibitör nörotransmitter geçişine aracılık etmekte ve

otonom sinir sistemindeki GIRK kanalları ise vagus siniri aracılığıyla parasempatik sistem tarafından düzenlenmesiyle ilişkilendirilmektedir.

3.5.5. Miyometriyumda G Protein Sinyal Yolları

Miyometriyumda bulunan G proteinleri intraselüler sinyalleşmeyle ilişkili olup miyometriyal kasılma ve gevşemenin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hücre içinde Ca^{+2} artışıyla PLC, G protein bağlı plazma membran reseptörlerinin aktivasyonu sonucu stimüle edilmekte ve bu mekanizma ayrıca kalsiyum kanalları aracılığıyla da kalsiyum girişini de uyarmaktadır. G proteinleri 7 transmembran bölgeye sahip olarak plazma zarındaki hücre yüzeyi reseptörleri ve efektörleri ile kenetlenerek hücresel sinyal iletiminde önemli roller almaktadır. G proteinleri GTP' nin bağlandığı ve hidrolizlendiği bir α altbirim ile bir $\beta\gamma$ kompleksinden oluşur (101). α altbirimi guanin nükleotit bağlama bölgesi ile doğal GTPaz etkinliğinden sorumlu bölgeyi içerir ve ayrıca, G proteinlerinin reseptör ve efektör ile etkileşimlerinin özgünlüğünü sağlar. G proteinlerinin özgünlüğünü tanımlayan α altbirimleri aminoasit dizilerinin benzerliğine göre $G_{\alpha s}$, $G_{\alpha i} / o$, $G_{\alpha q} / 11$ ve $G_{\alpha 12} / 13$ olmak üzere dört aileye ayrılmıştır ve etkileştikleri efektör moleküllerde farklılıklar olduğu bilinmektedir (101). $G_{\alpha i/o}$ ailesinin üyelerinden olan $G_{\alpha i}$, adenilat siklazın baskılanması ile cAMP derişiminde azalmaya neden olan G proteindir ve $G_{\alpha i1}$, $G_{\alpha i2}$, $G_{\alpha i3}$ olmak üzere üç tipi vardır. PLC' nin oluşturduğu IP_3 ve DAG gibi ikinci habercilerin düzenleyicisi ise $G_{\alpha q} / 11$ ' dir (136, 137). PLC' nin G protein aracılı düzenlenmesinde iki farklı mekanizma vardır ve bu mekanizmalar boğmaca toksini inhibisyonuna duyarlılıklarına göre ayırt edilebilmektedir. PLC β izoformlarının hepsi G proteinlerinden boğmaca toksinine duyarsız $G_{\alpha q} / 11$

ailesinin üyeleri ile uyarılabilmekte ayrıca PLC β 'nin boğmaca toksinine duyarlı düzenlenmesinin $G_{\alpha i}$ / o ailesinin boğmaca toksine duyarlı üyelerinin $\beta\gamma$ altbirimleri aracılığı ile gerçekleştiği bilinen gerçekler arasındadır. G proteinleri inaktif (sessiz) durumdayken α altbirimi, $\beta\gamma$ kompleksi ve GDP birbirine bağlı durumdadır. Bu durumda G proteini hücre dışı reseptörle ya da hücre içi efektör sistemleri ile etkileşimi söz konusu değildir. Bir sinyal molekülünün G protein kenetli reseptöre bağlanmasıyla reseptör uyarılmakta ve uyarılan reseptör, α altbiriminin guanin nükleotit bağlama bölgesinden GDP'nin serbestlenmesine ve yerine GTP'nin bağlanmasına yol açmaktadır. GTP'nin bağlanması, G proteininde yapısal değişikliğe neden olur ve GTP bağlı α altbirimi, uyarılmış reseptörden ve $\beta\gamma$ 'den ayrılmaktadır. Sonra, hem α altbirimi hem de $\beta\gamma$ kompleksi iyon kanalları ya da enzimler gibi efektörlerin aktivitesini düzenlemektedirler (136, 138).

İnsan miyometriyumunda çeşitli G proteinleri tespit edilmiştir. $G_{\alpha s}$ adenil siklaz aktivitesini uyarır, $G_{\alpha 1-3}$ izoformları ve $G_{\alpha 0}$ adenil siklazı inhibe eder, $G_{\alpha q}$ ve $G_{\alpha 11}$ PLC aktivitesini etkiler ve tüm bu proteinler gebe ve gebe olmayan kadınlarda görülmüştür (138, 139). $G_{\alpha 1}, G_{\alpha 3}, G_{\alpha q}, G_{\alpha 11}$ proteinleri gebe ve gebe olmayan kadınlarda benzer seviyelerde iken, gebelerde $G_{\alpha 0}$ artmıştır ve $G_{\alpha 12}$ azalmıştır. Ancak en önemlisi $G_{\alpha s}$ ekspresyonunun gebelerdeki büyük orandaki artışı $G_{\alpha s}$ 'ye bağlı adenil siklaz aktivitesinin artmasına yol açması olmuştur. Böylece gebelik boyunca intrasellüler cAMP seviyesi artmakta ve bu da uterin sessizliğe yol açmaktadır (140).

3.5.5.1. Miyometriyumda Fosfolipaz C

Hücre dışında bulunan agonistlerin reseptöre bağlanması sonucu G proteini aracılığıyla PLC aktive olur. OT, vazopressin, prostaglandin F2 alfa (

PGF2 α) gibi birkaç hormon PLC yolağını kullanan reseptörler üzerinde etkisini göstermektedir. Uyarılmış reseptörün G proteinini stimülasyonu sırasında dissosiasiyeye olan α alt birim PLC'yi aktive eder ve daha sonra bu enzim miyometriyum hücre membranında bulunan fosfatidilinozitol bifosfatın iki ayrı ikinci haberciye, DAG ve IP₃'e parçalanmasına neden olur (140). IP₃ sitozolden geçerek SR zarında bulunan IP₃'e duyarlı Ca⁺² kanallarına bağlanarak Ca⁺² salgılanmasına neden olurken, DAG ise protein kinaz C (PKC) enzimini aktive etmektedir. PKC bazı proteinleri fosforilleyerek hücre çoğalmasında görev almaktadır (140, 141).

3.5.5.2. Miyometriyumda Adenilat Siklaz

Adenilat siklaz enzimi ATP'den cAMP üretmekte ve cAMP etkisini inaktif protein kinaz A enzimini aktive ederek göstermektedir. Protein kinaz A, bir hücrenel protein olan MLCK'yi fosforile eder ve bu enzimin kalsiyum kalmodulin kompleksine olan affinitesini düşürür ve böylece miyometriyal gevşemeye yol açar (99). Aynı zamanda protein kinaz A, PLC'yi inhibe ederek kalsiyum girişini ve kalsiyum pompalarının aktivasyonunu inhibe ederek de düz kaslarda gevşemeye yol açmaktadır (99).

3.5.5.3. Miyozin Hafif Zincir Fosforilasyonu, Kasılma ve Gevşeme

Miyometriyal düz kaslardaki kuvvet üretimi intrasellüler Ca⁺² konsantrasyonuyla düzenlenmektedir. Ca⁺² konsantrasyonundaki artış Ca⁺² kalmodulin kompleksinin şekillenmesine ve miyozin hafif zincirlerin fosforile olarak aktomiyozin çapraz köprü formasyonuna yol açar ve kasılma gerçekleşmiş olur. İntrasellüler Ca⁺² konsantrasyonu azaldığında, MLCK aktivasyonu durur ve miyozin hafif zincir fosfataz aracılığıyla MLC defosforile olarak gevşeme olur .

MLC' nin defosforilasyonu miyozin ATPaz' ın aktivasyonunu inhibe eder böylece çapraz köprü siklusu bazal seviyesine dönmüş olur (110, 111).

AMAC

Çalışmanın temel amacı, bir melatonin reseptör agonisti olan agomelatinin, gebe ve gebe olmayan sıçanlar üzerindeki uterin kontraksiyonları üzerine etkisinin incelenmesinin yanısıra gebe olmayan sıçanlardaki kronik kullanıma bağlı siklus değişimi, gebelikte farklı dönemlerde kullanıma bağlı gebelik süresi, bir batındaki fetal sayı ve hipotalamik hipofizer adrenal akstaki üreme hormonlarındaki değişimi incelemeyi amaçladık. Daha önce yapılan çalışmalarda melatoninin ueterin kontraksiyonlar üzerinde ki inhibitör etkinliğinin bilinmesi ve bir melatonin türevi olan agomelatinin de gerek kontraksiyon gerekse gebelik süresi ve fetal sayı ile ilgili muhtemel etkinliğini açıklığa kavuşturmak temel hedefimizi oluşturmuştur. Elde ettiğimiz bulguların özellikle gebelik döneminde uygulanması yönünden B kategorisinde olan agomelatinin muhtemel etkinliğini ortaya çıkararak klinikte kullanımı açısından karanlık olan noktaları aydınlatacağını düşünmekteyiz. Ayrıca agomelatinin gebe sıçanlar üzerinde kontraksiyonları nasıl değiştirdiğiyle ilgili yeterli çalışma bulunmaması, yapmış olduğumuz bu tez çalışmasının bilimsel değerini ve önemini arttırmıştır. Bu tez çalışmasının gerçekleştirilmesiyle elde edilecek sonuçlar, agomelatin adlı antidepresanın gebeliğin ilk dönemlerinde oluşturduğu miyorelaksan etkisiyle abort riskini azaltacağı ihtimali ve gebeliğin son dönemlerinde postmature gebeliğe sebep olacağı gibi önemli sonuçlardır. Elde edilecek sonuçların, agomelatinin gebelik döneminde bilinmeyen ve istenmeyen etkilerinin ortadan

kaldırılarak gebelik kalitesini arttırması amaçlamakta ve agomelatin-gebelik ve doğum etkileşimlerini konu alan yeni çalışmalara ışık tutar nitelikte olacaktır.



4. MATERYAL METHOD

4.1. Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri

Çalışmamızda FÜDAM'dan (Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezini) alınan, düzenli siklus gösteren ve ortalama 200-250 g ağırlığında 70 adet Wistar Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar metal kapaklı plastik kafeslerde, $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık ortamda beslenmiştir (Şekil-10). Su olarak çeşme suyu ve yem olarak da Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen Özel sıçan yemi olan pelet yemler kullanılmıştır.



Şekil 10: Deneklerin (sıçanların) bakım ve beslenmelerinin yapıldığı metal kapaklı plastik kafes.

4.2. DeneY Hayvanlarının Hazırlanması

Sıçanlarda meydana gelen siklus döngüsü ortalama 4–5 gün sürmektedir ve siklus döngüyü tamamlayan 5 evre vardır: proöstrus, östrus, metöstrus ve diöstrus. Proöstrus 12–14 saat, östrus 25–27 saat, metöstrus 6–8 saat ve diöstrus 55–57 saat sürmektedir. Deneyimizi oluşturan gruplar için yapılan siklus takiplerinde sıçanların östrus siklusları günlük olarak sabah 08.00–09.00 saatleri arasında vajinal smear yöntemi ile yapıldı. Sıçanlardan alınan vajinal sürüntü örnekleri mikroskop altında incelenerek östrus dönemindeki hayvanlar tespit edilerek her kafeste 1 dişi 1 erkek olacak şekilde kafeslere yerleştirildi ve bir gün çiftleştirilmeye bırakıldı. Bir gün sonra vajinal sürüntüde sperm tespiti yapılan hayvanlar gebe kabul edilerek o gün gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Gebeliğin başlangıç tarihi aynı gün olan hayvanlar aynı kafeslerde muhafaza edilerek doğuma bir hafta kala ayrı kafeslere alındı deney gününe kadar takip edildi.

4.3. Krebs solüsyonunun hazırlanması

İn vivo ortamdaki fizyolojik yaşam şartlarının in vitro ortamda da sağlamak amacı ile hazırlanan krebs çözeltisi, düz kas hücrelerinin kasılabilirlik özelliklerini in vitro ortamda maksimum düzeyde sürdürmesinin sağlayan çözeltidir. S pH'ı 7.4 olarak ayarlanan krebs solüsyonunun içeriği ve Mm/L olarak aşağıda ki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 2: Krebs solüsyonu içeriği (nM/L)

NaCl	11,8
KCl	4,7
MgSO ₄	1,2
Glikoz	11,5
CaCl ₂	2,4
KH ₂ PO ₄	1,18
NaHCO ₃	15,8
EDTA	0,016

4.4.Ratlarda Siklus Takibi

4.4.1. Östrus Evresi Takibi

Sıçanlar meydana gelen menstrual döngü diöstrus, proöstrus, östrus ve metaöstrus olmak üzere 4 evreden oluşmaktadır ve döngünün ortalama tamamlanma süresi 4-5 gündür. Siklus takibi yapılırken vajinal smear yöntemi kullanılarak smear örnekleri alınmıştır. Alınan smear örnekleri mikroskop altında incelenerek hangi siklus evresinde olduğuyla ilgili durum tespiti yapılmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen hayvanların en az 14 gün siklus takibi yapılarak siklus evrelerinin düzenli olup olmadığı ile ilgili inceleme yapılmış ve düzenli siklus gösteren sıçanlar seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda diöstrusta dekapite edilen hayvan gruplarının yanısıra gebe bırakılan hayvanlarda olduğu için östrus evresinde olan sıçan tespitine de ihtiyaç duyulmuştur.

4.5. İzole Organ Banyosu Deney Düzeneği

Çalışmamızda dört hazneli bir izole organ banyosu sistemi kullanılmıştır (Şekil-11). Her hazneye farklı deney hayvanlarına ait düz kas numunesi olan uterus şeritleri ile çalışılmıştır. 37 °C' de sabit tutulan hazneler ile %95'lik oksijen ve %5'lik karbondioksit gaz karışımı ile havalandırılarak krebs solüsyonuyla in vitro ortam oluşturulup düz kas dokularının kontraksiyonlarının incelendiği ısı ceketli çift çeperli bir cihazdır.



Şekil 11: izole organ banyosu deney düzeneği.

Bu cihaz, krebs solüsyonunun depolandığı bölme, organ banyosu hazneleri, Oksijen-karbondioksit kaynağı, kanal ve kapak sistemleri, termosirkülator, izometrik transduser, amplifikatör ve kayıt ünitesi olmak üzere 8 kısımdan oluşmaktadır.

1. Krebs solüsyonunun depolandığı bölme
2. Organ banyosu hazneleri
3. Oksijen-karbondioksit kaynağı

4. Kanal ve kapak sistemleri
5. Termosirkulatör
6. izometrik transduser
7. Amplifikatör
8. Kayıt ünitesi

4.5.1. Krebs Solüsyonunun Depolandığı Bölme

Bölmenin hacmi 500 ml olmakla beraber iki katmanlı bir yapıya sahiptir. Bu iki katman arasında termosirkulatörden sisteme gelen sabit ısıdaki su bulunmaktadır. Bölmenin iç tarafında bulunankatmanın içi krebs solüsyonu ile doludur ve buradan istenilen miktarda krebs solüsyonu alınarak kullanılmaktadır.

4.5.2. Organ Banyosu Hazneleri

Farklı dört organ banyosu haznesi vardır ve bu hazneler 5 ml hacimesahiptir. Krebs solüsyonu bölmeleri gibi bu haznelerde iki katmanlı yapıya sahiptir ve bu iki katman arasında termosirkulatörden gelen sabit ısıdaki su ile doludur. Organ banyosu haznelerinin içteki katmanının içinde krebs solüsyonu ve çalışmada kullanılan düz kas doku şeritleri yer almaktadır. Çalışmada kullanılan uterus (myometrium) şeritleri iki çengel arasında ipek iplik yardımıyla dokular krebs solüsyonu içinde kalacak şekilde asılmaktadır.

4.5.3. Oksijen-Karbondioksit Kaynağı

İn vitro ortamda düz kas hücrelerinin kasılabilmesi için gereken gaz karışımı % 95 O₂ ve % 5 CO₂ karışım oranları ile sağlanmaktadır. İzole organ

banyosu ve kayıt sisteminde de hazırlanan bu gaz karışımı haznelere kesintisiz sirküle edildi.

4.5.4. Kanal ve Kapak Sistemleri

İzole organ banyosunda bulunan bu sistem krebs solüsyonunun tüm haznelerde sürekli dolaşımını sağlamaktadır.

4.5.5. Termosirkülatör

İçinde distile su bulunan termosirkülatör, bu suyu 36.7 °C'ye kadar ısıtmakta ve ısıtılan su krebs solüsyonunun depolandığı alan ve organ banyosu haznelerinde ki iki katman arasında bulunan boşluklara gitmektedir. Termostat hassasiyet aralığı $36,7 \pm 0,1$ °C olan bu sistemde ısıtılmış su iki katman arasındaki boşlukta dolaşmakta ve bu sayede dokuların bulunduğu ortamın vücut sıcaklığında olmasını sağlamaktadır.

4.5.6. İzometrik Transduser

Organ banyosu hazneleri içine yerleştirilen düz kas doku şeritlerinde meydana gelen kontraksiyonlar, çengeller arasında dokunun bağlandığı ipek ipliklerde oluşturduğu fiziksel kuvvetler algılanarak elektriksel sinyallere çevrilir ve değerlendirme ünitesine gönderilir.

4.5.7. Amplifikatör

Dokuların kasılma sonucu oluşturduğu fiziksel kuvvetle oluşan elektriksel kuvvetler transduserden amplifikatöre gelir ve bu sinyalleri amplifiye edilerek büyütülür.

4.5.8. Kayıt Ünitesi

Yapılan çalışma sonuçlarının çalışmacılar tarafından takip ve gözleminin yapılmasını sağlayan bilgisayar ve Biopac adlı yazılım programından oluşmaktadır. Çalışmaya ait sonuçlar pikler şeklinde monitöre yansımakta ve piklerin frekans, entegre alan ve amplitütlerine bakılarak çalışma ile ilgili önemli yorumlanabilir datalar elde edilmektedir.

4.6. Agomelatinin Hazırlanması

Çalışmamızda tken maddesi agomelatin olan ve valdoxan ticari ismiyle bilinen antidepresan kullanılmıştır. Agomelatin alan tüm deney grupları için, deney süresi boyunca düzenli olarak hergün 10.00-12.00 saatleri arasında oral gavaj yöntemi kullanılarak 10 mg/kg agomelatin 0.2 mL serum fizyolojik (%0.09 NaCl) ile çözdürülerek verilmiştir.

4.7. ELİSA Yöntemi

Aprotinin içeren kan tüplerine (BD, A.B.D) her sıçandan yaklaşık 4-5 MI kan alınarak, 5000 rpm hızında 10 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte kalan serum kısmı mikropipet ile her bir ependrofa 200 µL olacak şekilde ayrılmış ve buz dolabında -20 °C'de ELISA yapılana kadar muhafaza edilmiştir.

ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) yöntemi özgül antijen ve antikor bağlanmasını göstermek üzere, enzimle işaretli konjugat ve enzim substratı kullanılarak renk oluşumu esasına dayanan serolojik testlerden biridir. Çalışmada neye özgü olduğunu bildiğimiz antijen ve örneklerdeki antikorun modelini ve miktarını tespit edebilirken, elimizde bulunan bir antikorun da antikora özgü olan antijen ve miktarını da tespit edebiliriz. Çeşitli ELİSA

yöntemleri mevcut olmakla beraber, tez çalışmamız kapsamında indirekt mikro ELISA yöntemi kullanılmış ve östrojen, progesteron, oksitosin ve prostoglandin E düzeyleri belirlenmiştir.

Serum estradiol benzoat düzeylerini belirlemek için sıçan estradiol kiti (Estradiol EIA kit, SunRed Laboratory Catalogue No:201-11-0175) kullanıldı ve elde edilen optik dansiteler ELISA cihazında (Thermo Scientific, A.B.D) 450 nm dalga boyunda okutulularak belirlendi.

Serum oksitosin düzeyleri sıçan oksitosin kiti (Rat oxytocin (OT) ELİSA Kit, SunRed Laboratory Catalogue No:201-111725) kullanıldı ve kit protokolü doğrultusunda belirlendi. Elde edilen optik dansiteler ELISA cihazında (Thermo Scientific, A.B.D) 450 nm dalga boyunda okutulularak belirlendi.

Serum progesteron düzeyleri sıçan oksitosin kiti (Rat Progesterone (PROG) ELİSA Kit, SunRed Laboratory Catalogue No:201-11-0742) kullanıldı ve kit protokolü doğrultusunda belirlendi. Elde edilen optik dansiteler ELISA cihazında (Thermo Scientific, A.B.D) 450 nm dalga boyunda okutulularak belirlendi.

Serum prostoglandin-E düzeyleri sıçan oksitosin kiti (Rat Prostoglandin E2 (PGE2) ELİSA Kit, SunRed Laboratory Catalogue No: SRB-T-86655) kullanıldı ve kit protokolü doğrultusunda belirlendi. Elde edilen optik dansiteler ELISA cihazında (Thermo Scientific, A.B.D) 450 nm dalga boyunda okutulularak belirlendi.

4.8. Deney Protokolleri

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezin'den (FÜDAM) temin edilecek, yetişkin, düzenli siklus gösteren 74 adet intak dişi

sıçan çalışmaya dahil edilmiştir. Deney grupları oluşturulurken hayvan seçimi yapmadan önce, her hayvanın siklus takibi her gün aynı saatte (08.00-10.00) en az 14 gün yapılmış ve çalışmaya siklus takibi sonrası dahil edilmiştir. Diöstrusta dekapite edilen deney gruplarımız 7'şer hayvandan oluşturulurken, gebe bırakılan ve doğumda dekapite edilen deney gruplarımız ise 10'ar hayvandan oluşturularak 8 farklı deney grubu oluşturulmuştur. Grup sayısı istatistiksel analiz için en az 7 hayvana gereklilik bulunması ve muhtemel gebe kalmayacak hayvanların bulunabilme ihtimaline karşı denekleri gebe bırakılan her grupta 10 hayvan olması planlanarak gebe deney grupları 10 hayvandan oluşturulmuştur. Bazı deney gruplarında sıçanlar kronik olarak agomelatin kullanmaktadır, en az 14 günlük kullanım süresi kronik kullanım diyebilmemiz için yeterli kabul edilmiştir. Agomelatin kullanan gruplarda, agomelatin oral gavaj yolu ile verilecektir ve etken maddesi agomelatin olan Valdoxan kullanılacaktır. 14 günlük süre boyunca her gün saat 10:00-12:00 saatleri arasında oral gavaj ile 10 mg/kg agomelatin 0,2 mL serum fizyolojik ile çözdürülerek verilmiştir. Deney gruplarından sex hormonları düzeyleri incelenmek üzere alınacak olan kanlar, dekapitasyon sonrası her tüpe 5 ml olacak şekilde alınmıştır. Alınan kanlar 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra ELİSA kitiyle sex hormonları (oksitosin, progesteron, prostoglandin E, östrojen) düzeyleri incelenmek üzere -20 °C' de muhafaza edildi ve daha sonra dekapite edilen hayvanların karın bölgeleri açılarak, uterusları dokuları hızlı bir şekilde çıkarılmıştır. Uterus dokuları alınan örnekler, içerisinde Krebs solüsyonu bulunan petri kaplarına alınıp bu uteruslardan 1-2 cm uzunlukta, 2 mm genişlikte ve 1 mm kalınlıkta küçük longitudinal miyometriyum kesitleri izoleorgan banyosunda asılmak üzere hazırlandı. Kesitler izole organ

banyosundaki cam hazneler içerisinde ki düzeneğe 1 gr gerim uygulanarak yerleştirilip izometrik kasılmalar kayıt altına alınmıştır. Dokuların ortama uyum göstermeleri ve spontan kasılmaların elde edilmesi için kasılmalar 1 saat uygulama yapmadan izlenmiştir. Düzenli spontan kasılmalar görüldükten sonra spontan ve oksitosin indüklü miyometryum şeritlerine 3 ayrı protokol şeklinde agomelatin (50µM, 100µM and 200µM) verilmiştir. Dekapite edilen hayvanlardan kontraksiyon yönünden incelenmek üzere alınan uterus dokularına ek olarak, folikül rezervinin immünohistokimyasal olarak tespiti için over ve beyin dokularında kisleptin ve melatonin ekspresyon değişiminin histolojik ve genetik yönden incelenmesi sonraki çalışmalarda incelenmek üzere beyin ve MT1-MT2 reseptör düzeylerinin immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi için uterus dokusu çıkarılmıştır. Hem diöstrus evresinde dekapite edilen deney gruplarımız hem de gebeliğin söz konusu olduğu deney gruplarımız olduğu için 2 farklı deney protokolü oluşturulmuştur (Grup isimlerinde kısaltma kullanılmıştır örneğin; Diö: diöstrus, Gö: Gebelik öncesi, tr: Trimestir, hafta).

1. Deney Protokolleri

Diö; Diöstrus (n=7)

Ago-diö; Kronik agomelatin uygulanan (14 gün-10mg/kg) diöstrus (n:7)

2. Deney Protokolleri

Kontrol (gebe); Kontrol gebe (n=7)

Gö; Gebelik öncesi kronik (14 gün-10mg/kg) agomelatin uygulanan gebe kalınca uygulanmayan (n=7)

Gö2tr; Kronik (14 gün-10mg/kg) agomelatin uygulanan, gebeliğin ilk 2 trimestıra (14-15 gün) kadar devam eden (n=7)

2tr; Gebe kalınca uygulanmaya başlanan ilk 2 trimestıra (14-15 gün) kadar agomelatin uygulanmaya devam edilen (n=7)

3tr; Gebe kalınca agomelatin uygulanmaya başlanıp doğuma kadar uygulanan (10mg/kg) (n=7)

Gö3tr; Kronik (14 gün-10mg/kg) agomelatin uygulanan ve doğuma kadar uygulanmaya devam edilen (n=7)

5. BULGULAR

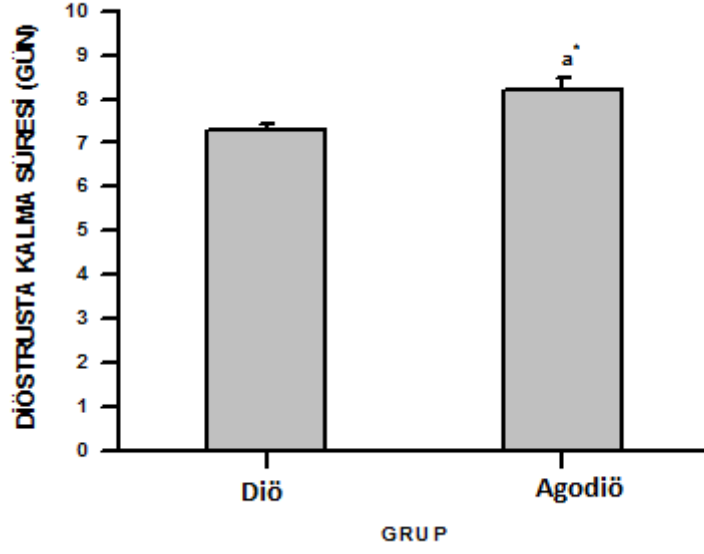
5.1. Siklus Değişimi, Doğum Süresi ve Yavru Sayısına Ait Bulgular

5.1.1. Siklus Değişimine Ait Bulgular

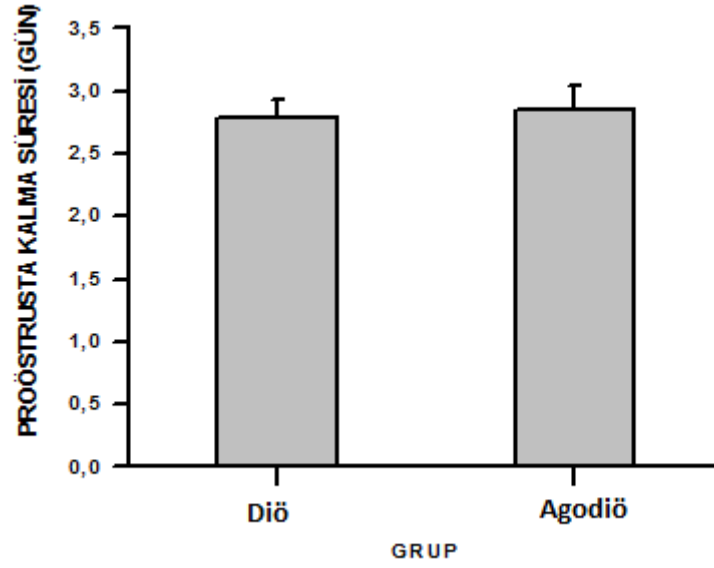
Çalışmamızda disöstrusta dekapite edilen deney gruplarına, diğer gruplarda olduğu gibi gruplara dahil edilmeden önce siklus takibi yapıldı. Agomelatini kronik olarak kullanan (en az 14 günlük kullanım kronik kullanım için yeterli) Ago-diö grubumuzdaki hayvanlarda siklus döngüsünün Diö grubu ile karşılaştırıldığında uzadığı tespit edilmiştir. Diöstrus evresinde kalma süreleri dikkate alındığında, Ago-diö grubu deneklerinin bu evrede daha uzun kaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Diö ve Ago-diö gruplarına ait siklus takipleri sonucunda, hangi grubun hangi evrede ne kadar süre kaldığı aşağıdaki tabloda verilmiştir. Tablo-3' de verilere ait grafikler aşağıdadır.

Tablo 3: Siklus takibi yapılan deneklerin diöstrus, proöstrus ve östrus evresinde kalma süreleri

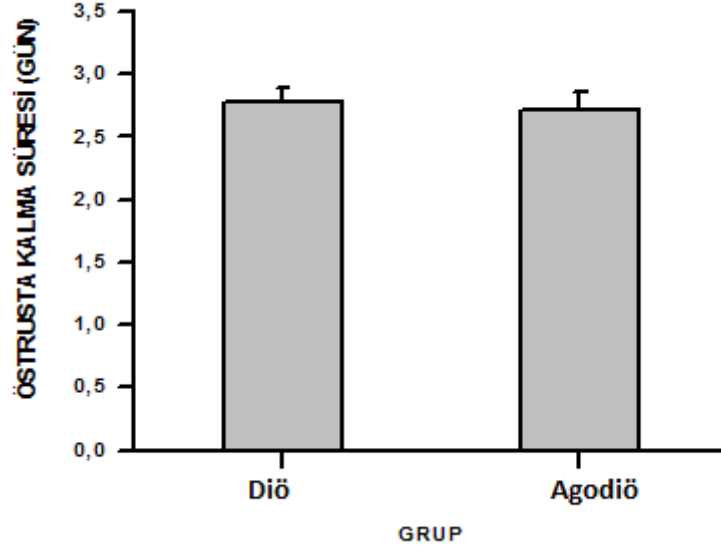
GRUP	DIÖSTRUS	PROÖSTRUS	ÖSTRUS
Diö	7,2857±0,1486	2,7857±0,1486	2,7857±0,101
Ago-diö	8,2143±0,2857	2,8571±0,1797	2,7143±0,1486



Şekil 12: Siklus takibi yapılan deneklerin diöstrus evresinde kalma süreleri.



Şekil 13: Siklus takibi yapılan deneklerin proöstrus evresinde kalma süreleri.



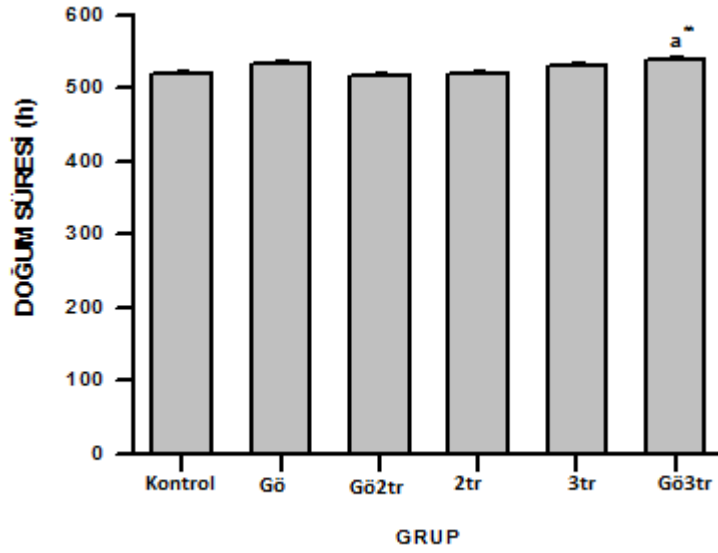
Şekil 14: Siklus takibi yapılan deneklerin östrus evresinde kalma süreleri.

5.1.2. Doğum Süresine Ait Bulgular

Gebe olan 6 deney grubundan agomelatin uygulanmayan yani kontrol gebe grubu haricindeki diğer gruplara gebelikten önce ve gebeliklerinin farklı dönemlerinde oral gavaj yöntemi ile agomelatin uygulanmıştır.

Tablo 4: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin kullanan deney gruplarının gebelik süreleri (saat).

Gruplar	Doğum Süresi(error)
Kontrol	520,6±3,28701
Gö	534,3636±3,54778
Gö2tr	517±3,96653
2tr	519,8182±4,23152
3tr	531,2±3,29242
Gö3tr	539,625±1,30845



Şekil 15: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulamasının deney gruplarında ki gebelik süresine etkisi

Gebelik sürelerinin istatistiksel analizleri sonucunda, diğer grupların kontrol gebe grubu ile karşılaştırılması sonucunda Gö3tr grubunun gebelik süresinin uzadığı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu ($p<0.01$) tespit edilmiştir. Ayrıca agomelatinin kronik olarak uygulanıp gebeliğin son trimesterinde uygulanmayan Gö2tr grubu ile agomelatinin gebelik öncesi ve sonrasında doğuma kadar uygulandığı Gö3tr grubunu karşılaştırdığımızda Gö3tr grubunun gebelik süresinin önemli derecede uzadığı ve istatistiksel olarak da anlamlı farklılık olduğu tespit edildi ($p<0.01$).

Sonuç olarak, gebelik öncesi ve gebelik süresi boyunca agomelatin uygulaması gebelik süresini uzatmaktadır ancak gebeliğin son trimesterinde agomelatin uygulamasına ara verilmesi doğumun gecikmesini önlemektedir.

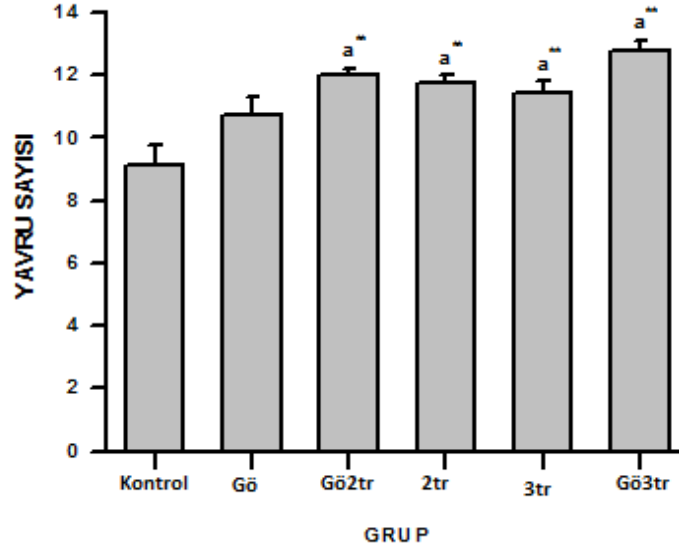
5.1.3. Yavru Sayısına Ait Bulgular

Çalışmamızda siklus takibi sonucu düzgün siklus gösterdiği tespit edilen sıçanların çiftleştirilmesi sonucunda gebe kalan sıçanların bir batında doğan yavru sayısının gebeliğin farklı dönemlerinde ki agomelatin uygulamasıyla etkileşimi incelenmiştir. Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulaması yapılan gebe deney gruplarında kontrol grubumuz agomelatin uygulanmayan gebe grubumuzdur. Gebe deney gruplarımızın bir batında doğan yavru sayıları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir.

Tablo 5: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin kullanan deney gruplarına ait yavru sayıları.

Gruplar	Yavru Sayısı (error)
Kontrol	9,1±0,65744
Gö	10,7273±0,60439
Gö2tr	12±0,21082
2tr	11,7273±0,27273
3tr	11,4±0,42687
Gö3tr	12,75±0,36596

Kontrol gebe grubu (kontrol) ile kıyaslandığında gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulamasının diğer tüm gebe gruplarda bir batında doğan yavru sayısını arttırdığı görüldü. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda kontrol gebe grubu ile karşılaştırıldığında Gö2tr ($p<0.01$), 2tr ($p<0.01$), 3tr ($p<0.01$) ve Gö3tr gruplarında ($p<0.01$) istatistiksel anlamlı artış olduğu tespit edildi. Sonuç olarak Gö grubu dışındaki tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı artışlar olduğu ve gebeliğin farklı dönemlerinde ki agomelatin uygulamasının bir batında doğan yavru sayısını arttırdığı görüldü.



Şekil 16: Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulamasının gruplar arasında ki yavru sayısına üzerine etkisi

a: Kontrol gebe ile karşılaştırıldığında (Kontrol) * : p<0.05 ** : p<0.01

5.2. Elisa Çalışmalarına Ait Bulgular

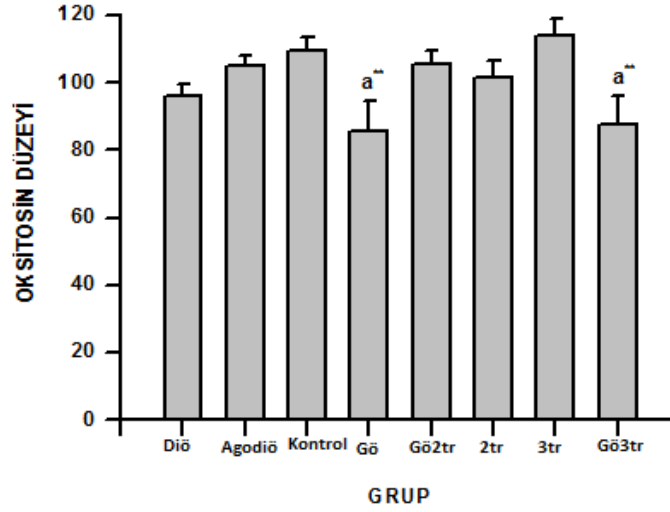
5.2.1. Oksitosin Hormonuna Ait Bulgular

Diöstrusta dekapite edilen Diö ve Agodiö grupları karşılaştırıldı. Agomelatin uygulamasının oksitosin salınımını arttırdığı fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Gebe gruplar kendi arasında karşılaştırıldı ve kontrol gebe grubu (Konrol) ile Gö3tr grubu arasında istatistiksel anlamlı azalma olduğu tespit edildi (p<0.01). Gebelik öncesi dönemde agomelatin uygulanan Gö grubu ile gebelik süresi boyunca agomelatin uygulanan 3tr grubu karşılaştırıldığında, 3tr grubunun deneklerinde, oksitosinin istatistiksel olarak anlamlı artışı olduğu tespit edildi (p<0.01). Ayrıca hem gebelik öncesi hem de gebelik süresi boyunca agomelatin uygulanan Gö3tr grubu ile gebelik boyunca

agomelatin kullanan 3tr grubu karşılaştırıldığında, 3tr grubu deneklerinde oksitosinin istatikselsel olarak anlamlı artışı olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Gebelik süresi boyunca agomelatin kullanan 3tr grubu ile hem gebelik öncesi hemde gebelik boyunca agomelatin kullanan Gö3tr grubu karşılaştırıldığında, Gö3tr grubu deneklerinde oksitosin hormonunda istatikselsel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ($p<0.05$).

Tablo 6: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen oksitosin değerleri.

GRUPLAR	OKSİTOSİN
Diö	96,0503±3.49
Agodiö	105,0781±2.72
Kontrol(G)	109,5916±3.97
Gö	85,8490±8.64
Gö2tr	105,6753±3.83
2tr	101,6620±4.82
3tr	114,1391±4.77
Gö3tr	87,6915±8.14



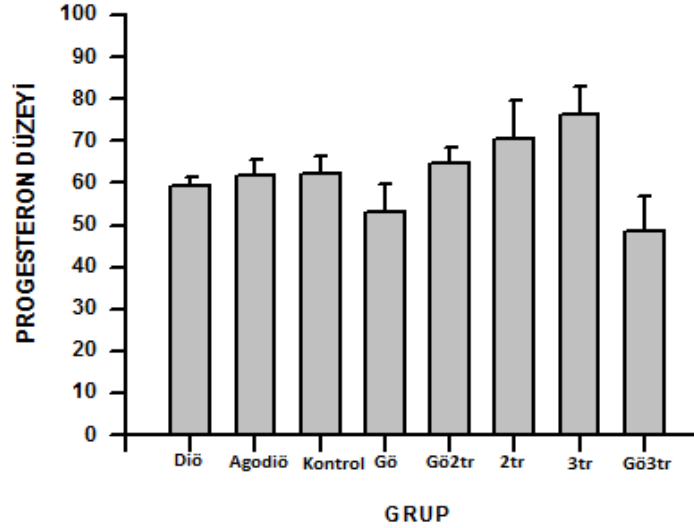
Şekil 17: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen oksitosin değerleri

5.2.2. Progesteron Hormonuna Ait Bulgular

Döstrusta dekapite edilen Diö ve Agodiö grupları karşılaştırıldı. Agomelatin uygulamasının progesteron salınımını arttırdığı fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği görüldü. Gebe gruplar kendi arasında karşılaştırıldı ve kontrol gebe grubu (Kontrol) ile diğer gebe gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi. Gebelik süresi boyunca agomelatin uygulanan 3tr grubunun gebelik öncesi dönemde agomelatin uygulanan Gö grubuna kıyasla progesteron seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı arttığı görüldü ($p < 0.05$). Bu sonuçlarla birlikte hem gebelik öncesi hem de gebeliği boyunca agomelatin kullanan Gö3tr grubu ile sadece gebelik süresince kullanan 3tr grubu karşılaştırıldığında, agomelatinin hem gebelik öncesi hem gebelik boyunca uygulanmasının progesteron seviyesini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalttığı tespit edildi ($p < 0.01$).

Tablo 7: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen progesteron değerleri

GRUPLAR	PROGESTERON
Diö	59,2857±1.93
Agodiö	61,8015±3.91
Kontrol(G)	62,3837±3.89
Gö	53,0397±6.76
Gö2tr	64,7761±3.73
2tr	70,4814±9.35
3tr	76,3574±6.72
Gö3tr	48,6516±4.84



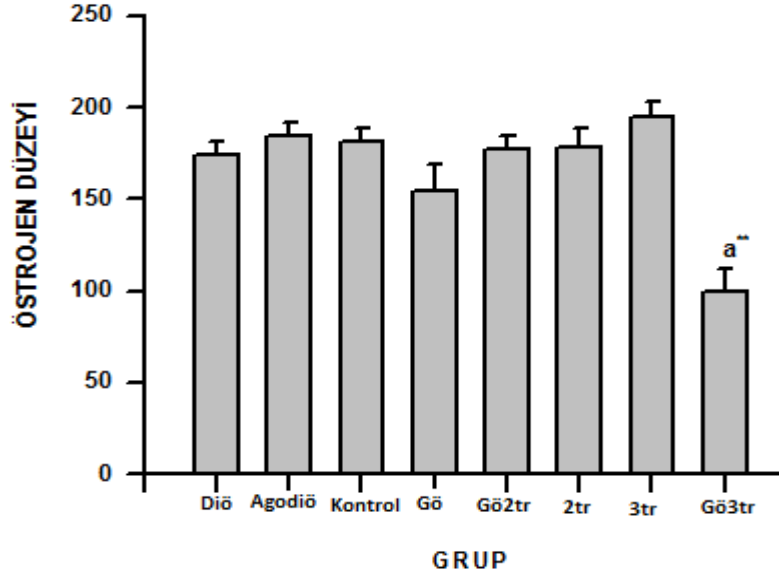
Şekil 18: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen progesteron değerleri.

5.2.3. Östrojen Hormonuna Ait Bulgular

Diöstrusta dekapite edilen Diö ve Agodiö grupları karşılaştırıldı. Agomelatin uygulamasının östrojen salınımını arttırdığı fakat istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği görüldü. Gebe gruplar kendi arasında karşılaştırıldı ve kontrol gebe (Kontrol) grubu ile diğer gebe gruplar arasında östrojen seviyesi bakımından yapılan incelemede Gö3tr grubunda istatistiksel anlamlı azalma olduğu tespit edildi ($p<0.01$).

Tablo 8: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen östrojen değerleri

GRUPLAR	ÖSTROJEN
Diö	173,9786±7.63
Agodiö	184,6485±7.33
Kontrol(G)	181,2449±7.66
Gö	154,5021±14.57
Gö2tr	177,6544±6.94
2tr	177,9370±10.62
3tr	195,2980±8.44
Gö3tr	99,7608±12.23



Şekil 19: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen östrojen değerleri.

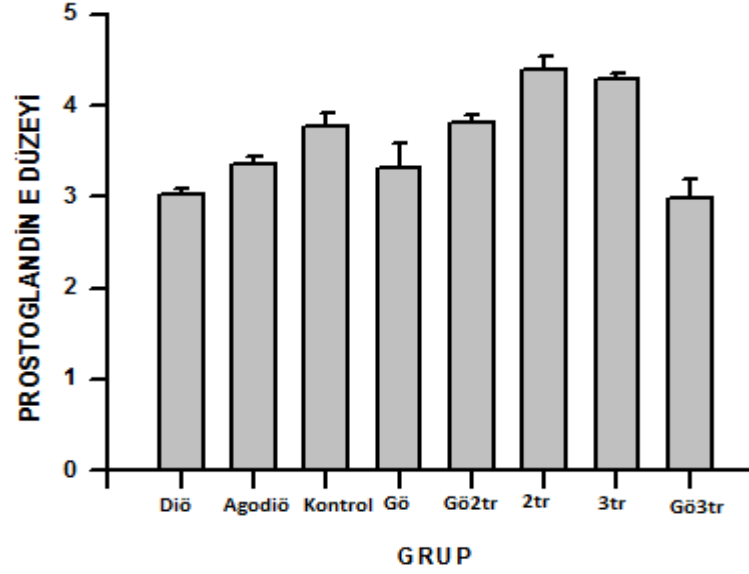
5.2.4. Prostoglandin E Hormonuna Ait Bulgular

Diöstrus evresinde dekapite edilen Diö ve Agodiö grup deneklerinin Prostoglandin E düzeylerinde istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi. Gebe bırakılan hayvanlardan oluşan deney grupları karşılaştırıldığında ise kontrol gebe grubu olan Kontrol grubu ile diğer gebe grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi. Ancak diğer gebe grupların Prostoglandin E seviyeleri karşılaştırıldığında, hem gebelik öncesi dönemde hem de gebeliği boyunca agomelatin kullanan Gö3tr grubu deneklerinin Prostoglandin E düzeylerinde, gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin uygulanan Gö2tr, 2tr ve 3tr gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı azalma meydana geldiği görüldü ($p < 0.01$). Gebe deney grupları ile ilgili bu bulgulara ilaveten, sadece gebelik öncesi agomelatin uygulaması olan Gö grubu ile sadece gebelik döneminde agomelatin uygulanan

2tr ve 3tr deney grupları arasında yapılan istatistiksel analizde, gebelik döneminde agomelatin uygulamasının (2tr ve 3tr) sadece gebelik öncesinde agomelatin uygulamasına (Gö) göre Prostaglandin E seviyesini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı görüldü ($p<0.01$).

Tablo 9: Deney gruplarından dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen prostoglandin-E değerleri.

GRUPLAR	PROSTOGLANDİN E
Diö	3,0304±0.068
Agodiö	3,3565±0.083
Kontrol(G)	3,7770±0.142
Gö	3,3119±0.281
Gö2tr	3,8198±0.07
2tr	4,3880±0.15
3tr	4,2941±0.065
Gö3tr	2,9833±0.207



Şekil 20: Deney gruplarının dekapitasyon sonrası alınan kan örneklerinden elde edilen prostoglandin-E değerleri.

5.3. İzole Organ Banyosuna Ait Bulgular

Miyometriyum kesitleri krebs solusyonu içeren organ banyosu haznesine yerleştirildi. 1 gr gerim altında oluşan spontan kasılmalar 90 dakika takip edildi. Agomelatinin miyometriyum kesitleri üzerindeki olası etkisini belirlemek için deneme amaçlı olarak hazneye, 50 μM konsantrasyon oluşturacak şekilde agomelatin uygulandı. Agomelatin uygulanmasının etkili olduğu konsantrasyonu belirlemek amacıyla tüm deney gruplarına üç farklı dozda (50 μM , 100 μM ve 200 μM) agomelatin uygulandı. Uygulamayı takiben, agomelatinin dozunda ki artış ile doğru orantılı olarak frekans, genlik ve alan değerlerinde belirgin olarak azalma meydana geldiği görüldü.

5.3.1. Her Deney Grubunun Kendi içinde Karşılaştırıldığı Kontraksiyon Bulguları

5.3.1.1. Birinci Deney Protokollerine Ait Kontraksiyon Bulguları

5.3.1.1.1. Diöstrus Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

Diöstrus döneminde dekapite edilen diöstrus grubumuza en düşük doz olan 50 µM agomelatin uygulaması sonucunda deney grubu ortalama değerleri dikkate alındığında, 50 µM agomelatin dozunun %100 olan frekansı 80.02 ± 2.74 ($p < 0.01$) değerine indirdiği görüldü. 100 µM ve 200 µM'lık agomelatin dozlarında ise frekans sırasıyla 48.49 ± 5.54 ve 0.0 ± 0.0 ' a düştü ($p < 0.01$). Sonuç olarak kontrol diöstrus grubu hayvanlarında miyometriyum kesitleri üzerinde agomelatinin 50 µM ve 100 µM dozlarında frekansı azaltırken en yüksek doz olan 200 µM'lık agomelatin dozunda %100 inhibisyona sebep oldu ve spontan kasılmaların oluşmasını engelledi ($p < 0.01$).

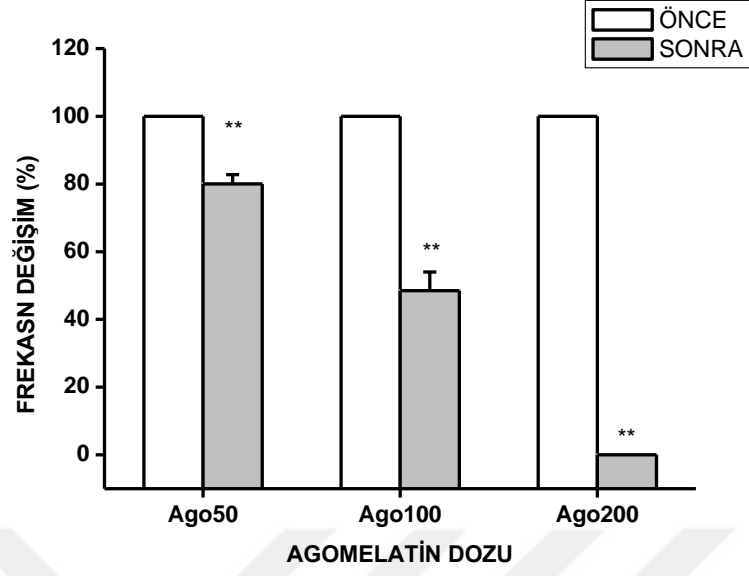
Artan dozlarda agomelatin uygulamasının frekans üzerinde yaptığı değişikliklere korele olarak genlik ve alan değerlerinde de benzer şekilde azalma olduğu tespit edildi. 50 µM'lık agomelatin uygulaması sonrasında %100 olarak kabul edilen genlik değeri 96.27 ± 0.85 'a ($p < 0.01$) düşerken 100 µM'lık agomelatin uygulaması sonrası 73.87 ± 0.54 'e ($p < 0.01$) düştü ve son olarak 200 µM'lık doz ile %100 inhibisyona sebep oldu ($p < 0.01$).

Agomelatin sonrası alan değerlerinde meydana gelen değişiklikler incelendiğinde ise 50 µM'lık agomelatin uygulanması sonucu %100 olarak kabul edilen alan değeri 94.45 ± 0.37 'e ($p < 0.01$) düştü ve artan dozlarda azalan seyri dikkat çekmiştir. 100 µM' agomelatin uygulanma sonrasında alan değeri daha da

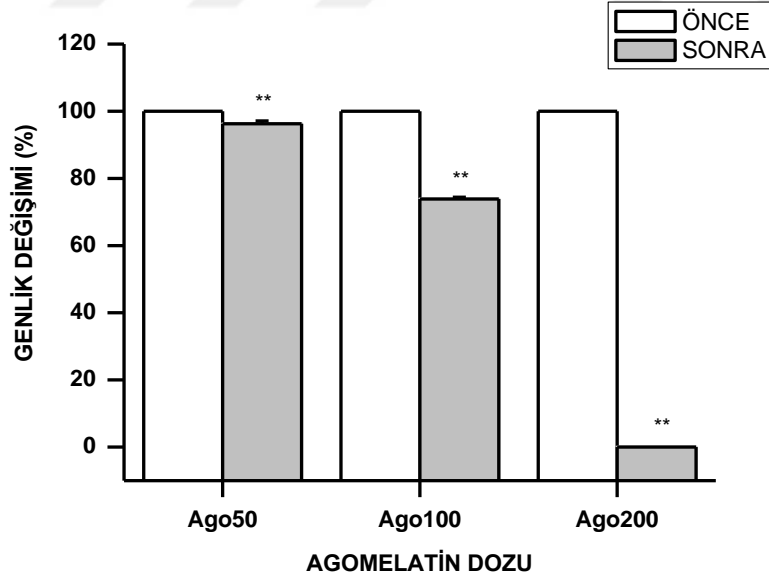
azalarak 65.84 ± 1.37 'e ($p < 0.01$) düştü ve $200 \mu\text{M}$ 'lık agomelatin dozu ile de %100 inhibisyona sebep olduğu tespit edildi ($p < 0.01$).

Tablo 10: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra diöstrus grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

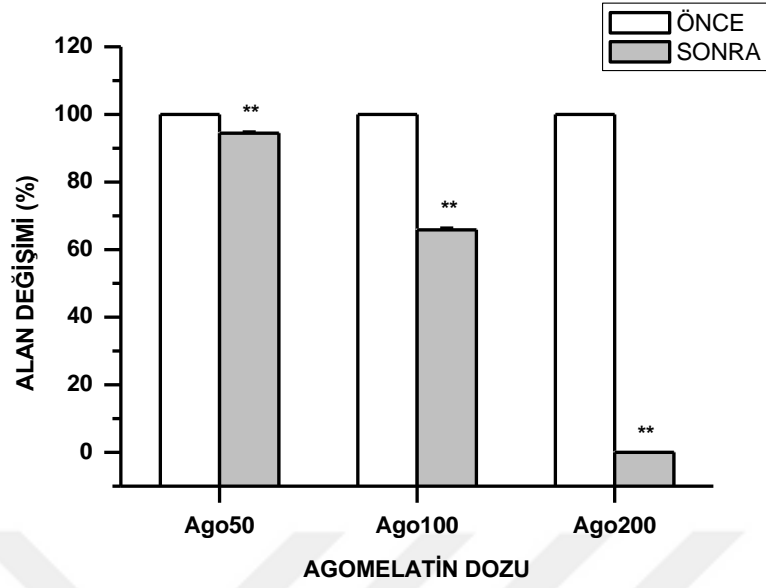
Diöstrus Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans $50 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	80.02 ± 2.74
Frekans $100 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	48.49 ± 5.54
Frekan $200 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Genlik $50 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	96.27 ± 0.85
Genlik $100 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	73.87 ± 0.54
Genlik $200 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	0.0 ± 0.0
Alan $50 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	94.45 ± 0.37
Alan $100 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	65.84 ± 1.37
Alan $200 \mu\text{M}$	100 ± 0.0	0.0 ± 0.0



Şekil 21: Diöstrus grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 22: Diöstrus grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



Şekil 23: Diöstrus grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.1.2. Ago-Diöstrus Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

Agomelatini kronik olarak kullanıyor (14 gün) hale geldikten sonra diöstrüs döneminde tespit edilip dekapitasyonu yapılan hayvanlara izole organ banyosunda yapılan agomelatın uygulamalarında diöstrus grubunda olduğu gibi frekans, genlik ve alan da belirgin bir baskılanma izlendi. 50 μM 'lık agomelatın uygulandıktan sonra uygulama önce %100 olarak kabul edilen frekans değeri uygulama sonrasında 61.97 ± 6.48 değerine düştü ($p < 0.01$). Bu frekans değeri 100 μM 'lık dozun sonunda daha fazla azalarak 23.54 ± 11.85 'e kadar düştü ($p < 0.01$) ve en yüksek doz olan 200 μM agomelatın dozunda %100 inhibisyona sebep oldu ($p < 0.01$).

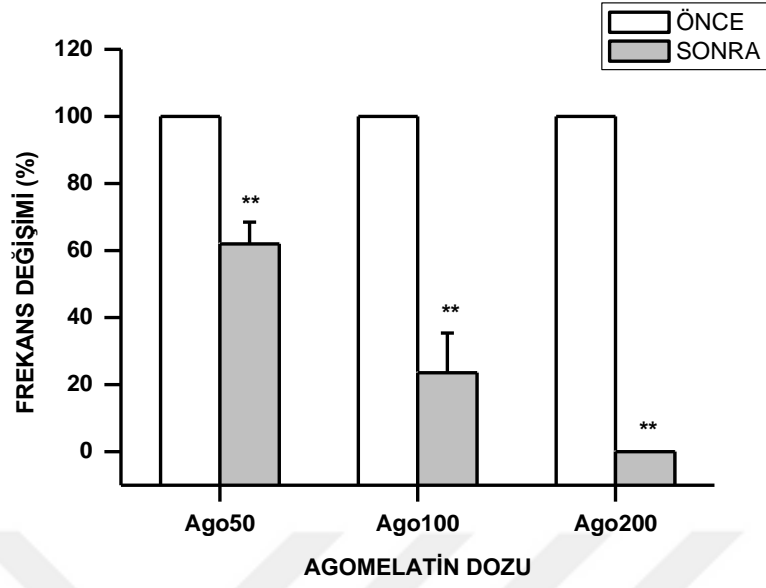
Artan dozlarda agomelatın uygulamasının frekans üzerinde yaptığı değişikliklere korele olarak genlik ve alan değerlerinde de benzer şekilde azalma

olduđu tespit edildi. 50 μM 'lık agomelatin uygulaması sonrasında %100 olarak kabul edilen genlik deęeri 81.81 ± 1.49 'e dūřerken ($p<0.01$), 100 μM 'lık agomelatin uygulaması sonrası 25.05 ± 12.34 'e ($p<0.01$) dūřtü ve son olarak 200 μM 'lık doz ile %100 inhibisyona sebep oldu ($p<0.01$).

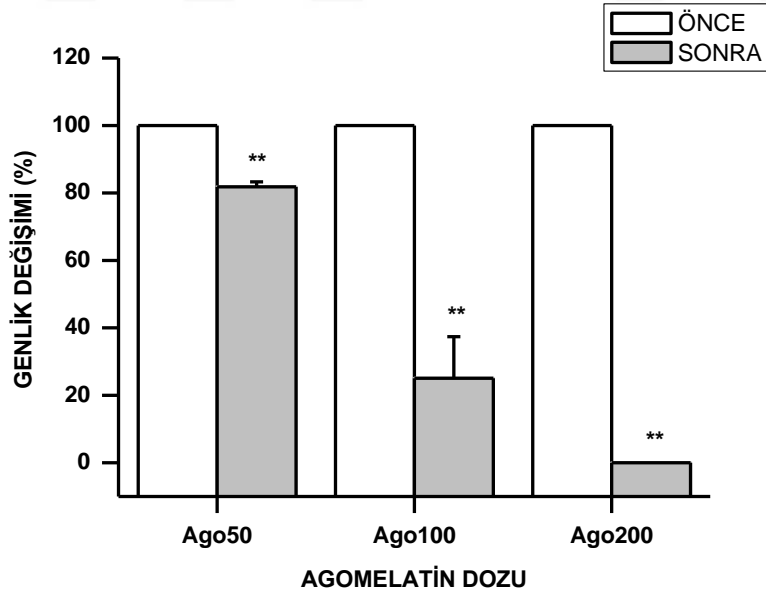
Agomelatin sonrası alan deęerlerinde meydana gelen deęiřikler incelendięinde ise 50 μM 'lık agomelatin uygulanması sonucu %100 olarak kabul edilen alan deęeri 71.35 ± 6.88 'e dūřtü ($p<0.01$) ve artan dozlarda azalan seyri dikkat çekmiřtir. 100 μM ' agomelatin uygulanma sonrasında alan deęeri daha da azalarak 17.58 ± 24.78 'e ($p<0.01$) dūřtü ve 200 μM 'lık agomelatin dozu ile de %100 inhibisyona sebep olduęu tespit edildi ($p<0.01$).

Tablo 11: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra ago-diöstrus grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

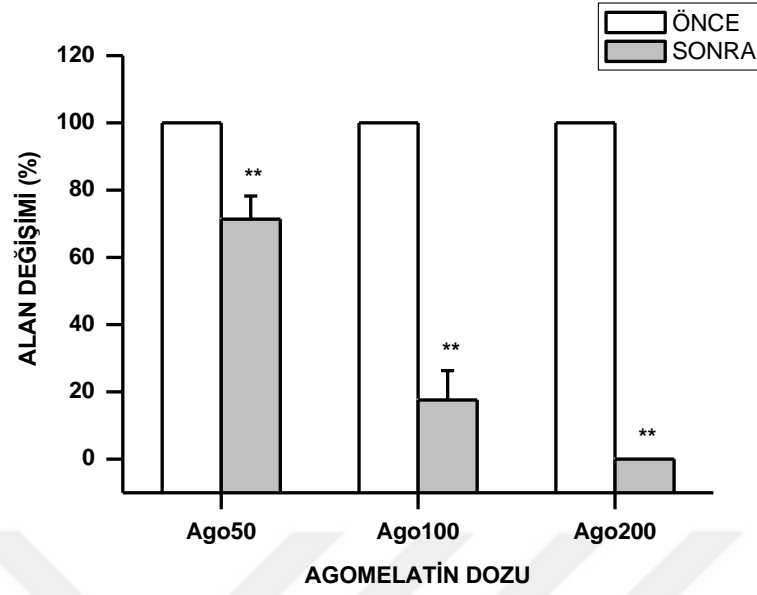
Ago-diöstrus grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 μM	100 \pm 0.0	61.97 \pm 6.48
Frekans 100 μM	100 \pm 0.0	23.54 \pm 11.85
Frekan 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 50 μM	100 \pm 0.0	81.81 \pm 1.49
Genlik 100 μM	100 \pm 0.0	25.05 \pm 12.34
Genlik 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 50 μM	100 \pm 0.0	71.35 \pm 6.88
Alan 100 μM	100 \pm 0.0	17.58 \pm 8.76
Alan 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



Şekil 24: Ago-diöstrus grubunda, farklı agomelatine dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 25: Ago-diöstrus grubunda, farklı agomelatine dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



Şekil 26: Ago-diöstrus grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.2. İkinci Deney Protokollerine Ait Kontraksiyon Bulguları

5.3.1.2.1. Kontrol (Gebe) Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

Kontrol gebe hayvanlardan oluşan kontrol grubu, ilk yavrunun doğumundan sonra dekapite edilen hayvanlardan oluşturuldu. Agomelatin uygulamaları sonucunda diöstrus ve ago-diöstrus gruplarında olduğu gibi kasılmaların frekans, genlik ve alan değerlerinde belirgin şekilde azalma olduğu görüldü. Agomelatin uygulanmadan önceki frekans değeri %100 kabul edildikten sonra 50 μM 'lık agomelatin uygulandı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiş olsa da frekans değerinin 74.85 ± 11.12 'e düştüğü görüldü, 100 μM 'lık agomelatin uygulanmasından sonra daha da azalarak 31.65 ± 15.46 'e kadar düştü ($p < 0.01$). Son olarak maksimum doz olan 200 μM agomelatin uygulandıktan

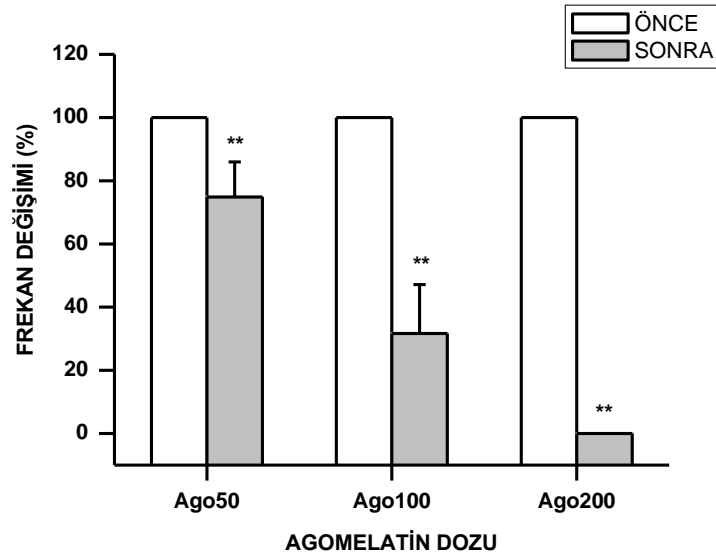
sonra miyometrium kesitlerinde %100 inhibisyona sebep olduğu tespit edildi (p<0.01).

Bu grubumuzda agomelatin uygulamaları sonucunda genlik değerinde meydana gelen değişimde frekansta olduğu gibidir. Uygulama öncesi %100 kabul edilen genlik değeri 50 µM'lık agomelatin dozu sonrasında 91.84±3.69 değerini alırken azalma tespit edilmiş fakat istatikselsel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir, 100 µM'lık dozun uygulanmasından sonra ise 14.84±8.77'e (p<0.01) düştü ve maksimum doz olan 200 µM agomelatin uygulandıktan sonra %100 inhibisyon meydana geldi (p<0.01).

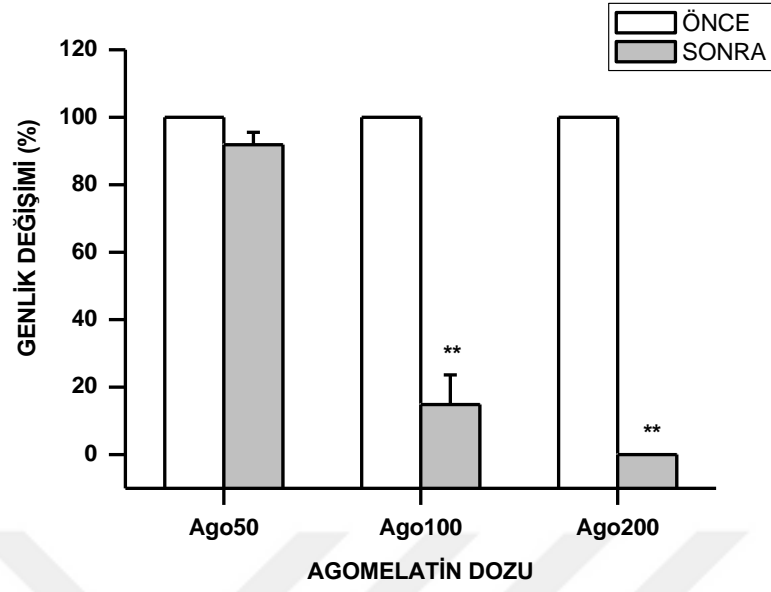
Uygulama öncesi %100 kabul edilen alan değerleri ise 50 µM agomelatin uygulandıktan sonra 70.85±6.23'e (p<0.01), 100 µM agomelatin uygulandıktan sonra ise 10.17±16.69 değerine düştü (p<0.01). Maksimum doz olan 200 µM agomelatin uygulaması sonrasında %100 inhibisyona sebep oldu (p<0.01).

Tablo 12: Farklı Agomelatin dozları uygulandıktan sonra kontrol grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

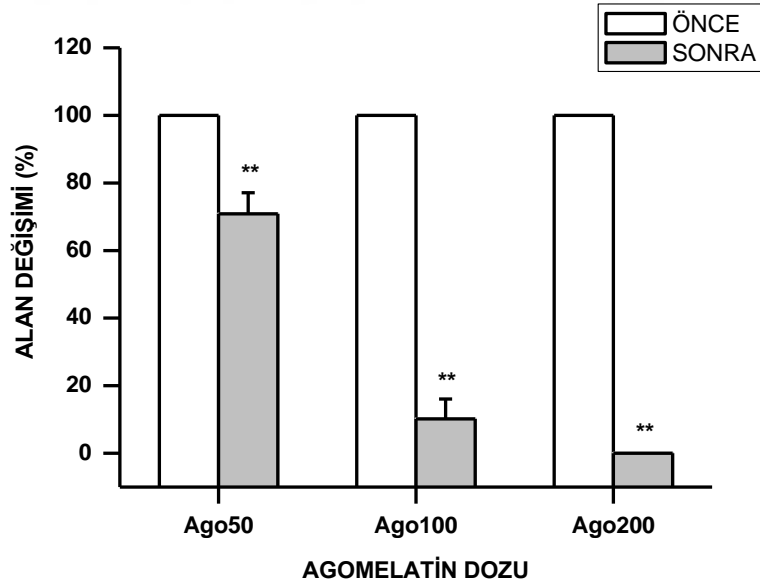
Kontrol Gebe Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 μ M	100 \pm 0.0	74.85 \pm 11.12
Frekans 100 μ M	100 \pm 0.0	31.65 \pm 15.46
Frekan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 50 μ M	100 \pm 0.0	91.84 \pm 3.69
Genlik 100 μ M	100 \pm 0.0	14.84 \pm 8.77
Genlik 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 50 μ M	100 \pm 0.0	70.85 \pm 6.23
Alan 100 μ M	100 \pm 0.0	10.17 \pm 5.9
Alan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



Şekil 27: Kontrol grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 28: Kontrol grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



Şekil 29: Kontrol grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.2.2. Gö Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

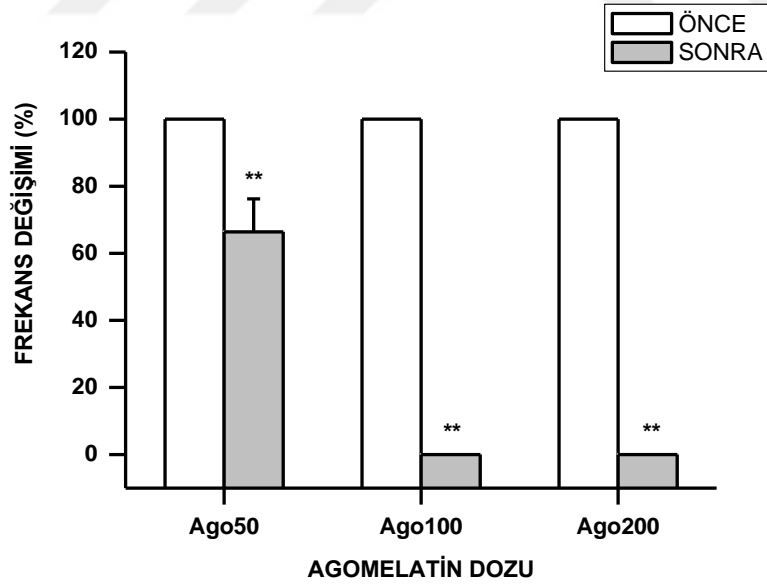
Gebe kalmadan önce kronik olarak (14 gün) agomelatin uygulanan ve gebe kalınca agomelatin uygulanmasına devam ettirilmeyen hayvanlardan oluşturduğumuz bu gruptaki hayvanlar, ilk yavrunun doğumundan hemen sonra dekapite edildi. Bu grubumuza 50 µM'lık agomelatin uygulama sonrasında meydana gelen değişim diğer gruplarda olduğu gibi azalma yönünde tespit edildi. Ancak 100 µM ve 200 µM'lık agomelatin dozları uygulandıktan sonra %100 inhibisyon meydana geldi.

50 µM agomelatin uygulanmadan önceki frekans, genlik ve alan değerleri %100 kabul edildi ve ilaç uygulandıktan sonra frekans değeri 66.38 ± 9.84 olarak kaydedildi ($p < 0.01$). Frekans değerindeki gibi genlik değeri %100'den 65.59 ± 6.30 'e ($p < 0.01$), alan değeri ise yine %100'den 55.53 ± 8.14 'e düştü ($p < 0.01$).

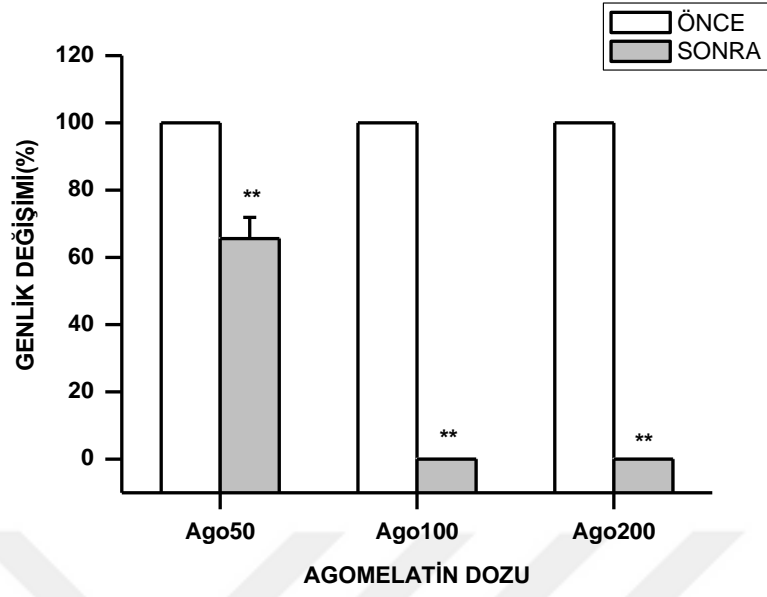
Sonuç olarak gebelik öncesi agomelatin uygulanan hayvanların (Gö grubu) diöstrus döneminde dekapite edilen ve kontrol gebe grubunda olup doğumda dekapite edilen hayvanlara göre agomelatine daha fazla hassasiyetinin olduğu tespit edildi.

Tablo 13: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

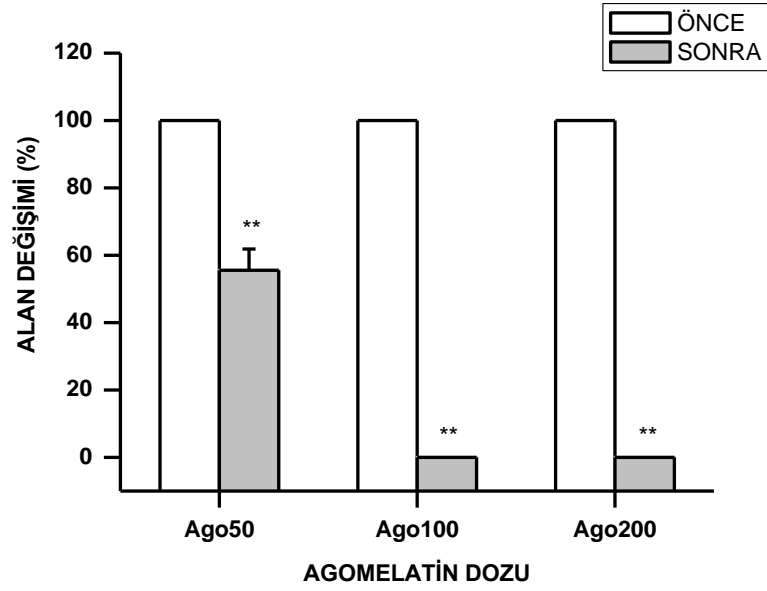
Gö Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 μ M	100 \pm 0.0	66.38 \pm 9.84
Frekans 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Frekan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 50 μ M	100 \pm 0.0	65.59 \pm 6.30
Genlik 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 50 μ M	100 \pm 0.0	55.53 \pm 8.14
Alan 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



Şekil 30: Gö grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 31: Gö grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



Şekil 32: Alan grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.2.3. Gö2tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

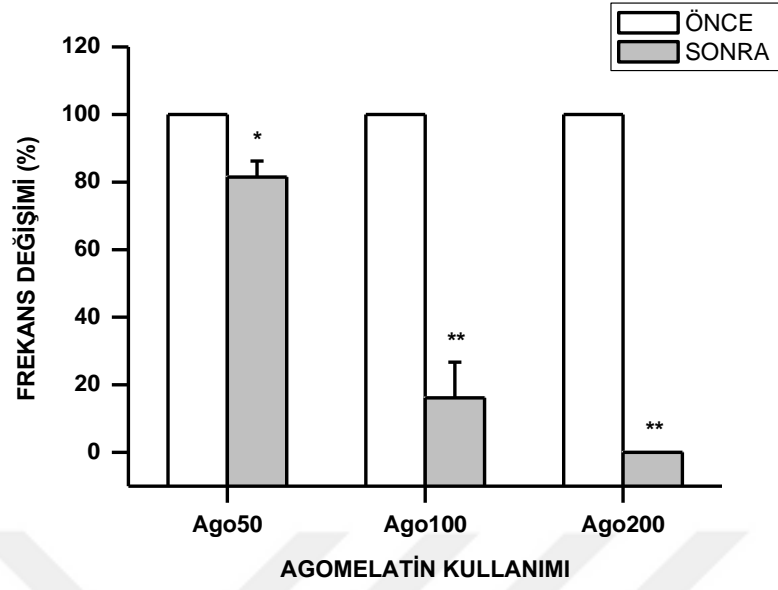
Bu deney grubumuz, kronik olarak agomelatin kullanan (14 gün) ve sonra gebe bırakılıp ilk iki trimestıra kadar agomelatin kullanıp son trimestırda kullanmayan hayvanlardan oluşturduk. İlk yavrunun doğumundan hemen sonra dekaıpte edilen bu hayvanlara 50 µM'lık agomelatin uyguladık ve %100 kabul edilen uygulama öncesi frekansı, uygulamadan sonra 81.47±4.75 değerine düştü (p<0.05). 100 µM'lık uygulama sonrası bu değer daha da düşerek 16.14±10.57 oldu (p<0.01). Maksimum dozda yani 200 µM agomelatin dozunda %100 inhibisyon oluştu (p<0.01).

Genlik değeri ise frekans değeri ile aynı korelasyonda azalma gösterdi. Uygulama öncesi %100 kabul edilen genlik değeri, 50 µM'lık agomelatin uygulanmasından sonra 68.27±14.12 değerini aldı (p<0.01), 100 µM agomelatin uygulanması sonrası 3.55±2.43'e düştü (p<0.01). 200 µM agomelatin uygulandıktan sonra ise %100 inhibisyon oluştu (p<0.01).

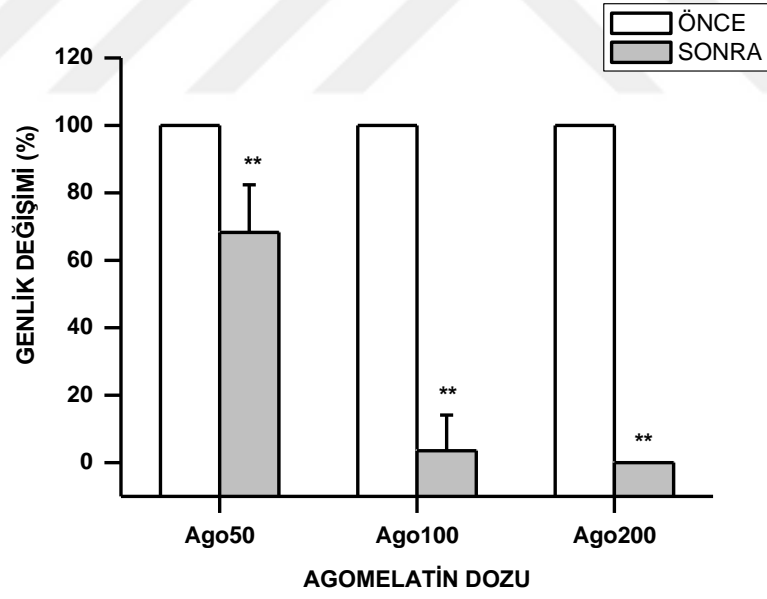
Grubumuzun alan değerlerindeki değişimler ise; uygulama öncesi %100 kabul edilen değer 50 µM'lık agomelatin sonrası 62.38±4.49 (p<0.01), 100 µM agomelatin uygulandıktan sonrası 1.34±1.18 (p<0.01) değerine düştü ve maksimum doz olan 200 µM agomelatin uygulandıktan sonra ise %100 inhibisyon oluştu (p<0.01).

Tablo 14: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö2tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

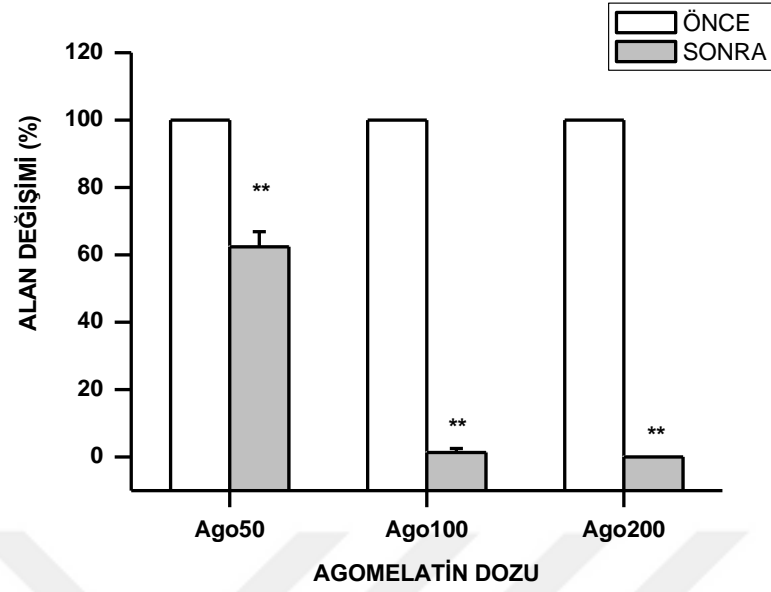
Gö2tr Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 µM	100±0.0	81.47±4.75
Frekans 100 µM	100±0.0	16.14±10.57
Frekan 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Genlik 50 µM	100±0.0	68.27±14.12
Genlik 100 µM	100±0.0	3.55±2.43
Genlik 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Alan 50 µM	100±0.0	62.38±4.49
Alan 100 µM	100±0.0	1.34±1,18
Alan 200 µM	100±0.0	0.0±0.0



Şekil 33: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen frekans değışiklikleri.



Şekil 34: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değışiklikleri.



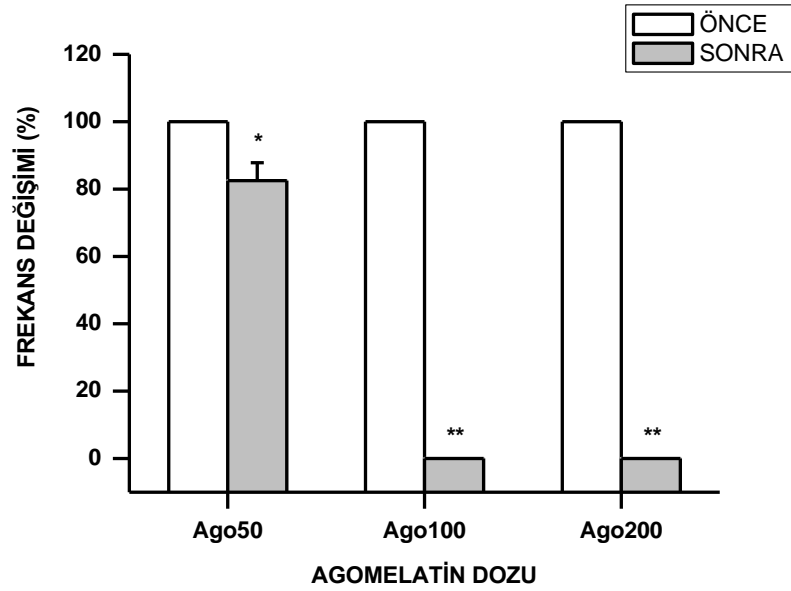
Şekil 35: Gö2tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değışiklikleri.

5.3.1.2.4. 2tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

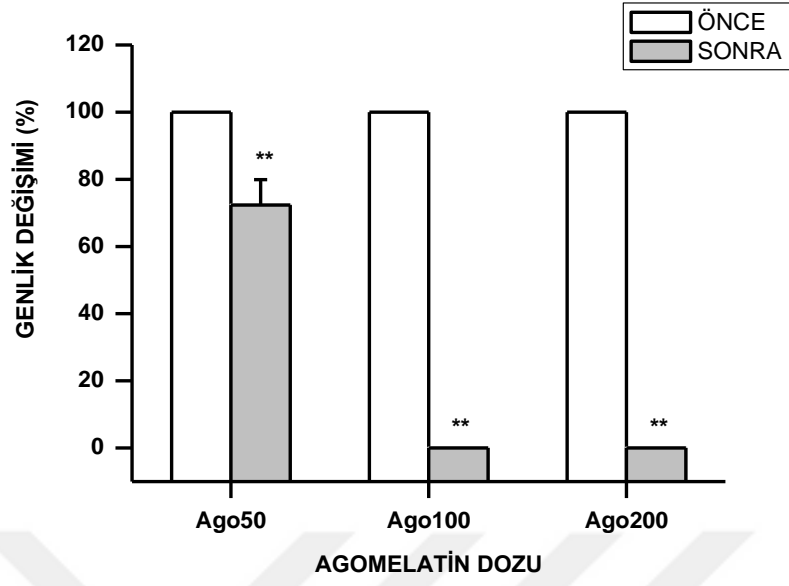
Bu deney grubumuzu gebe kalınca agomelatın kullanmaya başlayıp ilk iki trimestır boyunca kullanıp son trimestırda kullanmayan hayvanlardan oluşturdık. İlk yavrunun doğumundan hemen sonra dekapite ettik ve farklı dozlarda uyguladığımız agomelatın ile frekans, genlik ve alan değeri azalma olduğunu gördük. Frekans, genlik ve alan değeri agomelatın uygulanmadan önce %100 iken 50 μ M agomelatın uygulandıktan sonra frekansı 82.51 ± 5.33 'e ($p < 0.05$), genlik değeri 72.36 ± 7.56 'e ($p < 0.01$) ve alan değeri ise 72.97 ± 9.92 'e ($p < 0.05$) düştü. 100 μ M ve 200 μ M'lık agomelatın dozları sonrasında ise %100 inhibisyon meydana geldi ($p < 0.01$).

Tablo 15: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra 2tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

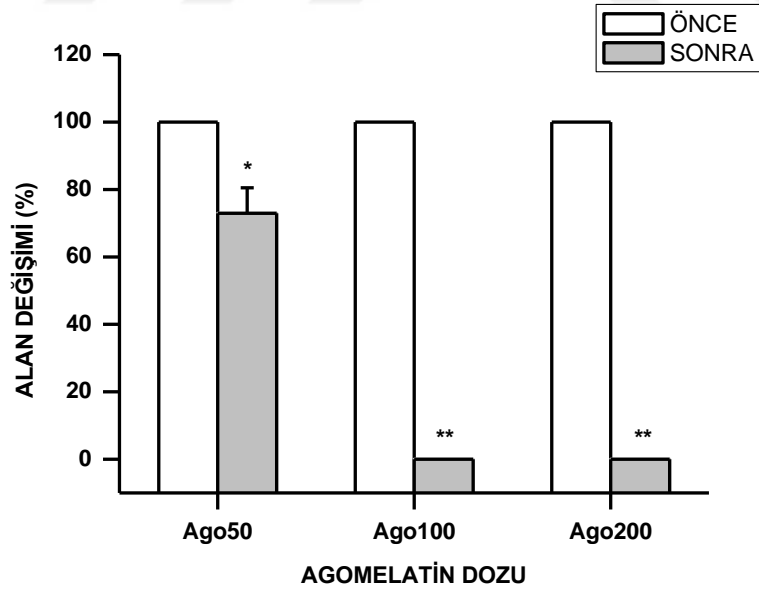
2tr Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 µM	100±0.0	82.51±5.33
Frekans 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Frekan 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Genlik 50 µM	100±0.0	72.36±7.56
Genlik 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Genlik 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Alan 50 µM	100±0.0	72.97±9.92
Alan 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Alan 200 µM	100±0.0	0.0±0.0



Şekil 36: 2tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 37: 2tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



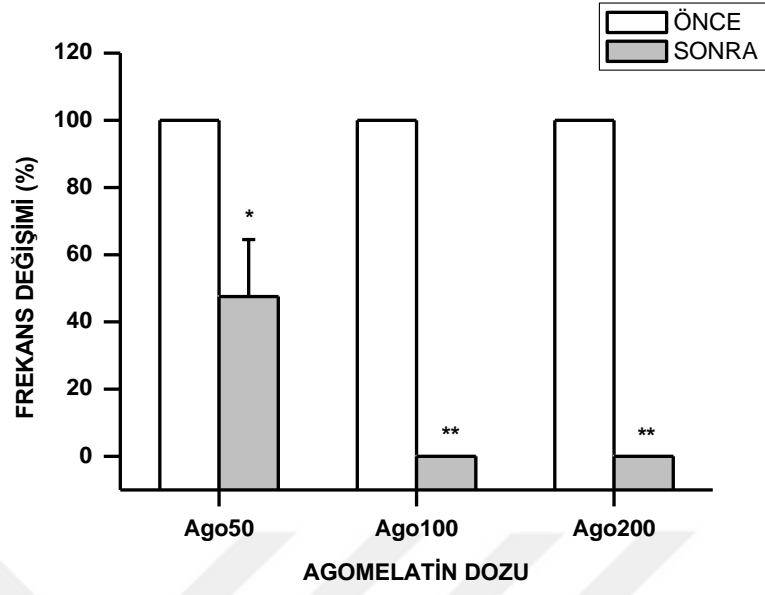
Şekil 38: 2tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.2.5. 3tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

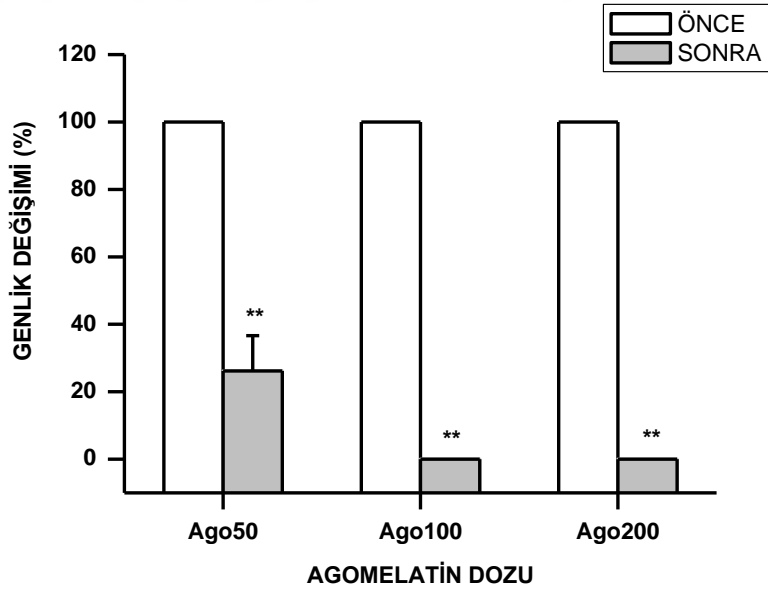
Bu deney grubumuzu, agomelatini gebe kalınca kullanmaya başlayıp gebelik süresince kullanan hayvanlardan oluşturduk. İlk yavrunun doğumundan hemen sonra dekapite ettiğimiz hayvanlara izole organ banyosunda farklı dozlarda agomelatin uyguladık ve frekans, genlik ve alan değerlerinde azalma olduğunu tespit ettik. Frekans, genlik ve alan değerleri agomelatin uygulanmadan önce %100 iken 50 µM agomelatin uygulandıktan sonra frekansı 47.56±16.95'e (p<0.05), genlik değeri 26.16±10.46'e (p<0.01) ve alan değerinin ise 16.42±6.89'e (p<0.01) düştüğünü gördük. 100 µM ve 200 µM'lık agomelatin dozları sonrasında ise %100 inhibisyonun meydana geldiğini tespit ettik (p<0.01).

Tablo 16: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra 3tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

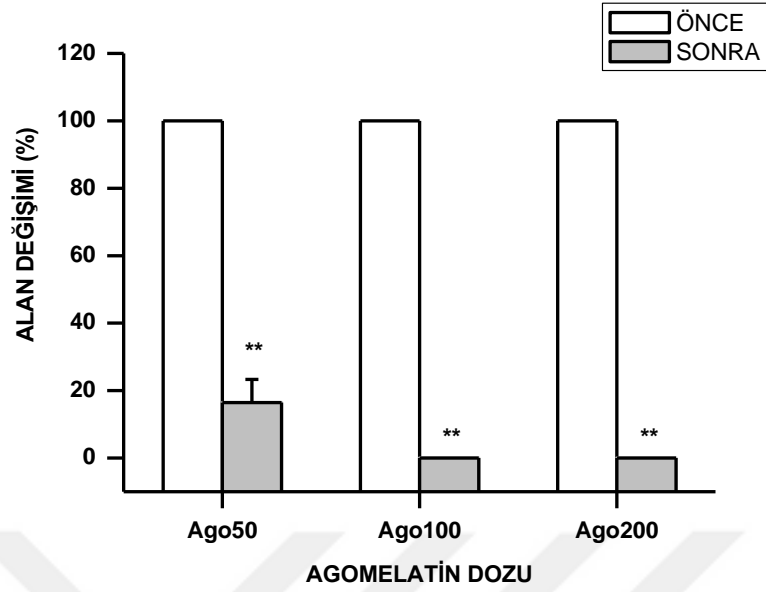
3tr Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 µM	100±0.0	47.56±16.95
Frekans 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Frekans 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Genlik 50 µM	100±0.0	26.16±10.46
Genlik 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Genlik 200 µM	100±0.0	0.0±0.0
Alan 50 µM	100±0.0	16.42±6.89
Alan 100 µM	100±0.0	0.0±0.0
Alan 200 µM	100±0.0	0.0±0.0



Şekil 39: 3tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 40: 3tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



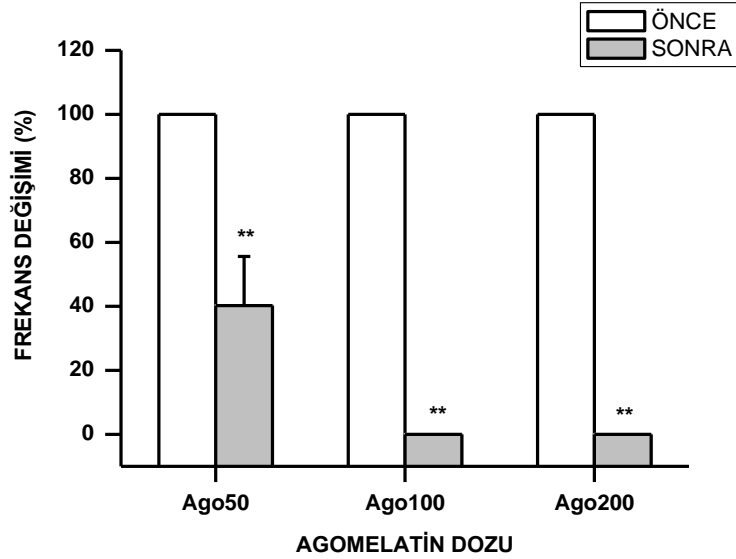
Şekil 41: 3tr deney grubunda, farklı agomelatın dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.1.2.6. Gö3tr Deney Grubuna Ait Kontraksiyon Bulguları

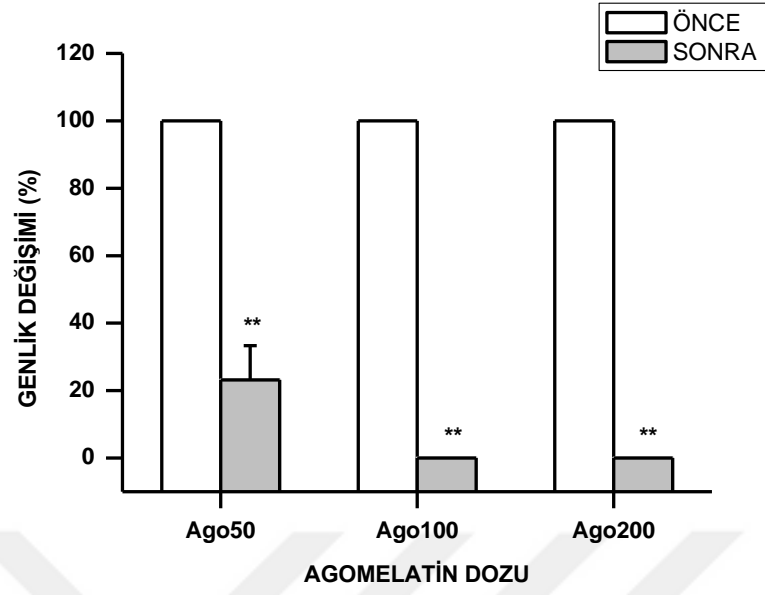
Bu grubumuz, agomelatini kronik olarak kullanıyorken (14 gün) gebe kalıp gebelik boyunca agomelatini kullanmaya devam eden hayvanlardan oluşturuldu. İlk yavrunun doğumundan hemen sonra dekapite ettiğimiz hayvanlara izole organ banyosunda farklı dozlarda agomelatini uyguladık ve frekans, genlik ve alan değerlerinde azalma olduğunu tespit ettik. Frekans, genlik ve alan değerleri agomelatini uygulanmadan önce %100 iken 50 μ M agomelatini uygulandıktan sonra frekansı 40.26 ± 15.36 'e ($p < 0.01$), genlik değeri 23.18 ± 26.84 'e ($p < 0.01$) ve alan değerinin ise 20.29 ± 8.20 'e ($p < 0.01$) düştüğünü gördük. 100 μ M ve 200 μ M'lık agomelatini dozları sonrasında ise %100 inhibisyonun meydana geldiğini tespit ettik ($p < 0.01$).

Tablo 17: Farklı agomelatin dozları uygulandıktan sonra Gö3tr deney grubuna ait frekans, genlik ve alan değerleri.

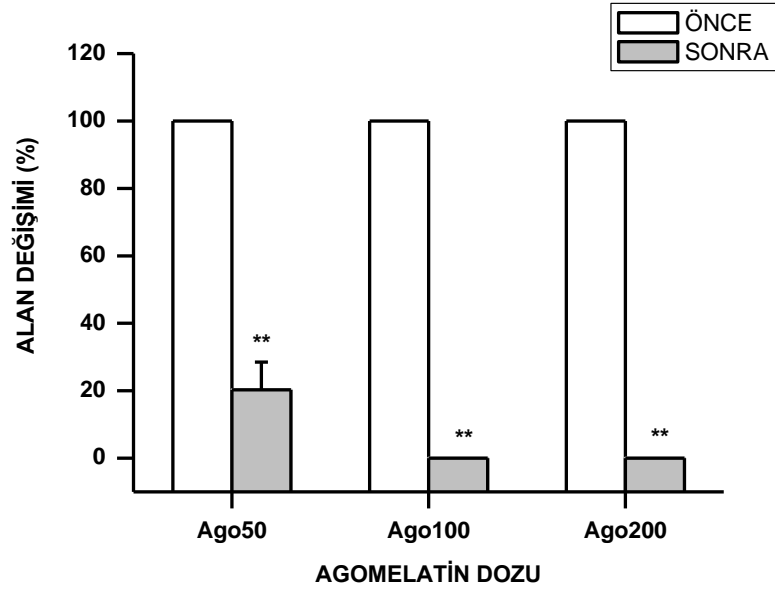
Gö3tr Grubu	Ago Önce	Ago Sonra
Frekans 50 μ M	100 \pm 0.0	40.26 \pm 15.36
Frekans 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Frekan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 50 μ M	100 \pm 0.0	23.18 \pm 10.14
Genlik 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 50 μ M	100 \pm 0.0	20.29 \pm 8.20
Alan 100 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 200 μ M	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



Şekil 42: Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen frekans değişiklikleri.



Şekil 43: Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen genlik değişiklikleri.



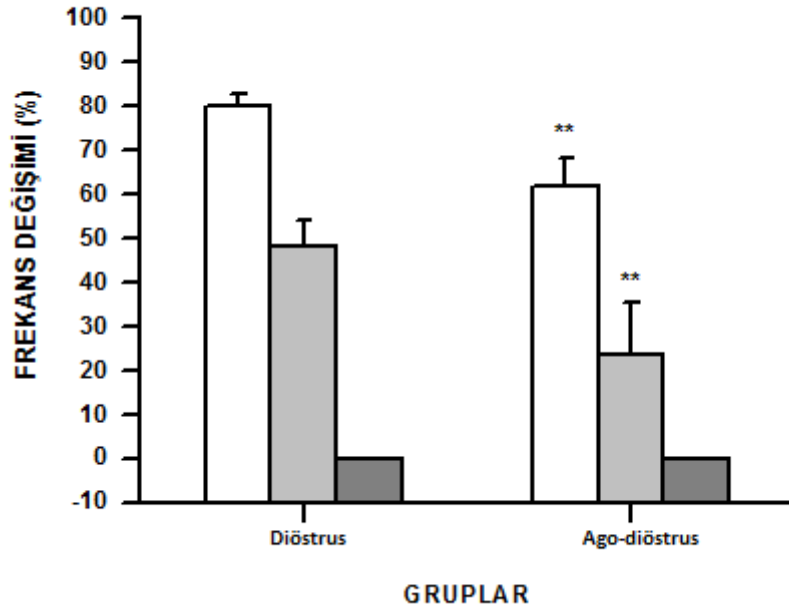
Şekil 44: Gö3tr deney grubunda, farklı agomelatin dozlarında meydana gelen alan değişiklikleri.

5.3.2. Diöstrusta Dekapite Edilen Birinci Deney Protokollerinin (Diöstrus ve Ago-diöstrus) Karşılaştırılması

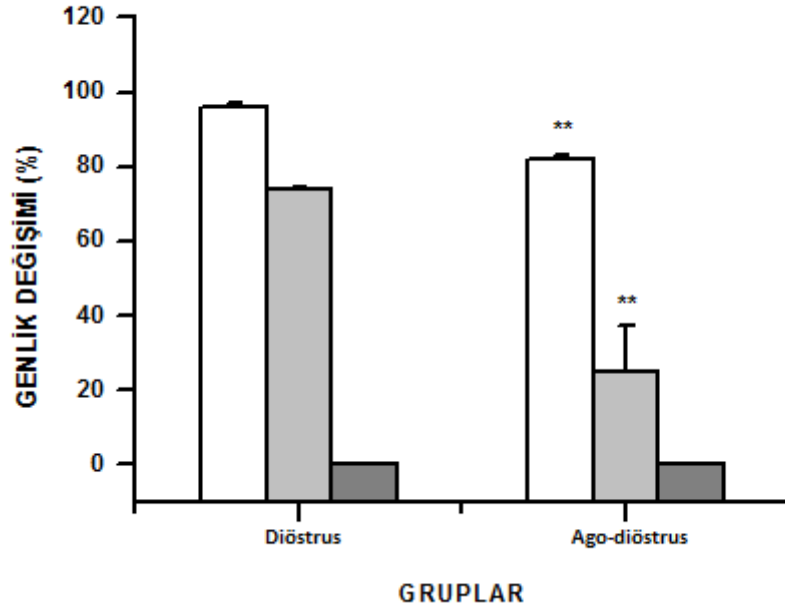
Oral gavaj ile agomelatin kullanan hayvanların (Ago-diöstrus grubu) uterin kontraksiyonları incelendiğinde, agomelatin kullanmayan hayvanların (Diöstrus grubu) kontraksiyonlarına göre çok daha fazla hassasiyet gösterdiği tespit edilmiştir. Frekans, genlik ve alan değerleri dikkate alındığında diöstrus grubu hayvanlarında agomelatin uygulandıktan sonra kasılmanın baskılandığı ($p<0.01$) fakat ago-diöstrus grubu hayvanlarının agomelatin uygulanmasından sonra çok daha fazla inhibitör etkiye maruz kaldığı tespit edilmiştir ($p<0.01$). Her iki gruba da maksimum doz olan 200 μM 'lık agomelatin uygulandıktan sonra %100 inhibisyon görülmüştür ($p<0.01$).

Tablo 18: Birinci deney protokolü gruplarının (Diöstrus ve ago-diöstrus), agomelatinin farklı dozlarında frekans, genlik ve alan değerleri.

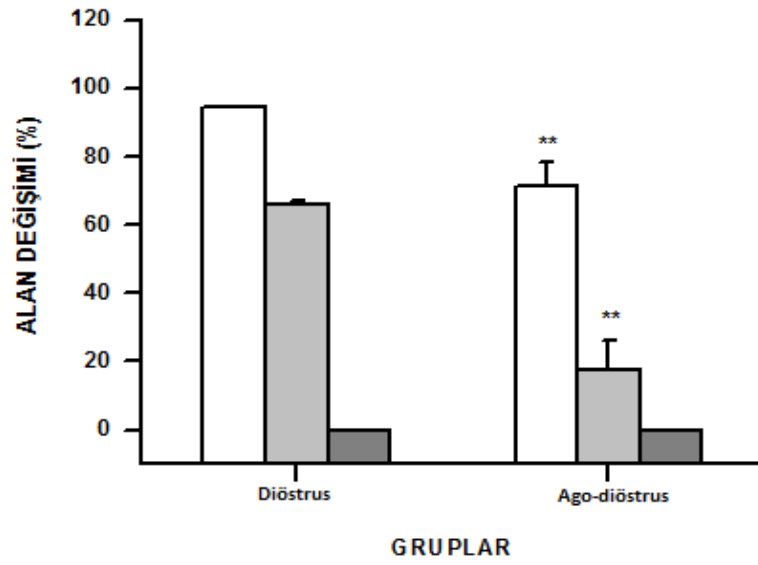
Parametre-Doz(μM)	Ago Önce	Ago Sonra (Diöstrus)	Ago Sonra (Ago-diöstrus)
Frekans 50 μM	100 \pm 0.0	80.02 \pm 2.74	61.97 \pm 6.48
Frekans 100 μM	100 \pm 0.0	48.49 \pm 5.54	23.54 \pm 11.85
Frekan 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Genlik 50 μM	100 \pm 0.0	96.27 \pm 0.85	81.81 \pm 1.49
Genlik 100 μM	100 \pm 0.0	73.87 \pm 0.54	25.05 \pm 12.34
Genlik 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Alan 50 μM	100 \pm 0.0	94.45 \pm 0.37	71.35 \pm 6.88
Alan 100 μM	100 \pm 0.0	65.84 \pm 1.37	17.58 \pm 8.76
Alan 200 μM	100 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



Şekil 45: Birinci deney protokolü gruplarının (diöstrus ve ago-diöstrus) frekans değerlerindeki değişim.



Şekil 46: Birinci deney protokolü gruplarının (diöstrus ve ago-diöstrus) genlik değerlerindeki değişim.



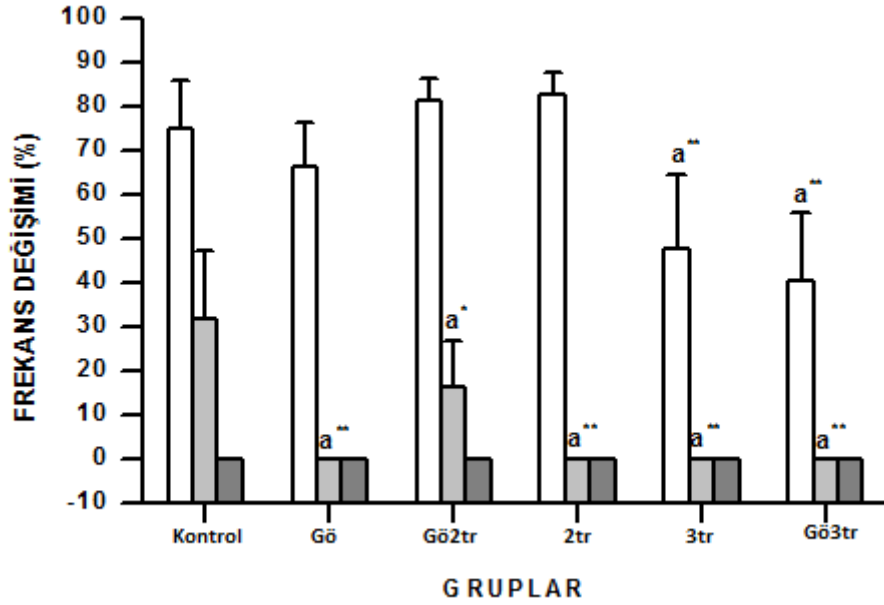
Şekil 47: Birinci deney protokolü gruplarının (diöstrus ve ago-diöstrus) alan değerlerindeki değişim.

5.3.3. Doğumda Dekapite Edilen İkinci Deney Protokollerinin Karşılaştırılması

Tüm gebe gruplarımızda 50 µM, 100 µM ve 200 µM'lık agomelatin doz uygulandıktan sonra frekans değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana geldi. Kontrol gebe grubumuz ile diğer gebe gruplarımız kıyaslandığında ise, diğer gebe gruplarımızın hiç agomelatin kullanmayan kontrol grubumuza göre çok daha fazla agomelatin hassasiyetinin olduğu tespit edildi. İzole organ banyosunda agomelatin uygulanmadan önceki frekans değerleri %100 olarak kabul edildi ve agomelatin uygulandıktan sonra, kontrol gebe grubumuza göre diğer tüm gebe grupların frekans değerlerinde düşüş olduğu tespit edildi. Kontrol gebe grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma, tüm gruplarda 100 µM agomelatin uygulandıktan sonra görüldü ($p<0.005$). En yüksek doz olan 200 µM agomelatin sonrası ise tüm gruplarda %100 inhibisyon meydana geldi ($p<0.01$).

Tablo 19: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının farklı agomelatin dozlarında ki frekans değerleri.

Gruplar	Frekans-50 μ M	Frekans-100 μ M	Frekans-200 μ M
Kontrol	74.85 \pm 11.12	31.65 \pm 15.46	0.0 \pm 0.0
Gö	66.38 \pm 9.84	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Gö2tr	81.47 \pm 4.75	16.14 \pm 10.57	0.0 \pm 0.0
2tr	82.51 \pm 5.33	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
3tr	47.56 \pm 16.95	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Gö3tr	40.26 \pm 15.36	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0

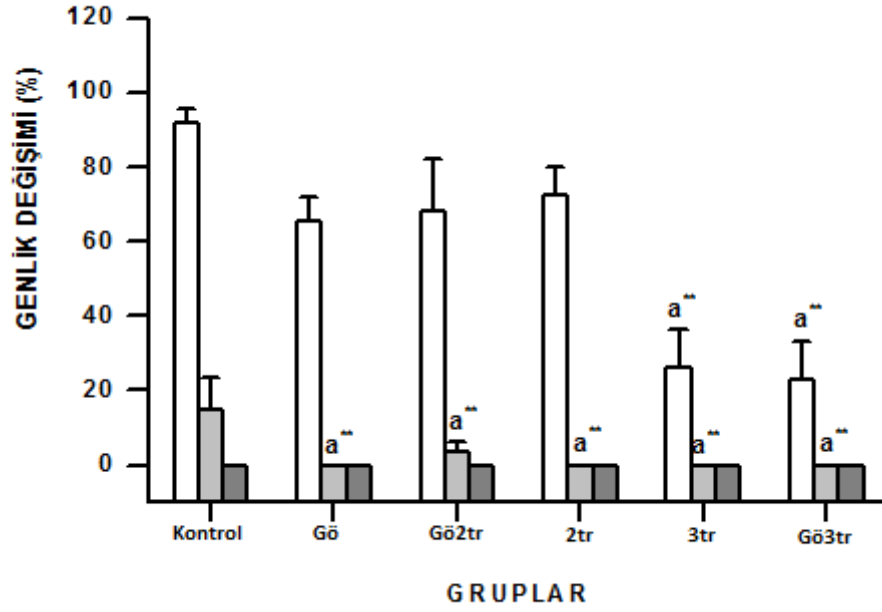


Şekil 48: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının agomelatinin farklı dozlarında frekans değerinin değişimi (a: kontrol grubu ile karşılaştırıldığında).

Agomelatin uygulaması sonucu genlik değerlerinde azalma meydana geldi ancak 50 μM 'lık agomelatin uygulandıktan sonra kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı azalma 3tr ve Gö3tr gruplarında görüldü. 100 μM 'lık agomelatin uygulandıktan sonra ise tüm gebe gruplar kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş gösterdi. En yüksek doz olan 200 μM agomelatin sonrası ise tüm gruplarda %100 inhibisyon meydana geldi. Gebeliğin son trimesterında agomelatin kullanmayan Gö2tr ve 2tr grupları, son trimesterde agomelatin kullanan 3tr ve Gö3tr grupları ile kıyaslandığında, 3tr ve Gö3tr grubunun genlik değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi. Yani gebeliğin son trimesterında agomelatin kullanan bir gebenin agomelatin hassasiyeti daha fazla olduğu için genlik değerinin daha fazla düştüğü tespit edildi.

Tablo 20: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının farklı agomelatin dozlarında ki genlik değerleri.

Gruplar	Genlik-50μM	Genlik-100μM	Genlik-200μM
Kontrol	91.84 \pm 3.69	14.84 \pm 8.77	0.0 \pm 0.0
Gö	65.59 \pm 6.30	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Gö2tr	68.27 \pm 14.12	3.55 \pm 2.43	0.0 \pm 0.0
2tr	72.36 \pm 7.56	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
3tr	26.16 \pm 10.5	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
Gö3tr	23.18 \pm 10.14	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0



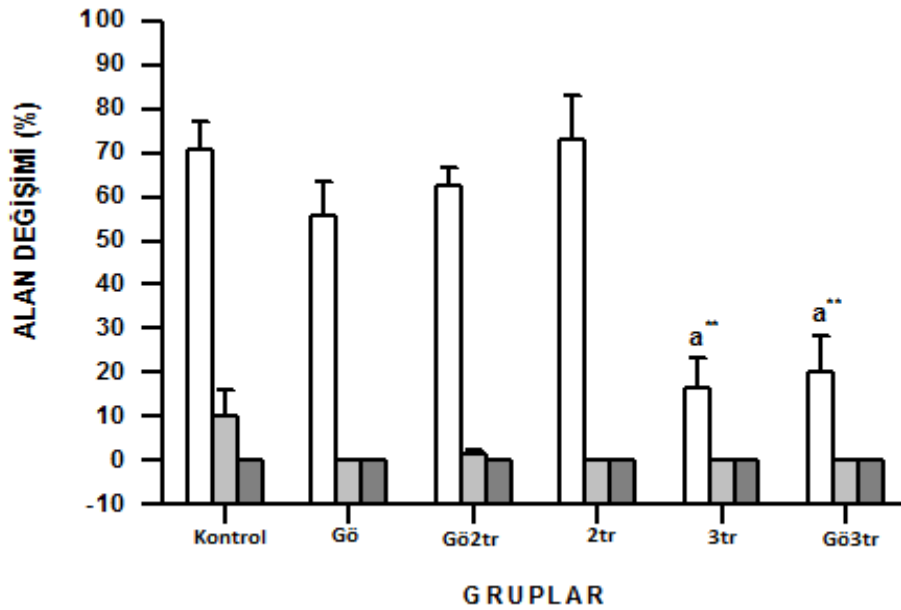
Şekil 49: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının agomelatinin farklı dozlarında genlik değerinin değişimi.

Agomelatin uygulaması sonucu alan değerlerinde düşüş görüldü fakat 50 μM 'lık agomelatin uygulandıktan sonra kontrol grubu ile kıyaslandığında istatikselsel olarak anlamlı azalma Gö grubu ($p<0.01$), Gö2tr grubu ($p<0.01$), 3tr grubu ($p<0.01$) ve Gö3tr gruplarında ($p<0.01$) görüldü. Gebeliğin son trimestırında agomelatin kullanmayan Gö2tr ve 2tr grupları, son trimestırda agomelatin kullanan 3tr ve Gö3tr grupları ile kıyaslandığında, 50 μM 'lık agomelatin dozunda 3tr ve Gö3tr gruplarının alan değerlerinde istatikselsel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi ($p<0.001$). 100 μM 'lık agomelatin uygulandıktan sonra ise kontrol gebe grubu ve Gö2tr grubu haricinde ki tüm gebe gruplarda %100 inhibisyon meydana geldi ancak gruplar arasında istatikselsel olarak anlamlı farklılık yoktu. En yüksek doz olan 200 μM agomelatin sonrası ise tüm gruplarda %100 inhibisyon görüldü. Yani gebeliğin son trimestırında agomelatin

kullanan bir gebenin agomelatine olan hassasiyeti daha fazla olduğu ve alan değerinin diğer tüm gruplara göre daha fazla azalma gösterdiği tespit edildi.

Tablo 21: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının farklı agomelatine dozlarında ki alan değerleri.

Gruplar	Alan-50μM	Alan-100μM	Alan-200μM
Kontrol	70.85±6.23	10.17±5.9	0.0±0.0
Gö	55.53±8.14	0.0±0.0	0.0±0.0
Gö2tr	62.38±4.49	1.34±1,18	0.0±0.0
2tr	72.97±9.92	0.0±0.0	0.0±0.0
3tr	16.42±6.89	0.0±0.0	0.0±0.0
Gö3tr	20.29±8.20	0.0±0.0	0.0±0.0



Şekil 50: Doğumda dekapite edilen deney gruplarının agomelatine'nin farklı dozlarında alan değerinin değişimi.

6. TARTIŞMA

Agomelatin, son yıllarda kullanılmaya başlanan ve melatonin reseptör agonisti olmakla beraber serotonin reseptör antagonisti olan melatonerjik bir antidepressandır (142). Bugüne kadar üretilen melatonerjik ajanlardan farklı olarak antidepressan özelliğinin bulunması agomelatinini diğer melatonerjik ilaçlardan farklı kılmaktadır. Hem melatonin türevi bir ajan olması hem de gebelikte kullanımı yönünden B kategorisinde bulunan bir ilaç olması (13) sebebiyle ve bugüne kadar yapılan çalışmalarda melatoninin üreme sistemi üzerinde ki birçok önemli etkisinin tespit edilmiş olmasından dolayı, agomelatinin üreme sistemi üzerinde benzer etkileri gösterip göstermeyeceği merak konusu olmuştur. Melatoninin miyometriyum kasılmaları üzerinde inhibitör etkisi bilinirken, gebelikte kullanımı açısından B kategorisinde bir ilaç olmasına rağmen agomelatinin üreme sistemi üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle çalışmanın sonunda elde edilen bulgular ile agomelatinin gebelik ve üreme sistemi üzerinde etkileri ile ilgili literatürdeki önemli bir boşluğun doldurulabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda agomelatinin miyometriyum üzerindeki invitro spontan ve oksitosin kaynaklı kontraksiyonlar üzerinde ki olası etkileri ortaya konulmasının yanı sıra agomelatin uygulamasının menstrual siklusu, gebelik süresini, bir batında doğan yavru sayısını, doğum esnasında ve diöstrus döneminde ki hormonal değişimi incelenmiştir. Bu alanda yapılan çalışmalar ile agomelatinin üreme sistemi üzerinde ve uterus fizyolojisindeki net olmayan karmaşık etkisi aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Agomelatin, üreme sistemi dışında ki birçok sistem de melatonin ile benzer etkileri göstermektedir ancak üreme sistemi üzerinde benzer etki gösterip

göstermeyeceği bilinmemektedir. Melatonin hormonunun üreme sistemi üzerinde ki etkisini hipotalamik-hipofizer-gonadal eksenindeki reseptör alanlarının aktivasyonu yoluyla sağladığı bilinmektedir. Preovulatuvar foliküler sıvıda yüksek konsantrasyonda melatonin olduğu tespit edilmiştir (143, 144). Ayrıca MT1 reseptör ekspresyonunun doğumdan sonra fare overlerinde azaldığı tespit edilmiştir (145). Yapılan literatür taramaları sonucunda, bir başka çalışmada elde edilen bulgularda, pineal melatonin fonksiyon bozukluğunun gebelik sürecinde ki kasılma-gevşeme mekanizmasını etkileyerek gebeliğin spontan düşük ile sonuçlanmasına sebep olduğu tespit edilmiştir. (146). Ayrıca melatoninin oksitosine cevaben uterus kontraksiyonlarını anlamlı düzeyde inhibe ettiği ortaya çıkmıştır (147).

Son yıllarda melatoninin üreme sistemi üzerindeki muhtemel etkisini ortaya çıkarmaya yönelik yapılan bu çalışmalarda, melatoninin dişi üreme sisteminde pars tuberaliste luteinizan hormon salınımını ve uterin antimezozomal stromal hücre proliferasyonunu inhibe etmesi ve uterin kasılmaları azaltması gibi büyüme ve fonksiyonel aktivitede inhibitör etkilere yol açtığı ortaya çıkmıştır. Hem foliküler sıvıda yüksek konsantrasyonda melatonin bulunması hem de düz kaslar üzerinde ki kontraksiyonları inhibe edici etkisi tespit edilmiştir (147, 148).

Agomelatinin etki yolağının monoamin sistemi yanında biyolojik ritimle ilişkili ilk antidepresandır. MT1 ve MT2 üzerindeki affinitesi melatonine göre daha yüksektir ve birçok sistem üzerinde melatoninin etkileriyle benzer etkileri göstermektedir (142). Yine yapılan bir başka kontraksiyon çalışmasında agomelatinin spontan ve oksitosin indüklü myometriyum kontraksiyonlarında doz bağımlı olarak inhibisyona neden olduğu görülmüştür (149). Aynı çalışmada

50µM, 100µM ve 200µM dozlarında agomelatin uygulandıktan sonra myometriyum kontraksiyonlarında frekans, genlik ve alan parametrelerinde azalma tespit edilmiştir (P<0.05). En yüksek doz olan 200µM agomelatin uygulamasından sonra hem genlik hem de alan değerlerindeki azalma diğer konsantrasyonlardaki uygulamalara göre daha anlamlı bulunmuştur (P<0.001). Ayrıca daha önce ki çalışmalarda 200µM'lık agomelatin dozu sonrası meydana gelen %100 inhibisyonun melatonin reseptör antagonisti olan luzindol ile geriye döndüğü tespit edilmiştir (149). Yapılan bu çalışma sonucunda melatonin reseptör antagonisti luzindolün kasılmaları geri getirmesi, agomelatinin melatonin reseptörlerine (MT1 ve MT2) bağlanarak etkinlik gösterdiğini ıspatlar nitelikte kabul görmüştür.

Bizim çalışmamızda da lütaretür ile benzer şekilde, agomelatinin myometriyum kontraksiyonları üzerinde inhibisyona sebep olduğu ve inhibisyonun doz bağımlı olduğu tespit edildi. Ancak diğer çalışmalardan farklı olarak bizim çalışmamızda, agomelatinin sadece gebelikte değil gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanmasının myometriyum kontraksiyonları üzerinde ki etkisi araştırılmıştır. Kontrol gebe grubu dahil olmak üzere altı farklı gebe deney grubumuz bulunmakta ve her bir deney grubunun farklı uygulanma dönemleri bulunmaktadır. Agomelatinin gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanmasının gebelik sürecini nasıl etkileyeceği ile ilgili yeterli literatür olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmalarımız sonucunda elde edilen veriler ışığında, gebelik süreci ve o döneme ait agomelatin uygulanmasıyla ilgili birçok soru işaretini ortadan kaldırır nitelikte olacağını düşünmekteyiz.

Kontrol gebe grubu ile diğer gebe deney grupları (Gö, Gö2tr, 2tr, 3tr ve Gö3tr) karşılaştırıldığında, diğer gruplarda olduğu gibi kontrol grubumuzda da 50 µM agomelatin dozu uygulandıktan sonra frekans değerinde istatistiksel anlamlı inhibisyon olduğu görüldü ve tüm gebe gruplarda 50µM'lık agomelatin uygulandıktan sonra istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Agomelatin uygulama sonrası frekans, genlik ve alan değerlerinde de aynı korelasyonda azalma olduğu gözlemlendi. Kontrol grubuna uygulanan 100µM agomelatin sonrasında frekans, genlik ve alan değerlerinde diğer tüm gebe gruplardan farklı olarak %100 inhibisyon görülmedi ancak istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi ($p<0.01$). 200µM'lık agomelatin uygulandıktan sonra tüm deney gruplarımızda aynı sonuç elde edilerek %100 inhibisyon gözlemlendi ($p<0.01$).

Daha önce yapılan çalışmalar da, melatoninin myometriyum kontraksiyonları, gebelik süresi ve yavru sayısı gibi üreme sistemi üzerinde ki benzer etkilerini melatonerjik reseptörler (MT1, MT2) üzerinden gösterdiği tespit edilmiştir. Agomelatinin de melatonerjik reseptörler agonisti olması sebebi ile aynı mekanizmayla benzer etkileri gösterdiğini düşünülmektedir. Bu düşünce ile yola çıkılarak, %100 inhibisyon tespitinden sonra dokulara melatonin reseptör antagonisti olan luzindol uygulandı. Luzindol uygulandıktan sonra spontan kasılmaların geri döndüğü ve agomelatinin oluşturduğu %100 inhibisyonun geri dönüşsüz olmadığı tespit edildi. Buda bize agomelatinin myometriyum kasları üzerindeki etkinliğini melatonin reseptörleri üzerinden gösterdiği bilgisini vermiş oldu.

Yapılan literatür taramasında melatoninin etki mekanizması ile ilgili farklı iki görüş daha ileri sürülmektedir. Birincisi, melatoninin GnRH salgılanmasını uyarak FSH ve LH salgısını uyarmak ve bu sayede reproduktif siklusun zamanını düzenlemesidir. Ayrıca melatoninin prolaktin işlevini inhibe ederek reproduksiyon üzerinde de baskılayıcı etki gösterdiği düşünülmektedir (150, 151, 152). İkinci görüş ise, melatoninin primer etkisinin hipofizin ön lobunun pars tüberalisi üzerine olduğudur (151).

Agomelatin uygulamasının myometrial kontraksiyonlar üzerindeki inhibitör etkisinin yanında siklus döngüsü üzerinde ki bilinmeyen etkisi de aydınlatılmaya muhtaçtır. Yapılan literatür taramasında, önceki benzer çalışmalarda, dişi ratlara günlük intraperitoneal melatonin enjeksiyonunun vajinal açılmada gecikmeye, ovaryum ağırlığında azalmaya, hipofizdeki Gonadotropin salıverici hormon (GnRH) reseptör seviyesinde ve vajinal açılmadan sonra siklus döngüsü insidansında azalmaya yol açtığı görülmüştür. (149). Yine daha önce yapılan bir başka çalışma da, preovulatar foliküler sıvıda yüksek konsantrasyonda melatonin bulunduğu kanıtlamıştır (144). Ayrıca MT1 reseptörü ekspresyonunun doğumdan sonra sıçan overlerinde azaldığı tespit edilmiştir (145). Öte yandan siklus evrelerinde ki MT1 reseptör ekspresyonu incelendiğinde, proestrus ve östrus evrelerinde ki MT1 reseptör ekspresyonunun metestrus evresine göre çok daha yüksek yoğunlukta olduğu tespit edilmiştir (153). Daha önce elde edilen bu bulgular sayesinde, melatonin hormonunun folikülojenezin, yumurtlama sürecinin ve siklus döngüsünün regüle olmasında önemli bir role sahip olduğunu ve ayrıca melatoninin siklus döngüsü üzerinde ki bu regülatör etkisini MT1 reseptörü üzerinde sağladığını düşündürmektedir.

Biz de bu bulgular ışığında Diöstrus ve Ago-diöstrus grupları deneklerine diğer gruplardan farklı olarak 14 gün siklus takibi yaptık. Siklus evrelerinin karşılaştırmasını yaparken, tespiti daha kolay olması için en uzun evre olan ve ortalama 54-56 saat süren diöstrus evresi üzerinden karşılaştırma yaptık. Yapılan siklus takipleri sonucunda Diöstrus grubu yani kontrol grubumuzun siklus döngüsü evrelerinde geçirdiği sürelerin, agomelatin uygulanan yani Ago-diöstrus grubu deneklerinin bu evrelerde geçirdiği sürelerle göre daha kısa olduğunu tespit ettik. Yapılan siklus takipleri sonucunda elde edilen bulgularla melatonerjik bir antidepresan olan agomelatin uygulamasının diöstrusta kalma süresini kontrol grubuna kıyasla uzattığı ortaya çıkmıştır. Agomelatin uygulamasının meydana getirdiği bu değişimin hangi mekanizmayla gerçekleştiği tam olarak bilinmemektedir. Bu bilinmezlik de bize hormonal değişimi inceleme gereği duyurmuştur. Bu sebeple diöstrus evresinde dekapite edilen deneklerin dekapitasyon sonrası alınan kanlarından oksitosin, progesteron ve östrojen, değerlerini inceledik. Ratlarda, seksüel siklusun en uzun evresi olan diöstrus evresinde yani foliküler evrede primer etkili olan hormonlar FSH ve folikül içerisinde bol miktarda bulunan östrojen hormonudur (154). Daha önce yapılan çalışmalarda, diöstrus evresinde yani foliküler fazda FSH, LH, östrojen ve prolaktin hormonun belirgin şekilde arttığı progesteron hormonunda ise azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda yaptığımız hormonal inceleme sonucunda ise, agomelatin uygulamasının prolaktin ve östrojen düzeylerini benzer şekilde arttırırken progesteron seviyesinde de artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuç, agomelatin kullanan Ago-diöstrus grubu deneklerinin siklus döngülerinde meydana gelen uzamayı açıklar nitelikte olmuştur. Foliküler fazda

yani diöstrus evresinde azalması gereken progesteron hormonu artarak myometrial aktiviteyi baskılamış ve evrelerin uzamasına sebep olabileceği düşünülmüştür. Yaptığımız incelemeler sonucunda, agomelatin kullanan deneklerin siklus döngüsünün tamamlanmasının, kullanmayan deneklerinkinden daha uzun sürdüğü ve istatikselsel olarak anlamlı farklılık olduğu net olarak tespit edilmiştir ($p<0.05$). Daha önce melatonin uygulanmasıyla ilgili yapılan benzer bir çalışma da, melatoninin siklus döngüsünün geç tamamlanmasına sebep olduğu ve bu etkiyi MT1 reseptörü üzerinden gösterdiği tespit edilmiştir (155). Bizim çalışmamız sonucunda da foliküler fazda yani diöstrus evresinde progesteron salgısının artması ve buna bağılı olarak myometrial aktivitenin azalması, siklus evresinin uzamasının altında yatan muhtemel mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmektedir.

Myometrial aktivitenin azalması, siklus döngüsünde meydana gelen gecikme ve üreme sistemi üzerindeki hormonal farklılıkların yanında incelenmesi gereken bir diğere konu, agomelatin uygulamasının bir batında doğan yavru sayısını nasıl değıştireceğidir. Ayrıca preovulatuvar foliküler sıvıda yüksek konsantrasyonda melatonin olması ve MT1 reseptör ekspresyonunun doğumdan sonra fare overlerinde azalması fetal sayının nasıl değışiceğinin merak konusu olmasına sebep olmuştur (145, 156).

Embriyo implantasyonu, blastosist ve uterus arasındaki ilk fiziksel etkileşimdir. İmplantasyonun kalitesi, sonraki gestasyonun kalitesini belirlemektedir. Bu süreçteki herhangi bir rahatsızlık genellikle erken embriyo kaybına ve hamilelik başarısızlığına sebep olabilmektedir (157). Son yıllarda, implantasyon sırasında blastosist ve uterus arasında ki etkileşimde rol alan çok

sayıda molekül tespit edilirken, melatonin de embriyo implantasyonu için çok önemli olduğu ve insan dişi üreme sağlığı için yüksek klinik öneme sahip olduğu netleşmiştir (158, 159).

Melatonin de, dişi üreme sistemini etkilediği bilinen çok işlevli bir ajan olarak bilinmektedir (160, 161). Bunu kısmen hipotalamik-hipofiz-gonadal eksen içindeki reseptör alanlarının aktivasyonu yoluyla sağlamaktadır (162, 163). Östrojen ve progesteron, dişi üreme sisteminin regülasyonunda primer etkisi olan hormonlardır ve işlevlerine nükleer reseptörler ERa veya PRA aracılık etmektedirler. ERa veya PRA eksikliği olan dişi fareler, uterus fizyolojisinde meydana gelen sorunlar nedeniyle implantasyon problemi yaşarlar. Önceki çalışmalar, melatoninin memelilerde östrojen ve progesteron sekresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynadığını tespit edilmiştir (164, 165). Bu konuyla ilgili yapılan bazı çalışmalarda, melatoninin implantasyon öncesi dönemde östrojen seviyesinde artışa sebep olurken progesteron seviyesini azalttığını ortaya koymuştur (166, 167). Benzer şekilde bir başka çalışmada ise, implantasyon sonrası progesteron seviyesinde değişiklik olmadığını ancak östrojen seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir ve buna ilaveten melatoninin fare ve sığırlarda blastosist sayısını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı tespit edilmiştir (168).

İntraperitoneal melatonin enjeksiyonları kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise melatoninin, östrojen ve progesteronu regüle ederek, endometriyum ve uterus bezinin gelişmesine katkıda bulunup, blastosist aktivasyonunu ve üremeyi destekleyen gen (ErbB1, HB-EGF ve p53) ekspresyonunu güçlendirmiştir. Bu yol ile uterus alıcılığını geliştirerek implantasyon sayısını, bir batında doğan yavru sayısını ve ortalama yavru boyutunu önemli ölçüde

geliştirdiğini doğrulamış fakat istatistiksel anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir (169).

Bizim çalışmamız da ise, melatoninin bir türevi olan ve melatonin reseptör agonisti olması yönünden daha yüksek afiniteye sahip olan agomelatinin kullanılmış olması benzer sonuçları elde etme ihtimalimizi kuvvetlendirmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda agomelatinin gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanmasının implantasyon başarısını artırarak canlı doğumların başarısını arttırdığı tespit edildi. 6 farklı gebe deney grubumuzdan elde ettiğimiz veriler de, tüm gebe gruplarının fetal sayılarının kontrol grubuna kıyasla arttığı fakat sadece gebe kalmadan önce agomelatin uygulanan Gö deney grubunda istatistiksel anlamlı farklılık olmadığı tespit edildi. Gebeliğin farklı dönemlerinde agomelatin kullanan diğer 4 gebe deney grubunda fetal sayı yönünden istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi ($P < 0.01$). Elde ettiğimiz veriler sonucunda agomelatinin gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanması, uterus gelişimini arttırarak implantasyon başarısını ve bir batında doğan yavru sayısını arttırdığı tespit edilmiştir. Melatoninin benzer etkileri östrojen ve progesteron üzerinden göstermesi ve bizimde agomelatin ile benzer sonuç elde etmemiz bize aynı mekanizma ile fetal sayının arttığını düşündürmektedir.

Agomelatin uygulanması olan deneklerin fetal sayısındaki artışı, elbette batın içi basıncın değişimine ve bu basınca bağlı olarak gebelik süresinde de mutlak değişikliklerin meydana gelmesine sebep olması beklenmektedir. Fetal sayıdaki artışın gebelik süresinin kısaltmasını tetiklerken myometriyum kontraksiyonlarındaki inhibütör etki ve progesteron seviyesinde ki artış gebelik süresini uzatması beklenen farklı mekanizmalardır. Elde edilen tüm bu veriler

ışığında gebelik 6ncesi veya gebelik s6resi boyunca farklı d6nemlerde agomelatin uygulanmasının, doğumun yaklaştığı d6nemlerde agomelatine olan hassasiyeti arttırarak spontan kasılmaların oluşumunu engellediğini s6yleyebiliriz. Elde ettiğimiz bu bilgiler, agomelatin uygulanmasının gebelik s6resini nasıl etkilediğini sorgulamamız gerektiğini d6ř6nd6rm6řt6r.

Daha 6nce yapılan deneysel 7alışmalar da, melatonin uygulamalarının gebeliğin son d6nemlerinde meydana gelmesi gereken spontan kasılmaları oluşturan oksitosin hormonunun etkilerini inhibe ettiği ortaya 7ıkmıştır (147). Doğumun başlamasını sağlayan oksitosin hormonunun etkilerinin inhibe olması sonucu gebeliğin postterm d6neme girmesi neredeyse ka7ınılmazdır.

7alışmamız da elde ettiğimiz verilere g6re gebeliğin son trimestırında agomelatin uygulanmasının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gebelik s6resinin daha uzadığı ve istatiksels anlamlı farklılık oluştuğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Ayrıca gebelik d6neminde ki agomelatin uygulamasının, gebeliği uzatıp doğumu geciktirmemesi adına son trimestırda ila7 kullanımının postterm gebeliğe sebep olacağı bilgisi 6nemli bir tespit olmuştur.

SONUÇ

Bir antidepresan olan ve melatonerjik reseptör agonisti olan agomelatinin, gerek gebe olmayan deney gruplarında (Diöstrus, Ago-diöstrus) gerekse gebeliğin farklı dönemlerinde uygulanmasının uterin kontraksiyonlarını doz bağımlı olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir. Özellikle gebelik döneminde agomelatinin daha düşük ilaç dozlarında inhibisyona neden olduğu ve bununda gebelik döneminde artan melatonerjik reseptör artışına bağlı olduğunun düşünüldüğü ve bu mevcut etkinin luzindol ile geri dönmesinin, inhibitör etkiyi MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden yaptığı tespit edilmiştir. Bunun yanında gebe olmayan deney gruplarında kronik agomelatin uygulamasının siklus evrelerinden olan diöstrusu anlamlı şekilde uzattığı (dolaylı olarak siklus döngüsünün tamamlanmasını geciktirdiği) ve bunu progesteron hormonun artışıyla ilişkili olduğu, gebelik dönemindeki agomelatin uygulamasının da bir batında ki fetal sayının artışına sebep olduğu ve daha önce yapılan çalışmalarda melatoninin de benzer etkiyi gösterdiği ve bunu melatonerjik reseptörler üzerinden gösterdiği için aynı mekanizma ile yani melatonerjik reseptörler üzerinden gösterdiği düşünülmüştür. Bu bulguların yanında, agomelatinin gebelik süresi üzerine olan etkisini incelediğimizde gebelik süresini uzattığı ve bu etkisini prostoglandin E₂ ve oksitosin seviyesini azaltarak gerçekleşebileceğini düşünmekteyiz.

Sonuç olarak bir antidepresan olup melatonerjik reseptör özelliğine sahip olan agomelatin, uterin kontraksiyonlar üzerinde inhibitör etkiye sahiptir, siklus döngüsünü uzatmaktadır, bir batındaki fetal sayı artışına sebep olmakta, doğumun başlamasını geciktirmekte ve gebelik süresini uzatmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Sansone RA, Sansone LA. Agomelatn: yeni bir antidepresan. *Innov Clin Neurosci*. 2011; 11: 10-14.
2. Ayar A, Kutlu S, Yılmaz B, Kelestimur H. Melatonin inhibits spontaneous and oxytocin-induced contractions of rat myometrium in vitro. *Neuroendocrinology Letters* 2001; 22: 199-207
Gimeno MF, Landa A, Sterin-Speziale N, Cardinali DP, Gimeno AL. Melatonin blocks in vitro generation of prostaglandin by the uterus and hypothalamus. *Eur J Pharmacol* 1980; 62: 309-317
3. Kus, I., Akpolat, N., Ozen, O. A., & Songur, A. (2002). Effects of melatonin on Leydig cells in pinealectomized rat: An immunohistochemical study. *Acta histochemica*, 104(1), 93.
4. He, C., Ma, T., Shi, J., Zhang, Z., Wang, J., Zhu, K., ... & Liu, G. (2016). Melatonin and its receptor MT1 are involved in the downstream reaction to luteinizing hormone and participate in the regulation of luteinization in different species. *Journal of pineal research*, 61(3), 279-290.
5. Jones K, Shmygol A, Kupittayanant S, Wray S. (2004). Electrophysiological characterization and functional importance of calcium-activated chloride channel in rat uterine myocytes. *Pflugers Arch*. 448: 36-43
6. Kawarabayashi T, Ikeda M, Sugimori H, Nakano H. (1986). Spontaneous electrical activity and effects of noradrenaline on pregnant human myometrium recorded by the single sucrose-gap method. *Acta Physiol Hung*. 67: 71- 82.
7. Amon. <http://www.quit-yer-snoring.com/melatonin-and-serotonin.html>.- 23.09.2018
8. Zheng SL, Chen JM, Zhang WX, Lu TB. Structures of Polymorphic Agomelatine and Its Cocrystals with Acetic Acid and Ethylene Glycol. *Crystal Growth & Design* 2011; 11(2): 466-471.
9. Nash J, Nutt D. Antidepressants. *Psychiatry* 2007; 6(7): 289-94.
10. Girish MB, Bhuvana K, Raju GN, Sarala N. A novel atypical antidepressant drug: Agomelatine - A review. *Int J Pharm Biomed Res*. 2010; 1(3): 113-116.

11. Fornaro M, Prestia D, Colicchio S, Perugi G. A Systematic, Updated Review on the Antidepressant Agomelatine Focusing on its Melatonergic Modulation. *Current Neuropharmacology* 2010; 8(3): 287-304.
12. Özçelik F, Erdem M, Bolu A, Gülsün M. Melatonin: Genel Özellikleri ve Psikiyatrik Bozukluklardaki Rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar* 2013; 5(2): 179-203.
13. Uzbay İT. Agomelatin: Genel Bilgiler, Farmakolojisi ve Kullanım Güvenliği. *Klinik Psikiyatri* 2012; 15(1): 9-19.
14. De Berardis D, Marini S, Fornaro M, et al. The melatonergic system in mood and anxiety disorders and the role of agomelatine: implications for clinical practice. *Int J Mol Sci.* 2013; 6: 12458-12483.
15. Dale E, Bang-Andersen B, Sanchez C. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs. *Biochemical Pharmacology* 2015; 95: 81-97
16. Özlem GİRAY “Agomelatinin Antinosiseptif Etki Yerinin Araştırılması” (Uzmanlık Tezi, Akdeniz Üniversitesi 2014)
17. Srinivasan V, Zakaria R, Othman Z, et al. Agomelatine in depressive disorders: its novel mechanisms of action. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2012; 3: 290-308.
18. Hamid HY, Zakaria MZAB. Reproductive characteristics of the female laboratory rat. *African Journal of Biotechnology* 2013; 12(19): 2510-2514.
19. Bayramiçli M. Deneysel mikrocerrahi: Temel araştırma, doku ve organ nakli modelleri. *Argos*, 2005.
20. Richardson V. *Diseases of Small Domestic Rodents*. UK, Blackwell Publishing, Second Edition, 2003: 221-226.
21. Amon. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/43754782.pdf>. “Part3: Female Reproductive System”.- 07.10.2018
22. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, et al. The GPR54 Gene as a Regulator of Puberty. *The New England Journal of Medicine* 2003; 349(17): 1614-1627.
23. Buck LGM, Gray LE Jr, Marcus M, et al. Environmental Factors and Puberty Timing: Expert Panel Research Needs. *Pediatrics* 2008; 121(3): 192-207.

24. Glanowska KMM, Moenter SM. Secretory activity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons before the onset of puberty in male mice. *GnRH & Gonadotroph Biology & Signaling* 2013; SAT-141.
25. Traggiai C, Stanhope R. Disorders of pubertal development. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2003; 17(1): 41-56.
26. Delemarre-van de Waal HA. Regulation of Puberty. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 16(1): 1-12.
27. Millar RP, Lu ZL, Pawson AJ, et al. Gonadotropin-Releasing Hormone Receptors. *Endocrine Reviews* 2004; 25(2): 235-275.
28. Hayes FJ, Crowley WF Jr. Gonadotropin Pulsations across Development. *Hormone Research* 1998; 49: 163-168.
29. Nagatani S, Guthikonda P, Foster DL. Appearance of a Nocturnal Peak of Leptin Secretion in the Pubertal Rat. *Hormones and Behavior*. 2000;37(4);345-352. 28. Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of the reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The laboratory rat (Handbook of experimental animals)* London:Academic Press; 2000.p.148-149.
30. Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of the reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The laboratory rat (Handbook of experimental animals)* London:Academic Press; 2000.p.148-149.
31. Mendelsohn ME, Karas RH. (1999). The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med* 340:1801–1811.
32. Richard E. White. (2002). Estrogen and vascular function. *Vascular Pharmacology* 38 73–80.
33. Geary, G.G., Krause, D.N., Duckles, S.P. (2000). Estrogen reduces mouse artery tone through endothelial NOS- and cyclooxygenase-dependent mechanisms. *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 279, H511– H519.
34. Conrad, K. P., Joffe, C. M., Kruszyna, H., Kruszyna, R., Rochelle, L. C., Smith, K. P., Chavez, J. E., and Mosher, M. D. (1993). Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEBJ.* 7, 566-571.

35. Kharitonov, S.A., Logan-Sinclair, R.B., Busset, C.M., Shinebourne, E.A. (1994). Peak expiratory nitric oxide differences in men and women: relation to the menstrual cycle. *Br. Heart J.* 72, 243–245.
36. Michel Y. Farhat, Mark C. Lavigne, Peter W. Ramwell. (2007). The vascular protective effects of estrogen. Georgetown University Medical Center, Washington D.C. USA.
37. Mendelsohn ME. (2000). Mechanisms of estrogen action in the cardiovascular system. *J Steroid Biochem Mol Biol* 74:337–343.
38. Hans H. Zingg and Stephane A. Laporte. (2003). The oxytocin receptor. *Trends in Endocrinology and Metabolism* Vol.14 No.5.
39. Brownstein MJ, Russel JT, Gainer H. (1980). Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones. *Science* 207: 373–378.
40. Gimpl, G. and Fahrenholz, F. (2001). The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol. Rev.* 81, 629–683.
41. Soloff MS, Alexandrova M, Fernstrom MJ. (1979). Oxytocin receptors: Triggers for parturition and lactation? *Science* 204: 1313–1315.
42. Conrad KP, Gellai M, North WG, Valtin H. (1986). Influence of oxytocin on renal hemodynamics and electrolyte and water excretion. *Am J Physiol* 251:F290–F296.
43. Argiolas A. (1999). Neuropeptides and sexual behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 23:1127–1142.
44. Pedersen CA, Ascher JA, Monroe YL, Prange AJ. (1982). Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* 216:648–650.
45. Cicutti NJ, Smyth CE, Rosaeg OP, Wilkinson M. (1999). Oxytocin receptor binding in rat and human heart. *Can J Cardiol* 15:1267–1273.
46. Zhang J, Weston PG, Hixon JE. (1992). Role of progesterone and estradiol in the regulation of uterine oxytocin receptor in ewes. *J Reprod Fertil* 94:395–404.
47. Beshay VE, Carr BR. Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis and Control of the Menstrual Cycle. *Clinical Reproductive Medicine and Surgery* 2013; 31-42.
48. Yiğit G. Hematoloji ve Endokrin Fizyolojisi, Nobel Tıp Kitapevi, 2011.

49. Hall JE. Guyton Tıbbi Fizyoloji. Yeğen BÇ, Alican İ, Solakoğlu Z (Çeviren). 12. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, 2013.
50. Ojeda SR, Lomniczi A, Mastronardi C, et al. Minireview: The Neuroendocrine Regulation of Puberty: Is the Time Ripe for a Systems Biology Approach? *Endocrinology* 2006; 147(3): 1166–1174.
51. Hall JE. Guyton Tıbbi Fizyoloji. Yeğen BÇ, Alican İ, Solakoğlu Z (Çeviren). 12. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, 2013.
52. Köylü H. Tıbbi Fizyoloji Klinik Anlatımlı, Nobel Tıp Kitapevi, 2014.
53. Lohmiller JL, Swing SP. Reproduction and breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL (Editors). *The laboratory rat*. Academic Press; 2006: 148-153.
54. Aaronson P (1999) *The Cardiovascular System at a Glance*. London: Blackwell Science LTD.
55. Ahmed S, Rakhawy M, Abdalla A, Assaas E (1978) "The comparative anatomy of the blood supply of cardiac ventricles in the albino rat and guinea-pig", *Journal of Anatomy*, 126:51.
56. Allen D, Orchard C (1987) "Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia", *Circulation Research*, 60:153-168.
57. Sod-Moriah UA. Reproduction in the heat-acclimatized female rat as affected by high ambient temperature. *J Reprod Fertil*. 1971; 26(2): 209-18.
58. Neill JD, Plant TM, Pfaff DW, et al. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Third Edition, Academic Press; 1988.
59. Karakuş S. Fluoksetinin sıçanların menstrual siklusu üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
60. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz. J. Biol.* 2002; 62(4A): 609-14.
61. Singletary, S.J., Kirsch, A.J., Watson, J., Karim, B.O., Huso, L., Hurn, P.D., Murphy, S.J., (2005). Lack of correlation of vaginal impedance measurements with hormone levels in the rat. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science.*, 44(6), 37-42.

62. Le Fevre, J., Mcclintick, M.K., (1988). Reproductive senescence in female rats: a longitudinal study of individual differences in estrous cycles and behavior. *Biology of Reproduction*, 38(4), 780-789.
63. Wise, P.M. (1994). Neuroendocrine ageing: its impact on the reproductive system of the female rat. *Jeprduction and Fertility Supplement*, 46, 35-46.
64. Akkoyunlu, G., Üstünel, İ., Demir, R., (2009). Sıçan ovaryumunda transforme-edici gelişim faktörü alfa laminin, fibronektin ve desmin'in immünohistokimyasal dağılımı. *Turkish Journal of Biology*, 24(2000), 467-481.
65. Bennett JP, Vickery BH. Rats and Mice. Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*, Philadelphia, Lea and Febiger; 1970: 299–315.
66. Fox RR, Laird CW. Sexual cycles. Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*, Philadelphia: Lea & Febiger 1970. 107–122.
67. Baker DEJ. Reproduction and breeding. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH editors. *The Laboratory Rat*, Volume 1, New York: Academic Press;1979. p. 153–168.
68. Bennett, JP, Vickery BH. Rats and Mice. In: Hafez ESE, editor. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*, Philadelphia, Lea and Febiger; 1970. p. 299–315.
69. Maeda KI, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The Laboratory Rat*, New York: Academic Press; 2000. p. 145–176.
70. Smith MS, Freeman ME, Neili JD. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: Prolactin, gonadotropin, and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrin*. 1975; 96:219–226.
71. Gibori G, Khan I, Warshaw MI, McLean MP, Puryear TK, Nelson S, Durkee TJ, Azhar S, Steinschneider A, Rao MC. Placental-derived regulators and the complex control of luteal cell function. *Recent Prog. Horm. Res.* 1988; 44: 377–429.
72. Kaufmann P, Burton G. In: Knobil E, Neill JD, editors. *The Physiology of Reproduction*, 2d ed., New York: Raven Press;1994. p. 441–484.
73. Sores MJ, Muller H, Orwing KE, Peters TJ, Dai G. The uteroplacental prolactin family and pregnancy. *Biol. Reprod.* 1998; 58:273–284.

74. Morishige WK, Pepe GJ, Rothchild I. Serum Luteinizing Hormone, Prolactin and Progesterone Levels During Pregnancy in the Rat. *Endocrinology*. 1973; 92; 5:1527-1530.
75. Waynforth HB. Changes In The Volume Of Rat Corpus Luteum During Pregnancy And After Surgical Interference With The Uterus And Placenta. *Acta Endocrinologica*. 1971; 66; 2:296-302.
76. Richardson V. (2003). *Diseases of Small Domestic Rodents*. UK, Blackwell Publishing, Second Edition; 2003. p. 221-226.
77. Samuel CS, Butkus A, Coghlan JP, Bateman JF. The effect of relaxin on collagen metabolism in the nonpregnant rat pubic symphysis: The influence of estrogen and progesterone in regulating relaxin activity. *Endocrin*. 1996; 137:3884–3890.
78. Higuchi T, Honda K, Negoro H. Detailed analysis of blood oxytocin levels during suckling and parturition in the rat. *J. Endocrinol*. 1986; 110:251–256.
79. Lohmiller JJ, Swing SP. Reproduction and Breeding. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL, editors. *The Laboratory Rat*. Burlington: Elsevier Academic Press; 2006. p. 148-159.
80. Evans AM. Age at puberty and first litter size in early and late paired rats. *Biol. Reprod*. 1986; 34:322–326.
81. Harris MA, Kesel ML. An improved method for accurately timed mating in rats. *Lab. Anim. Sci*. 1990; 40:424–425.
82. Kohn DF, Clifford CB. Biology and diseases of rats. In: Anderson LC, Leow FM, Quimby FW, editors. *Laboratory Animal Medicine*, San Diego: Academic Press; 2002. p. 121–165.
83. Niggeschulze A, Kast A. Maternal age, reproduction, and chromosomal aberrations in Wistar derived rats. *Lab. Anim*. 1994; 28:55–62.
84. Maeda KI, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of reproduction. In: Krinke GJ, editor. *The Laboratory Rat*, New York: Academic Press, 2000:145–176.
85. Niggeschulze A, Kast A. Maternal age, reproduction, and chromosomal aberrations in Wistar derived rats. *Lab Anim* 1994; 28:55–62.

86. Woodside C, Jans JE. Role of the nutritional status of the litter and length and frequency of mother litter contact bouts in prolonging lactational diestrus in rats. *Horm Behav* 1995; 29:154–176.
87. Barrett KE , Barman SM , Boitano S, Brooks H. *Ganong's Review of Medical Physiology*, 23rd edition, Lange, 2010:120-140.
88. Samuel CS, Butkus A, Coghlan JP, Bateman JF. The effect of relaxin on collagen metabolism in the nonpregnant rat pubic symphysis: The influence of estrogen and progesterone in regulating relaxin activity. *Endocrin* 1996; 137:3884–3890.
89. Wettschureck N, Offermans S. Mammalian G Proteins and their cell type specific functions. *Physiol Rev* 2005; 85: 1159- 1204.
90. Berthet J, Rall TW, Sutherland EW. The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. IV. Effect of epinephrine and glucagon on the reactivation of phosphorylase in liver homogenates. *J Biol Chem* 1957; 224: 463-475.
91. Sutherland EW, Rall TW. Fractionation and characterization of cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J Biol Chem* 1958; 232: 1077-1091.
92. Birnbaumer L, Rodbell M. Adenylyl cyclase in fat cells. II. Hormone receptors. *J Biol Chem* 1969; 13: 3477-3482.
93. Orly J, Schramm M. Coupling of catecholamine receptor from one cell with adenylyl cyclase from another cell by cell fusion. *Proc Natl Acad Sci* 1976; 73: 4410-4414.
94. Shorr RGL, Lefkowitz RJ, Caron MG. Purification of the β -adrenergic receptor. Identification of the hormone-binding subunit. *J Biol Chem* 1981; 256: 5820-5826.
95. Rodbell M, Birnbaumer L, Pohl SL, Krans HMJ. The glucagon- sensitive adenylyl cyclase system in plasma membranes of rat liver. V. An obligatory role of guanyl nucleotides in glucagon action. *J Biol Chem* 1971; 246: 1877-1882.
96. Pfeuffer T, Helmreich EJM. Activation of pigeon erythrocyte membrane adenylyl cyclase by guanyl nucleotide analogues and separation of nucleotide-binding protein. *J Biol Chem* 1975; 250: 867-876.
97. Gilman AG, Ross EM. Resolution of some components of adenylyl cyclase necessary for catalytic activity. *J Biol Chem* 1994; 252: 6966-6969.

98. Vaughan M. Signaling by heterotrimeric G proteins minireview Series. *J Biol Chem* 1998; 273: 667-668.
99. Patel TB. Single transmembrane spanning heterotrimeric G Protein-coupled receptors and their signaling cascades. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 371-385.
100. Schlessinger J, Ulrich A. Growth factor signaling by receptor tyrosine kinases. *Neuron* 1992; 3: 383-391.
101. Gether U. Uncovering molecular mechanisms involved in activation of G protein-coupled receptors. *Endocr Rev* 2000; 21: 90-113.
102. Hepler JR, Gilman AG. G proteins. *Trends Biochem Sci* 1992; 7: 383-387.
103. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000; 103: 211-225.
104. Kolakowski LF Jr. GCRDb: a G-protein-coupled receptor database. *Receptors Channels* 1994; 2: 1-7.
105. Simon MI, Strathmann MP, Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction. *Science* 1991; 252: 802-808.
106. Dorsam RT, Gutkind JS. G-protein coupled receptors and cancer. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 79- 94.
107. Mattera R, Graziano MP, Yatani A, Zhou Z, Graf R, Codina J. Splice variants of the α subunit of the G protein Gs activate both adenylyl cyclase and calcium channels. *Science* 1989; 243: 804-807.
108. Schubert B, VanDongen AMJ, Kirsh GE, Brown AM. β adrenergic inhibition of cardiac sodium channels by dual G-protein pathways. *Science* 1989; 245: 516-519.
109. Gilbertson TA, Damak S, Margolskee RF. The molecular physiology of taste transduction. *Curr Opin Neurobiol* 2000; 10: 519-527.
110. Meng J, Casey PJ. Signaling through Gz. *Handbook of cell signaling*, edited by Bradshaw RA and Dennis EA. Boston, MA: Academic, 2004: 601-604.
111. Arshavsky VY, Lamb TD, Pugh EN Jr. G proteins and phototransduction. *Annu Rev Physiol* 2004; 64: 153-187.

112. Pang, IH, Sternweis PC. Purification of unique alpha subunits of GTP-binding regulatory proteins (G proteins) by affinity chromatography with immobilized beta gamma subunits. *J Biol Chem* 1990; 265: 18707-18712.
113. Waldo GL, Boyer JL, Morris AJ, Harden TK. Purification of an AlF₄-and G-protein beta gamma-subunit-regulated phospholipase C-activating protein. *J Biol Chem* 1991; 266: 14217- 14225.
114. Dhanasekaran N, Dermott JM. Signaling by the G12 class of G proteins. *Cell Signal* 1996; 8: 235-245.
115. Plonk SG, Park SK, Exton JH. The alpha-subunit of the heterotrimeric G protein G13 activates a phospholipase D isozyme by a pathway requiring Rho family GTPases. *J Biol Chem* 1998; 273: 4823-4826.
116. Noel JP, Hamm HE, Sigler PB. The 2.2° A crystal structure of transducin-alpha complexed with GTP γ S. *Nature* 1993; 366: 654-663.
117. Lambright DG, Noel JP, Hamm HE, Sigler PB. Structural determinants for activation of the α subunit of heterotrimeric G protein. *Nature* 1994; 369: 621-628.
118. Tooze J, Branden C. Introduction to protein structure. Garland Publishing 1999; 13: 251-281.
119. Hamm HE, Gilchrist A. Heterotrimeric G proteins. *Current Opinion in Cell Biology* 1996; 8: 189-196.
120. Theresa M, Vera C, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A. Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev* 2003; 24: 765-81.
121. Lambright DG, Sondek J, Bohm A, Skiba NP, Hamm HE, Sigler PB. The 2.0° A crystal structure of a heterotrimeric G protein. *Nature* 1996; 379: 311-319.
122. Denker BM, Boutin PM, Neer EJ. Interactions between the amino-and carboxyl-terminal regions of G α subunits: analysis of mutated G α o/G α i2 chimeras. *Biochemistry* 1995; 34: 5544- 5553.
123. Bushfield M, Murphy GJ, Lavan BE, Parker PJ, Hruby VJ, Milligan G, Houslay MD. Hormonal regulation of Gi2 α -subunit phosphorylation in intact hepatocytes. *BiochemJ* 1990; 86: 24-76.

124. Chen CA, Manning DR. Regulation of G proteins by covalent modification. *Oncogene* 2001; 20: 1643-1652.
125. Brown AM, Birnbaumer L. Direct G protein gating of ion channels. *Am J Physiol* 1988; 254:401-410.
126. Clapham DE. Direct G protein activation of ion channels? *Annu Rev Neurosci* 1994; 17: 441-464.
127. Clapham DE. Arachidonic acid and its metabolites in the regulation of G protein-gated K⁺ channels in atrial myocytes. *Biochem. Pharmacol* 1990; 39: 813-815.
128. Yang J, Tsien RW. Enhancement of N- and L-type calcium channel currents by protein kinase C in frog sympathetic neurons. *Neuron* 1993; 10: 127-136.
129. Marchetti C, Robello M. Guanosine-5'-O-(3-thiotriphosphate) modifies kinetics of voltage-dependent calcium current in chick sensory neurons. *Biophys J* 1989; 56: 1267-1272.
130. Taussig R, Sanchez S, Rifo M, Gilman AG, Belardetti F. Inhibition of the omega-conotoxin-sensitive calcium current by distinct G proteins. *Neuron* 1992; 8: 799-809.
131. Schubert B, Vandongen AM, Kirsch GE, Brown AM. β adrenergic inhibition of cardiac sodium channels by dual G protein pathways. *Science* 1989; 245: 516-519.
132. Ling BN, Kemendy AE, Kokko KE, Hinton CF, Marunkaka Y, Eaton DC. Regulation of the amiloride-block-able sodium channel from epithelial tissue. *Mol Cell Biochem* 1990; 99:141-150.
133. Fargon F, McNaughton PA, Sepulveda FV. Possible involvement of GTP-binding proteins in the deactivation of an inwardly rectifying K⁺ current in enterocytes isolated from guinea-pig small intestine. *Plügers Arch* 1990; 417: 240-242.
134. Sadja R, Alagem N, Reuveny E. Gating of GIRK channels: details of an intricate, membrane-delimited signaling complex. *Neuron* 2003; 39: 9-12.
135. Stanfield PR, Nakajima S, Nakajima Y. Constitutively active and G-protein coupled inward rectifier K⁺ channels: Kir2.0 and Kir3.0. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2002; 18: 145.
136. Adebisi A, Adaikan PG, Prasad RN. Effect of benzyl isothiocyanate on spontaneous and induced force of rat uterine contraction. *Pharmacol Res* 2004; 49: 415-22.

137. Andersen CU, Markvardsen LH, Hilberg O, Simonsen U. Pulmonary apelin levels and effects in rats with hypoxic pulmonary hypertension. *Respiratory Medicine* 2009; 103: 1663-1671.
138. Ashley EA, Powers J, Chen M. The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 73–82.
139. Atluri P, Morine KJ, Liao GP. Ischemic heart failure enhances endogenous myocardial apelin and APJ receptor expression. *Cell Mol Biol Lett* 2007; 12: 127–38.
140. Bai B, Tang J, Liu H, Chen J, Li Y, Song W. Apelin-13 induces ERK1/2 but not p38 MAPK activation through coupling of the human apelin receptor to the Gi2 pathway. *Acta Biochim Biophys* 2008; 40: 311-318.
141. Blanks AM, Astle S, Bru-Mercier G, Shmygol A, Thornton S, Zhao ZH. Characterization of the molecular and electrophysiological properties of the T-type calcium channel in human myometrium. *J Physiol* 2007; 581: 915-26.
142. Ying SW, Rusak B, Delagrang P, et al. Melatonin analogues as agonists and antagonists in the circadian system and other brain areas. *Eur J Pharmacol* 1996; 296: 33-34.
143. He C, Wang J, Li Y, et al. Melatonin-related genes expressed in the mouse uterus during early gestation promote embryo implantation. *J Pineal Res* 2015; 58: 300-309. BRZEZINSKI A, SEIBEL MM, LYNCH HJ et al. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:865–867.
144. RONNBERG L, KAUPPILA A, LEPPALUOTO J et al. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:492–496.
145. LEE CJ, DO BR, LEE YH et al. Ovarian expression of melatonin Mel(1a) receptor mRNA during mouse development. *Mol Reprod Dev* 2001; 59:126–132.
146. Sandy R, Anastasiadis PG, Anninos PA, et al. The pineal gland and spontaneous abortions: Implications for therapy with melatonin and magnetic field. *Int J Neurosci* 1992; 62: 243-245.
147. Ayar A, Kutlu S, Yilmaz B, et al. Melatonin inhibits spontaneous and oxytocin-induced contractions of rat myometrium in vitro. *Neuroendocrinol Lett* 2001; 22: 199-207.

148. Gimeno MF, Landa A, Sterin-Speziale N. Melatonin blocks in vitro generation of prostaglandin by the uterus and hypothalamus. *Eur J Pharmacol* 1980; 62: 309-317.
149. ERCAN, Zübeyde, Emine KAÇAR, and İhsan SERHATLIOĞLU. "Bir Antidepresan Olan Agomelatinin Sıçan Miyometriyum Kontraksiyonları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi."
150. Forcade, F., Zarazaga, L. . Abccia, J.A.: Effect of exogenous melatonin and plane of nutrition after weaning on estrous activity, endocrine status and ovulation rate in salz ewes lambing in the seasonal anestrus . *Theriogenology*, 1995. 43: 1179-1193.
151. Lincoln, G.A.: Photoperiod-pineal-Hypotalamic relav in sheep. *Anim. Reprod Sci.*. 1992. 28: 203-217.
152. Rollang, D.M.. Adclman. R.M.: Color change: A non invasive measure of melatonin action. *Anim. Reprod Sci.*. 1992. 30: 67-89.
153. SOARES JM Jr, MASANA MI, ERS_AHIN C et al. Functional melatonin receptors in rat ovaries at various stages of the estrous cycle. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 306:694–702.
154. Güvenç, Ceyda, et al. "Şizofreni ve östrojen." *Düşünen Adam* 2004; 17: 99 104 (2004).
155. EMRELLİ, Ahmet Zeki, Huriye HOROZ KAYA, and T. E. K. Çağatay. "MERINOS IRKI KOYUNLARDA MEVSİM DIŞI MELATONIN VE PROGESTERON UYGULAMALARININ ÖSTRUS SİKLUSUNUN UYARILMASI VE DÖL VERİMİNE ETKİSİ." *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 29.2 (2003): 267-275.
156. BRZEZINSKI A, SEIBEL MM, LYNCH HJ et al. Melatonin in human preovulatory follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:865–867.
157. DEY SK. Reproductive biology: fatty link to fertility. *Nature* 2005; 435:34–35.
158. ZHANG S, LIN H, KONG S et al. Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Mol Aspects Med* 2013; 34:939–980.
159. LIM H, WANG H. Uterine disorders and pregnancy complications: insights from mouse models. *J Clin Invest* 2010; 120:1004–1015.
160. WALDHAUSER F, WEISZENBACHER G, TATZER E et al. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in humans with growth and aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66:648–652.

161. TAMURA H, TAKASAKI A, TAKETANI T et al. Melatonin and female reproduction. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40:1–11.
162. REITER RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr Rev* 1980; 1:109–131.
163. MALPAUX B, MIGAUD M, TRICOIRE H et al. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *J Biol Rhythms* 2001; 16:336–347.
164. LAWSON NO, WEE BE, BLASK DE et al. Melatonin decreases estrogen receptor expression in the medial preoptic area of inbred (LSH/SsLak) golden hamsters. *Biol Reprod* 1992; 47:1082–1090.
165. CHUFFA LG, SEIVA FR, F_AVARO WJ et al. Melatonin and ethanol intake exert opposite effects on circulating estradiol and progesterone and differentially regulate sex steroid receptors in the ovaries, oviducts, and uteri of adult rats. *Reprod Toxicol* 2013; 39:40–49.
166. OKATANI Y, MORIOKA N, HAYASHI K. Changes in nocturnal pineal melatonin synthesis during the premeneopausal period: relation to estrogen levels in female rats. *J Pineal Res* 1999; 27:65–72.
167. KARASEK M, KOWALSKI AJ, ZYLINSKA K. Serum melatonin circadian profile in women suffering from the genital tract cancer. *Neuro Endocrinol Lett* 2000; 21:109–113.
168. WANG F, TIAN XZ, ZHANG L et al. Melatonin promotes the in vitro development of pronuclear embryos and increases the efficiency of blastocyst implantation in murine. *J Pineal Res* 2013; 55:267–274.
169. He, C., Wang, J., Li, Y., Zhu, K., Xu, Z., Song, Y., ... & Liu, G. (2015). Melatonin-related genes expressed in the mouse uterus during early gestation promote embryo implantation. *Journal of pineal research*, 58(3), 300-309.

8. ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Tuncel'nin Pertek ilçesinde doğdum. Babamın işi dolayısıyla ilk ve orta öğretimimi Pertek'te lise öğretimimi Bingöl'de tamamladım. 2008 yılında Ordu Üniveritesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik bölümünde yükseköğrenimime başladım 2012 yılında mezun oldum. Mezun olduğum yıl ilk görev yerim olan Özel Elazığ Damla Hastanesinde görevime başladım ve bir süre çalıştıktan sonra Fırat Üniversitesi Hastanesi'ne atandım ve hala aynı kurumda görev yapmaktayım. 2016 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans yapmaya başladım.