



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İZOLE GEBE SIÇAN
MYOMETRİYUMUNUN KASILMA
HAREKETLERİ ÜZERİNDE ADRENERJİK,
PURİNERJİK, KANNABİNOİD VE
RHOA/RHO-KİNAZ SİSTEMLERİNE
ETKİLİ AJANLARIN YANITLARININ
İNCELENMESİ**

MERVE ERGÜL

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

SİVAS-2015

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İZOLE GEBE SIÇAN
MYOMETRİYUMUNUN KASILMA
HAREKETLERİ ÜZERİNDE ADRENERJİK,
PURİNERJİK, KANNABİNOİD VE
RHOA/RHO-KİNAZ SİSTEMLERİNE
ETKİLİ AJANLARIN YANITLARININ
İNCELENMESİ**

MERVE ERGÜL

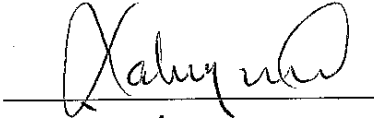
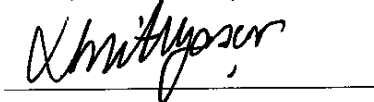
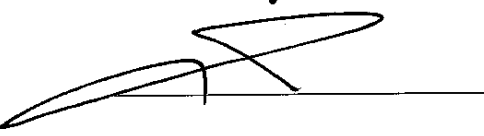
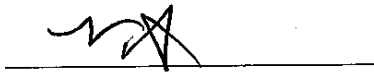

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. BÜLENT SARAÇ**

SİVAS-2015

“İzole gebe sıçan myometriyumunun kasılma hareketleri üzerinde Adrenerjik, Purinerjik, Kannabinoid ve Rhoa/Rho-kinaz sistemlerine etkili ajanların yanıtlarının incelenmesi” adlı Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Farmakoloji** Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof.Dr. Nuri İhsan Kalyoncu	
Üye	Prof.Dr. Ümit Yaşar	
Üye	Prof.Dr. İhsan Bağcivan	
Üye	Yrd.Doç.Dr. Nergis H. Turgut	
Üye (Danışman)	Doç.Dr. Bülent Saraç	

ONAY

Bu tez çalışması, ..01.06.2015... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

ÖZET

İZOLE GEBE SIÇAN MYOMETRİYUMUNUN KASILMA HAREKETLERİ ÜZERİNDE ADRENERJİK, PURİNERJİK, KANNABİNOİD VE RHOA/RHO-KİNAZ SİSTEMLERİNE ETKİLİ AJANLARIN YANITLARININ İNCELENMESİ

Merve ERGÜL
Doktora Tezi
Farmakoloji Anabilim Dalı
Danışman: Doç.Dr. Bülent SARAÇ
2015, 86 sayfa

Bu çalışmada, izole gebe sıçan myometriyumunun kasılma hareketleri üzerine çeşitli sistemler aracılığıyla etkisini gösteren ajanların yanıtlarının incelenmesi konu edilmektedir.

Erken doğum dünya genelinde nedeni tam olarak anlaşılamamış ve önlenmesi için yeterli tedavi yöntemleri geliştirilememiş bir halk sağlığı sorunudur. Mevcut tokolitik ajanların etkinliği ve güvenliği ile ilgili var olan eksiklikler, önemli maternal ve fetal yan etkilerin gözlenmediği yeni uterus gevşetici ilaçların geliştirilmesini gerektirmektedir.

Ritmik uterus kasılmaları doğumda önemli bir role sahiptir. Çeşitli uyarıcı ve inhibe edici yolaklar uterus gevşemesi ve kasılması arasındaki dengeyi gebelik sırasında düzenlemektedirler. Fakat her iki zıt fonksiyonel durum arasında gerçekleşen önemli değişiklikler ve etkileşimler henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Adrenerjik, purinerjik, kannabinoid ve rhoA/rho-kinaz sistemleri üzerinden etkilerini gösteren ajanların uterus hareketleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi erken doğumun önlenmesi için umut vaat eden yeni araştırmalar arasında yer almaktadır.

Çalışmamızda; ZD-2079, ZD-7114, AS-1892802, fasudil hidroklorid, WIN 55,212-2, ACEA ve PPAD'ın gebe sıçanlardan izole edilmiş myometriyum düz kası amplitüd ve frekansını azalttıkları gösterilmiştir ($p<0.05$). Myometriyal kasılmalar üzerinde kontrole göre anlamlı azalma oluşturan bu maddelerin yeni tokolitik ajanların geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gebelik, Myometriyum, Adrenerjik, Purinerjik, Kannabinoid, RhoA/Rho-kinaz

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE CONTRACTION/RELAXATION EFFECTS OF THE ADRENERGIC, PURINERGIC, CANNABINOID AND RHOA/RHO-KINASE SYSTEMS ON ISOLATED PREGNANT RAT MYOMETRIUM

Merve ERGÜL
Ph.D. Thesis
Department of Pharmacology
Supervisor: Assoc. Prof. Bülent SARAÇ
2015, 86 pages

In this study investigation of the contraction/relaxation effects of the various systems on isolated pregnant rat myometrium is mentioned.

The exact cause of preterm birth which is a major health problem throughout the world is not understood and adequate treatment methods have not been yet developed for the prevention. As efficacy and safety deficiencies are stated for available tocolytic agents, there is need to develop new uterine relaxant drugs in which maternal and fetal side effects are not observed.

Rhythmic uterine contractions at birth have an important role. Various stimulating and inhibitory pathways regulate the balance between the relaxation and contraction of uterus during pregnancy. However the significant changes and interactions that take place between the two opposite functional status are not yet fully understood.

Researches of the effects of adrenergic, purinergic, cannabinoid and rhoA/rho-kinase agents on uterine contraction/relaxation is one of the most promising approach for the prevention of preterm labor.

In this study ZD-2079, ZD-7114, AS-1892802, fasudil hydrochloride, WIN 55,212-2, ACEA and PPAD reduced isolated pregnant rat myometrium amplitude and frequency in a concentration dependent manner ($p<0.05$).

Key words: Pregnancy, Myometrium, Adrenergic, Purinergic, Cannabinoid, RhoA/Rho-kinase

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sırasında bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, bana her zaman inanan ve destek olan çok değerli hocam ve tez danıőmanım Doç. Dr. Bülent SARAÇ'a sonsuz teőekkürlerimi sunarım. Tez çalıőmalarım sırasında bilgi ve deneyimleri ile alıőmlarıma ışık tutan Prof. Dr. M. Kemal YILDIRIM, Prof. Dr. őahin YILDIRIM, Prof. Dr. A. Serdar SOYDAN, Yrd. Doç. Dr. Ahmet ALTUN ve Yrd. Doç. Dr. Nergis H. TURGUT'a verdikleri emekler için teşekkür ederim. Ayrıca tez çalıőmalarım sırasında bilimsel bilgi birikimi ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve her türlü kolaylığı sağlayan çok değerli hocam Prof. Dr. İhsan BAĞCIVAN'a teşekkür ederim. Doktora tez çalıőmalarım sırasında bana her türlü maddi ve manevi desteği veren, dostlukları ile hayatıma anlam katan Canan ASLAN TORCUK ve Rukiye ASLAN DURAK'a teőekkürlerimi bir borç bilirim. Her konuda olduğu gibi doktora tez çalıőmalarım sırasında da bana sabırla yardımcı olan eőim Biyokimya Anabilim Dalı Arő. Gör. Mustafa ERGÜL'e, varlığıyla hayatıma anlam katan oğlum Ahmet Yusuf ERGÜL'e, aldığım her kararda maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve her zaman yanımda hissettiğim sevgili annem, babam ve kardeőlerime sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
ONAY.....	ii
YÖNERGE.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Erken Doğum Eylemi ve Tanımı.....	5
2.1.1. Erken Doğum Eyleminin İnsidansı, Fetal Mortalite ve Morbidite.....	6
2.1.2. Erken Doğum Eyleminin Epidemiyolojisi.....	7
2.1.3. Erken Doğum Eyleminin Etiyolojisi.....	7
2.1.4. Erken Doğum Eyleminde Risk Faktörleri.....	8
2.1.5. Erken Doğum Eyleminin Mekanizması.....	9
2.2. Normal Doğum ve Erken Doğumda Myometriyal Aktivite.....	10
2.2.1. Normal Doğum ve Myometriyal Kasılma Fizyolojisi.....	10
2.2.2. Myometriyal Aktivitenin Biyokimyasal Temeli.....	12
2.2.3. Myometriyal Aktiviteyi Etkileyen Endokrin Faktörler.....	15

2.2.4. Myometriyal Aktiviteyi Etkileyen Parakrin Faktörler	16
2.3. Erken Doğum Eyleminin Patofizyolojisi	16
2.4. Erken Doğum Eyleminin Tanısı.....	19
2.5. Erken Doğum Eyleminin Tedavisi.....	19
2.5.1. Yatak İstirahati	19
2.5.2. Hidrasyon ve Sedasyon	20
2.5.3. Tokoliz	20
2.5.3.1. Beta Adrenerjik Reseptör Agonistleri	21
2.5.3.2. Magnezyum Sülfat	22
2.5.3.3. Prostaglandin Sentez İnhibitörleri	23
2.5.3.4. Kalsiyum Kanal Blokerleri.....	23
2.5.3.5. Progesteron.....	24
2.5.3.6. Oksitosin Antagonisti (Atosiban).....	24
2.5.3.7. Nitrit Oksit Salgılatıcı İlaçlar	24
2.5.3.8. Kortikosteroidler	25
2.5.3.9. Antibiyotikler	25
2.6. Adrenerjik Beta Reseptörler	26
2.6.1. Beta-2 Adrenoseptör Farmakolojisi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi.....	27
2.6.2. Beta-3 Adrenoseptör Farmakolojisi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi.....	28
2.7. Purinerjik Sistem Farmakolojisi	28
2.7.1. Purinoseptörler ve Myometriyal Aktivite ile İlişkileri	29
2.8. Kannabinoid Sistem Farmakolojisi	29
2.8.1. Kannabinoid Reseptörler ve Myometriyal Aktivite ile İlişkileri.....	30
2.9. RhoA/Rho-kinaz Sistem Farmakolojisi.....	31
2.9.1. Rho GTPazlar	31
2.9.2. Rhokinaz (ROCK, ROK).....	33

2.9.3. RhoA/Rho-kinaz Sistemi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi	34
2.10. Nitrik Oksit ve Myometriyal Kasılma	35
3. GEREÇ ve YÖNTEM	37
3.1. Sıçanların Bakımı ve Miyad Gebelik Oluşturulması.....	37
3.2. Yapılan Deneysel İşlemler.....	37
3.3. Doku banyosu deneyleri	38
3.3.1. Myometriyal dokunun hazırlanması ve kontraktıl aktivitelerinin mekanik olarak ölçülmesi.....	38
3.3.2. Deney Prosedürü.....	40
3.4. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonlar	41
3.5. Deney Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	42
4. BULGULAR.....	44
4.1. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Beta-3 Adrenerjik Reseptör Agonistleri ZD 2079 ve ZD 7114'ün Etkisi ..	44
4.2. ZD 2079 ve ZD 7114 Yanıtlarına Metoprolol, ICI-118,551, SR-59230A, ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi.....	44
4.3. ZD 2079 ve ZD 7114'ün Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde Metoprolol, ICI-118,551 ve SR-59230A, ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi	47
4.4. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Rho-kinaz Enzim İnhibitörleri AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid'in Etkisi.....	48
4.5. AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid Yanıtlarına ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi.....	48
4.6. AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid'in Emaks ve pD2 değerleri üzerinde ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi	51

4.7. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Nonspesifik Kannabinoid Reseptör Agonisti WIN 55,212-2, Kannabinoid-1 Reseptör Agonistleri ACEA, ACPA, Kannabinoid-2 Reseptör Agonistleri L-759656 ve L-759633'ün Etkisi	51
4.8. WIN 55,212-2 ve ACEA Yanıtlarına SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi.....	52
4.9. WIN 55,212-2 ve ACEA'nın Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi	54
4.10. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Nonselektif Purinerjik Reseptör P2Y Agonisti ATP disodyum tuzu, Selektif Purinerjik Reseptör P2Y1, P2Y12, P2Y13 Reseptör Agonisti 2-metilriyoadenozin difosfat trisodyum tuzu, Selektif Olmayan Purinerjik Reseptör P2Y Antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu, Selektif P2Y12 Antagonistler (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB 0739'un Etkisi	56
4.11. PPADs tetrasodyum tuzu Yanıtlarına ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi ..	56
4.12. PPADs tetrasodyum tuzu'nun Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi.....	57
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	71
6.1. Sonuçlar	71
6.2. Öneriler	71
7. KAYNAKLAR	72
İZİNLER	85
EK 1. Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	85
ÖZGEÇMİŞ	86

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Erken doğum eyleminde risk faktörleri.....	8
Tablo 2.1. Tokoliz tedavisinin endikasyonları ve kontrendikasyonları.....	21
Tablo 4.1. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde ZD 2079 ve ZD 7114'ün tek başlarına ve metoprolol, ICI-118.551, SR-59230A, ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında Emaks ve pD2 değerleri.....	47
Tablo 4.2. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in tek başlarına ve ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında Emaks ve pD2 değerleri.....	51
Tablo 4.3. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde WIN 55,212-2 ve ACEA'nın tek başlarına ve SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME, L-NNAbvarlığında Emaks ve pD2 değerleri.....	55
Tablo 4.4. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzu'nun tek başına ve ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında Emaks ve pD2 değerleri.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Erken doğum eyleminin patofizyolojisi.....	17
Şekil 2.2. Tokolitik ilaçların etki mekanizması.....	26
Şekil 2.3. Moleküler anahtarlar olarak Rho GTP-azlar.....	32
Şekil 2.4. Rho GTP-azların efektörleri.....	33
Şekil 2.5. RhoA/Rho-kinaz sisteminin myometriyal aktivite ile ilişkisi.....	34
Şekil 2.6. NO sinyal yolağı.....	36
Şekil 4.1. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde ZD 2079'un tek başına ve metoprolol, ICI-118.551, SR-59230A, ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturduğu yanıtlar	45
Şekil 4.2. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde ZD 7114'ün tek başına ve metoprolol, ICI-118.551, SR-59230A, ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturduğu yanıtlar.....	46
Şekil 4.3. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde AS 1892802'nin tek başına ve ODQ, L-NAME, L-NNA, varlığında oluşturdukları yanıtlar	49
Şekil 4.4. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde fasudil hidroklorid'in tek başına ve ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturdukları yanıtlar	50
Şekil 4.5. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde WIN	

55,212-2'nin tek başına ve SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturduğu yanıtlar.....	53
Şekil 4.6. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde ACEA'nın tek başına ve SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturduğu yanıtlar.....	54
Şekil 4.7. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzunun tek başına ve ODQ, L-NAME, L-NNA varlığında oluşturduğu yanıtlar.....	57

KISALTMALAR

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ADRB	Adrenoseptör
ACTH	Adrenokortikotrop hormon
AEA	N-araşidonoyil etenol amin – anandamid
ACEA	Araşidonil-2'-kloroetilamid
ACPA	Araşidonilsiklopropilamid
ATP	Adenozin trifosfat
PPADs	Piridoksal fosfat-6-azofenil-2',4'-disülfonik asid tetrasodyum tuzu
BMI	Body Mass Index – Vücut Kitle İndeksi
PPROM	Preterm Prematür Membran Rüptürü
CRH	Corticotropin Releasing Hormone
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
GJ	Gap junction
FSH	Follicle Stimulating Hormone
LH	Luteinizing Hormone
PG	Prostaglandin
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
ATPaz	Adenozin trifosfataz
MHZF	Miyozin hafif zincir fosfataz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
IL	İnterlökin
ACTH	Adrenokortikotrop hormon
NO	Nitrik oksit
ATP	Adenozin 5'-trifosfat
ADP	Adenozin 5'-difosfat
UDP	Uridin difosfat
UTP	Uridin trifosfat
Δ^9-THC	Δ^9 -tetrahidrokannabinol
KBR1	Kannabinoid Reseptör-1
KBR2	Kannabinoid Reseptör-2
MAPK	Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz
GTP	Guanozin trifosfat
ROCK	Rho-A İlişkili Kinaz
RLC	Düzenleyici hafif zincir
MLCP	Miyozin RLC fosfatazı
PKC	Protein kinaz C
NADPH	Nikotin amid adenin dinükleotid fosfat
NOS	Nitrik oksit sentaz

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmiş ülkelerde, 37. haftadan önce gerçekleşen doğum olarak tanımlanan erken doğum, doğuma bağlı anomalilerden sonra perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenidir (Goldenberg ve ark., 2008; WHO, 2012). Bu durum Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından büyük bir küresel halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmekle birlikte (Kramer ve ark., 2012) erken doğum görülme sıklığı son 15 yıl içerisinde artış göstermiştir (Goldenberg ve ark., 2008). Gelişmiş ülkelerde erken doğumu önlemek üzere birçok önlem alınmasına rağmen diğer ülkelere göre daha yüksek oranlarda erken doğum vakası gözlenmektedir (% 5-12) (Lirussi ve ark., 2010). DSÖ tarafından yürütülen son çalışmalar, dünya çapında 13 milyon bebeğin erken doğum ile dünyaya geldiğini göstermektedir (Kramer ve ark., 2012).

Uzun dönemde ortaya çıkan gelişim bozukluklarının ve yeni doğan ölümü vakalarının % 70'ten fazlası erken doğumlar ile ilişkilendirilmektedir. Bu olumsuz sonuçlar önemli kişisel ve sosyal sorunlarla birlikte mali külfetlere de neden olmaktadır (Taggart ve ark., 2012). Gelişmekte olan ülkelerde erken doğumlar halk sağlığı hizmetlerinin ve araştırmaların merkezi haline gelmiştir (Kramer ve ark., 2012). Nedeni açıklanabilen veya açıklanamayan erken doğumlar, bebek ölümlerinin en az üçte birine ve 5 yaşına kadar olan sakatlıkların % 40'ına neden olmaktadır (Larroque ve ark., 2008; Lirussi ve ark., 2010). Uzun vadede görülen bilişsel, görsel, pulmoner sekellerdeki ve bebek ölümlerindeki yüksek risk oranı ve bu oranların artması erken doğum ile ilişkilendirilmektedir (Kramer ve ark., 2012). Batı ülkelerinde gebeliklerin yaklaşık olarak % 6-12'si erken doğum ile sonuçlanmaktadır ve bebeklerin gebeliğin erken dönemlerinde doğması ve bunların klinik etkileri yeni doğan uzmanları için önemli sorunlar oluşturmaktadır (Bardou ve ark., 2007).

Erken doğumun nedenleri kesin bir şekilde açıklığa kavuşturulamamıştır. Bununla birlikte erken doğuma ait temel fizyopatolojik mekanizmanın gebelik boyunca sessiz kalan myometriyal aktivitenin bozulması olduğu bilinmektedir. Ayrıca enfeksiyon oluşması, fetal hipoksi, endokrin, parakrin ve plasental değişikliklerin meydana gelmesi erken doğumun başlamasına zemin hazırlayan diğer nedenler arasında yer almaktadır. Erken doğum olgularının yaklaşık olarak % 50'si belirli bir nedene bağlanamaz ve idiyopatik erken doğum eylemi olarak tanımlanır. Erken doğuma ilişkin risk faktörleri

arasında düşük sosyo-ekonomik düzey, küçük veya ileri yaş, ilk gebelik, sigara veya benzeri bağımlılık yapıcı madde alışkanlığı yer almaktadır. Hipertansiyon, diyabet, astım gibi kronik bazı hastalıklar da erken doğum eylemi sıklığını artırmaktadır (Zezza ve ark., 2014; Khambalia ve ark., 2013; Been ve ark., 2014). Perinatal mortalite ve morbiditenin artmasındaki en önemli nedenlerden biri fetüsün anne karnındaki gelişimini tam olarak tamamlamadan doğumun gerçekleşmesidir (Romero ve ark., 2014). Erken doğum eylemini başlatan nedenlerin tam olarak açıklanamamasından dolayı erken doğuma karşı kullanılmakta olan tedavi yöntemleri ile yeterli sonuç alınamamaktadır. Erken doğum eyleminin önlenmesinde kullanılan en önemli yöntem tokolitik ilaçlardır. Myometriyal kasılmaların baskı altına alınmasına tokoliz denir. Bu amaçla kullanılan tokolitik ilaçlar arasında; beta-adrenerjik agonistler (ritodrin ve terbutalin gibi), magnezyum sülfat, dihidropiridin tipi kalsiyum kanal blokörleri (nifedipin ve nimodipin gibi), prostaglandin sentez inhibitörleri (indometazin gibi) ve oksitosin antagonistleri (atosiban gibi) yer almaktadır (Hösli ve ark., 2014). Kalsiyum kanal blokörü olan nifedipin en sık kullanılan tokolitik ilaçtır. Erken doğumun kontrol altında tutulması için uygulanan güncel farmakolojik tedavilerin etkinliği düzenli olarak sorgulanmaktadır ve bu tedaviler ne yazık ki yeterli olamamaktadır. Ayrıca tokolitik ajan olarak kullanılan bu ilaçların hem anne hem de fetüs üzerinde ciddi yan etkilerinin bulunması günümüzde yeni tokolitik ajanların geliştirilmesi için birçok klinik araştırma yapılmasını zorunlu kılmıştır (ACOG, 2003). Erken doğum oranlarındaki azalma yeni tokolitik ajanların geliştirilmesine ve gebelik süreci ile doğumun doğru yönlendirilmesine bağlıdır (Bardou ve ark., 2000). Bu nedenle adrenerjik, purinerjik, kannabinoid reseptörler ve rhoA/rho-kinaz sistemleri erken doğum eyleminin önlenmesinde dikkat çekmektedir.

İnsan myometriyumunda her zaman adrenerjik beta reseptör-adrenoseptör-2 (ADRB2)'nin eksprese edildiği belirtilmiştir, ancak yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda ADRB3'ün de insan myometriyumunda varlığı, işlevi, gebeliğin ADRB3'ün ekspresyonuna etkilerinin değerlendirilmesi ve agonist ile indüklenmiş duyarsızlaştırmaya direnci ortaya konmuştur (Bardou ve ark., 2007). Spesifik ADRB3 agonistinin myometriyal düz kaslarda spesifik ADRB2 agonistine göre daha fazla gevşemeye neden olduğu ve bu gevşemenin cAMP üretimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Rouget ve ark., 2004; Kaya ve ark., 2012). Gebe olan ve olmayan kobay, sıçan, fare, tavşan ve insan gibi çeşitli türlerin uteruslarında purinerjik P2 reseptörlerinin

(purinoseptörler) ve alt tiplerinin varlığı gösterilmiştir. P2X reseptörlerinin, agonistleri tarafından uyarılması sonucu kasılma yanıtları oluşurken, P2Y reseptörlerinin uyarılması sonucunda genellikle gevşeme yanıtları oluşmaktadır (Kumcu ve ark., 2009). Bu veriler ışığında P2Y reseptörlerinin doğum süresi boyunca uterus aktivitesinin düzenlenmesi yönünde fizyolojik bir role sahip olabileceği düşünülmektedir. Analjezik, antiemetik ve antispastik özellikleri için yüzyıllar boyunca kullanılmış olan endojen (anandamid-AEA) ve ekzojen (Δ^9 -tetrahidrokannabinol [THC]) kannabinoidlerin; pre-ve peri-implantasyon olaylarında, gebelikte, erken gebelik kaybında, uterus düz kas gevşemesinde ve doğum sonrası gelişimde AEA'nın önemli düzenleyici rollerinin olduğu gösterilmiştir (Brighton ve ark., 2009). Kannabinoidlerin uterus hassasiyeti, gebelik süresi, myometriyal kasılmalar ve yaşamın ilk günleri üzerindeki etkileri, hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bununla birlikte kannabinoidlerin erken doğumdaki klinik etkileri yeteri kadar anlaşılammıştır (Asghari-Roodsari ve ark., 2010). Uterus düz kas kasılmasında rol oynadığı düşünülen RhoA ve Rho-kinaz'ın gebe myometriyumunda varlığı gösterilmiştir. Fakat myometriyumdaki bu proteinlerin farmakolojik veya moleküler seviyelerdeki ekspresyonları ve fonksiyonları tam olarak gösterilememiştir. Bu veriler doğrultusunda erken doğumun önlenmesinde ve gebelik sürecinin zamanında sonlandırılmasında RhoA/Rho-kinaz sisteminin inhibisyonunun etkili olabileceği düşünülmektedir (Tahara ve ark., 2002).

Yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi erken doğum eylemi sonucu dünyaya gelen yenidoğanların yaşama beklentisini daha da artırmıştır. Erken doğum eyleminin tedavisi, yenidoğanın morbiditesini ve mortalitesini azaltmak için uygulanan diğer tedavilere fırsat tanıma açısından önem taşımaktadır. Tokolitik tedavinin önemi nedeniyle bu konuda in vivo ve in vitro araştırmalar gün geçtikçe daha da önem kazanarak devam etmektedir (Hösli ve ark., 2014).

Bütün bu veriler ışığı altında bu çalışmada, erken doğum eyleminin tokolitik ilaçlarla tedavisine katkı sağlayabilecek selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 ve ZD-7114'ün, selektif Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid'in, nonselektif KB reseptör agonisti WIN-55,212-2'nin, selektif KB1 agonistleri araşidonil-2'-kloroetilamid (ACEA) ve araşidonilsiklopropilamid (ACPA)'nın, KB2 agonistleri L-759656 ve L-759633'ün ve nonselektif P2Y agonisti ATP disodyum tuzu, selektif P2Y₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ agonisti 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu, selektif olmayan P2

antagonist PPADs tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ reseptör antagonistleri (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB-0739'un artan konsantrasyonlarının oksitosin ile indüklenmiş izole gebe sıçan myometriyumu kasılma hareketleri üzerinde in vitro olası etkilerini incelemeyi ve karşılaştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erken Doğum Eylemi ve Tanımı

Erken doğum eylemi, yenidoğan morbidite ve mortalitenin günümüzdeki önemli sebeplerinden biridir. Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımlamasına göre erken doğum, doğum kilosundan bağımsız olarak 37. gebelik haftası tamamlanmadan önce doğumun gerçekleşmesidir. Gebeliğin 20. haftasından önce gerçekleşen doğumlar abortus olarak tanımlandığından, 20-37. gebelik haftaları arası gerçekleşen doğum erken doğum olarak kabul edilir. Erken doğum eylemi ise doğum ağırlığı dikkate alınmaksızın, 20-37. gebelik haftaları arasında 10 dakikada 2 kez veya 30 dakikada 3-4 kez olan ve en az 30 saniye süren uterus kontraksiyonlarıyla beraber servikal efasman (silinme) veya dilatasyonun (açılma) olmasıdır.

Erken doğum eyleminin genel popülasyondaki sıklığı % 10'dur ve gerçekleşmesinde birçok nedenin aracılık ettiği düşünülmektedir. Erken doğum eylemi enfeksiyon, fetal hipoksi, endokrin, parakrin ve plasental değişiklikler gibi predispozan faktörler sonucu meydana gelen bir sendromdur (WHO, 2012).

Erken doğumun gerçekleşmesindeki nedenler birden fazla etkene bağlı olduğu ve bu etkenlere neden olan kaynaklar çoğunlukla bilinmediği için erken doğumun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini tahmin etmek kolay olmamaktadır (Romero ve ark., 2014).

Erken doğum eyleminin tedavisinde esas hedef, geri dönüşümsüz safhaya ulaşmadan preterm eylem tanısının konulması ve myometriyal aktiviteyi baskılayarak uterin kasılmaları doğuma neden olmayacak düzeye indirmek olmalıdır (Van Vliet ve ark., 2014). Yenidoğan bebekler için hayati risk oluşturan prematüriteyi en aza indirmek amacıyla yapılan tedaviye tokoliz (uterus kontraksiyonlarının durdurulması), bu amaçla kullanılan ilaçlara da tokolitik ajanlar denmektedir (De Heus ve ark., 2009).

Günümüzde kullanılmakta olan temel tokolitik ajanlar, beta-adrenerjik agonistler (ritodrin, heksoprenalin, izosuprin, salbutamol, fenoterol, terbutalin), prostaglandin sentez inhibitörleri (indometazin, naproksen), magnezyum sülfat, kalsiyum kanal blokörleri (nifedipin, nikardipin), aminofilin, diazoksit, oksitosin antagonisti (atosiban), etil alkol ve nitrik oksittir (De Heus ve ark., 2009). Bu ilaçlar tokolitik tedavi için tek başına veya kombine ilaç tedavisi şeklinde kullanılabilirler. Her bir tokolitik ajanın,

uterus kontraksiyonlarını azaltmadaki başarısına karşılık, anne ve fetüs üzerinde ciddi yan etkileri de bulunmaktadır. Myometriyal mekanizmaların yeterince aydınlatılmamış olması nedeniyle tokolitik tedavide istenilen başarıya ulaşılamamaktadır. Myometriyal aktivitenin biyomoleküler altyapısının tamamen aydınlatılması, bu alanda etkili olabilecek yeni ajanların geliştirilmesine katkı sağlayacaktır (Van Vliet ve ark., 2014).

2.1.1. Erken Doğum Eyleminin İnsidansı, Fetal Mortalite ve Morbidite

Erken doğum; insidansı toplumdan topluma değişmekle birlikte, prematürite ve beraberindeki neonatal komplikasyonlar ile genel olarak tüm gebeliklerin % 8-10'unda görülen ciddi bir sağlık problemidir (Durukan ve ark., 2008). Neonatal morbidite ve mortalitenin birincil sebebidir ve konjenital anomalilere bağlı olmayan neonatal ölümlerin % 75'inden sorumludur (Lams, 2003). Erken doğumu önlemek ve tedavi etmek amacıyla gerçekleştirilen tüm girişimlerin amacı mümkün olduğunca az komplikasyon ile yenidoğan bebeğin hayatta kalma şansını artırmaktır (Bogges, 2005).

2011 yılında Almanya'da doğan çocukların % 9'u 37.gebelik haftasını tamamlamadan önce doğmuştur (Schleussner, 2013). Bu oranın diğer Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Euro-Peristat, 2008). Son on yılda sabit kalan bu oran, 28. gebelik haftasından önce gerçekleşen daha erken doğumlar ile birlikte % 65 artmıştır. Bu ilerlemenin nedenleri henüz tam olarak belli olmasa da, büyük bir kısmının gebelikte yüksek maternal yaş ve artmakta olan diabetes mellitus prevalansı gibi demografik faktörler nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (Dudenhausen ve ark., 2007). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde ise yaklaşık 400.000'in üzerinde yenidoğan, erken doğum sebebiyle prematüre olarak doğar (Bogges, 2005).

2010 yılında gerçekleşen perinatal ölümlerin % 77'si erken doğum sonucu dünyaya gelen bebekler içerisinde gerçekleşmiştir. Mortalite oranı, özellikle 28. gebelik haftasından önce doğan bebekler için daha yüksektir (% 32). 32. gebelik haftasından sonra doğan prematüre bebekler için ise bu oran % 1.3'tür. Yüksek mortaliteye ek olarak ciddi uzun süreli komplikasyonlar açısından çok küçük prematüre bebekler daha yüksek risk altındadır (Schleussner, 2013).

2.1.2. Erken Doğum Eyleminin Epidemiyolojisi

Erken doğuma neden olabilecek birçok maternal ve fetal faktör vardır. Anneye ait birçok tıbbi faktörle erken doğum ilişkilendirilmektedir. Bu faktörlerin arasında; preeklampsi, preterm membran rüptürü, abruptio placentae, çoğul gebelik, fetal büyüme kısıtlılığı, aşırı veya yetersiz amniotik sıvı hacmi, plasenta previa, fetal anomaliler, amnionit, ilaç suistimali, servikal yetmezlik, diyabet, astım ve piyelonefrit yer almaktadır. Erken doğum yapan kadınlarla ilgili olarak sıklıkla öne çıkan maternal özellikler arasında; siyah ırktan olmak, düşük sosyoekonomik durum, kötü beslenme, periodontal hastalık, düşük gebelik öncesi ağırlık (BMI<19.6), doğum öncesi bakımın yetersiz olması ya da hiç olmaması, anne yaşının 18'den küçük ya da 35'ten büyük olması, aşırı iş yükü, anemi, yüksek stres düzeyi, sigara kullanımı, genitoüriner enfeksiyon veya kolonizasyon, servikal hasar veya anormallik, uterus anomalisi veya fibroidler, aşırı uterin kontraktilite, 1cm'den daha fazla prematür serviks açıklığı veya % 80'den daha fazla silinme ve preterm doğum öyküsü yer almaktadır (Blencowe ve ark., 2013).

2.1.3. Erken Doğum Eyleminin Etiyolojisi

Yıllardır süregelen araştırmalara rağmen insanlarda doğum eylemini başlatan mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır. Erken doğumun ise birden çok sebebe dayalı farklı mekanizmalarla başladığı kabul edilmektedir. Erken doğum eyleminin nedenleri incelendiğinde idiyomatik olguların çoğunlukta olduğu görülmektedir. Ayrıca erken doğum eylemi birçok obstetrik, tıbbi ve anatomik bozukluklarla da ilişkili olabilir.

ABD'de erken doğum 4 temel neden ile ilişkilendirilmektedir (Goldenberg ve ark., 2008).

1. Maternal veya fetal endikasyonlar nedeniyle doğum indüksiyonuyla gerçekleşen doğum veya bebeğin doğum eyleminden önce sezaryenle doğurtulması
2. Membran rüptürü olmaksızın spontan açıklanamayan preterm doğum eylemi
3. İdiyomatik preterm prematür membran rüptürü (PPROM)
4. İkizler ve daha fazla sayıda multifetal doğumlar

2.1.4. Erken Doğum Eyleminde Risk Faktörleri

Erken doğum eylemine ilişkin risk faktörleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir (ACOG, 2001).

Tablo 2.1. Erken doğum eyleminde risk faktörleri

Obstetrik nedenler
<ul style="list-style-type: none">• Önceki veya şimdiki gebelik;<ul style="list-style-type: none">✓ Gebelikte ağır hipertansiyon durumu✓ Plasentanın anatomik bozuklukları (Dekolman, plasenta previa, sirkumvallat plasenta vb.)✓ Plasental yetmezlik✓ Prematür membran rüptürü✓ Polihidramnios veya oligohidramnios• Prematüre veya düşük doğum ağırlıklı infant öyküsü• Düşük sosyoekonomik seviye• Maternal yaş <18 veya 40>• Gebelik öncesi düşük kilo• Kafkas dışı ırk• Çoğul gebelik• Gebelikler arasının kısa olması (< 3 ay)• Gebelikte uygunsuz veya aşırı kilo alımı• Gebelikte iş veya fiziksel aktivite gerektiren uzun çalışma saatleri olması• Düşük öyküsü• Servikal veya uterin laserasyon öyküsü

Tablo 2.1. Erken doğum eyleminde risk faktörleri (devamı)

Tıbbi nedenler
<ul style="list-style-type: none">• Pulmoner veya sistemik hipertansiyon• Renal hastalık• Kalp hastalığı• Enfeksiyonlar• Periodontal hastalık• Sigara içiciliği• Alkolizm veya ilaç bağımlılığı• Ağır anemi• Malnütrisyon veya obezite• Benign kistik teratom sızıntısı• Gastrik veya duodenal ülser perforasyonu• Adneksiyel torsiyon• Maternal travma veya yanık
Cerrahi nedenler
<ul style="list-style-type: none">• Herhangi bir intraabdominal prosedür• Servikal konizasyon• Uterus veya servikse önceden insizyon (sezaryen vb.)
Genital Trakt anomalileri
Bikornuat, subseptal veya unikorn uterus, konjenital servikal yetmezlik

2.1.5. Erken Doğum Eyleminin Mekanizması

Erken doğum eyleminin anlaşılması ve önlenmesi amacıyla yapılmakta olan birçok çalışmaya rağmen erken doğum insidansında yeterli bir azalma gözlenememiştir. Bu oranın azaltılabilmesi için en doğru yol normal doğum sürecinde rol oynayan mekanizmaların aydınlatılması olacaktır. Miadındaki gebeliklerde doğum eyleminin başlatılmasında pek çok etken rol oynamaktadır (Shnol ve ark., 2014).

Doğumun başlamasına sebep olduğu düşünölen faktörlerin nasıl bir mekanizmayla buna neden olduğu tam olarak aydınlatılamamıştır. Olası faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Gelişen, 2002):

- Progesteron çekilmesi
- Prematür desidual aktivasyon
- Oksitosin salgısında artış
- Anoksi
- Prostaglandin sentezi

Memeli hayvanlarda gebeliğin sonuna doğru progesteron seviyeleri düşer. Progesteron azalması ve östrojen seviyelerindeki artış nedeniyle hücreler arası gap-junction (GJ) oranı artar. İnsanlarda ise plasental progesteron üretiminde azalma olmamasına karşılık, endojen progestin kortizolün benzer bir mekanizma ile doğumu başlatabileceği öne sürölmektedir. Gebelik sürecinin sonuna doğru fetal adrenal bezden kortizol salgısı artar, kortizol progesteron ile yarışır. Bu durum CRH (Corticotropin Releasing Hormone) geni tarafından düzenlenir. Prostaglandin sentezindeki artış sonucu uterus kasılmaları başlar ve servikte değişiklikler meydana gelir. Erken doğum eylemine ait fizyopatolojinin giderek daha anlaşılır hale gelmesi erken doğum eyleminin önceden belirlenebilmesine yönelik tanı araçlarını gün geçtikçe artırmaktadır (Hertelendy ve Zakar, 2004).

2.2. Normal Doğum ve Erken Doğumda Myometriyal Aktivite

2.2.1. Normal Doğum ve Myometriyal Kasılma Fizyolojisi

Üreme olayı, yumurtanın yumurtalıklarda gelişmesiyle başlar. Folikölde gelişen yumurta aylık döngülerin ortasında, yumurtalık folikölünden karın boşluğuna atılır. Yumurta, daha sonra fallop tüplerinin biri aracılığı ile uterusu geçer. Eğer uterus içerisinde bir spermle döllenecek olursa, uterusu implante olur ve fetus, plasenta ve fetal zarlar gelişir.

Erişkin bir kadının tüm üretkenlik döneminde, yaklaşık 13 ile 46 yaşları arasında, her ay yumurtayı oluşturmak üzere 400-500 adet primordiyal foliköl gelişir. Geri kalan foliküller dejenere olur. Üreme yeteneği sona erdiğinde, yumurtalıklarda ancak birkaç primordiyal foliköl vardır ve bunlar da çok kısa süre içinde dejenere olurlar.

Kadın hormonal sistemi, erkek hormonal sistemine benzer şekilde üç grupta sınıflandırılabilir. Bunlar;

1. Hipotalamus kaynaklı serbestleştirici hormon, gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH)
2. Ön hipofiz hormonlarından folikül – uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH). Bu hormonlardan her ikisi de hipotalamusta sentezlenen GnRH hormonuna yanıt olarak salgılanırlar.
3. Yumurtalık hormonları, östrojen ve progesteron. Bu hormonlar ön hipofiz bezinden salgılanan iki hormona yanıt olarak, yumurtalıklar tarafından salgılanırlar.

Kadınlarda aylık cinsel döngü sürecinde, bu hormonların salgı miktarları ve salgılanma hızları değişkenlik gösterir. Bu hormonlar erkeklerde olduğu gibi kadınlarda da her 90 dakikada bir salgılanırlar.

Kadının normal üretkenlik yıllarında, cinsel hormonların salgı hızındaki aylık ritmik değişimlere uygun olarak, yumurtalıklar ve cinsel organlarda da değişimler görülür. Bu ritmik kalıba menstrüel (cinsel) döngü adı verilir. Döngü süresi yaklaşık 28 gündür. Kadın cinsel döngüsünde iki önemli sonuç ortaya çıkar. İlk olarak, normalde her ay yumurtalıklardan yalnız tek bir olgun yumurta serbestlenir ve her defasında tek bir fetus büyümeye başlar. İkinci olarak uterus, endometriyumunu ayın belli günlerinde, döllenmiş yumurtanın yerleşmesi için hazırlar.

Yaklaşık her 28 günde bir ön hipofiz bezinden salgılanan gonadotropik hormonlar, overlerde yaklaşık 8-12 adet yeni folikülün gelişimini başlatır. Sonuçta, bu foliküllerden bir tanesi olgunlaşır ve döngünün 14. gününde ovulasyon gerçekleşir. Folikülün gelişimi süresince salgılanan en önemli hormon östrojendir. Ovulasyondan sonra, folikülün salgı yapan hücreleri korpus luteum haline dönüşür. Bu hücreler, büyük miktarda kadın hormonları, progesteron ve östrojen salgırlar. İki hafta sonra korpus luteum dejenere olur. Ovaryumda östrojen ve progesteronun çok azalmasıyla birlikte menstrüasyon başlar. Bunu yeni bir yumurtalık döngüsü izler.

Pubertenin ilk birkaç yılı içinde, uterusun boyutları iki veya üç kat artış gösterir. Boyut artışından daha da önemlisi östrojenin etkisi altında endometriyumda meydana gelen değişimlerdir. Östrojen, endometriyal stromada çoğalmaya ve yumurtanın beslenmesine yardımcı olan endometriyal bezlerde önemli gelişmelere neden olur. Progesteronun diğer etkileriyle ölçülemeyecek en önemli işlevi, kadın cinsel döngüsünün ikinci yarısında uterus endometriyumunda sekresyonla ilgili değişimleri başlatarak, uterusu döllenmiş yumurtanın implantasyonuna hazırlamaktır. Progesteron,

endometriyum üzerindeki bu etkisine ek olarak, uterus kasılmalarının şiddetini ve sıklığını azaltıcı etkiye sahiptir. Bu şekilde implante ovumun atılması engellenir (Guyton ve Hall, 2007).

Doğumdan sonra ilk 4-5 hafta içinde, uterus küçülür. Ağırlığı 1-4 hafta içinde doğumdan hemen sonraki ağırlığının yarısından daha aza iner. Eğer anne süt veriyorsa, uterus gebelikten önceki boyutlarına ulaşır. Laktasyonun bu etkisi; laktasyonun ilk birkaç ayı içinde, hipofiz gonadotropinlerinin ve ovaryum hormonlarının baskılanmasının sonucudur. Uterus küçülmesinin başlangıcında endometriyum üzerindeki plasentanın yeri otolize uğrar ve “loşi” adı verilen vajinal bir akıntıya neden olur. Bu akıntı başlangıçta kanlı olup daha sonra seröz bir nitelik kazanır ve yaklaşık on gün devam eder. Bundan sonra, endometriyum yüzeyi yeniden epitelize olur ve tekrar normal, gebelik öncesi dönemde olduğu gibi cinsel yaşama hazır hale gelir (Guyton ve Hall, 2007).

2.2.2. Myometriyal Aktivitenin Biyokimyasal Temeli

Gebelik sürecinin sağlıklı bir şekilde devam etmesi ve dış ortama uyum sağlayabilecek sağlıklı bir fetüsün dünyaya gelmesi için hücresel, moleküler ve hormonal faktörlerden oluşan bir dizi fizyolojik düzenlemenin gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu düzenlemelere ait mekanizmaların aydınlatılması, gebelik ve doğum sırasında ortaya çıkan bir takım patofizyolojik olaylarının kavranmasına ve tedavilerinin sağlanmasına ışık tutacaktır.

Fizyolojik düzenlemelerden en önemlisi fetüsün yerleştiği organ olan uterustaki myometriyal aktiviteye ait kontrol mekanizmasıdır. Fetüs gelişimini tamamlayana kadar myometriyal aktivite sessiz fazda seyrederek ancak miyada yaklaştıkça bu faz sonlanır ve myometriyum transformasyona uğrar. Güçlü ve düzenli aralıklarla myometriyal kasılmalar başlar ve doğum gerçekleşir. Sessiz-latent fazda myometriyal aktivite kontrolünün bozulmuş olması erken doğum eyleminin başlamasındaki öncü mekanizmalardan biri olarak gösterilmektedir (Renthal ve ark., 2013).

Gebeliğin sağlıklı bir şekilde devam edebilmesi ve gelişmekte olan fetüse uygun bir ortamın sağlanabilmesi için uterusun yapısal bazı değişikliklere de uğraması gerekmektedir. Yapısal değişiklikler arasında myometriyal hücrelerin sayısının artması (hiperplazi), büyüklüklerinin artması (hipertrofi) ve ayrıca bu hücrelerdeki kontraktil myometriyal aktivitenin doğuma kadar baskılanması yer almaktadır (Hertelendy ve Zakar, 2004).

Fetüsün olgunlaşma sürecine ait hücresele düzenlemelerdeki mekanizma, myometriyal hücreler arasındaki koordinasyonu sağlayan ve gap-junction (GJ) adı verilen bağlantılarda artış meydana gelmesidir. GJ bağlantıları gebelik öncesinde saptanamayacak kadar az miktardadır ancak gebelik ilerledikçe sayı ve boyutları artar. GJ, konneksin adı verilen 6 özel proteinden oluşur ve myometriyumda "konneksin 43" adı verilen proteinin, GJ'nin esas yapısını oluşturduğu bulunmuştur (Garfield ve ark., 1995). Konneksin 43'ün, GJ oluşumu tamamlanan alanlardaki "Braxton-Hicks" kontraksiyonlarının başlamasında etkili olduğu düşünülmektedir. Uterusta östrojen/progesteron oranındaki artışla ve ortama prostaglandin (PG)'lerin eklenmesiyle GJ oluşumunun arttığı ve PG sentez inhibitörlerinin dokuya eklenmesi sonucu GJ oluşumunun durduğu in vitro çalışmalarla gösterilmiştir (Moore, 1995).

Myometriyum düz kas hücreleri doğumda uterusun kasılmasını sağlayarak doğum olayını gerçekleştirirler. Bu düz kas hücreleri, içerisinde yapısal ve fonksiyonel proteinler içeren bir plazma membranı ile çevrilidir. Sarkoplazmada çekirdek dışında gelişmiş golgi kompleksi, endoplazmik retikulum sistemi ve kasılmaya aracılık eden myoflamanlar bulunur. Aktin ve miyozin adı verilen kontraktıl proteinler myoflamanların yapısını oluşturur. Fetüsün olgunlaşma sürecine ait moleküler düzenlemede, düz kas ve çizgili kas hücrelerinin içinde Ca^{2+} iyonu miktarı artar ve bu iyonduyarlı bir protein olan kalmodulin, Ca^{2+} -kalmodülün kompleksini oluşturur. Bu kompleks miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) enzimine bağlanarak enzimin aktivasyonunu sağlar. MHZK enzimi tarafından miyozin fosforillenir, dolayısıyla aktif hale geçer. Aktif hale geçen miyozin aktin ile aktomyozin kompleksini meydana getirir. Aktin, miyozinin adenosin trifosfataz (ATPaz) aktivitesini açığa çıkarır ve kasta kasılma meydana getirir (Olsan ve ark., 1999).

Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu artışına hücre dışındaki kalsiyumun hücre içine alınması veya sarkoplazmik retikulumdan kalsiyumun hücre içine salınması aracılık eder. Ekstrasellüler Ca^{2+} , plazma membranında yer alan özel kalsiyum iyon kanallarından hücre içerisine girer. Özel kalsiyum iyon kanalları, voltaja bağımlı çalışan kanallar ve reseptöre bağımlı çalışan kanallar olarak iki alt gruba ayrılır. Membran depolarizasyonu sonucu voltaj bağımlı kanallar açılır ve kasılmaya aracılık ederler (elektromekanik eşleme). Reseptör bağımlı kanallar ise, reseptöre bağımlı maddelerin özelliklerine göre kalsiyum iyonunun hücre içine girmesine izin vererek kasılmayı sağlarlar (farmakomekanik eşleme). Düz kaslarda kasılma, membran potansiyelinde

herhangi bir değişiklik meydana gelmeden, reseptöre hormon veya ilaç gibi çeşitli maddelerin bağlanması sonucu hücre içine Ca^{2+} 'un girmesiyle ya da dışardan hücre içine Ca^{2+} girmeyip intrasellüler bir organel olan sarkoplazmik retikulumdan, kalsiyum iyonlarının hücre içine salıverilmesiyle gerçekleşebilir. Uterus kas kontraksiyonunun başlamasında rol oynayan faktörler arasında; kas hücreleri arasında iletişimi sağlayan gap junctionların ortaya çıkması, oksitosin reseptörlerinin artması, prostaglandin sentezinin hızlanması ve steroid hormonlarının (özellikle östrojen ve progesteron) yapım hızlarında meydana gelen değişiklikler yer alır. Bu değişikliklerin meydana gelmesi sonucu düşük hızda ancak güçlü ve yayılma özelliğine sahip uterus kontraksiyonları ortaya çıkar. Pek çok nedene bağlı olarak ortaya çıkan uterus kontraksiyonlarının ortak sonucu doğum eyleminin başlamasıdır (Aguilar ve Mitchell, 2010).

Doğumda fetal hipotalamo-hipofizer-adrenal yolun olgunlaşması, maternal-plasental üniteden özellikle östriol salınımının artmasına ve östrojen progesteron oranının tersine dönmesine neden olur. Östrojen progesteron oranının tersine dönmesiyle uterus kontraksiyonları için gerekli olan bir takım protein ürünleri açığa çıkar ve servikal olgunlaşma gerçekleşir. Servikal doku, bölgede bulunan su moleküllerini çekerek yumuşar ve lökositler bölgeye gelerek kollajen yıkımını sağlayan enzimleri ortama salıverirler (Nathanielsz, 1998).

Bazı hormon ve ilaçlar, myometriyumdaki moleküler yapı üzerinden etki göstererek kasta kasılma ve gevşeme yanıtlarını oluştururlar. Düz kasta moleküler düzenleme ile gevşemeye miyozin hafif zincir fosfataz (MHZF) enzimi aracılık eder. Örneğin $PGF2\alpha$ hücre içi Ca^{+2} iyonu miktarını ve MHZK'nın fosforilasyonunu arttırarak, uterus kontraktilesinin artmasına aracılık eder. Oksitosin, hücre zarında " Ca^{+2} - Mg^{+2} -ATPaz enzimi"ni inhibe ederek hücre içi Ca^{+2} iyonunu arttırır. Beta-adrenerjik ilaçlar, hücre içerisinde siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyesini arttırarak MHZK aktivitesini ve intrasellüler Ca^{+2} iyonunu azaltır böylece aktin miyozin ilişkisi zayıflayarak myometriyum gevşer. Fetüsün olgunlaşma sürecine ait hormonal düzenlemede ise değişik birçok mekanizma rol oynamaktadır. Kadınlarda terme yakın dönemde östrojen ve progesteron seviyeleri artmaktadır ve kanda östrojen/progesteron oranı değişmemektedir. Termde ise lokal progesteron reseptörleri azalarak desidua, koryon ve amniyonda PG sentezinin başlamasına ve uterusu kontraksiyonlara aracılık etmektedir (Olsan ve ark., 1999). Progesteron gebelik sürecinin devam ettirilmesine ve

doğum eylemindekine benzer düzenli olmayan myometriyum kontraksiyonlarının başlamasında rol oynar. Gebelik süresi boyunca gün geçtikçe artmakta olan östrojenin ana kaynağı fetustur (Chibbar ve ark., 1986). Östrojen; GJ proteinlerinin oluşumu, oksitosin reseptörlerinin artması, uterusun oksitosine duyarlı hale gelmesi ve serviksin olgunlaşmasında rol almaktadır. Hayvan deneylerinde gösterildiği gibi insanlarda kortizol maternal kanda 34-36. haftalarda artmaktadır ancak doğumun başlamasında herhangi bir rolünün olduğu saptanmamıştır. Buna karşılık fetal kortizol, plasentadan glukokortikoidlerle uyarılan kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgısını artırır. Bunun sonucunda plasental kaynaklı PGE2 ve PGF2 α salınımı meydana gelmektedir (Moore, 1995). İnsanlarda doğum eyleminin başlamasında prostaglandinlerin rolü kesin olarak açıklanamamış olmakla beraber, miktarları daha çok doğum sırasında veya postpartum dönemde artmaktadır. Bazı sitokinler (örn; interlökin [IL]) PG yapımına bağlı olarak kontraktiletiyi artırır. Bunun sonucunda servikal olgunlaşma ve membran rüptürü sağlanarak doğum eyleminin başlamasında etkili olurlar (Olsan ve ark., 1999).

2.2.3. Myometriyal Aktiviteyi Etkileyen Endokrin Faktörler

Myometriyal aktivitenin kontrolünde rol oynayan endokrin faktörler gebeliğin devamı ve sonlanmasında etki göstermektedirler. CRH, ACTH (adrenokortikotrop hormon), oksitosin, östrojen ve progesteron myometriyal aktivitenin kontrolünde rol oynayan endokrin faktörlerdir. Myometriyal aktivitenin artırılması yönünde etki gösteren hormonlar; plasentadan sentezlenen CRH, fetal hipotalamo hipofizo-adrenal aksan salgılanan ACTH ve katekolaminlerdir. Myometriyal aktiviteyi baskılayarak gebeliğin devamını sağlayan progesteron hormonu bu işlevini myometriyal hücrelerde kalsiyumun sarkoplazmik retikulumdan salgılanmasını inhibe ederek gerçekleştirmektedir. Gebeliğin miadında sonlanması ve normal doğum eyleminin başlaması için gerekli olan hormon ise östrojendir. Östrojen, myometriyal hücrelerin elektriksel bağlantılarını, eksitabilitelerini, oksitosine duyarlılıklarını ve prostaglandin sentezini artırmaktadır. Sonuçta myometriyal kasılmalar düzenli bir şekilde güçlenerek doğum eylemi başlamaktadır (Fuchs ve Fuchs, 1996).

Arka hipofizden salıverilen oksitosin hormonu myometriyal aktiviteyi artırır ve kendisi gibi bu aktiviteyi artıran maddelere ‘oksitosik ajanlar’ denmektedir. Bu maddeler hücre içi kalsiyum düzeyini artırarak hücrelerin kasılmasına yol açarlar.

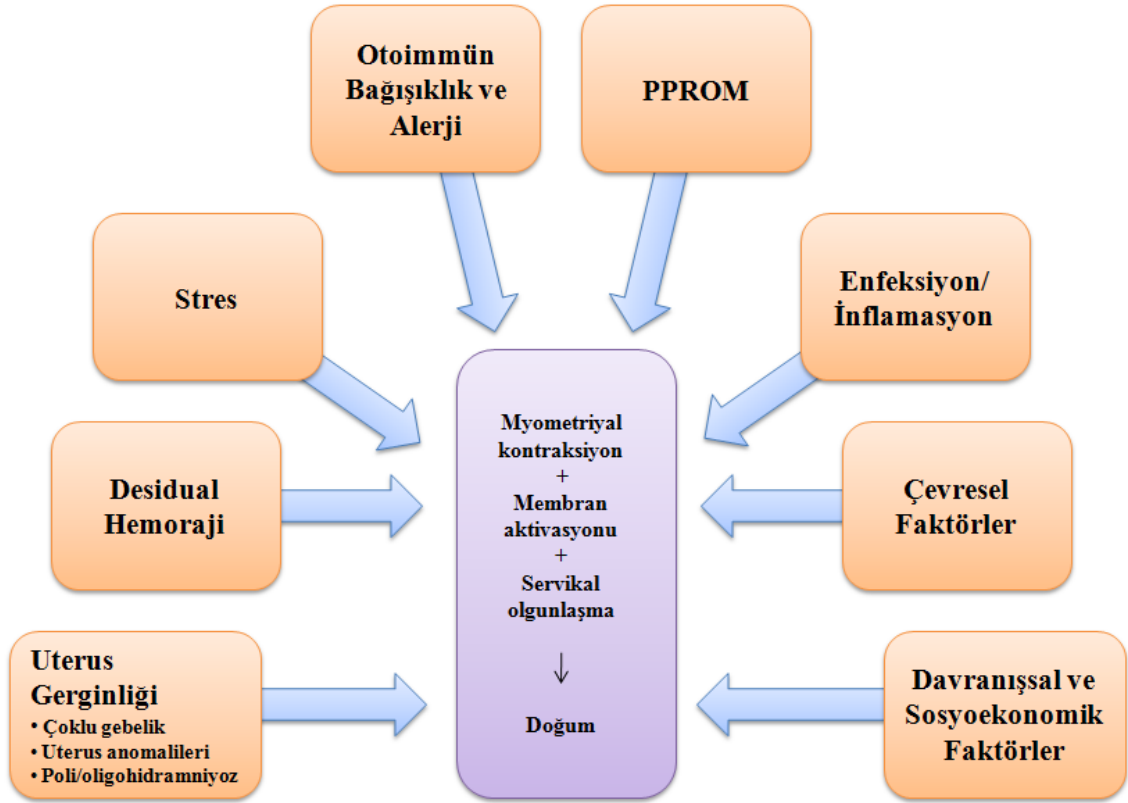
Klinikte yaygın kullanıma sahip olan oksitosik ajanlar oksitosin ve prostaglandinlerdir (Arrowsmith ve ark., 2014).

2.2.4. Myometriyal Aktiviteyi Etkileyen Parakrin Faktörler

Myometriyal aktivitenin düzenlenmesinde ve gebeliğin sürdürülmesinde rol alan parakrin faktörler; nitrik oksit (NO), prostaglandinler, lökotrienler ve sitokinlerdir. Bu maddelerin ortak özellikleri; son derece lipofilik olmaları, fonksiyonlarını tamamladıktan sonra hızlıca yıkılmaları ve sentez-salgılanmalarının steroid hormonlar kontrolünde olmasıdır (Snyder ve ark., 1994; Caserta ve ark., 1998). Prostaglandinler uterusu kasıcı etki gösterirlerken, NO gevşetici etkiler göstermektedir (Kawarabayashi ve ark., 1997; Ekerhovd ve ark., 1999).

2.3. Erken Doğum Eyleminin Patofizyolojisi

Erken doğum eyleminin patofizyolojik mekanizmaları ile ilgili veriler, doğum eyleminin yönlendirilmesine dâhil edilebilecek yeni tanı ve tedavi prosedürlerini sağlamaktadırlar. Günümüzde erken doğum etyopatogenezinde; enfeksiyon, uteroplental iskemi, hormon metabolizması bozuklukları ki özellikle gestagenler (progesteron benzeri etki gösteren maddeler) ve CRH'daki bozukluklar, fetüsün bozulmuş maternal toleransı, alerji, aşırı uterus şişkinliği, servikal yetmezlik gibi durumların yer aldığı varsayılır. Tüm bunların yanında erken doğumun temel patojenik süreci inflamasyondur (Koucký ve ark., 2009) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Erken doğum eyleminin patofizyolojisi (Koucký ve ark., 2009)

Enfeksiyon

Erken doğum patogenezi özellikle sitokinler, matriks metalloproteinazlar ve prostaglandinler ile ilişkilendirilmektedir. Bakteriyel endotoksinler, interlökinlerin salınmasını uyararak prostaglandin sentezini etkileyebilirler. Ayrıca mikroorganizmaların etkisi sonucu koryoamniyonit ve funusit gibi fetal ve maternal inflamatuvar yanıtları oluşmaktadır. Genito-üriner enfeksiyonlar ve özellikle sistemik enfeksiyonlar kontraksiyon riskini artırarak doğum eyleminin başlamasına sebep olabilir (Goldenberg, 2002; Koucký ve ark., 2009).

Uterus Fonksiyonlarında Hasar

Myometriyal gerginlik, hiperosmolarite, uterus veya fetal membran travması gibi fiziksel stres kaynakları, myometriyumun kasılmasını uyarıcı sitokin ve prostaglandinlerin sentezine aracılık eden fosfolipaz A2'nin lizozomlardan salınımına neden olmaktadır. Uterus kan akımını azaltan faktörler, uterin irritabilite ve plasental fonksiyonlarda azalmaya bunun sonucunda da lizozomlarda stabilitenin bozulmasına ve fosfolipaz A2'nin salınımına neden olurlar. Bu yolla erken doğumu teşvik eden

faktörler; erken membran rüptürü, abdominal travma, uterin anomalileri, uterusun aşırı gerilmesine neden olan oğul gebelikler, myomlar ve amniyon sıvı miktarının fazlalığıdır (Gilbert ve Harmon, 2002; Derbent ve Turhan, 2009).

Çoğul gebelik

Yardımcı üreme tekniklerindeki gelişmelere bağlı çoğul gebelik sıklığındaki artış erken doğum insidansında da artışa sebep olmaktadır. Tüm gebeliklerin % 2-3'ünü oluşturan çoğul gebelikler erken doğumun %15-20'si ile ilişkilendirilmektedir (Gilbert ve Harmon, 2002; Schieve ve ark., 2002).

Stres

Annede stres faktörlerinin varlığı ve gebelik süresince stresin giderek artması; plasental fonksiyonları ve uterusu etkileyen katekolaminlerin salınımına neden olabilir. Ayrıca uteroplazental kan akımı stresle birlikte azalabilir ve hatta fetal oksijenlenmeyi azaltabilir. Bunun sonucunda ise stres ile birlikte gelen erken doğum kaçınılmaz son olabilir (Gilbert ve Harmon, 2002; McNamara, 2003).

Abdominal Operasyonlar

Gebeliğin 36. haftasından önce cerrahi operasyon gerektiğinde, gebe erken doğum ve doğum açısından risk grubuna girer. Operasyon sonrası iyileşme döneminde artan prostaglandin üretimi, erken kontraksiyon olasılığını artırabilir. Ayrıca operasyondan kaynaklanan ağrıların tedavisi oluşabilecek kontraksiyonları baskılayacağından gebe tarafından doğumun ve kontraksiyonların seyri sağlıklı bir şekilde takip edilemeyebilir (Gilbert ve Harmon, 2002).

Alerji

Uterusun; alerjik reaksiyonların yürütülmesinden sorumlu hücrelerden biri olan mastositlerce zengin olduğu bilinmektedir. Mastositlerin farmakolojik degranülasyonu sonucunda uterus aktivitesi indüklenmekte ve özellikle prostaglandin salıverilmektedir. Ayrıca amniyotik sıvıda eozinofillerin varlığı, erken doğum sebeplerinden biri olan abnormal immün/alerjik yanıtın oluşmasına neden olmaktadır (Koucký ve ark., 2009).

2.4. Erken Doğum Eyleminin Tanısı

Erken doğum eyleminin tanısı uterus kontraksiyonlarına eşlik eden serviks dilatasyonu ve silinmesindeki değişiklikler aracılığıyla konulur. Tanı için gerekli olan klinik göstergeler; uterus kontraksiyonlarının sıklığı, ultrason veya vajinal muayenede servikal değişikliğin saptanması, vajinal kanama ve risk faktörlerinin doğru tespit edilmesidir. En sık karşılaşılan belirtiler; uterus kontraksiyonları, bel ağrısı, pelvik bası hissi, artan vajinal akıntı ve menstrüasyondakine benzer kramplar olarak sıralanabilir (ACOG, 2001).

2.5. Erken Doğum Eyleminin Tedavisi

Erken doğum oranlarını azaltmak, erken doğum eylemini önlemek ve tedavi etmek amacıyla uygulanan yöntemlerin 2 temel amacı vardır;

- ✓ Miadında doğum için kontraksiyonların sıklığını ve şiddetini azaltmak,
- ✓ Erken doğum eyleminden önce fetal durumu iyileştirmek.

Bu amaçla birçok ilaç ve farklı müdahale yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler henüz erken doğumu tamamen durdurmak için yeterli olamamaktadır. Uygulanan yöntemler arasında; yatak istirahati, hidrasyon ve sedasyon, tokoliz yer almaktadır (Kramer ve ark., 2012).

2.5.1. Yatak İstirahati

Erken doğum tedavisinde ilk basamak yatak istirahatidir. Her ne kadar yararı ve etkinliği tartışmalı olsa da risk altındaki gebelere rutin olarak önerilmektedir (Goldenberg, 2002). Yatak istirahati; intrauterin ortamı düzenler, uterusu olan kan akımını artırır, servikal silinme ve dilatasyonu uyaran serviks üzerindeki baskıyı azaltır böylelikle fetüsün uterusu kalma süresini uzatır. Bununla birlikte erken doğum tedavisi ve önlenmesine katkısı tartışmalı olan bu yöntemin bir takım yan etkilerinin de olduğu bildirilmiştir. Bu yan etkiler arasında; glukoz intoleransı ve insülin rezistansı, kardiyak output ve stroke volümünde azalma, postpartum iyileşmede gecikme, tromboembolik komplikasyon riskinin artması, konstipasyon, depresyon ve uyku bozuklukları yer almaktadır (Maloni, 1996).

2.5.2. Hidrasyon ve Sedasyon

Uterus kan akımı maternal kan hacminin etkisi altındadır. Erken doğum risk grubunda bulunan gebelere, intravenöz yoldan 500-1000 mL Ringer Laktat veya % 5 dekstroz verilmelidir. Bu yöntemin uterus kontraksiyonlarını baskılamada etkili olduğu, sedatif kullanımının ise risk altındaki gebelerde oluşabilecek korku ve anksiyeteyi azalttığı düşünülmektedir (Reis, 2001).

2.5.3. Tokoliz

Tokoliz uterus kontraksiyonlarının durdurulması olarak tanımlanabilir. Erken doğum eyleminin nedenleri dikkatli bir şekilde incelendikten, eylemin başladığından emin olduktan ve tokoliz kontrendikasyonunun olup olmadığı tespit edildikten sonra tokolitik tedaviye başlanmalıdır. Tokolitik ajanlar ile tedavinin endikasyon ve kontrendikasyonlar Tablo 2.2’de, tokolitik ajanların etki mekanizmaları ise Şekil 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Tokoliz tedavisinin endikasyonları ve kontrendikasyonları (Schleussner, 2013)

Tokolitik Ajan Endikasyonları	Tokolitik Ajan Kontrendikasyonları
<ul style="list-style-type: none">•Gebelik 20-37. haftalar arasında olmalıdır.• Serviks en fazla 4 cm açıklıkta olmalıdır.• Servikal effasman en fazla %80 olmalıdır.• Amniyotik membranlar intakt olmalıdır.•Fetüs sağlıklı olmalı, herhangi bir doğumsal anomalisi olmamalıdır.	<p>Maternal Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none">•Şiddetli Hipertansif Hastalık•Pulmoner veya Kardiak Hastalık•Maternal Hemoraji•Hipertiroidi <p>Fetal Hastalıklar</p> <ul style="list-style-type: none">•Ölü fetüs•Fetal distres•Fetal intrauterin infeksiyon•Korioamnionit•Hayatla bağdaşmayan fetal anomali•Eritroblastozis fetalis•Şiddetli intrauterin gelişme geriliği•Dekolman plasenta•Şiddetli polihidramnios veya oligohidramnios <p>Diğer Nedenler</p> <ul style="list-style-type: none">•Membranların Rüptüre Olması

2.5.3.1. Beta Adrenerjik Reseptör Agonistleri

Beta-adrenerjik reseptör agonistleri uterus ve diğer organlardaki beta-adrenerjik reseptörleri uyararak işlev görürler. Myometriyal hücre içinde cAMP konsantrasyonunu artırarak kalsiyumun sarkoplazmik retikuluma bağlanmasına neden olurlar. Böylelikle intrasellüler kalsiyum konsantrasyonu düşer ve myometriyal hücrenin elektriksel potansiyeli azalarak kontraksiyonlar durdurulur (Cunningham ve ark., 2001). Bu grupta yer alan ilaçlar; beta-2 adrenerjik reseptörler yanında beta-1 adrenerjik reseptörleri de uyaran epinefrin türevleridir. Fenoterol, orsiprenalin, izoksuprin, heksoprenalin, ritodrin, salbutamol ve terbutalin bunlara örnek olarak verilebilir. Beta-1 adrenerjik reseptörler kalpte, ince barsakta ve adipoz dokuda bulunur. Bu reseptörler kardiyak otomatiziteyi artırır, pozitif kronotrop ve inotrop etkilidir (Robert ve Goldenberg, 2002).

Bu gruptaki ilaçların doz ayarlanması maternal nabız sayımının takibi ile yapılır. Eğer verilen doz maternal taşikardi oluşturmuyorsa ve uterus kontraksiyonları devam ediyorsa ilaç dozunun yeterli olmadığı anlaşılır. Maternal nabız 120/dk oluncaya kadar ilaç dozu artırılmalıdır (Cunningham ve ark., 2001). Beta-2 adrenerjik reseptörler ise uterus düz kasında, damarlarda, diyafram ve bronşiolde yer alırlar. Fizyolojik etkileri; vazodilatasyon, bronkodilatasyon, glikojenoliz ve uterus düz kaslarında gevşemidir (Robert ve Goldenberg, 2002). Ritodrin hidroklorür uterus düz kasında beta-2 reseptörleri görece selektif bir şekilde aktive ederek uterusu gevşetir ve diğer ilaçlara tercih edilir. Bu gruptaki ilaçlar doza bağlı olarak majör kardiyovasküler yan etkilere neden oldukları için klinik kullanımları sınırlıdır. Bu yan etkiler akut respiratuar distres sendromu, pulmoner ödem, diastolik basınçta düşme, sistolik basınçta artış, maternal ve fetal taşikardidir. Ayrıca glikojen yıkımında ve kan glukoz seviyesinde artışa neden olurlar ki bu da diabetik olgularda kan insülin seviyesi yükseltilemediği için ciddi hiperglisemik ketoasidoza yol açabilir (Cunningham ve ark., 2001).

2.5.3.2. Magnezyum Sülfat (MgSO₄)

Preeklampsi tedavisinde uzun zamandır kullanılmakta olan magnezyum sülfat tokolitik tedavi amacıyla son 20 yıldır kullanılmaktadır. Myometrium kontraktilesine olan baskılayıcı etkisini; uterus kasına uyarıları ileten sinirlerin bloke edilmesi ve uterus düz kas hücrelerine doğrudan etki olmak üzere iki farklı yolla meydana getirir. Birincisinde artan Mg²⁺ seviyesi kas-sinir kavşağındaki sinir hücrelerine kalsiyum girişini engeller ve asetilkolin salınımını azaltır. Doğrudan etkide ise, magnezyum uterus düz kasında kalsiyumla yarışa girerek ATP'nin etkilediği aktin-miyozin ilişkilerini engeller. MgSO₄ alan hastalara kalsiyum verildiğinde uterus aktivitesi arttığı için MgSO₄'ın, kalsiyum antagonisti olarak etkisini gösterdiği de söylenebilir. Magnezyum ekstrasellüler kalsiyumun hücre içine girişini, intrasellüler depolardaki kalsiyumun salınımını, sitozoldeki kalsiyumun hareketini ve böylece de myometriyumun fazık kasılmalarını inhibe eder (Bain ve ark., 2013). Tedaviye başlanmadan önce serum magnezyum değerleri ölçülmeli ve bu 6-8 saat aralarla tekrar edilmelidir. Yükleme dozu olarak 20 dakika içerisinde, 4-6 gr verilebilir. İdame dozu saatte 1-3 gr olmalıdır. Tedaviye 1 gr/saat i.v infüzyon şeklinde başlanıp, 30 dakikada bir 0.5 gr/saat arttırılarak maksimum 3-4 gr/saat'e çıkarılır (Gelişen, 2001). Başlıca doz kısıtlayıcı etki diyaredir. Myastenia Gravis, böbrek yetmezliği ve hipokalsemi durumlarında kullanımı kontrendike olan

MgSO₄'ın başlıca görülebilecek yan etkileri; baş ağrısı, görme bulanıklığı, şaşılık, bulantı, hipotermi, nistagmus, letarji, güçsüzlük, dalgınlık, üriner retansiyon ve fekaloidtir (Bain ve ark., 2013).

2.5.3.3. Prostaglandin Sentez İnhibitörleri

Prostaglandinler myometriyal GJ oluşumunu ve hücre içi kalsiyum seviyesini arttırarak uterus kasılmalarını uyarırlar. Siklooksijenaz enzimini inhibe eden sulindak, naproksen, aspirin, indometazin ve fenoprofen; prostaglandin sentezini önlerler. Bu gruptaki ilaçların dozu; oral yolla altı saatte bir 25-50 mg, 24 saatte maksimum 200 mg olmalıdır. Maternal yan etkileri bulantı, retrosternal yanma iken fetal yan etkileri duktus arteriosusun erken kapanması, pulmoner hipertansiyon, oligohidramnios, intraventriküler kanama, hiperbilirübinemi, nekrotizan enterokolit olarak sıralanabilir. Fetüs üzerinde oldukça fazla istenmeyen etkiler gösterebildikleri için bu ilaçların tokoliz tedavisinde yaygın kullanımı engellenmiştir (Olson ve Ammann, 2007).

2.5.3.4. Kalsiyum Kanal Blokerleri

Antihipertansif ve antiaritmik olarak kullanılan kalsiyum kanal blokörleri tokolitik ajan olarak 1980'lerde kullanılmaya başlanmıştır. Etkilerini hücre membranındaki voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından serbest kalsiyumun hücre içine geçişini inhibe ederek yaparlar (Cunningham ve ark., 2005). Myometriyum gibi düz kasların aktivitesi direk olarak stoplazma içindeki serbest kalsiyum miktarı ile ilişkilidir. Hücre içi serbest kalsiyum miktarının azalması myometriyal kasılmaları inhibe ederken, artması aktive etmektedir. Hücre içi kalsiyumun ana kaynağı hücre dışı kalsiyumun hücre içine girişidir. Bu hücre dışı kalsiyumun hücre içine transferine iki farklı kanal aracılık eder: voltaj-bağımlı kanallar ve reseptör aracılı kanallar. Kalsiyum kanal blokörlerinin ise esas etki yerleri düz kaslarda en çok bulunan L-tipi voltaj bağımlı kanallarıdır. Ayrıca intrasellüler sarkolemmalardan kalsiyum salınımını da baskırlar. Ca²⁺ iyonunu bloke etmelerinin iki önemli özelliği, blokajın geri dönüşümlü olması ve ilaç bırakılınca sona ermesidir. Uterus kontraksiyonlarını inhibe etmede daha selektif olan ve tokolitik amaçla en sık kullanılan dihidropridin türevi kalsiyum kanal blokörleri nifedipin ve nikardipin'dir (Epstein, 1982). Her ne kadar tokolitik amaçla kullanılan dozlarında yan etki oluşturmaları az rastlanılan bir durum olsa da bu gruptaki ilaçlar spesifik etki oluşturmadıkları için birçok farklı dokuda istenmeyen etkilere sebep olabilirler. Bu

etkiler arasında en sık görüleni geçici flushing, başağrısı ve bulantıdır. Ayrıca beta-2 adrenerjik reseptör agonistlerine benzer fakat daha hafif kardiyovasküler yan etkileri de mevcuttur. Kalp hızında oluşturdukları artış, diğer düz kaslardan farklı olarak kalp hücrelerinde artırdıkları cAMP'nin kalsiyumu kontraktıl bölgelere bağlanmaya hazır hale getirmesine ve kasılmayı uyarmasına bağlıdır (Epstein, 1982).

2.5.3.5. Progesteron

Erken doğumu eylemini önlemek amacıyla yapılan hayvan çalışmalarında progesteronun etkili olduğu görülmesine rağmen insanlardaki etkisi henüz gösterilememiştir. Gebelikte uzun süre kullanılmaları durumunda fetüste anomaliler ortaya çıkabileceği için kullanımları engellenmiştir. Ancak 17 α -hidroksiprogesteron kaproat'ın profilaktik amaçla kullanımının preterm doğumlarda azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Sanchez-Ramos ve ark., 2005).

2.5.3.6. Oksitosin Antagonisti (Atosiban)

Kompetitif oksitosin-vazopresin reseptör antagonisti olan nanopeptid yapılı atosiban, oksitosine bağlı uterus kasılmalarını engelleme özelliğine sahiptir. Kardiyovasküler, pulmoner ve santral sinir sistemine ait önemli bir yan etkisinin olmamasına rağmen yapılan çalışmalarda atosiban kullanılan gruplara ait fetüs ve bebek ölümlerinin görülmesi sonucu "Food and Drug Administration" (FDA) tarafından bu ilacın kullanımına onay verilmemiştir (Meis ve ark., 1995; Wafa ve ark., 2006).

2.5.3.7. Nitrit Oksit Salgılatıcı İlaçlar

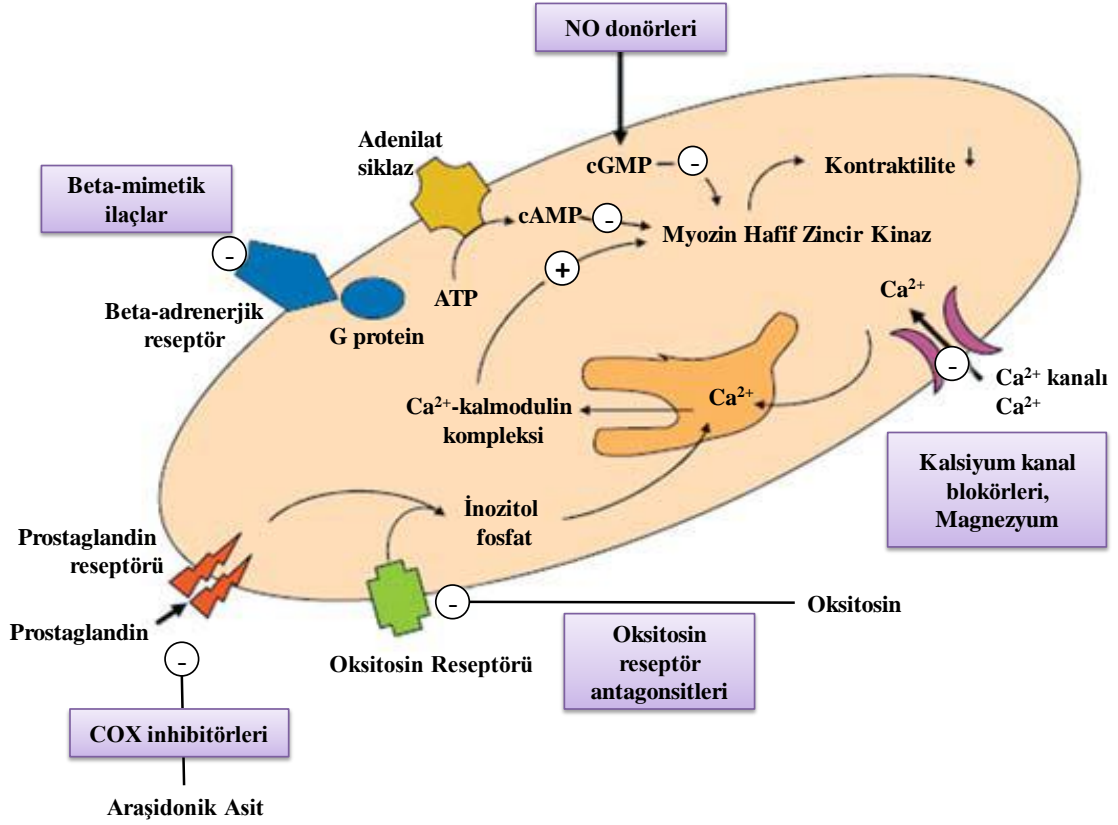
Nitrik oksit; etkisini damarlarda, barsakta ve uterusu gösteren güçlü endojen bir düz kas gevşeticisidir. Hücre dışı alandan hücreye Ca²⁺ girişini ve hücre içi depolardan da Ca²⁺ salınımını inhibe eder. Bu etkisini düz kas hücrelerinde cGMP düzeylerini arttırarak cGMP bağımlı protein kinazı aktive etmesiyle gösterir. Bu gruptaki ajanlara, hipotansiyon ve baş ağrısı gibi önemli yan etkilere sahip nitrogliserin örnek gösterilebilir. Yapılan çalışmalarda doğum eylemini geciktirme ve neonatal sonuçlar açısından olumlu etkisi ortaya konamadığı için klinik kullanıma sahip değildir (Covington ve ark., 2001).

2.5.3.8. Kortikosteroidler

Esas olarak erken doğum eylemini önlemek amacıyla değil fetüste akciğer olgunlaşmasını sağlamak amacıyla kullanılan ajanlardır. Bu grupta yer alan ilaçlardan deksametazon her 12 saatte bir 6 mg dozda dört defa uygulanırken, betametazon her 24 saatte bir 12 mg olmak üzere 2 doz halinde uygulanır. Betametazondan farklı olarak deksametazonun intraventriküler kanama insidansının da düşük olduğu bulgular arasında yer almaktadır (Mwansa-Kambafwile ve ark., 2010).

2.5.3.9. Antibiyotikler

Erken doğumda antibiyotiklerin daha çok profilaktik amaçla kullanımları yaygındır. Enfeksiyon kökenli spontan preterm eylemi olan kadınlarda erken gebelikte anormal genital kolonizasyon nedeniyle membranların erken yırtılmasını ve daha sonra oluşabilecek enfeksiyonu önlemek için tokoliz tedavisine ek olarak kullanılmalıdırlar (Kenyon ve ark., 2001). 22-34. gebelik haftaları arasında ampisilin ve eritromisin kullanımı sonucu “Respiratuar Distres Sendromu” gelişiminde azalma gözlenmiştir. Yapılan farklı 14 çalışmada ise erken doğumu olan kadınlarda antibiyotik kullanımının yararları belirtilmiştir (Lamont, 2008).



Şekil 2.2. Tokolitik ilaçların etki mekanizması (Schleussner, 2013)

2.6. Adrenerjik Beta Reseptörler

Adrenerjik reseptörler nöronal ve nöronal olmayan dokularda, hücre membranı boyunca yerleşim gösteren, noradrenalin ve adrenaline farklı cevaplar oluşturan G protein aracılı metabotropik reseptörlerdir. Adrenerjik alfa reseptörler ve adrenerjik beta reseptörler olmak üzere iki alt gruba ayrılırlar. Yapılan farmakolojik çalışmalar sonucunda her iki reseptör grubunun da kendi içinde alt reseptör gruplarına ayrıldığı görülmüştür. Adrenerjik beta reseptörler-adrenoseptörler in vivo ve in vitro sistemlerde katekolaminlerin etkilerine bağlı olarak beta-1 ve beta-2 olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. Beta-1 adrenoseptörler kalp, ince barsak ve yağ dokusunda, beta-2 adrenoseptörler ise vasküler, uterus ve solunum düz kaslarında yaygın bir şekilde yer almaktadır (Lands ve ark., 1967). Yapılan araştırmalar sonucunda adrenoseptörlerin beta-3 ve beta-4 olmak üzere farklı alt tipleri de tanımlanmıştır (Emorine ve ark., 1989; Kaumann ve Molenaar, 1997). Beta-3 adrenoseptörler, beta-1 ve beta-2 ile % 40-50 amino asit sekans benzerliğine sahiptir ve beyaz adipoz dokuda lipolize, kahverengi

adipoz dokuda termojenezise aracılık ettiği, ince barsak ve kalın barsakta kasılma aktivitelerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Kardiyovasküler sistemde beta-3 adrenoseptörlerin varlığı ve işlevi tartışma konusu olmakla beraber, son zamanlarda yapılan çalışmalar beta-3 adrenoseptörlerin insan koroner direnç arterlerinde, iç meme arterlerinde eksprese edildiğini ve adrenerjik vazodilatasyona aracılık ettiğini ortaya koymuştur (Dessy ve ark., 2004). Myometriyumda ise beta-2 adrenoseptörlerin eksprese edildiği belirtilmiştir ancak yapılan araştırmalarda beta-3 adrenoseptörlerin de insan myometriyumunda varlığı, işlevi, gebeliğin beta-3 adrenoseptörlerin ekspresyonuna etkilerinin değerlendirilmesi ve agonist ile indüklenmiş duyarsızlaştırmaya direnci ortaya konmuştur (Bardou ve ark., 2007).

2.6.1. Beta-2 Adrenoseptör Farmakolojisi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi

Adrenerjik reseptörlerden beta-2 adrenoseptörler solunum yolu düz kası, diyafram, kan damarları ve uterus düz kasında yer almaktadır. Fizyolojik etkilerine vazodilatasyon, bronkodilatasyon, glikojenoliz ve uterin relaksasyon örnek verilebilir. Beta-2 reseptörlere bağlanan ilaçlar, adenilat siklaz enziminin aktivasyonu ile hücre içi cAMP düzeyini artırır. Bunun sonucunda MLCK'nın direk fosforilasyon ile inhibisyonu ve hücre içi kalsiyum düzeyinin azalması gözlemlenir. Aktin-miyozin etkileşmesinin önlenmesiyle de myometriyal kontraksiyon inhibe edilmiş olur (Caritis ve ark., 1991). Farmakolojik tedaviler arasında, beta-2 adrenoseptör agonistlerin tokolitik ajan olarak kullanımı oldukça yaygındır. Ancak uzun süreli kullanımları sonucunda duyarsızlaşmanın oluşması, etkinliğinde azalma gözlenmesi, önemli maternal ve fetal yan etkilerinin gözlenmesi nedeniyle dünya genelinde kullanımları giderek azalmaktadır (Bardou ve ark., 2007). Tokolitik amaçla kullanılan beta-2 adrenoseptör agonsitlerinin uterus düz kasına spesifik olması beklensede beta-1 adrenoseptörleri de etkilemektedirler. Yapı olarak endojen katekolaminlere benzeyen bu gruptaki ilaçlara izoksuprin, ritodrin, terbutalin, hegzoprenalin, fenoterol, salbutamol ve metoproterenol örnek verilebilir. Ritodrin ve terbutalin klinikte en yaygın kullanıma sahip olmakla birlikte sık rastlanılan yan etkileri taşikardi, hipotansiyon, bulantı, göğüs ağrısı ve solunum sıkıntısıdır (Caritis ve ark., 1991).

2.6.2. Beta-3 Adrenoseptör Farmakolojisi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi

1980 yılında ilk kez keşfedilen beta-3 adrenoseptör agonistleri beyaz yağ dokusunda lipolize, kahverengi yağ dokusunda termogeneze neden olurken, trakea ve uterus kasılmalarında gevşetici etkiye sahiptir (Arch ve ark., 1984). Beta-3 adrenoseptörlerin ilk olarak kemirgenlerdeki yağ dokusunda mRNA'sı gösterilirken daha sonra yapılan immünohistokimyasal çalışmalarla iskelet dokusu, primer yağ dokusu ve diğer insan dokularında varlığı da kanıtlanmıştır (Kaumann ve Molenaar, 1997). Beta-3 adrenoseptör agonistlerinin kolon, ileum, mesane, solunum düz kaslarında ve iskelet kasında gevşetici etkilerinin gösterilmesiyle oluşturacakları myometriyal gevşeme sonucu tokolitik tedavide faydalı olabileceği düşünülmüştür (Bardou ve ark., 2000; Dennedy ve ark., 2002). Fonksiyonel beta-3 adrenoseptörün insan myometriyumunda beta-2 adrenoseptöre göre baskın bir şekilde fazla bulunduğu, gebelik esnasında ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Dennedy ve ark., 2001; Croci ve ark., 2007). Ayrıca vasküler dokularda beta-3 adrenoseptörün oluşturduğu etki beta-2 adrenoseptöre göre oldukça azdır bu da kardiyovasküler yan etki riskini azaltmaktadır. Spesifik beta-3 adrenoseptör agonistinin myometriyal düz kaslarda spesifik beta-2 adrenoseptör agonistine göre daha fazla gevşemeye neden olduğu ve bu gevşemenin cAMP üretimi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Rouget ve ark., 2004; Kaya ve ark., 2012).

2.7. Purinerjik Sistem Farmakolojisi

Hücre dışı purinler (Adenozin 5'-trifosfat (ATP), Adenozin 5'-difosfat(ADP)) ve pirimidinler (Uridin difosfat (UDP), Uridin trifosfat (UTP)) omurgalılar ve omurgasızlarda proliferasyon, gelişim ve farklılaşma, hücre ölümü, hormon ve nörotransmitter salıverilmesi gibi birçok fizyolojik olayda rol oynayan özgül maddelerdir. Biyolojik etkilerini hücre yüzeyinde yer alan purin reseptörlerine bağlanarak oluştururlar (Ralevic ve Burnstock, 1998). ATP; ko-transmitter olarak noradrenalin ile birlikte sempatik sinirlerden salıverilir ve hücre dışında bulunan ATP nöronal hücrelerde olduğu kadar diğer birçok hücre tipinin de sinyal yollarında görev alır (Khanam ve Burnstock, 2007). ATP tarafından hücre dışında tetiklenen etkiler ilk defa Drury ve Szent-Gyorgyi (1929) tarafından rapor edilmiştir ve bu etkiler periferik nörotransmitter olarak ATP'nin düz kas kasılmasını sağlamasına dayanmaktadır (Gorodeski, 2002).

2.7.1. Purinoseptörler ve Myometriyal Aktivite ile İlişkileri

ATP; ligand kapılı iyon kanalları (P2X reseptörleri) ve G-protein aracılı reseptörlerden (P2Y reseptörleri) oluşan purinerjik P2 reseptörleri (purinoseptör) üzerinden etkisini göstermektedir (Ralevic ve Burnstock, 1998; Gorodeski, 2002; Khanam ve Burnstock, 2007). P2X reseptörleri için 7 alt tip (P2X₁, P2X₂, P2X₃, P2X₄, P2X₅, P2X₆, P2X₇), P2Y reseptörleri için ise 12 alt tip (P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₅, P2Y₆, P2Y₈, P2Y₉, P2Y₁₀, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃, P2Y₁₄) klonlanmış ve tanımlanmıştır (Abbraccio ve Ceruti, 2006). Bu alttiplerden; P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ ve P2Y₁₁ reseptörleri Gq aracılı reseptörlerdir, P2Y₁₂, P2Y₁₃ ve P2Y₁₄ reseptörleri ise Gi aracılı reseptörlerdir (Costanzi ve ark., 2004). Gebe olan ve gebe olmayan kobay, sıçan, fare, tavşan ve insan gibi çeşitli türlerin uteruslarında purinoseptörlerin ve alt tiplerinin varlığı gösterilmiştir. P2X reseptörlerinin agonistleri tarafından uyarılması sonucu kasılma yanıtları oluşurken, P2Y reseptörlerinin uyarılması sonucu genellikle gevşeme yanıtları oluşmaktadır (Ziganshin ve ark., 2003a, 2003b, 2006).

Üreme sisteminde de ATP, purinerjik reseptörler aracılığıyla etkisini göstermektedir. Düz kaslar için non-adrenerjik non-kolinerjik ko-transmitter olarak değerlendirilmektedir. Nöronal olmayan hücreler tarafından da salıverilerek myometriyum (Ninomiya ve Suzuki, 1983; Gillman ve Pennefather, 1998) ve fallop tüplerindeki P2 reseptörleri üzerinden etki gösterebilmektedir. P2Y aracılığıyla etki gösteren hücre dışı ATP, endometriyum ve myometriyumun prostaglandin sentezleme kapasitesindeki artışı (Aitken ve ark., 2001) ve insan fallop tüpü sıvı oluşumunu düzenlemektedir. Ayrıca insan servikal epitelyumundan, sıvıların ve çözünen maddelerin transepitelyal transportunun en etkili düzenleyicisidir (Gorodeski, 2002). Bu veriler ışığında P2Y reseptörlerinin doğum süresi boyunca uterus aktivitesinin düzenlenmesi yönünde fizyolojik bir role sahip olabileceği düşünülmektedir.

2.8. Kannabinoid Sistem Farmakolojisi

Kannabinoidler, marihuana (esrar, hint keneviri, kannabis) olarak bilinen ve "Cannabis sativa linnaeus" isimli bitkiden elde edilen bir grup kimyasal maddedir. Marihuana, psikostimülan ve terapötik özellikleri nedeniyle dünyada en yaygın kötüye kullanılan uyuşturucu maddedir. Kannabinoidler; marihuanadan (esrar) elde edilen analjezik, antiemetik ve antispastik özellikleri için yüzyıllar boyunca kullanılmışlardır (Ferreirós ve ark., 2013). Cannabis sativa linnaeus'da bulunan majör aktif bileşen lipofilik

özelliğindeki Δ^9 -tetrahidrokannabinol (Δ^9 -THC)'dür (Kalant, 2001). İnsan vücudunda fizyolojik olarak da bulunan kannabinoidler; etki mekanizmalarının, reseptörlerine ait agonist ve antagonistlerinin keşfedilmesiyle tedavi amaçlı olarak kullanılmaya başlanmışlardır (Ständer ve ark., 2006).

Kannabinoidlerin temel etkisi santral sinir sistemini baskılamak ve böylece alkol etkilerine benzer şekilde rahvet oluşumu, farkındalıkta azalma, psikomotor performansta azalma, dikkat eksikliği, motor fonksiyonlarda yavaşlama ortaya çıkar. Kannabinoid reseptörlerinin santral uyarımı ile ağrı duyusunda azalma olduğu gözlenmiştir. Bulantı ve kusmayı engelleyici etkilerinin yanı sıra Δ^9 -THC'ün antikonvülsan etkisi de mevcuttur (Kalant, 2001). Kardiyovasküler sistem üzerinde taşikardi, myokardın oksijen ihtiyacında artış, vazodilatasyon ve ortostatik hipotansiyon oluşturan etkileri vardır (Montecucco ve Marzo, 2012). Solunum sisteminde ise bronkodilatasyon yapıp havayolu direncini azaltırlar ve antiinflamatuvar etkileriyle akciğerde proinflamatuvar sitokin üretimini baskılayıp mukus salgısını azaltarak, allerjik astım tedavisinde faydalı olabilecekleri öne sürülmüştür (Kalant, 2004; Croxford ve Yamamura, 2005). Ayrıca kannabinoidlerin vasküler sistem üzerinde de etkileri mevcuttur. Endotel hücrelerinde inflamatuvar gen ekspresyonunu ve monosit adezyonunu inhibe ederek aterosklerotik plaklarda artışı baskırlar (Mach ve Steffens, 2008).

2.8.1. Kannabinoid Reseptörler ve Myometriyal Aktivite ile İlişkileri

Yapılan çalışmalar kannabinoidlerin etkisine, hücre membranı boyunca yerleşim gösteren kannabinoid-1 (KBR1) ve kannabinoid-2 (KBR2) olmak üzere iki farklı G protein aracılı reseptörün aracılık ettiğini göstermiştir. KBR1 santral sinir sisteminde dağılım gösterirken, KBR2 immün sistem, deri, kemik iliği, akciğer, pankreas ve düz kaslar gibi periferik dokularda yer almaktadır (Fowler ve ark., 2005; Adams ve Martin, 1996). KBR1 ve KBR2; adenilat siklazı inhibe eden ve böylece hücre içi cAMP seviyesini azaltan inhibitör protein Gai/o proteinine kenetlidir (Pertwee, 1999). KBR'ler; iyon kanallarının düzenlenmesi ve nitrik oksit üretilmesi gibi sayısız diğer birçok sinyalleme olayını da etkilemektedirler. Her iki KBR alt tipinin aynı zamanda; hücre yüzeyi ile çekirdek arasındaki iletişime aracılık eden, apoptozis, onkojenezis, hücre farklılaşması, hücre döngüsü aracılığıyla ilerleme gibi birçok işleve sahip olan mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) aktivitesini artırdıkları da bilinmektedir. Bu

reseptörler; üreme sistemini de içine alan çeşitli birçok dokuda lokalize olmuştur. Örneğin; KBR1 reseptörleri ovidukt, uterus ve plasental membranlarda tespit edilmiştir. Kannabinoid reseptörlerinin ekspresyonu embriyojeneziste yüksektir. KBR1 ve KBR2 mRNA'ları insan uterusunun myometriyal tabakalarında da lokalize olmuştur (Brighton ve ark., 2009).

KBR1 ve KBR2 için endokannabinoid olarak tanımlanan birçok endojen ligand izole edilmiştir. En çok çalışılan endokannabinoidler Δ^9 -THC benzeri; N-araşidoniletanolamin (anandamid (AEA)), ve 2-araşidonilgliseroldür ve KBR'leri aracılığıyla etki gösterirler (Pertwee, 1999). Pre- ve peri-implantasyon olaylarında, gebelikte, erken gebelik kaybında, uterus düz kas gevşemesinde ve doğum sonrası gelişimde AEA'nın önemli düzenleyici rollerinin olduğu gösterilmiştir (Brighton ve ark., 2009). Endojen (AEA) ve ekzojen (Δ^9 -THC) kannabinoidlerin; uterus hassasiyeti, gebelik süresi, myometriyal kasılmalar ve yaşamın ilk günleri üzerindeki etkileri, hayvanlarda ve insanlarda tanımlanmıştır. Bununla birlikte kannabinoidlerin erken doğumdaki klinik etkileri yeteri kadar anlaşılammıştır (Asghari-Roodsari ve ark., 2010).

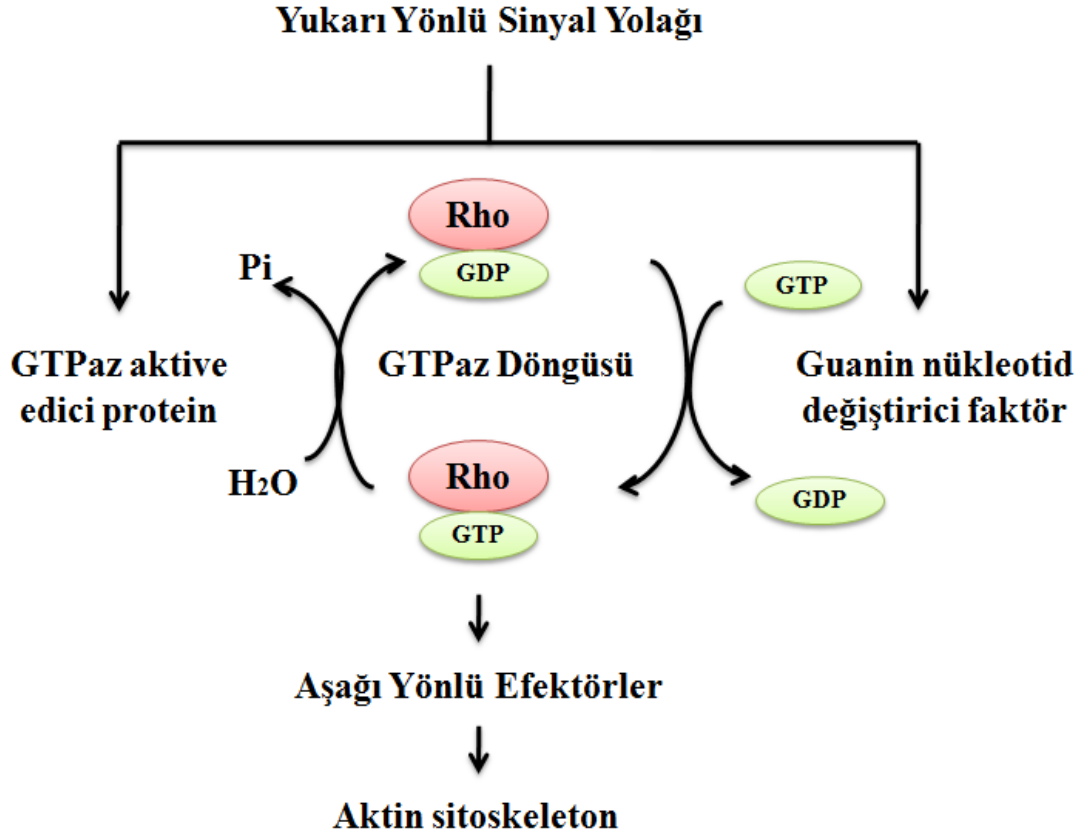
2.9. RhoA/Rho-kinaz Sistem Farmakolojisi

2.9.1. Rho GTPazlar

Rho GTPazlar, küçük GTPazların Ras süper ailesinin alt ailesini oluştururlar. Rho GTPazlar moleküler anahtar olarak hareket ederler ve hücrede guanozin difosfat (GDP)'ye bağlı inaktif durum ile guanozin trifosfat (GTP)'ye bağlı aktif durum olmak üzere iki şekilde bulunurlar. Bu iki form birbirine dönüşüm gösterebilen küçük G proteinleridir ve Rho'nun aktivasyonunu etkileyen üç protein tarafından dönüşüm gerçekleşmektedir (Şekil 2.3). Bunlar:

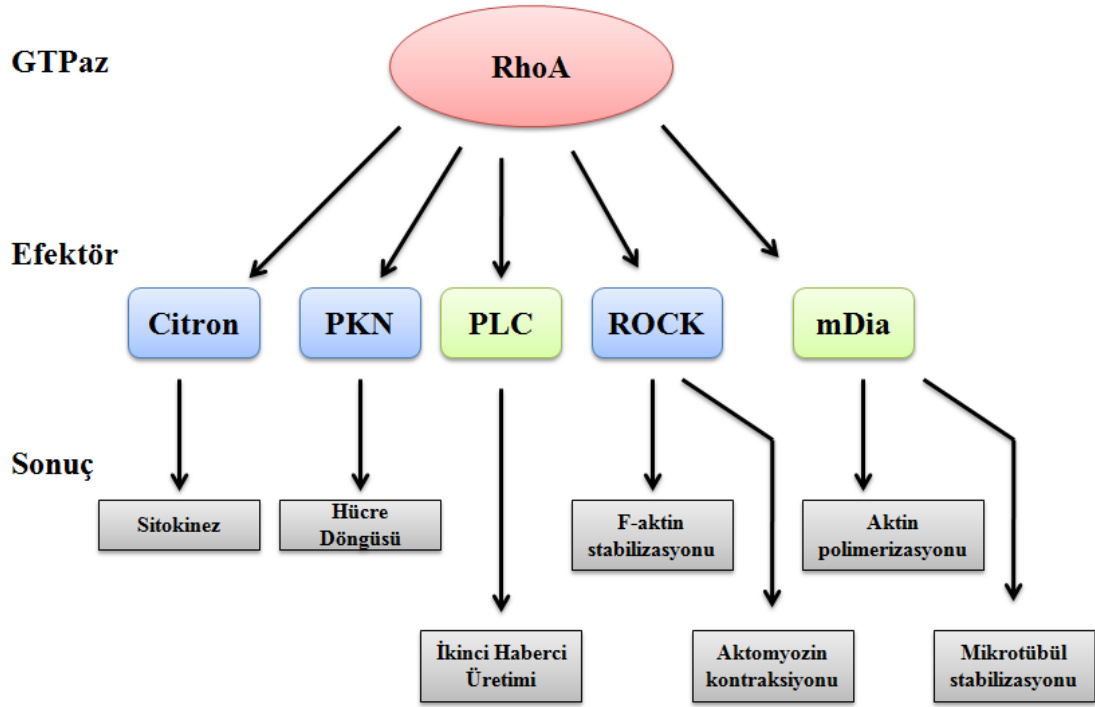
- **Guanin nükleotidi değiştirici protein/faktör (GEP veya GEF):** İnaktif Rho-GDP'nin aktif Rho-GTP'ye dönüşümünü sağlayarak Rho'nun aktivasyonunu sağlar.
- **Guanin nükleotidi disosiyasyon inhibitörü, GTPaz ayırıcı inhibitörler (GDI):** Rho'nun GDP'den ayrılıp GTP'ye bağlanarak aktivasyonunu ve nükleotid ayrılmasını engelleyen negatif düzenleyicilerdir.

- **GTPaz aktive edici proteinler (GAP):** Aktif Rho-GTP'nin inaktif Rho-GDP'ye dönüşümünü sağlayarak Rho'nun inaktivasyonunu sağlayan negatif düzenleyicilerdir.
- **Reseptörler:** Çok sayıda G proteini ile kenetlenerek aktivasyonu sağlarlar (Vigil ve ark., 2010; Boureux ve ark., 2007; Luo, 2000; Leung ve ark., 1996; Mueller ve ark., 2005)



Şekil 2.3. Moleküler anahtarlar olarak Rho GTP-azlar (Luo, 2000)

Rho GTPazlar GTP'ye bağlanıp aktifleştiklerinde farklı efektörlere bağlanabilirler ve farklı biyolojik olayları gerçekleştirebilirler. Rho GTPazlar, hücrede aktin sitoiskeletin düzenlenmesi, stres liflerinin oluşması, fibroblastların lokal adezyonu, düz kas kasılmasında Ca^{+2} duyarlılığının düzenlenmesi, hücre çoğalması, göçü ve adezyonu, gen transkripsiyonu gibi farklı hücresel işlevleri gerçekleştirirler. Rho-GTP proteinleri bu işlevlerini aktin sitoiskeletini düzenleyerek gerçekleştirirler (Grewal ve ark., 2010; Vigil ve ark., 2010; Boureux ve ark., 2007; Luo, 2000; Leung ve ark., 1996; Mueller ve ark., 2005) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Rho GTP-azların efektörleri (Iden ve Collard, 2008)

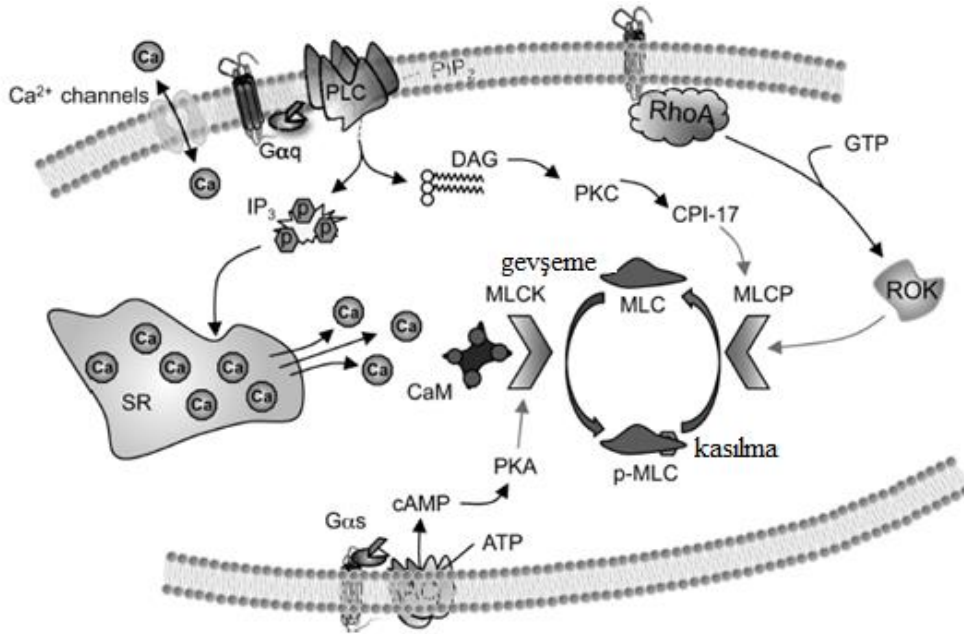
2.9.2. Rhokinaz (ROCK, ROK)

Rhokinaz; 160 kDa molekül ağırlığında olan bir serin-treonin protein kinazdır. Rho'nun ilk efektörleri olarak keşfedilen rhokinazlar'ın; ROCK1 ve ROCK2 olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. Bu proteinler, buldukları kromozom, içerdikleri aminoasit sayısı ve daha yoğun eksprese edildikleri yer bakımından farklılık gösterir (Maekawa ve ark., 1999). Vücuttaki dağılımları ROCK1 için akciğer, böbrek, dalak, karaciğer ve testis iken ROCK2 için beyin ve kalptir (Fessler ve ark., 2007; Maekawa ve ark., 1999; Luo, 2000; Shimokawa ve Takeshita, 2005).

Kıvrılmış bir yapıya sahip olan ve rhokinazın aktivasyonundan sorumlu olan C-terminal bölgesi ile aktif haldeki Rho'nun etkileşmesiyle kinaz bölge aktif hale gelir. Ayrıca bu bölgenin üzerinde Rho'nun bağlandığı Rho bağlayıcı bölge (RBB) bulunmaktadır (Leung ve ark., 1996; Noma ve ark., 2006; Shimokawa ve Takeshita, 2005).

2.9.3. RhoA/Rho-kinaz Sistemi ve Myometriyal Aktivite ile İlişkisi

Fizyolojik uterus agonistleri hem Ca^{2+} bağımlı hem de Ca^{2+} bağımsız yolları aktive ederek etki göstermektedirler. Buna karşılık, myosit membranının depolarizasyonu baskın bir şekilde Ca^{2+} bağımlı yolağı aktive etmektedir. Aguilar ve Mitchell (2010) tarafından belirtildiği üzere; endojen uterus agonistleri uterus myositlerinde iki temel sinyalleme yolağını aktive etmek için G-protein aracılı reseptörleri uyarırlar. Birinci yolak; depolarizasyona neden olan fosfolipaz C aracılı yolaktır ve Ca^{2+} bağımlı miyozin hafif zincir kinaz (MLCK) aktive edilir (Berridge, 1993). Bunun sonucunda kasılmayı tetikleyen miyozin düzenleyici hafif zincirin (RLC, pRLC'ye fosforillenir) fosforilasyonu gerçekleşir. İkinci yolak; monomerik G-proteini rhoA'nın aktivasyonunu içerir ve rhoA'nın esas etkili formu olan rho-A ilişkili kinaz (ROCK) aktive olur (Somlyo ve Somlyo, 2003). ROCK aktivasyonunun en önemli etkisi; fosforillenmiş RLC'nin pro-kontraktıl etkilerini aktif hale getiren miyozin RLC fosfatı (MLCP) inhibe etmektir. Buna ek olarak, MLCP'nin katalitik alt ünitesi; protein kinaz C (PKC) tarafından etkili hale getirilen protein fosfat 1c (CPI-17) ve fosfat haloenzim inhibitör (PHI) aracılığıyla da doğrudan inhibe edilebilir. Her iki inhibitör de PKC veya ROCK tarafından aktive edilebilmektedir (Taggart ve ark., 2012) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. RhoA/Rho-kinaz sisteminin myometriyal aktivite ile ilişkisi (Word ve ark., 1992)

Uterus düz kas kasılmasında rol oynadığı düşünülen RhoA ve Rho-kinaz'ın gebe myometriyumunda varlığı gösterilmiştir. Fakat myometriyumdaki bu proteinlerin farmakolojik veya moleküler seviyelerdeki ekspresyonları ve fonksiyonları tam olarak gösterilememiştir. Bu veriler doğrultusunda erken doğumun önlenmesinde ve gebelik sürecinin zamanında sonlandırılmasında RhoA/Rho-kinaz sisteminin inhibisyonunun etkili olabileceği düşünülmektedir (Tahara ve ark., 2002).

2.10. Nitrik Oksit ve Myometriyal Kasılma

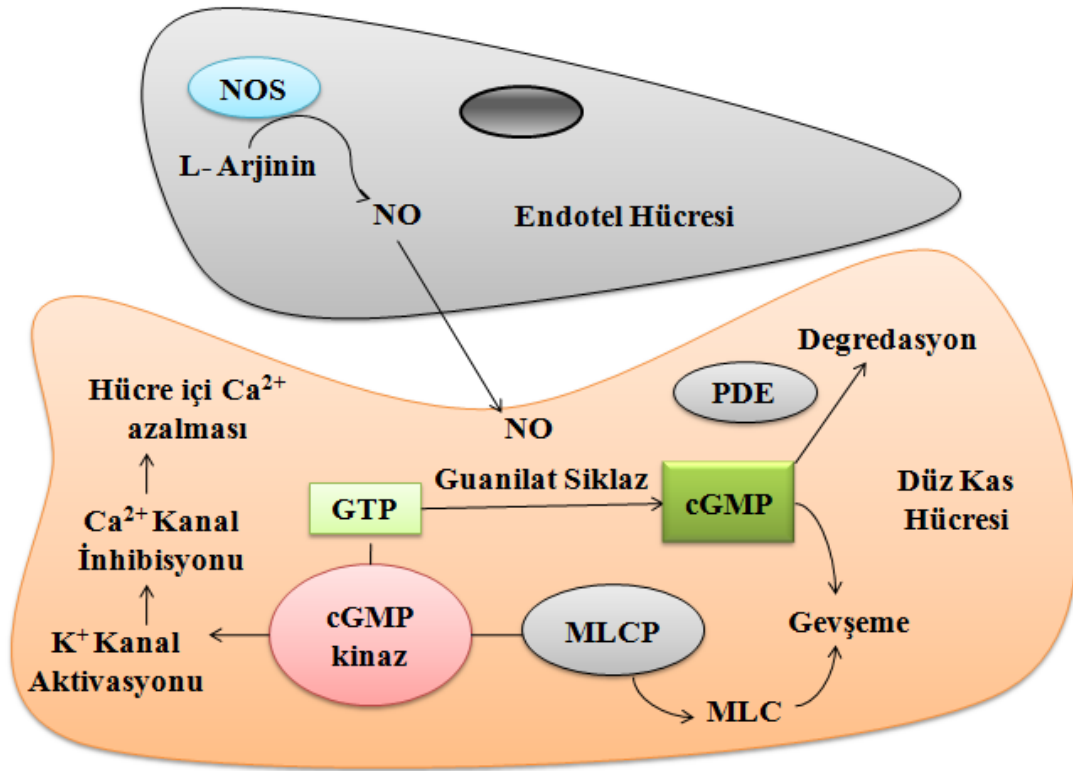
Anorganik bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO) küçük, kararsız ve yük taşımadığı için hücreden hücreye difüzyonla kolaylıkla geçebilen bir moleküldür. 1987 yılında damarlarda oluşturduğu gevşetici etkinin keşfedilmesiyle birlikte daha sonraki yıllarda birçok farklı fizyolojik olaya da aracılık ettiği bulunmuştur. Vasküler sistemde vazodilatasyonun başlatılması, platelet agregasyonunun inhibisyonu, endotel hücrelerinin nötrofil ve platelet bağlanmasından korunması, apoptozisin düzenlenmesi, endotel hücre bariyer fonksiyonunun sağlanması rol aldığı fizyolojik olaylar arasında sıralanabilir. NO, nöronlarda nörotransmitter olarak, makrofajlarda ise antimikrobiyal ajan olarak üretilmektedir. Ayrıca üreme sistemi biyolojisi ve fizyolojisinde de önemli bir düzenleyici olarak görev almaktadır (Roselli ve ark., 1998; Eşsizoglu ve Yıldırım, 2009).

L-arjinin amino asidinden sitrulin oluşumu sırasında, kofaktör olarak oksijen, nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve tetrahidrobiopterine gereksinim duyan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile oksitlenme sonucu sentez edilir. Üç farklı NOS izoformu bulunmuştur. Bunlardan nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS veya NOS1) enzimi beyin ve periferik sinir sisteminden, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS veya NOS3) enzimi endotel hücrelerden ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS veya NOS2) enzimi ise birçok doku ve organda inflamatuvar uyarı ile makrofaj, hepatosit ve nötrofil hücreleri tarafından sentezlenir (Buhimschi ve ark., 2000; Ulbrich ve ark., 2006). Yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) olarak da bilinen nNOS ve eNOS kofaktör olarak kalsiyum-kalmoduline bağımlıdır ve hücre içi Ca^{2+} seviyesini yükselten agonistlerce aktive edilirler. Artan kalsiyum seviyesi kalmodulinin NOS'a bağlanmasını uyarak hızla NO sentezlenmesini sağlar (Atalık ve Doğan, 1997).

NO düz kas hücrelerinde guanilat siklazı aktive ederek hücre içi cGMP konsantrasyonunu artırır ve ikincil haberci cGMP'ye bağımlı protein kinazlar

aracılığıyla sitozoldeki kalsiyumun ekstraselüler sıvıya mobilizasyonu ile dokularda gevşeme oluşturur (Bradley ve ark., 1998) (Şekil-6).

Uterus kasılmaları gebelik sırasında farklı mekanizmalar tarafından kontrol altına alınırken NO'nun de bu mekanizmalar arasında yer alabileceği önerilmiştir (Bansal ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarda NO'nun gebe sıçanlarda (Yallampali ve ark., 1993) ve insanlarda (Buhimschi ve ark., 1995) myometriyumun gevşettiği gözlenmiştir. Gebelik süresi boyunca NO'nun gevşetici etkisine maruz kalan myometriyumun doğumdan hemen önce ve doğum esnasında NO'ya olan duyarlılığı azalır ve uterus kasılmaları artar. iNOS'un myometriyum kasılmalarını kontrol ettiği düşünülmektedir (Dong ve ark., 1996).



Şekil 2.6. NO sinyal yolağı (Bradley ve ark., 1998)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 07.11.2013 tarihli ve B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/80 sayılı etik kurul izni ile yapılmıştır.

3.1. Sıçanların Bakımı ve Miyad Gebelik Oluşturulması:

Bu çalışmada, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma Laboratuvarı'nda bakımı yapılan, 14-16 haftalık, vücut ağırlığı ortalama 200-220 g olan 24 adet erişkin dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar normal hayvan laboratuvarı koşullarında tutuldu, besin ve su sınırlaması uygulanmadı. Oda sıcaklığında tutulan dişi sıçanlar akşam saat 17:00 ile sabah saat 9:00 arası, erişkin erkek sıçanlarla çiftleştirildi. Ertesi gün sabah saat 09:00-10:00 arasında çiftleşmenin bulgusu olan kopulatuvar plug tespiti için daha önce yapılmış çalışmalarda uygulanan yöntem ile kopulatuvar plug muayenesi yapıldı (Voipio ve Nevalainen, 1998; Yurtçu ve ark., 2001). Muayenede pediatrik otoskop (HEINE mini 2000, Heine Optotechnik, Herrsching, Germany) kullanıldı. Daha sonra vajinal sürüntü alınarak spermler arandı. Kopulatuvar plugun saptandığı ve spermatozoanın görüldüğü gün gebeliğin 0. günü olarak kabul edildi. Sıçanlarda gebeliğin 21 gün sürdüğü bilgisine dayanarak (Sharp ve La Regina, 1998), çalışmada gebeliğin 19-21. gününde olan term gebe sıçanlar (n=6) kullanıldı.

3.2. Yapılan Deneysel İşlemler

Bu çalışmada yapılan deneyler iki bölüm halinde düzenlendi. İlk bölümde, oksitosin ile uyarılmış myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 ve ZD-7114'ün, Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid'in, nonselektif KB reseptör agonisti WIN-55,212-2'nin, selektif KB1 agonistleri ACEA ve ACPA'nın, KB2 agonistleri L-759656 ve L-759633'ün ve nonselektif P2Y agonist ATP disodyum tuzu, P2Y₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ agonist 2-metiltiyoadenozin diphosphate (ATP), selektif olmayan P2 antagonist PPADS tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ reseptör antagonistleri (+)-klopidogrel hidroklorid ve PSB-0739'un artan konsantrasyonlarının olası etkisi izole organ banyosu deneyleri ile incelendi. İkinci bölümde ise beta-1 reseptör antagonist metoprolol, beta-2 reseptör antagonist ICI-

118.551, beta-3 reseptör antagonisti SR-59230A, guanilat siklaz inhibitörü ODQ, nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA varlığında myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde ZD-2079 ve ZD-7114'ün artan konsantrasyonlarının oluşturduğu olası etkiye; guanilat siklaz inhibitörü ODQ, nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA varlığında Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid'in artan konsantrasyonlarının oluşturduğu olası etkiye; selektif KB1 antagonisti SR-141716A, selektif KB2 antagonisti SR-144528, guanilat siklaz inhibitörü ODQ, nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA varlığında myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde WIN-55,212-2, ACEA, ACPA, L-759656 ve L-759633'ün artan konsantrasyonlarının oluşturduğu olası etkiye; selektif olmayan P2 antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ antagonisti (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB-0739, guanilat siklaz inhibitörü ODQ, nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA varlığında myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde ATP disodyum tuzu ve 2-metiltiyoADP'nin artan konsantrasyonlarının oluşturduğu olası etkiye; guanilat siklaz inhibitörü ODQ, nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA varlığında PPADs tetrasodyum tuzu, (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB-0739'un artan konsantrasyonlarının oluşturduğu olası etkiye tekrar bakıldı.

3.3. Doku banyosu deneyleri

3.3.1. Myometriyal dokunun hazırlanması ve kontraktil aktivitelerinin mekanik olarak ölçülmesi

Gebe sıçanlar gebeliğin 19. gününde intraperitoneal 200 mg/kg Pentotal Sodyum anestezi altında ötenazi yapıldı. Sıçanlara orta hat boyunca abdominal insizyon yapıldı ve uterusları çıkarılarak gebelik materyali dikkatlice alındı. Myometriyal doku, endometriyum ve çevre dokulardan ayrıştırılarak, mezenterik sınır boyunca uzunlamasına açıldı ve yavrular çıkarıldı. Her bir sıçandan 4 adet 8 x 2 x 2 mm. uzunluğunda elde edilen myometriyal şeritler Krebs-Henseleit solüsyonu (NaCl 125mM, KCl 2.4mM, CaCl₂ 1.8mM, MgCl₂ 0.5mM, NaHCO₃ 23.9mM ve glukoz 11.0mM) içerisine alındı. Myometriyal dokulardan 4 tanesi, içerisinde modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan, % 95 O₂ ve % 5 CO₂ ile gazlandırılan, pH'sı 7.4 değerinde, sıcaklığı 37°C olan, 10 ml'lik izole organ banyolarına bir ucu organ askısına

diğer ucu gerilim algılayıcısına (Grass-FT 03 Force Displacement) gelecek şekilde yerleştirildi. Diğer iki myometriyal şerit düzenli çalışmayan dokuların yerine kullanılmak üzere oksijenlendirilmiş Krebs- Henseleit solüsyonunda bekletildi. Myometriyal şeritlerden 60 dk içerisinde stabil spontan kontraksiyon oluşturmayanları organ banyolarından çıkarıldı ve yerine yeni dokular asıldı. Myometriyal şeritlere 1 g'lık istirahat gerilimi uygulandı ve spontan kontraksiyonlar stabil hale gelene kadar dokular her 15 dk'da yıkanarak 60 dk beklendi. Çalışma yapılacak ilaçlar organ banyolarına artan konsantrasyonlarda eklendi. İzometrik gerilim değişiklikleri Grass 79E Poligraf (Grass, Quincy, MA, USA) aracılığı ile kaydedildi. Kaydedicinin kağıt hızı 2,5 mm/dk'ya ayarlandı. Cihazın kalibrasyonu 1 g'lık gerilim vertikal olarak 0,5 cm'lik yer değişikliğine karşılık gelecek şekilde yapıldı. Spontan myometriyal kontraksiyonları stabil hale gelen şeritlerde düzenli kontraksiyonlar oluşturmak için uterotonik ajan olarak oksitosin (5 IU/ml) ilave edilerek 15 dk beklendi.

Kontraksiyonları düzenli hale gelen myometriyal şeritler üzerine selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 ve ZD-7114, selektif Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid, nonselektif KB reseptör agonisti WIN-55,212-2, selektif KB1 agonistleri ACEA ve ACPA, selektif KB2 agonistleri L-759656 ve L-759633, nonselektif P2Y agonist ATP disodyum tuzu, P2Y₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ agonist 2-metiltiyo-ADP, selektif olmayan P2 antagonist PPADs tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ reseptör antagonistleri (+)-klopidogrel hidrogen sülfat ve PSB-0739 artan konsantrasyonlarda ilave edilerek oluşan cevaplar kaydedildi. Daha sonra doku banyolarına 30dk'lık aralıklarla sırasıyla beta-1, beta-2, beta-3 antagonistler (metoprolol, ICI-118.551, SR-59230A) ve sırasıyla guanilat siklaz, nonspesifik NOS, spesifik eNOS inhibitörleri (ODQ, L-NAME, L-NNA) ilave edilerek selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 ve ZD-7114'ün artan konsantrasyonlarda oluşturdukları cevapları kaydedildi. Guanilat siklaz, nonspesifik NOS, spesifik eNOS inhibitörleri (ODQ, L-NAME, L-NNA) ilave edilerek Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid'in artan konsantrasyonlarda oluşturdukları cevapları kaydedildi. Selektif KB1 antagonisti SR-141716A, selektif KB2 antagonisti SR-144528 ve sırasıyla guanilat siklaz, nonspesifik NOS, spesifik eNOS inhibitörleri (ODQ, L-NAME, L-NNA) ilave edilerek nonselektif KB reseptör agonisti WIN-55,212-2'nin, selektif KB1 agonistleri ACEA ve ACPA'nın, selektif KB2 agonistleri L-759656 ve L-759633'ün artan konsantrasyonlarda oluşturdukları cevapları kaydedildi. Son olarak da sırasıyla selektif olmayan P2

antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ antagonistleri (+)-klopidogrel hidrojen sülfat, PSB-0739 ve sırasıyla guanilat siklaz, nonspesifik NOS, spesifik eNOS inhibitörleri (ODQ, L-NAME, L-NNA) ilave edilerek nonselektif P2Y agonisti ATP disodyum tuzu, selektif P2Y₁, P2Y₁₂ ve P2Y₁₃ agonisti 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu'nun, sırasıyla guanilat siklaz, nonspesifik NOS, spesifik eNOS inhibitörleri (ODQ, L-NAME, L-NNA) ilave edilerek selektif olmayan P2 antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu, selektif P2Y₁₂ antagonistleri (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB-0739'un artan konsantrasyonlarda oluşturdukları cevapları tekrar kaydedildi.

3.3.2. Deney Prosedürü

Set 1: Oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin (n=6) amplitüd ve frekansı üzerinde selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve ZD-7114 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'ün artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı. 30 dk'lık aralıklarla sırasıyla beta-1, beta-2, beta-3 antagonistler (metoprolol, ICI-118.551, SR-59230A) (10^{-6} M), guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik endotelyal nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) uygulandıktan 15 dk sonra ZD-2079 ve ZD-7114 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'ün artan konsantrasyonlarının etkisi tekrar araştırıldı.

Set 2: Oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin (n=6) amplitüd ve frekansı üzerinde selektif Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve fasudil hidroklorid (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'in artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı. 30 dk'lık aralıklarla guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik endotelyal nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) uygulandıktan 15 dk sonra AS-1892802 ve fasudil hidroklorid (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'in artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı.

Set 3: Oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin (n=6) amplitüd ve frekansı üzerinde nonselektif KB reseptör agonisti WIN-55,212-2 (10^{-8} - 3.10^{-4} M), selektif KB1 agonistleri ACEA (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve ACPA (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'nın, selektif KB2 agonistleri L-759656 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve L-759633 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'ün artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı. 30 dk'lık aralıklarla sırasıyla selektif KB1 antagonisti SR-141716A (10^{-6} M), selektif KB2 antagonisti SR-144528 (10^{-6} M), guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik endotelyal nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NNA (10^{-5} M)

uygulandıktan 15 dk sonra WIN-55,212-2 (10^{-8} - 3.10^{-4} M), ACEA (10^{-8} - 3.10^{-4} M), ACPA (10^{-8} - 3.10^{-4} M), L-759656 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve L-759633 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'ün artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı.

Set 4: Oksitosin ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin (n=6) amplitüd ve frekansı üzerinde sırasıyla nonselektif P2Y agonisti ATP disodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), selektif olmayan P2 antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), selektif P2Y₁, P2Y₁₂ ve P2Y₁₃ agonisti 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), selektif P2Y₁₂ reseptör antagonistleri (+)-klopidogrel hidrojen sülfat (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve PSB-0739 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'un artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı. 30 dk'lık aralıklarla selektif P2Y₁₂ reseptör antagonistleri (+)-klopidogrel hidrojen sülfat (10^{-6} M), PSB-0739 (10^{-6} M), guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik endotelial nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) uygulandıktan 15 dk sonra ATP disodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'nun artan konsantrasyonlarının etkisi ve guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik endotelial nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) uygulandıktan 15 dk sonra PPADs tetrasodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), (+)-klopidogrel hidrojen sülfat (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve PSB-0739 (10^{-8} - 3.10^{-4} M)'un artan konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı.

Tüm deneyler Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.4. Kullanılan İlaçlar ve Solüsyonlar:

Deneylerde kullanılan ZD-2079, ZD-7114, ICI-118.551, SR-59230A, (+)-klopidogrel hidrojen sülfat, PSB-0739, ATP disodyum tuzu, PPADs tetrasodyum tuzu, 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu, ACEA, ACPA, L-759656, L-759633, SR-141716A, SR-144528, WIN-55,212-2, AS-1892802, fasudil hidroklorid, ODQ, L-NAME ve L-NNA ilaçları Tocris Cookson Ltd. firmasından (Bristol, UK) elde edildi. Oksitosin (Synpitan forte ampul) Deva ilaç firmasının, metoprolol (Beloc 5 mg ampul) Astra Zeneca ilaç firmasının ürettiği ampullerden elde edildi. İlaç içeren solüsyonlar deneylerden hemen önce hazırlandı.

İlaçları solüsyon haline getirmek için çözücü olarak distile su kullanıldı. Ancak suyun yeterli çözünürlük sağlamadığı durumlarda ihmal edilebilir hacimde dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı.

Deneyleerde kullanılan Krebs-Henseleit solüsyonu mM/L olarak şu şekilde hazırlandı: NaCl 125 mM, KCl 2,4 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgCl₂ 0,5 mM, NaHCO₃ 23,9 mM ve glukoz 11,0 mM.

3.5. Deneyle Sonuçlarının İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi:

Kontraksiyon (kasılma) karakteristikleri, ilaçların artan konsantrasyonlarının ilavesinden hemen sonra 600 saniyelik intervallerle analiz edildi. Kontraksiyonların 600 sn süresince ortalama amplitüdüleri (gram) ve frekansları (600 sn'deki kontraksiyon sayısı) hesaplanarak kontrol değerlerle (ilaç verilmeden hemen önceki kontraksiyonlar) karşılaştırıldı.

Kontraksiyon verileri hesaplanırken, oksitosin ile elde edilen kasılma cevabı % 100 (kontrol) olarak kabul edildi. Antagonistlerin varlığında ve yokluğunda, deneyleerde kullanılan ilaçların kümülatif konsantrasyonları uygulandıktan sonra elde edilen cevap bu kasılmanın % değişimi olarak hesaplandı.

Her set için grup içi tekrarlayıcı ölçüm (repeated measures) varyans analizi (ANOVA) yapıldı. Her testten önce grup içi tekrarlayıcı ölçüm ANOVA testinin parametrik veya nonparametrik tiplerinin doğru seçilmesine yardım eden normalite testi verilere uygulandı. Verilerin normalite testini geçtiği durumlarda tekrarlayıcı ölçüm ANOVA testi kullanılarak kontrol ve ilaç konsantrasyonlarının eklenmesinden sonra oluşan kasılmaların amplitüd ve frekansları arasında fark olup olmadığı incelendi. Fark bulunduğunda post hoc test olarak Bonferroni variance t testi ile ilaç konsantrasyonlarının etkilerinin kontrolden farklı olup olmadığı incelendi. Veriler normalite testini geçemediğinde Friedman tekrarlayıcı ölçüm ANOVA testi uygulandı. Kontrol ve ilaç konsantrasyonları arasında fark bulunduğunda durumlarda ilaç konsantrasyonlarının etkisinin kontrole göre farklı olup olmadığı post hoc test olarak Dunnett testi ile incelendi. Ayrıca hangi ilacın diğerlerinden daha fazla inhibitör etki sağladığını araştırmak amacıyla ilaçların amplitüd ve frekans üzerine olan etkileri gruplar arası tekrarlayıcı ölçüm ANOVA testi ile analiz edildi. Veriler aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu. İstatistiksel analizlerin sonucunda p değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlarda fark anlamlı kabul edildi. Agonist ilaçların

oluşturduğu maksimum yanıtın % 50'sini oluşturmak için gereken konsantrasyon (EC50) her bir deneyin log-konsantrasyon yanıt eğrilerinden elde edildi. Bulgular aritmetik ortalama \pm standart hata olarak sunuldu.

pD_2 değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$pD_2 = \log A - \log (E_{max}/E_A - 1)$$

A = Agonist ilacın molar konsantrasyonu

E_{max} = Agonist ilacın oluşturduğu maksimum etki

E_A = Agonist ilacın belirli bir konsantrasyonda oluşturduğu etki

Ayrıca ilaçların oluşturduğu maksimum etkileri her bir deneyden elde edilen verilerin Scatchard denklemine uygulanması ile çizilen grafiklerden saptandı.

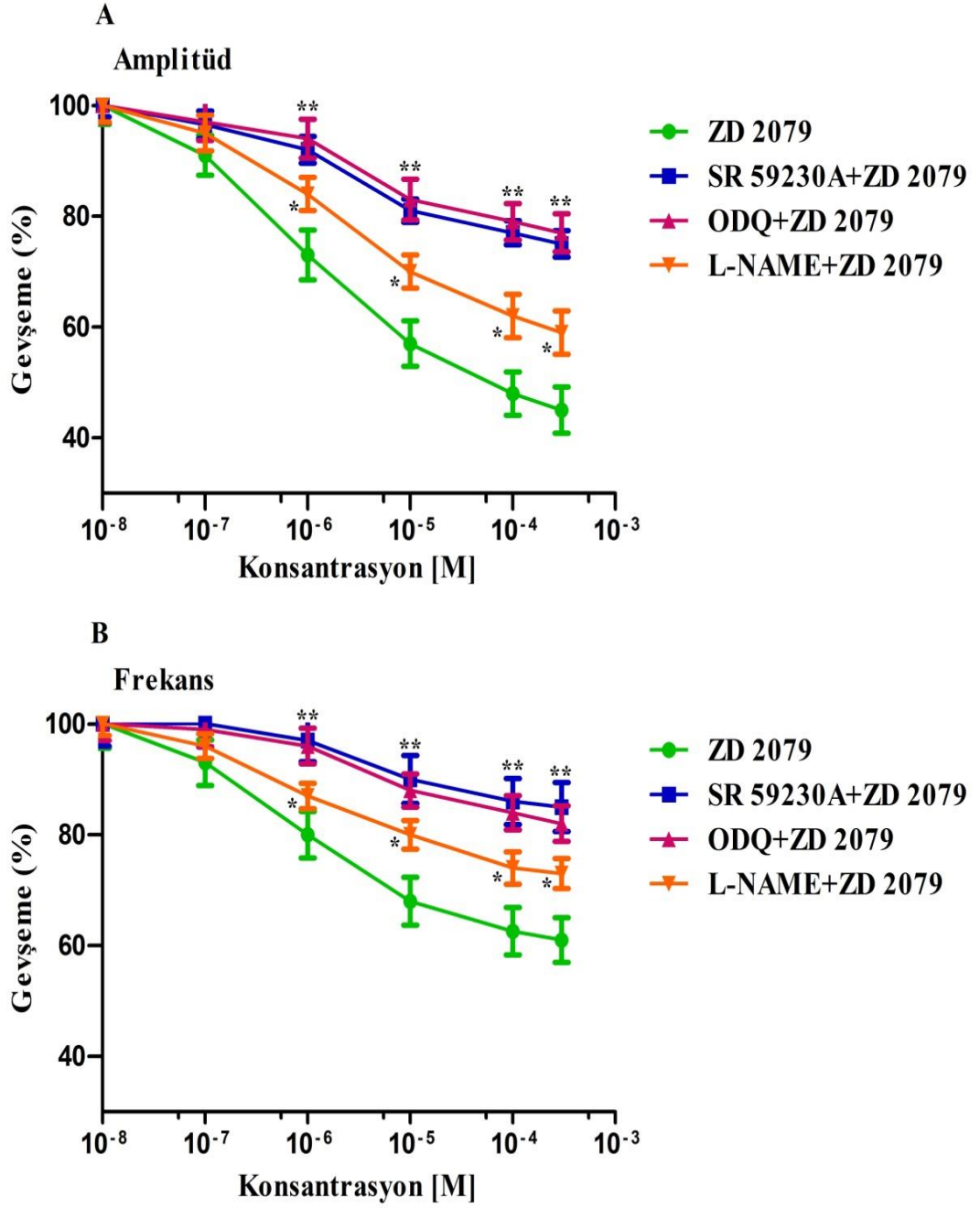
4. BULGULAR

4.1. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Beta-3 Adrenerjik Reseptör Agonistleri ZD 2079 ve ZD 7114'ün Etkisi

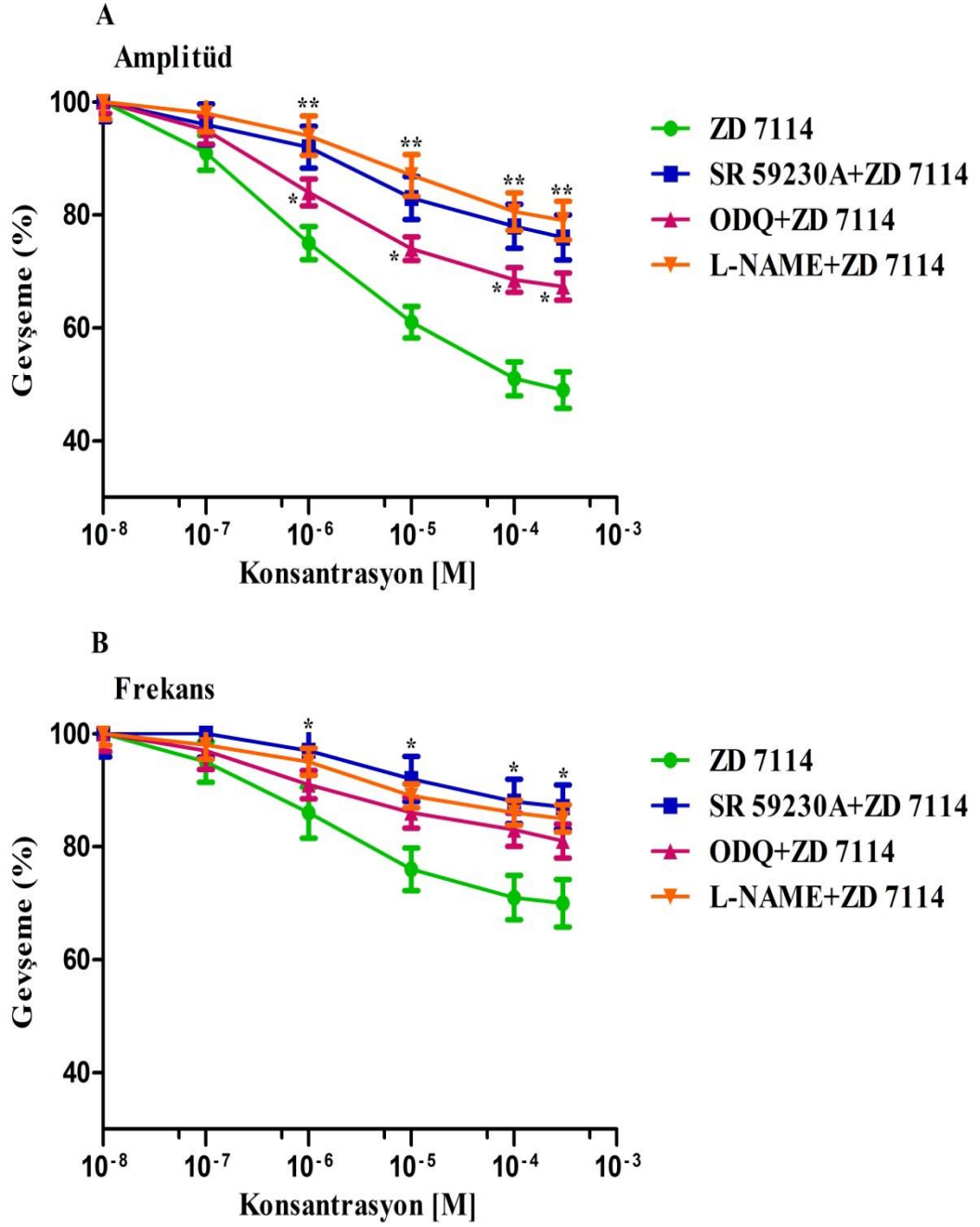
Gebelik süresinin 19-21. günlerindeki (miyad doğum) sıçanlardan (n=6) izole edilen myometriyum şeritleri 5 IU/ml oksitosin ile stimüle edildikten ve bu stimülasyon dengeye ulaştıktan sonra (kontrol kasılmalar), ZD 2079 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve ZD 7114 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ile konsantrasyona bağımlı yanıtlar alındı. ZD 2079 ve ZD 7114'ün myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerine etkinliği 10^{-6} M konsantrasyondan başlayarak istatistiksel anlamlılığa ulaştı ($p<0.05$).

4.2. ZD 2079 ve ZD 7114 Yanıtlarına Metoprolol, ICI-118,551, SR-59230A, ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansında ZD 2079 ve ZD 7114'ün yaptığı azalmaya beta-1 reseptör antagonisti metoprolol (10^{-5} M), beta-2 reseptör antagonisti ICI-118,551 (10^{-5} M), beta-3 reseptör antagonisti SR-59230A (10^{-5} M), guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) varlığında tekrar bakıldı. Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde ZD 2079 ve ZD 7114'ün etkisi SR-59230A, ODQ, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), metoprolol ve ICI-118,551 varlığında değişmedi ($p>0.05$). Metoprolol, ICI-118,551'in myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları yanıtlar ZD 2079 ile L-NNA'nın oluşturduğu yanıtlar ise L-NAME ile benzerlik gösterdiği için metoprolol, ICI-118,551 ve L-NNA'dan elde edilen sonuçlar grafiğe eklenmemiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde ZD 2079'un tek başına ve metoprolol (10^{-6} M), ICI-118.551 (10^{-6} M), SR-59230A (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturduğu yanıtlar (n=6). *: ZD 2079'dan istatistiksel olarak fark olanlar. **: ZD 2079 ve L-NAME'den istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).



Şekil 4.2. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdünü (A) ve frekansı (B) üzerinde ZD 7114'ün tek başına ve metoprolol (10^{-6} M), ICI-118.551 (10^{-6} M), SR-59230A (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturduğu yanıtlar (n=6). *: ZD 7114'ten istatistiksel olarak fark olanlar. **: ZD 7114 ve ODQ'dan istatistiksel olarak fark olanlar (p<0,05).

4.3. ZD 2079 ve ZD 7114'ün Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde Metoprolol, ICI-118,551 ve SR-59230A, ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi

Myometriyal kasılmaların amplitüdü ve frekansı üzerinde, SR 59230A (10^{-5} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında ZD 2079 ve ZD 7114'ün Emaks değeri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalırken ($p < 0.05$) metoprolol (10^{-5} M) ve ICI-118,551 (10^{-5} M) varlığında ZD 2079 ve ZD 7114'ün Emaks değeri değişmedi ($p > 0.05$). Her üç antagonist, guanilat siklaz ve nitrik oksit sentaz inhibitörleri varlığında da myometriyal kasılmaların amplitüdü ve frekansı üzerinde ZD 2079 ve ZD 7114'ün pD2 değerleri değişmedi ($p > 0.05$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde ZD 2079 ve ZD 7114'ün tek başlarına ve metoprolol (10^{-6} M), ICI-118.551 (10^{-6} M), SR-59230A (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında Emaks ve pD2 değerleri. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur (n=6). *: ZD 2079 ve ZD 7114'ten istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).

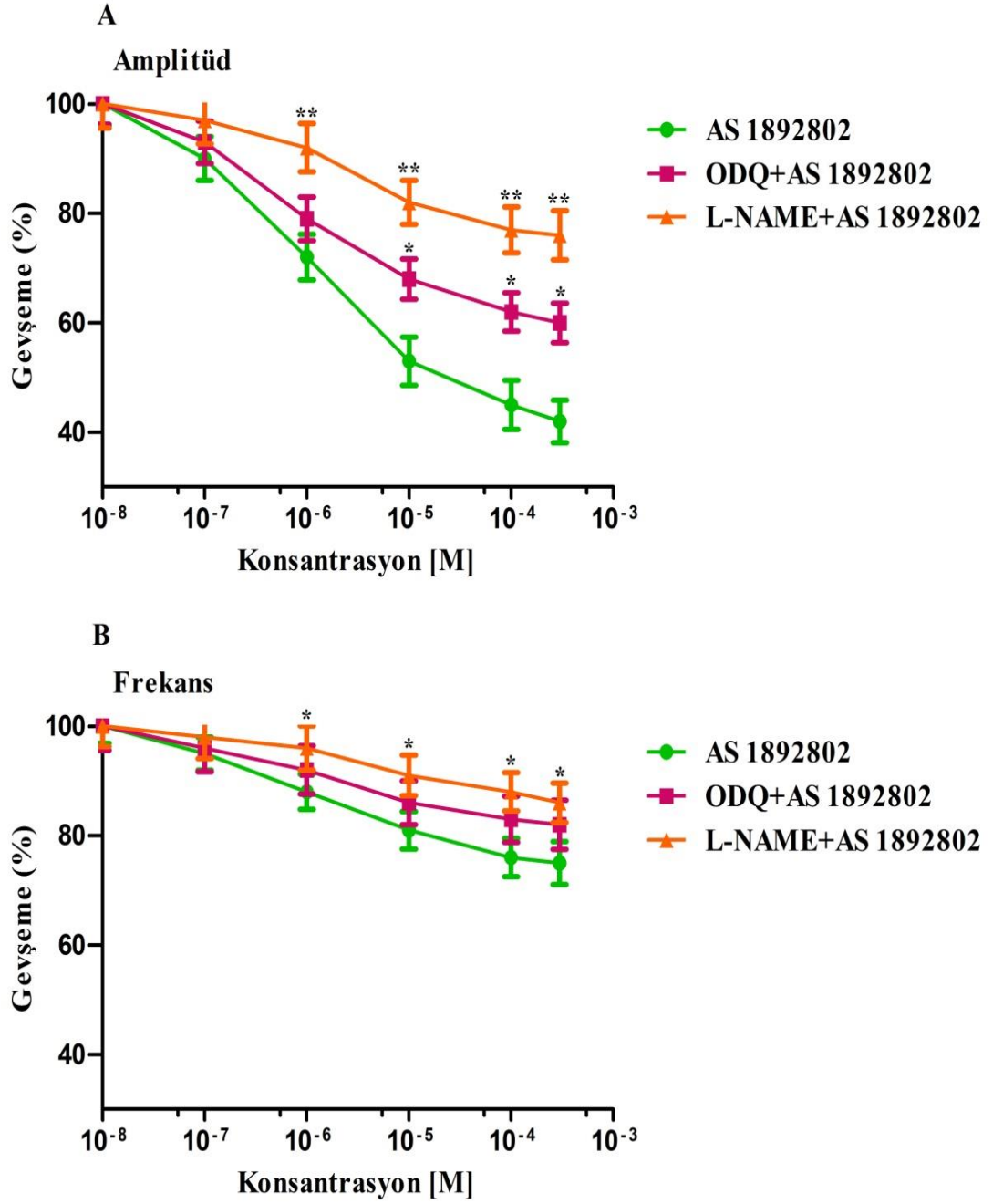
İlaç	Amplitüd		Frekans	
	pD2	Emaks (%)	pD2	Emaks (%)
ZD 2079	5,84 \pm 0,10	55,8 \pm 4,2	5,61 \pm 0,09	39,2 \pm 4,0
Metoprolol + ZD 2079	5,87 \pm 0,08	54,6 \pm 3,2	5,63 \pm 0,07	38,3 \pm 3,8
ICI-118,551 + ZD 2079	5,86 \pm 0,07	53,3 \pm 4,0	5,65 \pm 0,08	37,4 \pm 4,5
SR-59230A + ZD 2079	5,64 \pm 0,10	25,5 \pm 2,4*	5,46 \pm 0,10	15,7 \pm 4,4*
ODQ + ZD 2079	5,60 \pm 0,08	23,6 \pm 3,4*	5,50 \pm 0,08	18,3 \pm 3,2*
L-NAME + ZD 2079	5,72 \pm 0,09	41,7 \pm 3,9*	5,88 \pm 0,08	27,1 \pm 2,7*
L-NNA + ZD 2079	5,74 \pm 0,09	40,8 \pm 3,9*	5,89 \pm 0,09	26,8 \pm 3,8*
ZD 7114	5,80 \pm 0,10	51,9 \pm 3,2	5,92 \pm 0,11	30,7 \pm 4,2
Metoprolol + ZD 7114	5,82 \pm 0,11	50,7 \pm 4,0	5,93 \pm 0,10	29,4 \pm 3,2
ICI-118,551 + ZD 7114	5,84 \pm 0,08	49,7 \pm 4,2	5,95 \pm 0,09	28,5 \pm 4,0
SR-59230A + ZD 7114	5,56 \pm 0,07	24,5 \pm 4,0*	5,64 \pm 0,07	13,6 \pm 3,9*
ODQ + ZD 7114	6,07 \pm 0,08	32,4 \pm 2,4*	6,00 \pm 0,07	19,6 \pm 3,0*
L-NAME + ZD 7114	5,40 \pm 0,09	21,3 \pm 3,4*	5,80 \pm 0,09	15,3 \pm 2,4*
L-NNA + ZD 7114	5,42 \pm 0,10	20,1 \pm 3,9*	5,81 \pm 0,08	14,2 \pm 4,0*

4.4. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Rho-kinaz Enzim İnhibitörleri AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid'in Etkisi

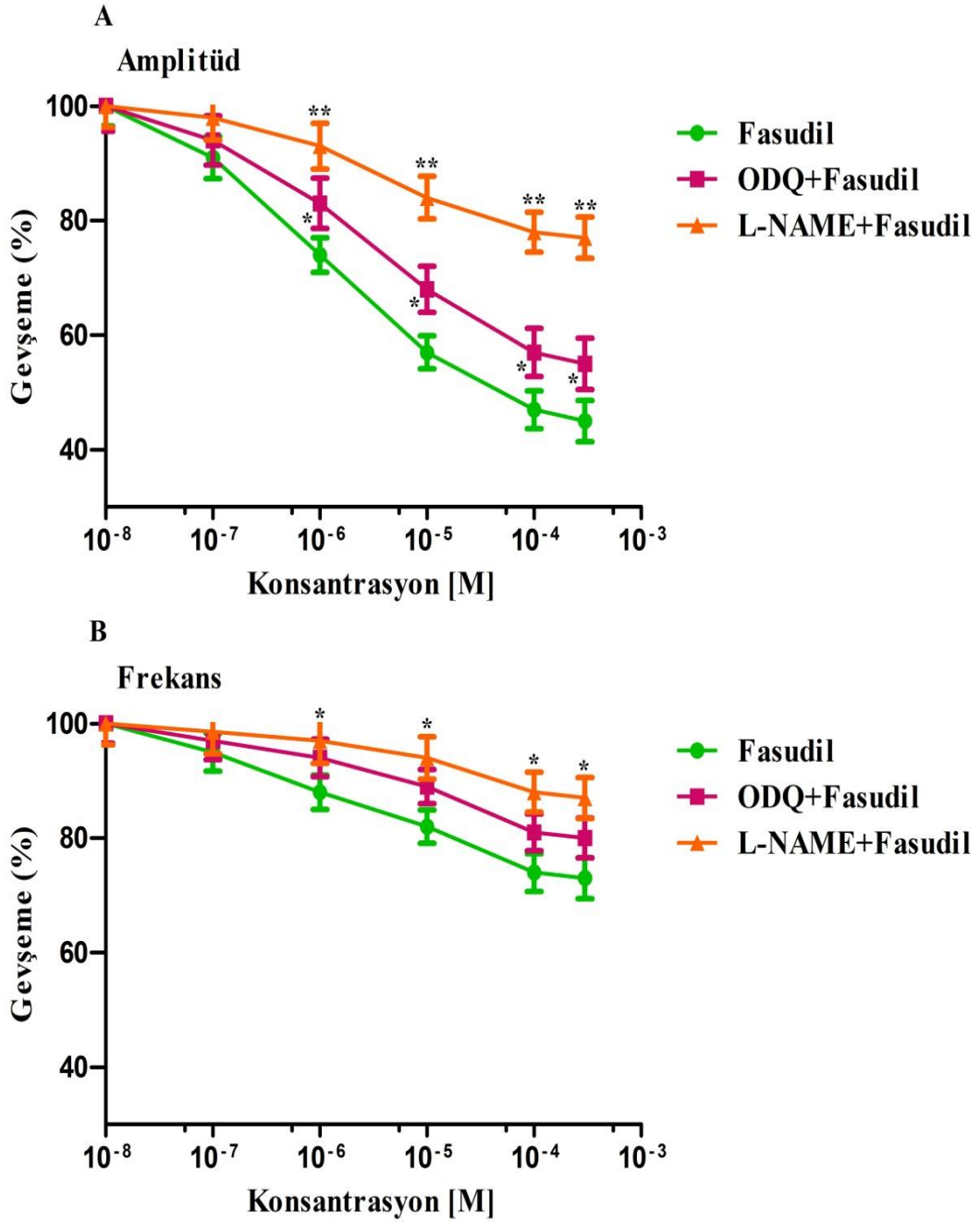
Gebelik süresinin 19-21. günlerindeki (miyad doğum) sıçanlardan (n=6) izole edilen myometriyum şeritleri 5 IU/ml oksitosin ile stimüle edildikten ve bu stimülasyon dengeye ulaştıktan sonra (kontrol kasılmalar), AS 1892802 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve fasudil hidroklorid (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ile konsantrasyona bağımlı yanıtlar alındı. AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerine etkinliği 10^{-6} M konsantrasyondan başlayarak istatistiksel anlamlılığa ulaştı ($p<0.05$).

4.5. AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid Yanıtlarına ODQ, L-NAME ve L-NNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in yaptığı azalmaya guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) varlığında tekrar bakıldı. Myometriyum düz kası amplitüdü üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in etkisi ODQ, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azaldı ($p<0.05$). Myometriyum düz kası frekansı üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in etkisi L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$) ODQ varlığında değişmedi ($p>0.05$). L-NAME ve L-NNA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları yanıtlar benzerlik gösterdiği için L-NNA'dan elde edilen sonuçlar grafiğe eklenmemiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.3. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde AS 1892802'nin tek başına ve ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturdukları yanıtlar (n=6). *: AS 1892802'den istatistiksel olarak fark olanlar. **: AS 1892802 ve ODQ'dan istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).



Şekil 4.4. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde fasudil hidroklorid'in tek başına ve ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturdukları yanıtlar (n=6). *: Fasudil hidroklorid'den istatistiksel olarak fark olanlar. **: Fasudil hidroklorid ve ODQ'dan istatistiksel olarak fark olanlar (p<0,05).

4.6. AS 1892802 ve Fasudil Hidroklorid'in Emaks ve pD2 değerleri üzerinde ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüdü üzerinde, ODQ (10^{-5} M), L-NAME (3.10^{-5} M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in Emaks değeri istatistiksel olarak azaldı ($p < 0.05$). Myometriyum düz kası frekansı üzerinde, L-NAME (3.10^{-5} M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in Emaks değeri istatistiksel olarak azalırken ($p < 0.05$), ODQ (10^{-5} M) varlığında değişmedi ($p > 0.05$). Her üç inhibitör varlığında da myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in pD2 değerleri değişmedi ($p > 0.05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2 Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in tek başlarına ve ODQ (10^{-5} M), L-NAME (3.10^{-5} M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında Emaks ve pD2 değerleri. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur (n=6). *: AS 1892802 ve Fasudil hidroklorid'den istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).

İlaç	Amplitüd		Frekans	
	pD2	Emaks (%)	pD2	Emaks (%)
AS 1892802	6,00 \pm 0,11	58,6 \pm 3,9	6,00 \pm 0,07	25,6 \pm 3,9
ODQ + AS 1892802	6,08 \pm 0,09	40,5 \pm 3,6*	6,07 \pm 0,09	18,3 \pm 4,5
L-NAME + AS 1892802	5,60 \pm 0,08	24,3 \pm 4,5*	5,57 \pm 0,10	14,2 \pm 3,6*
L-NNA + AS 1892802	5,62 \pm 0,10	23,8 \pm 3,6*	5,59 \pm 0,08	13,7 \pm 3,6*
Fasudil	5,96 \pm 0,07	55,6 \pm 3,6	5,80 \pm 0,08	27,7 \pm 3,6
ODQ + Fasudil	5,69 \pm 0,07	45,3 \pm 4,5*	5,30 \pm 0,11	20,5 \pm 3,5
L-NAME + Fasudil	5,65 \pm 0,10	23,4 \pm 3,6*	4,88 \pm 0,10	13,2 \pm 3,6*
L-NNA + Fasudil	5,67 \pm 0,11	22,3 \pm 3,9*	4,90 \pm 0,11	12,3 \pm 2,8*

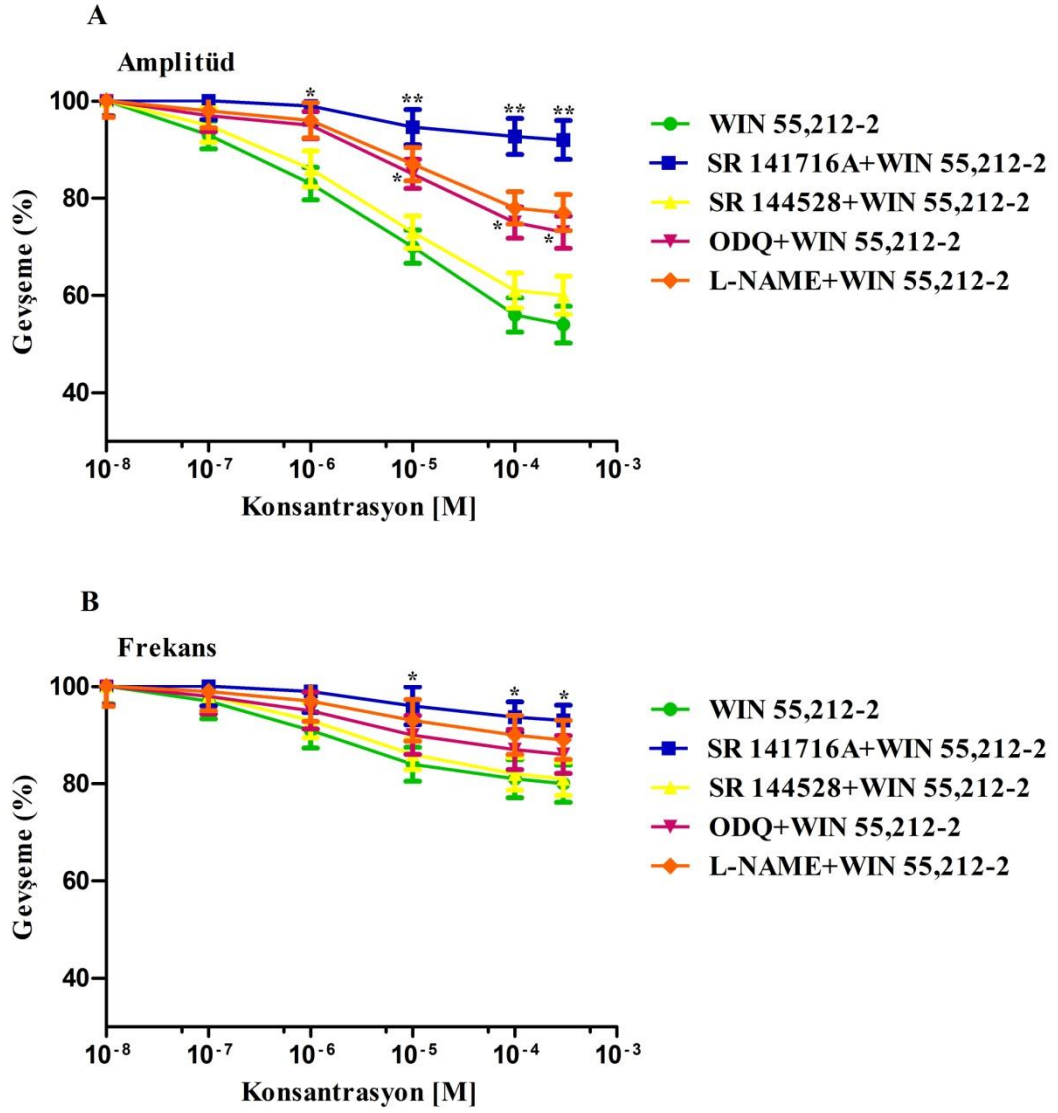
4.7. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Nonspesifik Kannabinoid Reseptör Agonisti WIN 55,212-2, Kannabinoid-1 Reseptör Agonistleri ACEA, ACPA, Kannabinoid-2 Reseptör Agonistleri L-759656 ve L-759633'ün Etkisi

Gebelik süresinin 19-21. Günlerindeki (miyad doğum) sıçanlardan (n=6) izole edilen myometriyum şeritleri 5 IU/ml oksitosin ile stimüle edildikten ve bu stimülasyon

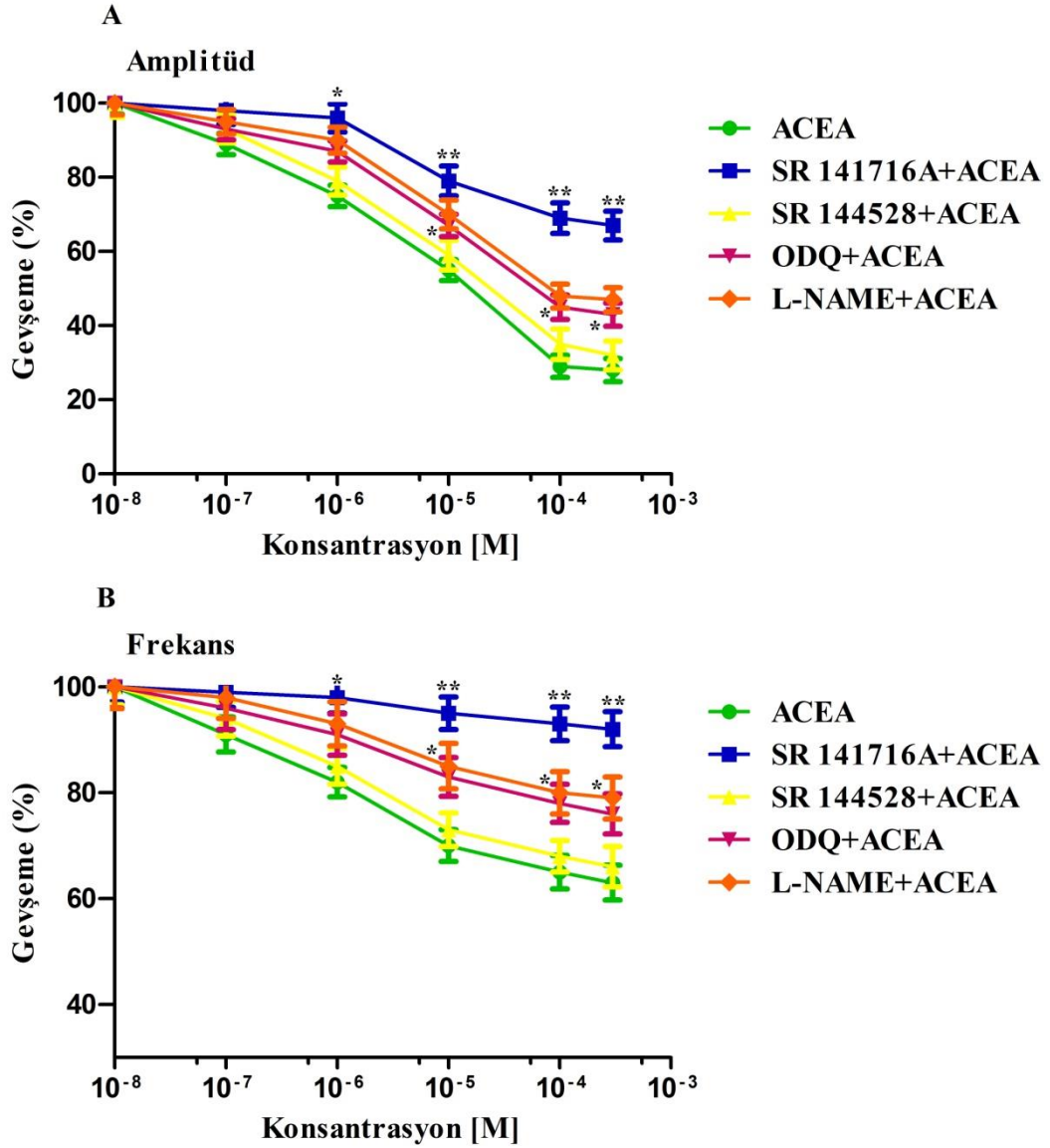
dengeye ulaştıktan sonra (kontrol kasılmalar), WIN 55,212-2 (10^{-8} - 3.10^{-4} M), ACEA (10^{-8} - 3.10^{-4} M), ACPA (10^{-8} - 3.10^{-4} M), L-759656 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve L-759633 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ile konsantrasyona bağımlı yanıtlar alındı. WIN 55,212-2 ve ACEA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları etkiler 10^{-6} M konsantrasyondan başlayarak istatistiksel anlamlılığa ulaştı ($p<0.05$). ACPA, L-759656 ve L-759633'ün myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde herhangi bir etkisi gözlenmedi.

4.8. WIN 55,212-2 ve ACEA Yanıtlarına SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde WIN 55,212-2 ve ACEA'nın oluşturduğu etkiye selektif KB1 reseptör antagonisti SR 141716A (10^{-6} M), selektif KB2 reseptör antagonisti SR 144528 (10^{-6} M), guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) varlığında tekrar bakıldı. Myometriyum düz kası amplitüdü üzerinde WIN 55,212-2'nin etkisi SR 141716A, ODQ, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), SR 144528 varlığında değişmedi ($p>0.05$). Myometriyum düz kası frekansı üzerinde WIN 55,212-2'nin etkisi SR 141716A, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), SR 144528 ve ODQ varlığında değişmedi ($p>0.05$). Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde ACEA'nın etkisi SR 141716A, ODQ, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), SR 144528 varlığında değişmedi ($p>0.05$). L-NAME ve L-NNA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları yanıtlar benzerlik gösterdiği için L-NNA'dan elde edilen sonuçlar grafiğe eklenmemiştir (Şekil 4.5, Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde WIN 55,212-2'nin tek başına ve SR 141716A (10^{-6} M), SR 144528 (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturduğu yanıtlar (n=6). *: WIN 55,212-2'den istatistiksel olarak fark olanlar. **: WIN 55,212-2, ODQ ve L-NAME'den istatistiksel olarak fark olanlar



Şekil 4.6. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde ACEA'nın tek başına ve SR 141716A (10⁻⁶ M), SR 144528 (10⁻⁶ M), ODQ (10⁻⁵ M), L-NAME (3.10⁻⁵ M), L-NNA (10⁻⁵ M) varlığında oluşturduğu yanıtlar (n=6). *: ACEA'dan istatistiksel olarak fark olanlar. **: ACEA, SR 141716A ve SR 144528'den istatistiksel olarak fark olanlar (p<0,05).

4.9. WIN 55,212-2 ve ACEA'nın Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde SR 141716A, SR 144528, ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüdü üzerinde, SR 141716A (10⁻⁶ M), ODQ (10⁻⁶ M), L-NAME (3.10⁻⁵ M), L-NNA (10⁻⁵ M) varlığında WIN 55,212-2'nin Emaks değeri istatistiksel olarak azalırken (p<0.05), SR 144528 varlığında WIN 55,212-2'nin Emaks değeri değişmedi (p>0.05). Myometriyum düz kası frekansı üzerinde, SR 141716A (10⁻⁵

M), L-NAME (3.10^{-5} M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında WIN 55,212-2'nin Emaks değeri istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), SR 144528 (10^{-5} M) ve ODQ (10^{-5} M) varlığında değişmedi ($p>0.05$). Myometriyum düz kası amplitüdü ve frekansı üzerinde, SR 141716A (10^{-6} M), SR 144528 (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME (3.10^{-5} M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında ACEA'nın Emaks değeri istatistiksel olarak azalırken ($p<0.05$), SR 144528 (10^{-5} M) varlığında değişmedi ($p>0.05$). Her iki antagonist, guanilat siklaz ve nitrik oksit sentaz inhibitörleri varlığında da myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde WIN 55,212-2 ve ACEA'nın pD2 değerleri değişmedi ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde WIN 55,212-2 ve ACEA'nın tek başlarına ve SR 141716A (10^{-6} M), SR 144528 (10^{-6} M), ODQ (10^{-5} M), L-NAME (3.10^{-5} M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında Emaks ve pD2 değerleri. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur (n=6). *: WIN 55,212-2 ve ACEA'dan istatistiksel olarak fark olanlar ($p<0,05$).

İlaç	Amplitüd		Frekans	
	pD2	Emaks (%)	pD2	Emaks (%)
WIN 55,212-2	5,76 \pm 0,11	46,4 \pm 3,8	6,08 \pm 0,10	20,3 \pm 3,8
SR 141716A + WIN 55,212-2	5,60 \pm 0,09	8,5 \pm 4,0*	5,68 \pm 0,11	7,5 \pm 3,1*
SR 144528 + WIN 55,212-2	5,68 \pm 0,10	40,3 \pm 3,9	5,80 \pm 0,10	19,6 \pm 3,4
ODQ + WIN 55,212-2	5,40 \pm 0,09	27,2 \pm 3,3*	5,72 \pm 0,07	14,3 \pm 3,9
L-NAME + WIN 55,212-2	5,28 \pm 0,08	23,4 \pm 3,7*	5,60 \pm 0,08	11,6 \pm 4,0*
L-NNA + WIN 55,212-2	5,29 \pm 0,08	22,9 \pm 3,8*	5,61 \pm 0,08	10,9 \pm 3,8*
ACEA	5,50 \pm 0,11	72,6 \pm 3,1	6,07 \pm 0,11	37,4 \pm 3,3
SR 141716A + ACEA	5,34 \pm 0,09	33,3 \pm 3,3*	6,03 \pm 0,10	8,3 \pm 4,0*
SR 144528 + ACEA	5,42 \pm 0,10	68,4 \pm 3,9	5,92 \pm 0,08	34,2 \pm 3,8
ODQ + ACEA	5,26 \pm 0,08	57,3 \pm 3,1*	5,84 \pm 0,07	24,7 \pm 3,8*
L-NAME + ACEA	5,15 \pm 0,08	53,7 \pm 3,9*	5,76 \pm 0,07	21,3 \pm 3,3*

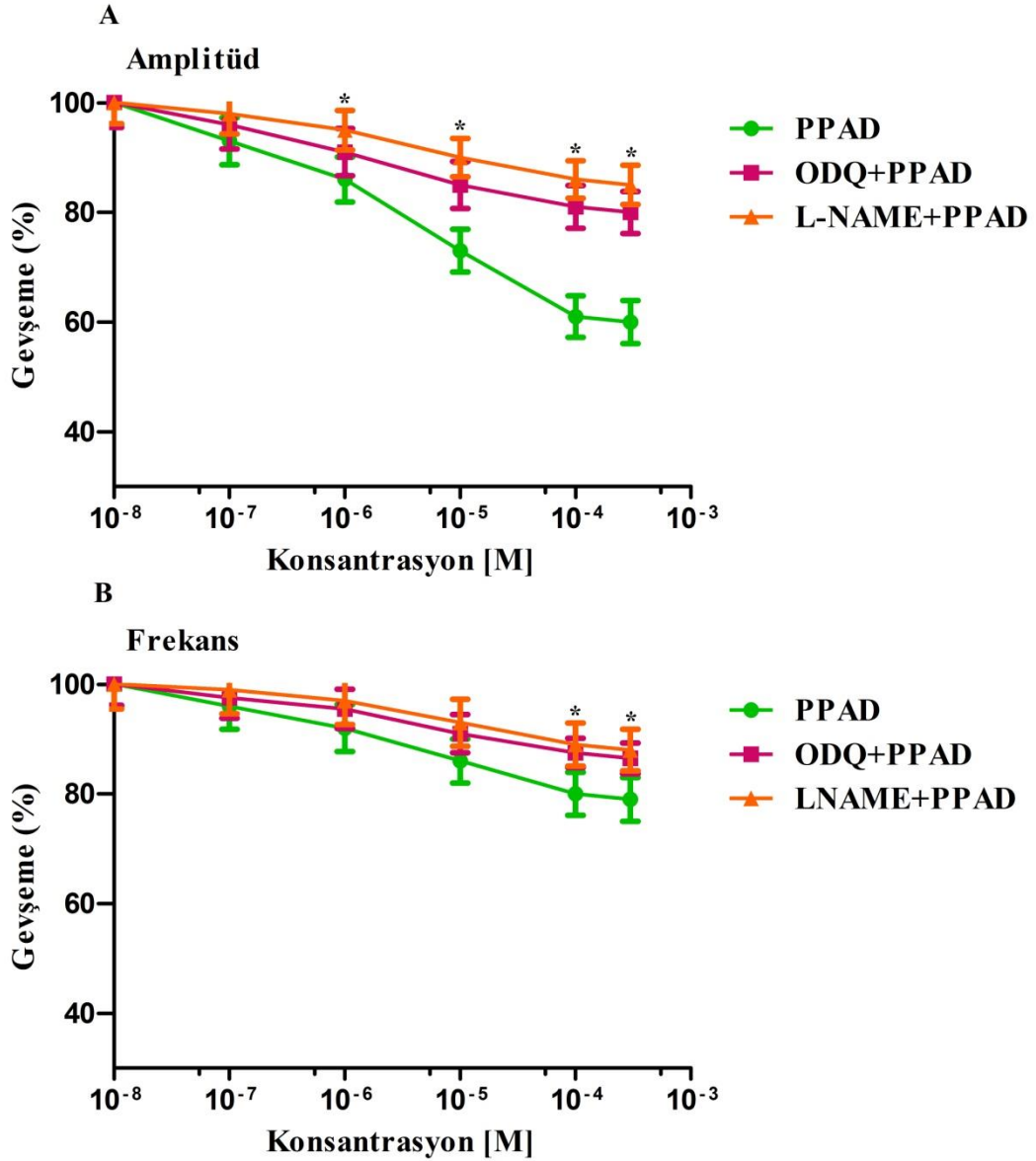
L-NNA + ACEA	5,17 ± 0,07	54,5 ± 3,1*	5,78 ± 0,09	20,7 ± 3,7*
---------------------	-------------	-------------	-------------	-------------

4.10. Oksitosin ile Stimüle Edilen Myometriyal Şeritlerin Amplitüd ve Frekansı Üzerinde Nonselektif Purinerjik Reseptör P2Y Agonisti ATP disodyum tuzu, Selektif Purinerjik Reseptör P2Y₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃ Reseptör Agonisti 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu, Selektif Olmayan Purinerjik Reseptör P2Y Antagonisti PPADs tetrasodyum tuzu, Selektif P2Y₁₂ Antagonistler (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB 0739'un Etkisi

Gebelik süresinin 19-21. günlerindeki (miyad doğum) sıçanlardan (n=6) izole edilen myometriyum şeritleri 5 IU/ml oksitosin ile stimüle edildikten ve bu stimülasyon dengeye ulaştıktan sonra (kontrol kasılmalar), ATP disodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), PPADs tetrasodyum tuzu (10^{-8} - 3.10^{-4} M), (+)-klopidogrel hidrojen sülfat (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ve PSB-0739 (10^{-8} - 3.10^{-4} M) ile konsantrasyona bağımlı yanıtlar alındı. PPADs tetrasodyum tuzu'nun myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerindeki etkileri 10^{-6} M konsantrasyondan başlayarak istatistiksel anlamlılığa ulaştı ($p<0.05$). ATP disodyum tuzu, 2-metiltiyoadenozin difosfat trisodyum tuzu, (+)-klopidogrel hidrojen sülfat ve PSB 0739'un myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde herhangi bir etkisi gözlenmedi.

4.11. PPADs tetrasodyum tuzu Yanıtlarına ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzu'nun oluşturduğu etkiye guanilat siklaz inhibitörü ODQ (10^{-5} M), nonspesifik NOS inhibitörü L-NAME (3.10^{-5} M) ve spesifik eNOS inhibitörü L-NNA (10^{-5} M) varlığında tekrar bakıldı. Myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzu'nun etkisi ODQ, L-NAME ve L-NNA varlığında istatistiksel olarak azaldı ($p<0.05$). L-NAME ve L-NNA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları yanıtlar benzerlik gösterdiği için L-NNA'dan elde edilen sonuçlar grafiğe eklenmemiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü (A) ve frekansı (B) üzerinde PPADs tetrasodyum tuzunun tek başına ve ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında oluşturduğu yanıtlar (n=6). *: PPAD'dan istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).

4.12. PPADs tetrasodyum tuzu'nun Emaks ve pD2 Değerleri Üzerinde ODQ, L-NAME ve LNNA'nın Etkisi

Myometriyum düz kası amplitüdü üzerinde, ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında PPADs tetrasodyum tuzu'nun Emaks değeri istatistiksel olarak azaldı ($p < 0,05$). Myometriyum düz kası frekansı üzerinde, L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M) ve L-NNA (10^{-5} M) varlığında PPADs tetrasodyum tuzu'nun Emaks değeri istatistiksel

olarak azalırken ($p < 0.05$), ODQ (10^{-5} M) varlığında değişmedi ($p > 0.05$). Her üç inhibitör varlığında da myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzu'nun pD2 değerleri değişmedi ($p > 0.05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Miyad doğum dönemlerinde bulunan sıçanlardan izole edilen ve oksitosin (5 IU/ml) ile stimüle edilen myometriyal şeritlerin amplitüdü ve frekansı üzerinde PPADs tetrasodyum tuzu'nun tek başına ve ODQ (10^{-5} M), L-NAME ($3 \cdot 10^{-5}$ M), L-NNA (10^{-5} M) varlığında Emaks ve pD2 değerleri. Değerler ortalama \pm standart hata olarak sunulmuştur (n=6). *: PPAD'dan istatistiksel olarak fark olanlar ($p < 0,05$).

İlaç	Amplitüd		Frekans	
	pD2	Emaks	pD2	Emaks
PPADs	5,61 \pm 0,10	40,6 \pm 3,9	5,65 \pm 0,08	21,6 \pm 4,0
ODQ + PPADs	6,03 \pm 0,11	20,4 \pm 3,8*	5,61 \pm 0,07	14,4 \pm 3,6
L-NAME + PPADs	5,76 \pm 0,09	15,3 \pm 3,6*	5,57 \pm 0,09	12,3 \pm 3,8*
L-NNA + PPADs	5,77 \pm 0,08	14,7 \pm 4,0*	5,58 \pm 0,11	11,5 \pm 3,9*

5. TARTIŞMA

Son menstrual dönemin birinci gününden itibaren, 37 haftalık gebelik süresinden önce bebeğin doğması olarak tanımlanan erken doğum gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hâlen önemli bir obstetrik ve halk sağlığı sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır (Goldenberg ve Culhane, 2005). Erken doğum modern obstetrikte % 50-70'ine neden olduğu perinatal mortalite ve morbiditenin en önemli faktörlerinden biridir (Schleussner, 2013). Erken doğum; respiratuar distres sendromu, bronkopulmoner displazi, intraventriküler kanama, sepsis, serebral palsy ve körlük, sağırılık gibi diğer nöro gelişimsel bozukluklara neden olabilmektedir (Gladstone ve ark., 2011). Spontan erken doğum nedenleri arasında genetik faktörler, stres, inflamatuvar yanıt, enfeksiyon, mekanik faktörler ve hemoraji gösterilsede (Goldenberg ve ark., 2008) erken doğum eyleminin mekanizması ve patojenezi henüz tam anlamıyla anlaşılammıştır. Erken doğumu önlemek için birçok tedbir alınmasına rağmen, altta yatan patofizyolojiyi anlamadaki güçlükler, yetersiz tanı yöntemleri ve etkin olmayan tedavi yöntemleri nedeniyle her zaman yeterli sonuç alınmamaktadır.

Erken doğum riski olan gebelerin tespit edilip, önceden gerekli önlemlerin alınması tedavinin başarısını artırmaktadır. Erken doğumun önlenmesinde birinci basamakta anne sağlığının iyileştirilmesi ve gebelik süresi boyunca risk faktörlerinin en aza indirilmesiyle erken doğum prevalansının düşük tutulması yer almaktadır (Flood ve Malone, 2012). İkinci basamak önleyici yöntemler arasında ise; vajinal pH'nın ölçülmesi, transvajinal ultrasonografiyle serviks uzunluğunun ölçülmesi, progesteron uygulanması, serklaj ve doğum kanalının tamamen kapatılması yer almaktadır (Schleussner, 2013). Erken doğumun tedavisinde ise temel unsurları; tokolitik ilaçlar ile uterus kontraksiyonlarının baskılanması, glukokortikoid verilmesiyle fetal akciğer gelişiminin uyarılması, antibiyotikler ile lokal veya sistemik enfeksiyonların tedavi edilmesi, yatak istirahati ile fiziksel aktivitelerden kaçınma oluşturmaktadır (Anotayanonth ve ark., 2010).

Doğum ile ilgili ortaya çıkabilecek problemlerin birçoğu uterustaki myometriyum kası ile ilişkilendirilmektedir. Dokunun uyarılabilirliği, kasılması ve her ikisinin myometriyumdaki etkileşiminin aydınlatılması doğum ile ilgili problemlere karşı yeni stratejilerin geliştirilmesine kaynak sağlayacaktır (Arrowsmith ve ark., 2014).

Uyarılabilirlik ile kasılma arasındaki bağlantının önemi, dış ortam sıvısından kalsiyumun uzaklaştırılması veya L-tipi Ca^{2+} kanallarının nifedipin ile bloke edilmesi sonucu çok daha iyi anlaşılmıştır. Sonuçta uterus kasılabilirliği hızlı bir şekilde durmaktadır. Memelilerde doğumun ayrılmaz bir parçası olan oksitosin de prokontraktıl sürece katılmaktadır. Oksitosin, aksiyon potansiyelinin süresini uzatmakta frekansını ise artırmaktadır, böylelikle myometriyal hücrelere Ca^{2+} girişinde artışa sebep olarak uterus kasılmasını tetiklemektedir (Nakao ve ark., 1997). Kolaylıkla uyarılabilme özelliği olan bu dokunun gebelik süresi boyunca uyarılabilirliğinin baskılanmış olması gerekmektedir. Myometriyum uyarılabilirliğinin baskılanması için; K^+ iletkenliğinin yüksek, myositler ve kas demetleri arasındaki bağlantıların düşük tutulması gerekmektedir (Wray, 2007). Myometriyumun uyarılabilirliği üzerindeki baskılanmanın zamanından önce ortadan kalkması sonucunda, uterus kontraktilesi tetiklenir, serviks silinmeye başlar ve gebelik erken doğum tehditi altına girer.

Erken doğum eylemi teşhis edildiğinde gebeliğin süresini uzatmak için kullanılan tokolitik ilaçlar çeşitli mekanizmalarla myometriyum kasılmasını baskılayarak etkilerini göstermektedir. Teorik olarak tokoliz tedavisi, fetüsün anne karnında geçirdiği süreyi uzatarak fetüsün olgunlaşmasına ve kortikosteroid uygulamasıyla akciğer gelişiminin tamamlanmasına imkân sağlamaktadır (Roberts ve Dalziel, 2006). Doğumu inhibe etmek için farklı fizyolojik mekanizmaları kullanan birçok alternatif tokolitik ajan çeşitli çalışmalarda incelenmiştir ve klinik uygulamada kullanılmaya başlanmıştır. Bu ajanlar arasında; betamimetik ilaçlar, kalsiyum kanal blokörleri, siklooksijenaz inhibitörleri, magnezyum sülfat, nitrik oksit donörleri, relaksin ve oksitosin reseptör antagonistleri yer almaktadır. Bu ajanların etkinlikleri ve yan etkileri farklı çalışmalarda (Bain ve ark., 2013; Crowther ve ark., 2002; Duckitt ve Thomson, 2002; King ve ark., 2003, 2005; Nardin ve ark., 2006; Papatsonis ve ark., 2005; Su ve ark., 2010), diğer olası etkileri ise Haas ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada gösterilmiştir.

Adrenerjik beta-2 reseptör agonistleri (özellikle ritodrin) tokolitik tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. Beta-2 adrenerjik agonistler siklik adenozin 3',5' monofosfatı (cAMP) oluşturmak üzere adenilat siklazı aktive ederler. Hücresel seviyeleri artan cAMP, miyozin hafif zincir kinazın fosforilasyonu ve sarkoplazmik retikuluma kalsiyum alınması sonucu hücre içi kalsiyum seviyesinin azalması aracılığıyla miyozin hafif zincir kinaz aktivitesini azaltır (Gabor ve James, 1982). İdeal tokolitik ajanın gebelik süresini etkili bir şekilde uzatması ancak anne veya bebekte herhangi bir yan

etki oluşturmamasını gerektirir. Tokolitik ajanlardan biri olan betamimetikler, beta-adrenerjik reseptörleri uyararak; çarpıntı, titreme, bulantı, kusma, baş ağrısı, sinirlilik, anksiyete, göğüs ağrısı, nefes darlığı, hipokalemi, hiperglisemi gibi biyokimyasal bozukluklara ve anne ölümleri ile ilişkilendirilen pulmoner ödem gelişimine sebep olabilirler (Mabie ve ark., 1983). Ayrıca bu grup ilaçlara karşı oluşan taşiflaksi klinik kullanımlarını sınırlandırmaktadır. Betamimetikler bahsedilen yan etkilere ek olarak plasentaya geçerler ve doğumdan sonra fetal taşikardi, hipoglisemi ve hiperinsülinemiye neden olurlar. Tüm bu nedenlerden ötürü erken doğumda tokolitik ajanların kullanımına karar verilirken hem anne hem de bebek açısından sağlanacak yararlar ile oluşabilecek riskler dikkatli bir şekilde göz önünde bulundurulmalıdır. İdeal bir tokolitik ajanın; maternal, fetal ve neonatal yan etkisi olmamalı, uygulanması kolay olmalı, antenatal kortikosteroid uygulanması ve etki görülebilmesi için zaman tanınmalıdır (Crowther ve ark., 2002). Bu gruptaki ilaçlar sadece kullanımında sakınca bulunmayan hastalarda yararlı olabilmektedir ve yenidoğanda meydana getirdiği komplikasyonların giderilmesi için yüklü miktarda tıbbi masrafa yol açmaktadır (Ayhan ve ark., 2008). Günümüzde kullanılan tokolitik ilaçlardan beta-2 agonistlere ait ciddi yan tesir profili ve beraberindeki yetersiz etki potansiyeli yeni nesil ilaçlara olan ihtiyacı artırmıştır (Caserta ve ark., 1998). Yukarıda bahsedilen tüm bu nedenlerden dolayı diğer dokulara oranla myometriyuma özgü ve uzun etkili, sistemik yan etkileri en aza indirilmiş ve etkisine taşiflaksi gelişmeyen, güçlü ilaçlar erken doğum sıklığının azaltılmasına katkı sağlayacaktır.

Bu çalışmada belirtilen özelliklerde yeni tokolitik ilaçların geliştirilmesine katkı sağlamak amacıyla term gebe sıçanlardan elde edilen oksitosin ile uyarılmış myometriyum düz kasında dört farklı sisteme ait agonist ve antagonistin amplitüd ve frekans üzerine olası etkileri incelendi.

Çalışmamızda adrenerjik beta-3 reseptör agonistleri ZD 2079 ve ZD 7114'ün myometriyum düz kasının amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları değişiklikler kontrol kasılmalar ile karşılaştırıldı 'Bkz. Şekil 4.1, Şekil 4.2, Tablo 4.1'. Her iki ilacın da konsantrasyona bağımlı olarak myometriyal amplitüd ve frekansı inhibe ettiği gözlemlendi ($p < 0,05$). ZD 2079 ve ZD 7114'ün myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerine etkinliği beta-1 ve beta-2 antagonist varlığında değişmezken beta-3 antagonist, guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak azaldı ($p < 0,05$). Elde edilen bu sonuç

doğrultusunda, beta-3 adreseptörlere affinite gösteren ZD 2079 ve ZD 7114'ün myometriyum düz kasının hem amplitüdü hem de frekansı üzerinde etki oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca ZD 2079 ve ZD 7114'ün beta-1 ve beta-2 adreseptörleri etkilemeden, büyük oranda beta-3 reseptör aktivasyonu ve NO/cGMP yolağı aracılığıyla etkilerinin meydana geldiği düşünülmektedir.

Bardou ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada beta-3 reseptörlerin insan myometriyumunda varlığını ve beta-3 adrenerjik reseptör agonisti SR 59119A'nın bu reseptörler aracılığıyla etki oluşturduğunu göstermişlerdir. Ayrıca insan myometriyum düz kasında beta-3 adrenerjik reseptörlerin ekspresyonunun beta-2 adrenerjik reseptörlere kıyasla daha baskın olduğunu ve bu reseptörlerin ekspresyonunun gebe myometriyumunda gebe olmayana kıyasla daha da arttığını göstermişlerdir (Bardou ve ark., 2007). Denedy ve ark. (2001) beta-3 adrenerjik reseptör agonisti BRL 37344'ün myometriyal kasılmalarda gevşemeyi indüklediğini ve ilacın potensinin tokolitik ajan ritodrine benzer etki gösterdiğini bulmuşlardır. Pedzinska-Betiuk ve ark. (2008) gebe olmayan insan myometriyum düz kasında, Kaya ve ark. (2012) ise gebe rat myometriyum düz kasında beta-3 adrenerjik reseptör agonisti CL 316243'ün spontan kontraktıl aktiviteyi beta-3 reseptörler aracılığıyla inhibe ettiğini bulmuşlardır.

MacDonald ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada ZD 2079'un sıçan karotis aortasında, Brawley ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada ise sıçan torasik aortasında gevşeme yanıtları oluşturduğu gösterilmiştir. Ayrıca Mallem ve ark. (2003) ZD 2079'un at venlerinde de gevşeme yanıtları oluşturduğunu göstermişlerdir. Growcott ve ark. (1993) tarafından yapılan çalışmada ZD 7114'ün fare sağ atriyumu, trakea zinciri ve bağırsağındaki kasılmaları inhibe ettiği gösterilmiştir. Lezama ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada sıçan özofagus düz kasında, Sarma ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada keseli sıçanların özofageal sfinkterinde, Rathı ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada keseli sıçanların internal anal sfinkterinde ve Badawi ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise insan detrüsör kasında ZD 7114'ün gevşeme yanıtları oluşturduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızdaki ZD 2079 ve ZD 7114'ün myometriyum düz kasi amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturduğu etkiye ait sonuçlar ile benzerlik göstermektedir 'Bkz. Tablo 4.1'.

Uterus; gebelik esnasında boyutu artan fakat doğuma kadar uyku halinde kalan buna karşılık doğumun başlangıcında güçlü, senkronize ve fazik kasılmalar üretebilen, düz kaslı yapıya sahip bir organdır. Uterusun sessiz fazdan güçlü kontraksiyonlara

geçişine rehberlik eden fizyolojik ve biyokimyasal tetikleyiciler henüz tam anlamıyla tanımlanamamıştır. Kompleks sinyalleme mekanizmaları, sitoplazma içerisinde myofilamentlerin aktivasyonunda değişiklik meydana getirmek üzere plazma membranındaki reseptörlerin uterotonik agonistler ile işgalini sağlamaktadır. Doğum zamanında oluşabilecek herhangi bir değişiklik yenidoğan mortalite ve morbiditesine neden olmaktadır. Bundan dolayı, zamanında doğumların fizyolojik başlangıç sürecine benzer endokrin ve hücre içi yollar neden olsun veya olmasın erken doğum mekanizmasının araştırılması ve aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Myometriyal kasılmaları düzenleyen mekanizmaların daha iyi anlaşılması doğum ile ilgili bilgilerin ilerlemesi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca erken doğum sürecinin öngörülmesi ve doğru bir şekilde yönetilebilmesi için gerekli olan bilgiyi sağlayacaktır. Düz kas kasılmasının düzenlenmesi ile ilgili olarak belirtilen çalışmalarda aralıksız tonik kasılmalar üreten damar dokusunun kullanıldığı göz önünde bulundurulmalıdır. Buna karşılık, myometriyum gevşemeyi takiben güçlü, senkronize ve fazik kasılmalar üretmektedir ki bunlar başarılı bir doğum ve kan akışının yeniden düzene girdirilmesi için kritik bir öneme sahiptir. Tüm bu veriler ışığında bu olağanüstü organda uterusu özgü sinyal mekanizmasının var olması kaçınılmazdır (Hudson ve Bernal, 2012).

Düz kas kasılmasının birincil düzenleyici mekanizması, miyozin hafif zincirin (MHZ) fosforillenmesi sonucunda miyozin ATPaz aktivitesinde ve buna bağlı olarak aktin-miyozin çapraz köprü döngüsünde artış gerçekleşmesidir. MHZ'in fosforilasyonu hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artırılmasından sorumlu enzim olan miyozin hafif zincir kinaz (MHZK) tarafından katalizlenir (Kamm ve Stull, 1985). Myometriyal düz kaslar miyojenik yapıdadırlar, dış uyaranlara ihtiyaç duymadan spontan kasılmalar üretebilirler. Voltaj kapılı kanallardan hızla Ca^{2+} girişini sağlayan, hücre zarının depolarize olması ile ortaya çıkan aksiyon potansiyeli ile myometriyal hücrelerin kontraksiyonu başlatılır (Shmygol ve ark., 2007). Oksitosin gibi uterotonik agonistler, G-protein aracılı reseptörlere bağlanarak ve hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunun artmasıyla sonuçlanan G_q /fosfolipaz C sinyal yolağını aktive ederek kendi kontraktıl etkilerine aracılık ederler. Oksitosinin uterotonik etkisinin büyük bir kısmı hücre içine Ca^{2+} girişinin artırılması ile gerçekleşirken, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salıverilmesi etkinin küçük bir kısmına neden olmaktadır (Kupittayanant ve ark., 2002). Miyozin hafif zincirin defosforilasyonu ise Ca^{2+} 'dan bağımsız çeşitli mekanizmalar tarafından düzenlenen, miyozin hafif zincir fosfataz (MHZF) enzimi tarafından

katalizlenir. Eşzamanlı MHZK aktivasyonu ile MHZF inhibisyonu, miyozin hafif zincirin fosforilasyonunun artması ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonuna karşı direnç gelişimi olarak tanımlanan “Ca²⁺ duyarlılığı”na sebep olur (Somlyo ve Somlyo, 2003). Son yıllarda damar düz kası ile yapılan çalışmalarda G-proteini aracılı reseptörlere ait agonistlerin, KCl’e kıyasla hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonundaki artışa gittikçe artan bir kuvvet ürettikleri gösterilmiştir. KCl ile indüklenen kasılmalara, membran depolarizasyonu ve voltaj kapılı Ca²⁺ kanallarından Ca²⁺ girişi aracılık eder (Bolton, 1979). Ca²⁺ duyarlılaşmasına katkıda bulunan G-proteini aracılı reseptör agonistleri ise G-proteinlerinin katıldığı mekanizmalarla kasılmalara aracılık ederler (Kitazawa ve ark., 1989). Damar ve solunum düz kaslarında önemli olduğu bilinen kalsiyuma duyarlı kontraktıl sistem mekanizmalarının myometriyum için de aynı öneme sahip olup olmadığı bugüne kadar tam anlamı ile aydınlatılamamıştır (Somlyo ve Somlyo, 2003).

Oksitosin gibi G_q ve G_{12/13} aracılı reseptörlere bağlanan agonistler, Rho-GEF’ler (Rho guanin-nükleotid değiştirici faktör) aracılığıyla veya dolaylı bir şekilde Rho-düzenleyici proteinlerin protein kinaz C (PKC) aracılı aktivasyonu sonucu Rho ailesi üyelerini aktive edebilmektedirler (Sah ve ark., 2000; Seasholtz ve ark., 1999). GTP bağlandığı zaman RhoA, ROCK gibi alt efektör molekülü olan yapılara bağlanır ve bunları aktive eder. İzole sıçan myometriyal hücrelerinin karbakol ile uyarılmasından sonra, RhoA ve ROCK2’nin plazma membranına transloke olduğunu gösteren bulgular vardır (Taggart ve ark., 1999). Lartey ve ark. (2007) Rho-ROCK sinyal yolağının doğum sürecine olan katkısını araştırırlarken, gebelik esnasında RhoA-GTP seviyesinin arttığını ve ayrıca bu artışın spontan erken doğum ile daha da arttığını göstermişlerdir. Ayrıca gebelik veya doğum ile ROCK1 ekspresyonunda herhangi bir değişiklik olmadığını, gebe olmayan myometriyal dokuya kıyasla gebe myometriyal dokuda ROCK2 ekspresyonunda azalma meydana geldiğini de göstermişlerdir. ROCK enziminin selektif ROCK inhibitörü Y-27632 ile farmakolojik inhibisyonu, in vitro spontan ve oksitosin ile indüklenmiş insan myometriyum kasılmasını azaltmıştır (Kupittayanant ve ark., 2001; Moran ve ark., 2002; Woodcock ve ark., 2004). Ayrıca hücre içi kalsiyum konsantrasyonu-gerilim ilişkisinin analizi sonucunda Y-27632’nin Ca²⁺ duyarlılaşmasını azalttığı gösterilmiştir (Woodcock ve ark., 2004). Glisil-H-1152-dihidroklorid (H-1152) hücre geçirgen geri dönüşümlü ATP-kompetitif ROCK1/2 inhibitörüdür. Y-27632’ye kıyasla daha güçlü potense sahiptir ve protein kinaz A, protein kinaz C veya Ca²⁺/kalmomodulin bağımlı kinazlar gibi diğer kinazlara göre ROCK

enzimine karşı 100 kat daha fazla selektiftir (Tamura ve ark., 2005). Lartey ve ark. (2007) H-1152'nin in vitro oksitosin ile indüklenmiş gebe insan myometriyal doku kontraktilesini, fazik kontraksiyonların amplitüd ve frekansını azalttığını göstermişlerdir. Tüm bu veriler ışığında doğum esnasında insan myometriyum fazik kontraktilesinde Rho-ROCK sinyal yolağının rolü olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda rhokinaz enzim inhibitörlerinden AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları değişiklikler kaydedilip kontrol kasılmalar ile karşılaştırıldı 'Bkz. Şekil 4.3, Şekil 4.4, Tablo 4.2'. Her iki ilacın da konsantrasyona bağımlı olarak myometriyal kasılmaları inhibe ettiği gözlenmiştir ($p < 0,05$). AS 1892802'nin myometriyum düz kası amplitüdü üzerine etkinliği guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak azaldı. Myometriyum düz kası frekansı üzerinde ise nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında anlamlı ölçüde azalırken, guanilat siklaz inhibitörü varlığında frekansta istatistiksel olarak değişiklik gözlenmedi. Fasudil hidroklorid'in myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerine etkinliği guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldı. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda Rho-ROCK sinyal yolağının myometriyum fazik kontraktilesine katkısının olabileceği, AS 1892802 ve fasudil hidroklorid'in etkilerini nitrik oksit sentaz ve guanilat siklaz enzimleri aracılığıyla oluşturabileceği düşünülmektedir.

Sperm migrasyonu, fertilize ovumun implantasyonu, plasenta, embriyo ve fetüs gelişimi, doğum esnasındaki kasılmalar uterusu meydana gelmektedir. Myometriyum ve endometriyum temel fonksiyonel uterus doku tipleridir. Myometriyumla sınırlı olduğu düşünülen uterus innervasyonu; ergenlik, gebelik ve doğum sonrasında yeniden şekillenir. Sıçanlarda östrus döngüsüne uterusun yapısal olarak yeniden şekillenmesi eşlik eder. Bu yapısal şekillenmede sempatik sinirlerin çekilmesi veya terminal liflerin dejenerasyonu oluşur. İnsanlarda üst uterus ile alt uterusun sempatik bileşenleri arasında köken ve yönlendirme açısından farklılıklar vardır. Bu tür belirgin bir bölgeye özgü innervasyonun varlığı, yumurta kanalı ve uterusun servikal uçları arasında myometriyal aktivitenin sinirsel kontrolü yönünden fonksiyonel farklılıklar olabileceğini düşündürmektedir (Houdeau ve ark., 1998). Lumbosakral spinal korddaki pelvis gangliyonları ve pregangliyonik parasempatik nöronlarda uterus ile ilişkili

postgangliyonik parasempatik nöronlar da vardır. Uzunlamasına kaslarda özel bir adrenerjik innervasyon bulunurken, dairesel kaslarda çok azı adrenerjik büyük bir kısmı nonadrenerjik/nonkolinerjik aracılı innervasyon bulunmaktadır. Endojen ve ekzojen nordarenalinin uyarıcı yanıtlarından sorumlu olan alfa-2 adrenoseptörler her iki kas tabakasına da hâkimdir. Sıçanlarda yapılan bir çalışma; uterus ve servikte kolinerjik innervasyonun varlığını göstermiştir ki bu bulgu uterus kasılması ile uterus arterlerinin gevşemesinde önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir (Papka ve ark., 1999).

Purinerjik sistemin etkilerine aracılık eden P2 reseptörleri iki reseptör alttipine ayrılmaktadır: İyonotropik P2X reseptörleri ve metabotropik P2Y reseptörleri. P2X reseptörleri ligand kapılı reseptörlerken, P2Y reseptörleri G-proteini aracılı ikinci haberci sistemine bağlıdır. Her iki fonksiyon da sitoplazmada Ca^{2+} konsantrasyonunu artırır ve ATP veya UTP reseptörlerine bağlanarak bu reseptörleri aktive eder.

P2Y reseptörleri, sarkoplazmik retikulumdan Ca^{2+} salıverilmesini artırarak, P2X reseptörleri ise hücre dışı sıvıya iyon selektif kanal oluşturarak hücre içi Ca^{2+} seviyelerini artırır. Hücre içinde Ca^{2+} seviyesinin artmasıyla Ca^{2+} ; hücre içinde bulunan S100, tenassin, kalmodulin, integrin ve anneksin gibi kalsiyum bağlayan 40'tan fazla protein ile etkileşir. Buna bağlı olarak kalsiyum aracılı olaylar, hücre döngüsünün aktivasyonu ve düzenlenmesi, protein sekresyonu, nükleer proteinlerin kompozisyonu, DNA transkripsiyonu, apoptoz, adezyon proteinlerinin bağlanması, hücre farklılaşması ve fosforilasyon gibi birçok hücre içi olaya aracılık edebilir. Uterus ile ilgili bu gözlemler, hücre iskelet yapısında değişiklikler, luminal pH'da azalma ve transmembran moleküllerinde aktivasyonu içeren kalsiyum aracılı olaylarda upregülasyonun varlığını düşündürmektedir. P2Y reseptörlerinin aktivasyonu hücre içi kalsiyumu harekete geçirir ve farklı epitel hücreleri P2Y reseptörlerinin birden fazla türünü eksprese eder (Slater ve ark., 2002).

Purin bileşiklerinin uterus kontraktıl aktivitesi üzerindeki etkileri çeşitli hayvan çalışmaları ile gösterilmiştir. İzole gebe olmayan kobay, sıçan, fare ve tavşan uterusunda ayrıca gebe sıçan ve tavşan uterusunda P1 ve/veya P2 reseptör aracılı yanıtlar kaydedilmiştir. Kontraktıl yanıtlara purin bileşiklerinin aracılık ettiği gösterilmiştir. Gebeliğin P2 reseptör aracılı işlemler üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Gebelik süresi boyunca tavşan ve sıçan idrar torbasında, kolinerjik agonistlere karşı yanıtlar azalırken ATP seviyesi artmıştır. Bu değişikliklerin gebelik esnasında cinsiyet

hormonlarında meydana gelen dalgalanmaların sonucu olduğu düşünülmektedir. Ziganshin ve ark. (2006) nitrik oksit sentaz inhibitörü L-NAME varlığında uterus kontraktıl yanıtının ATP aracılığıyla arttığını ve NO'in ATP ile indüklenmiş yanıtlara olan katkısını göstermişlerdir. Elde edilen sonuçlar, gebelik süresi boyunca ve doğum esnasında P2 reseptörlerinin uterus kasılabilirliğinin düzenlenmesinde fizyolojik role sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Moritoki ve ark. (1979) tarafından yapılan çalışmada izole kobay uterusunda purinoseptörlerin varlığı, ATP ve adenozinin uterusunda konsantrasyon-bağımlı kasılmalara neden olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde Piper ve Hollingsworth de (1996) yaptıkları çalışmada, sıçan uterusunda P2 reseptörlerinin varlığını ve bu reseptörlerin uyarılmasının uterusunda kontraksiyona yol açtığını göstermişlerdir.

Çalışmamızda purinerjik antagonist PPAD'ın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturduğu değişiklikler kontrol kasılmalar ile karşılaştırıldı. PPAD'ın myometriyum düz kası amplitüdü üzerine etkinliği guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azalırken ($p < 0,05$) frekansta anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p > 0,05$). Elde edilen bu sonuç doğrultusunda, myometriyumda P2 reseptörlere affinite gösteren PPAD'ın myometriyum düz kasının hem amplitüdü hem de frekansı üzerinde etki oluşturabileceği, ortaya çıkan bu etkinin ise NO/cGMP yolağı aracılığıyla oluşabileceği düşünülmektedir.

Endokannabinoidler; farklı dokularda çeşitli sinyal yolaklarında rol alan nöronal gelişim, inflamasyon, enerji metabolizması ve üreme gibi birçok farklı fizyolojik sürecin kontrolünden sorumlu olan doymamış yağ asid amidi ve esterleridir (Bambang ve ark., 2010; Taylor ve ark., 2010). Endokannabinoidler ihtiyaç duyulduğunda membrandaki lipid prekürsörlerinden sentezlenirler ve biyoaktivasyonları yağ asid amid hidrolaz, monoaçilgliserol lipaz enzimleri tarafından parçalanmaları ile sona erer (Taylor ve ark., 2010). Marihuananın temel aktif bileşeni, kannabinoid KB1 ve KB2 reseptörleri aracılığıyla etkisini gösteren, kannabinoid ailesinin bir üyesi olan Δ^9 -tetrahidrokannabinol (Δ^9 -THC)'dür. 1992'de kannabinoid reseptörlerinin keşfinden sonra, bu reseptörlerin endojen ligandı olan ve anandamid olarak bilinen araşidonil etanolamin bulunmuştur (Devane ve ark., 1992). Anandamidin keşfinden sonra birçok vasküler (Hillard, 2000) ve vasküler olmayan (Pertwee, 2001) düz kas sisteminde bu reseptörlerin rolü ve etkisi araştırılmıştır. Sıçanlarda anandamid veya Δ^9 -THC

uygulanması gebeliğin süresini uzatmıştır ve ölü doğumların frekansını artırmıştır (Wenger ve ark., 1999). Fare uterusunda veya embriyosunda, anandamidin anormal sentezi veya kannabinoid reseptörlerin anormal ekspresyonu erken doğum eylemine veya dişilerde infertiliteye sebep olabilmektedir (Schmid ve ark., 1997). Endojen kannabinoid anandamid ve ekzojen kannabinoid Δ^9 -THC'ün, oksitosin ile indüklenmiş insan myometriyum kontraktilitesi üzerinde de gevşetici etki oluşturduğu bilinmektedir (Dennedy ve ark., 2004). Anandamidin indirgenmesinden sorumlu enzim olan düşük yağ asid amid hidrolaz aktivitesi de insanlarda implantasyon başarısızlığı veya gebelik kaybı ile ilişkilendirilmektedir (Maccarrone ve ark., 2002). Gebelik süresi uzamasının uterusu prostaglandin sentezinin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. İnsan uterus düz kasında endojen ve ekzojen kannabinoidlerin gevşetici etkisine baskın bir şekilde KB1 reseptörleri aracılık etmektedir (Dennedy ve ark., 2004). KB1 mRNA'sı merkezi sinir sisteminde ve kalp, akciğer, mesane ve adrenal bez gibi periferik dokularda tespit edilmiştir (Pertwee, 1997; Izzo ve ark., 2001). Gastrointestinal sistemde KB1 reseptörlerinin aktivasyonu gastrointestinal motiliteyi, intestinal sekresyonu ve gastrik asid sekresyonunu inhibe etmektedir (Izzo ve ark., 2001). Vasküler dokularda vazodilatasyon ve hipotansiyon, endokannabinoidler tarafından KB1 reseptörleri aracılığıyla oluşmaktadır (Hillard, 2000; Zygmunt ve ark., 1997). KB2 mRNA'sı özellikle B hücrelerde ve lenfositlerde olmak üzere immün hücrelerde yer almaktadır ve bu reseptörler immünomodülatör role sahiptir (Galiegue ve ark., 1995). Dennedy ve ark.'ları KB2 mRNA'sının gebelik süresi boyunca insan myometriyumunda varlığını göstermişlerdir. Fakat KB2 reseptörü kannabinoidler aracılığıyla ortaya çıkan major gevşetici etkiye aracılık etmemiştir (Dennedy ve ark., 2004). Kannabinoid reseptör agonistleri ile ilgili öne sürülen sinyal yolağı, membran hiperpolarizasyonuna ve kontraktıl aktivitenin inhibisyonuna sebep olan, N-tip ve P/Q-tip voltaj duyarlı kalsiyum kanallarının inhibisyonu ve içe dönük potasyum kanallarının aktivasyonudur (Izzo ve ark., 2001). KB1 ve KB2 reseptörleri diğer hücre içi sinyal yollarına (adenilat siklaz, mitojen aktif protein kinaz ve iyon kanalları gibi) Gi/0 proteinleri ile bağlıdır. Bu nedenle uterus kontraktilitesini doğrudan etkileyebileceği de düşünülmektedir (Pertwee, 1997).

Wang ve ark. (2008), normal progesteron ve östrojen seviyeleri değiştirilerek oluşturulan KB1 yetersizliğinin farelerde erken doğumu indüklediğini göstermişlerdir. Bu hasar siklooksijenaz-1 tarafından üretilen prostaglandinlerden bağımsızdır. Ayrıca

KB1 inaktivasyonu doğumdan önce anormal kortikotropin salıverici hormon ve kortikosteron aktivitesine neden olmaktadır. Elde edilen sonuçlar KB1 reseptörlerinin kortikotropin salıverici hormon aracılı endokrin fonksiyonları etkileyerek doğum olayını düzenlediğini düşündürmektedir. Dişi üreme sistemi ile ilgili olarak preimplante embriyolarda KB1 reseptörlerinin (Paria ve ark., 1995, 2001), yumurta kanalı ve uterusu anandamidin (Paria ve ark., 2001; Schmid ve ark., 1997; Guo ve ark., 2005) varlığını gösterilmiştir. Elde edilen bulgular erken gebelik döneminde endokannabinoid sinyal yolağının düzenleyici rol oynadığını düşündürmektedir. Ayrıca embriyonun gelişimi ve implantasyonu üzerinde anandamidin bifazik etkilerinin olduğunu destekler (Wang ve ark., 1999, 2003).

Gün geçtikçe artan bulgular göstermektedir ki AEA gibi endokannabinoid ligandlarını içeren bu sisteme ait bileşenler başarılı bir üremenin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Taylor ve ark., 2007; Maccarrone, 2009). Menstrüel döngü ve gebelik süresi boyunca plazma AEA seviyelerinde dalgalanmalar gözlenmektedir (El-Talatini ve ark., 2009a, 2009b; Habayeb ve ark., 2004). Yüksek AEA seviyelerinin erken gebelik kayıplarında rolü olduğu düşünülmektedir (Maccarrone ve ark., 2010). Spontan düşük tehditi altındaki hastaların plasental dokularında KB1 reseptör ekspresyonunda artma ile birlikte YAAH ekspresyonunda azalma tespit edilmiştir (Trabucco ve ark., 2009). Ayrıca AEA'nın pre- ve peri-implantasyondaki, gebelikteki ve uterus gevşemesindeki rolleri oldukça net bir şekilde tanımlanmıştır (Dennedy ve ark., 2004; Wang ve ark., 2006; Wenger ve ark., 1997). Buna ek olarak AEA sinyal yolağının dengede olması fertilitte ve embriyo implantasyonu açısından da oldukça önemlidir (El-Talatini ve ark., 2009b). Sonuç olarak endokannabinoid sistem ve KB reseptörlerin sinyal yolağının sıkı bir şekilde düzenlenmesi başarılı üreme fizyolojisi açısından oldukça önemlidir.

AEA, yumurta kanalı, uterus ve plasenta gibi insan üreme sisteminde varlığı tespit edilmiş KB1 ve KB2 reseptörlerine bağlanarak bu reseptörleri aktive eder. (Paria ve ark., 1995; Park ve ark., 2003). KB1 reseptör mRNA'sı gebe insan uterusunun myometriyal tabakalarında da tespit edilmiştir ve AEA KB1 reseptör bağımlı akut myometriyal gevşeme etkisini bu bölgede göstermektedir (Dennedy ve ark., 2004). Diğer taraftan, insan ULTR myometriyal hücre hattında AEA bağımlı sinyal yolağı KB2 reseptör yokluğunda KB1 reseptörleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. ULTR hücrelerinde KB1 reseptörleri $G\alpha_{i/o}$ -proteinleri aracılığıyla Adenilat siklaz aktivitesini

inhibe etmektedir ve hücre içi cAMP seviyesini azaltmaktadır (Brighton ve ark., 2009). Bu bulgular endokannabinoid sinyal yolağının myometriyal fonksiyonun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Çalışmamızda nonspesifik kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 ve kannabinoid-1 reseptör agonisti ACEA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturdukları değişiklikler kontrol kasılmalar ile karşılaştırıldı 'Bkz. Şekil 4.5, Şekil 4.6, Tablo 4.3'. Her iki ilacın da konsantrasyona bağımlı myometriyal amplitüd ve frekansı inhibe ettiği gözlenmiştir ($p < 0,05$).

WIN 55,212-2'nin myometriyum düz kası amplitüdü üzerine etkinliği kannabinoid-2 reseptör antagonisti varlığında değişmezken kannabinoid-1 reseptör antagonisti, guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak azaldı. WIN 55,212-2'nin myometriyum düz kası frekansı üzerine etkinliği kannabinoid-2 reseptör antagonisti ve guanilat siklaz inhibitörü varlığında değişmezken, kannabinoid-1 reseptör antagonisti, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak azaldı. ACEA'nın ise myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerine etkinliği kannabinoid-1 reseptör antagonisti, guanilat siklaz inhibitörü, nonspesifik NOS inhibitörü ve spesifik eNOS inhibitörü varlığında istatistiksel olarak azalırken, kannabinoid-2 reseptör antagonisti varlığında değişmedi 'Bkz. Tablo 4.3'. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda, myometriyumda özellikle kannabinoid-1 reseptörlerine affinite gösteren WIN 55,212-2 ve ACEA'nın myometriyum düz kasının hem amplitüdü hem de frekansı üzerinde etki oluşturduğu gösterilmiştir. Oluşan bu etkinin büyük oranda kannabinoid reseptör aktivasyonu ve NO/cGMP yolağı aracılığıyla oluşabileceği düşünülmektedir.

Dmitrieva ve Berkley (2002) WIN 55212-2'nin sıçan mesane motilitesini azaltırken sıçan uterusunda motiliteyi artırdığını göstermişlerdir. Barun ve ark. (2005) WIN 55212-2'nin elektrik alan stimülasyonu ile indüklenmiş tavşan vas deferensinde seğirme yanıtlarını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Hillard ve ark. (1999) tarafından ACEA ve ACPA'nın KB1 selektif agonisti oldukları ve elektrikle uyarılmış fare vas deferensinde kontraksiyonları inhibe ettikleri bulunmuştur. Hinds ve ark. (2006) ACEA'nın insan kolon düz kasında kasılmaları inhibe ettiğini göstermişlerdir. Mulè ve ark. (2007) ACEA'nın fare kolonunda kontraktıl yanıtları azalttığını göstermişlerdir. Baldassano ve ark. (2008) ACEA'nın fare ileumu kontraksiyonlarını azalttığını

göstermişlerdir. Vural ve ark. (2009) ACEA'nın tavşan korpus kavernozumunda gevşeme yanıtlarını artırdığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızdaki WIN 55212-2 ve ACEA'nın myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerinde oluşturduğu etkiye ait sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Literatür bilgileri de göz önünde bulundurularak ilk defa çalışmamızda;

- selektif beta-3 agonistleri ZD-2079 ve ZD-7114,
- selektif Rho-kinaz enzim inhibitörleri AS-1892802 ve fasudil hidroklorid,
- nonselektif kannabinoid reseptör agonisti WIN 55,212-2 ve selektif kannabinoid-1 agonisti ACEA,
- selektif olmayan P2 antagonisti PPAD'ın

gebe sıçanlardan izole edilmiş myometriyum düz kası amplitüd ve frekansını azalttıkları tespit edilmiştir. Ayrıca ACEA ve AS-1892802'nin yapmış olduğu azalma diğer ajanlara göre üstünlük göstermiştir. Myometriyal kasılmalar üzerinde kontrole göre anlamlı azalma oluşturan bu maddelerin yeni tokolitik ajanların geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

6.2. Öneriler

Erken doğum eylemi tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi ile yenidoğan yaşama beklentisinde artma, morbidite ve mortalite oranlarında azalma sağlanması ayrıca erken doğum eylemine ait in vivo ve in vitro araştırmalara gösterilen önemin artması beklenmektedir. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar doğrultusunda ilk defa myometriyum düz kası amplitüd ve frekansı üzerindeki inhibe edici etkileri gösterilen maddelere ait moleküler düzeyde ileri deneysel çalışmalara ve in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Abbracchio, M.P. and Ceruti, S. (2006). Roles of P2 receptors in glial cells: focus on astrocytes, *Purinergic Signal*. Nov, 2(4), 595-604.
- ACOG (2001). American College of Obstetricians and Gynecologists: Assessment of Risk Factors for Preterm Birth, *Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists*, ACOG Practice Bulletin No.31.
- ACOG (2003). American College of Obstetricians and Gynecologists, Management of preterm labor, *ACOG practice bulletin*; no. 43.
- Adams, I.B. and Martin, B.R. (1996). Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans, *Addiction*, 91, 1585-1614.
- Aguilar, H.N. and Mitchell, B.F. (2010). Physiological pathways and molecular mechanisms regulating uterine contractility, *Hum Reprod Update*, 16(6), 725-744.
- Aitken, H., Poyser, N.L., Hollingsworth, M. (2001). The effects of P2Y receptor agonists and adenosine on prostaglandin production by the guinea-pig uterus, *Br J Pharmacol*, Feb, 132(3), 709-721.
- Anotayanonth, S., Subhedar, N.V., Garner, P., Neilson, J.P., Harigopal, S. (2010). Betamimetics for inhibiting preterm labour, *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2, CD004352.
- Arch, J.R., Ainsworth, A.T., Cawthorne, M.A., Piercy, V., Sennitt, M.V., Thody, V.E., Wilson, C., Wilson, S. (1984). Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs, *Nature*, 309, 163-165.
- Arrowsmith, S., Kendrick, A., Hanley, J., Noble, K., Wray, S. (2014). Myometrial physiology – time to translate?, *Exp Physiol*, 99.3, 495–502.
- Asghari-Roodsari, A., Lesani, A., Javadi-Paydar, M., Tabatabaeefar, L., Tavangar, S.M., Norouzi, A., Dehpour, A.R. (2010). Tocolytic effect of delta9-tetrahydrocannabinol in mice model of lipopolysaccharide-induced preterm delivery: role of nitric oxide, *Reprod Sci*, Vol. 17(4), 391-400.
- Atalık, K.E. and Doğan, N. (1997). Nitric oxide and its physiological effects. *Genel Tıp Derg*, 7(3), 167-169.
- Ayhan, A., Gürkan, T., Önderoğlu, L. (2008). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum bilgisi*, Günes Kitabevi, Ankara, 477s.
- Badawi, J.K., Seja, T., Uecelehan, H., Honeck, P., Kwon, S.T., Bross, S., Langbein, S. (2007). Relaxation of Human Detrusor Muscle by Selective Beta-2 and Beta-3 Agonists and Endogenous Catecholamines, *Urology*, 69, 785–790.
- Bain, E.S., Middleton, P.F., Crowther, C.A. (2013). Maternal adverse effects of different antenatal magnesium sulphate regimens for improving maternal and infant outcomes: a systematic review, *BMC Pregnancy Childbirth*, 13-195.
- Baldassano, S., Serio, R., Mule', F. (2008). Cannabinoid CB(1) receptor activation modulates spontaneous contractile activity in mouse ileal longitudinal muscle, *Eur J Pharmacol*, 582(1-3), 132-138.
- Bambang, K.N., Karasu, T., Gebeh, A., Taylor, A.H., Marczylo, T.H., Lam, P. (2010). From fertilization to implantation in mammalian pregnancy-modulation of early human reproduction by the endocannabinoid system, *Pharmaceuticals*, 3, 2910–2929.

- Bansal, R.K., Goldsmith, P.C., He, Y. (1997). A decline in myometrial nitric oxide synthase expression is associated with labor and delivery, *J Clin Invest*, 99, 2502–2508.
- Bardou, M., Loustalot, C., Cortijo, J., Simon, B., Naline, E., Dumas, M., Esteve, S., Croci, T., Chalon, P., Frydman, R., Sagot, P., Manara, L., Morcillo, E.J., Advenier, C. (2000). Functional, biochemical and molecular biological evidence for a possible beta(3)-adrenoceptor in human near-term myometrium, *British Journal of Pharmacology*, Vol. 130(8), 1960-1966.
- Bardou, M., Rouget, C., Breuiller-Fouché, M., Loustalot, C., Naline, E., Sagot, P., Frydman, R., Morcillo, E.J., Advenier, C., Leroy, M.J., Morrison, J.J. (2007). Is the beta3-adrenoceptor (ADRB3) a potential target for uterorelaxant drugs, *BMC Pregnancy and Childbirth*, Vol. 1;7, 1:S14.
- Barun, S., Vural, I.M., Dileköz, E., Ercan, Z.S., Sarioglu, Y. (2005). Effects of Cannabinoid Receptor Activation on Rabbit Bisected Vas Deferens Strips, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32, 702–707.
- Bolton, T.B. (1979). Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle, *Physiol. Rev*, 59, 606–718.
- Boueux, A., Vignal, E., Faure, S., Fort, P. (2007). Evolution of the Rho Family of Ras-like GTPases in Eukaryotes, *Mol Biol Evol*, 24(1), 203–216.
- Bradley, K.K., Buxton, I.L., Barber, J.E., McGaw, T., Bradley, M.E. (1998). Nitric oxide relaxes human myometrium by a cGMP-independent mechanism, *Am J Physiol*, 275, 1668-1673.
- Been, J.V., Lugtenberg, M.J., Smets, E., Van Schayck, C.P., Kramer, B.W., Mommers M., Sheikh, A. (2014). Preterm birth and childhood wheezing disorders: a systematic review and meta-analysis, *PLoS Med*, 11(1), e1001596.
- Berridge, M.J. (1993). Cell signalling. A tale of two messengers, *Nature*, 365(6445), 388-389.
- Blencowe, H., Cousens, S., Chou, D., Oestergaard, M., Say, L., Moller, A.B., Kinney, M., Lawn, J., Born Too Soon Preterm Birth Action Group. (2013). Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births, *Reprod Health*, 10 Suppl 1:S2.
- Bogges, K.A. (2005). Pathophysiology of Preterm Birth: Emerging Concepts of Maternal Infection, *Clin Perinatol*, 32(3), 561- 569.
- Brawley, L., Shaw, A.M., MacDonald, A. (2000). β_1 -, β_2 - and atypical b-adrenoceptor-mediated relaxation in rat isolated aorta, *British Journal of Pharmacology*, 129, 637- 644.
- Brighton, P.J., McDonald, J., Taylor, A.H., Challiss, R.A., Lambert, D.G., Konje, J.C., Willets, J.M. (2009). Characterization of Anandamide-Stimulated Cannabinoid Receptor Signaling in Human ULTR Myometrial Smooth Muscle Cells, *Mol Endocrinol*, Vol. 23(9), 1415-1427.
- Buhimschi, I.A., Yallampali, C., Dong, Y.L. (1995). Involvement of a nitric-oxide guanosine monophosphate pathway in control of human uterine contractility during pregnancy, *Am J Obstet Gynecol*, 172, 1577–1584.
- Buhimschi, I.A., Yallampalli, C., Buhimschi, C.S., Saade, G.R., Garfield, R.E. (2000). Distinct regulation of nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate production by steroid hormones in the rat uterus, *Mol. Hum. Reprod*, 6(5), 404-414.

- Caritis, S.N., Chiao, J.P., Kridgen, P. (1991). Comparison of pulsatile and continuous ritodrine administration: Effects on uterine contractility and b-adrenergic receptor cascade, *Am J Obstet Gynecol*, 164, 1005-1012.
- Caserta, G., De Graaf, O.F., Di Renzo, G.C. (1998). Mechanisms of initiation of human parturition. In Kurjak A (ed). *Textbook of perinatal medicine*, The Parthenon Publishing Group Inc, New York, 14, 1307-1393.
- Chibbar, R., Hokirk, R., Mitchel, B. (1986). Sulfohydrolase activity for estrone sulfate and dehydroepiandrosterone sulfates in human fetal membranes/decidua around the time of parturition, *J Clin Endocrinol Metab*, 62, 90-94.
- Costanzi, S., Mamedova, L., Gao, Z.G., Jacobson, K.A. (2004). Architecture of P2Y nucleotide receptors: structural comparison based on sequence analysis, mutagenesis, and homology modeling, *J Med Chem*, 47(22), 5393-5404.
- Covington, D.L., Hage, M., Hall, T., Mathis, M. (2001). Preterm delivery and severity of violence during pregnancy, *J Reprod Med*, 46, 1031-1039.
- Croci, T., Cecchi, R., Marini, P., Rouget, C., Viviani, N., Germain, G., Guagnini, F., Fradin, Y., Descamps, L., Pascal, M., Advenier, C., Breuiller-Fouché, M., Leroy, M.J., Bardou, M. (2007). In vitro and in vivo pharmacological characterization of ethyl-4-[trans-4-[(2S)-2-hydroxy-3-[4-hydroxy-3[(methylsulfonyl)amino]phenoxy]propyl) amino]cyclohexyl]benzoate hydrochloride (SAR150640), a new potent and selective human beta3-adrenoceptor agonist for the treatment of preterm labor, *J Pharmacol Exp Ther*, 321(3), 1118-1126.
- Crowther, C.A., Hiller, J.E., Doyle, L.W. (2002). Magnesium sulphate for preventing preterm birth in threatened preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 4.
- Croxford, J.L. and Yamamura T. (2005). Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases?, *J Neuroimmunol*, 166, 3-18.
- Cunningham, F.G., Gant, N.F., Leveno, K.J., Gilstrap, L.C., Hauth, J.C., Wenstrom, K.D. (2001). Preterm birth. In: *Williams Obstetrics 21st Edition*, USA: McGraw-Hill Co, 689p.
- Cunningham, F.G., Leveno, K.J., Bloom, S.L., Hauth, J.C., Gilstrap, L.C., Wenstrom, K.D. (2005). Preterm birth. In: *Williams Obstetrics 22nd Edition*, USA: McGraw-Hill Co, 855p.
- De Heus, R., Mol, B.W., Erwich, J.J., Van Geijn, H.P. (2009). Adverse drug reactions to tocolytic treatment for preterm labour: prospective cohort study. Department of Perinatology and Gynaecology, University Medical Centre Utrecht, 5, 338p.
- Dennedy, M.C., Friel, A.M., Gardeil, F., Morrison, J.J. (2001). Beta-3 versus beta-2 adrenergic agonists and preterm labour: in vitro uterine relaxation effects, *BJOG*, 108, 605-609.
- Dennedy, M.C., Houlihan, D.D., McMillan, H., Morrison, J.J. (2002). Beta2- and beta3-adrenoreceptor agonists: human myometrial selectivity and effects on umbilical artery tone, *Am J Obstet Gynecol*, 187, 641-647.
- Dennedy, M.C., Friel, A.M., Houlihan, D.D., Broderick, V.M., Smith, T., Morrison, J.J. (2004). Cannabinoids and the human uterus during pregnancy, *Am J Obstet Gynecol*, 190(1), 2-9.
- Derbent, A. ve Turhan, N.Ö. (2009). Erken doğum riski ve tahmini, *Yeni Tıp Derg*, 26, 139-144.

- Dessy, C., Moniotte, S., Ghisdal, P., Havaux, X., Noirhomme, P., Balligand, J.L. (2004). Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization, *Circulation*, 110(8), 948-954.
- Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor, *Science*, 258, 1946-1949.
- Dmitrieva, N. and Berkley, K.J. (2002). Contrasting Effects of WIN 55212-2 on Motility of the Rat Bladder and Uterus, *The Journal of Neuroscience*, 22(16), 7147-7153.
- Dong, Y.L., Gangula, P.R.R., Yallampali, C. (1996). Nitric oxide synthase isoforms in the rat uterus: differential regulation during pregnancy and labour, *J Reprod Fertil*, 107, 249-54.
- Drury, A.N. ve Szent-Györgyi, A. (1929). The physiological activity of adenine compounds with especial reference to their action upon the mammalian heart, *J Physiol*, 68(3), 213-37.
- Duckitt, K. and Thornton, S. (2002). Nitric oxide donors for the treatment of preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 3.
- Dudenhausen, J.W., Friese, K., Kirschner, W. (2007). Präkonzeptionelle Gesundheitsberatung und Beratung zur Wahl der Geburtsklinik als weitere Instrumente zur Verringerung von Frühgeburten, *Z Geburtsh Neonatol*, 211,142-146.
- Durukan, A., Güngör, G., Yüce, Ö.Y. (2008). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*, Öncü Basımevi, Ankara.
- Ekerhovd, E., Weidegard, B., Brannstrom, M., Norstrom, A. (1999). Nitric oxidemediated effects on myometrial contractility at term during prelabor and labor, *Obstet Gynecol*, 93, 987-994.
- El-Talatini, M.R., Taylor, A.H., Konje, J.C. (2009a). Fluctuation in anandamide levels from ovulation to early pregnancy in in-vitro fertilization-embryo transfer women, and its hormonal regulation, *Hum Reprod*, 24, 1989-1998.
- El-Talatini, M.R., Taylor, A.H., Konje, J.C. (2009b). The relationship between plasma levels of the endocannabinoid, anandamide, sex steroids, and gonadotrophins during the menstrual cycle, *Fertil Steril*, 93, 1986-1996.
- Emorine, L.J., Marullo, S., Briand-Sutren, M.M., Patey, G., Tate, K., Delavie-Klutchko, C., Strosberg, A.D. (1989). Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor, *Science*, 245, 1118-1121.
- Epstein, F.H. (1982). Mechanism of disease, *N Engl J Med*, 307, 1618.
- Eşsizoglu, A. ve Yıldırım, E.A. (2009). Nitrik oxide in the psychobiology of mental disorders, *Dicle Tıp Derg*, 36(1), 67-74.
- Euro-Peristat Project. (2008). *European Perinatal Health Report*, (www.europeristat.com/our-publications/european-perinatal-health-report.html)
- Ferreirós, N., Labocha, S., Walter, C., Lötsch, J., Geisslinger, G. (2013). Simultaneous and sensitive LC-MS/MS determination of tetrahydrocannabinol and metabolites in human plasma, *Anal Bioanal Chem*, 405(4), 1399-1406.
- Fessler, M.B., Arndt, P.G., Just, I., Nick, J.A., Malcolm, K.C., Worthen, G.S. (2007). A dual role for RhoA in suppression and induction of cytokines in the human neutrophil, *Blood*, 109(3), 1248-1256.
- Flood, K. and Malone, F.D. (2012). Prevention of preterm birth. *Seminars Fetal Neonat Med*, 17, 58-63.

- Fowler, C.J., Holt, S., Nilsson, O., Jonsson, K.O., Tiger, G., Jacobsson, S.O. (2005). The endocannabinoid signaling system: pharmacological and therapeutic aspects, *Pharmacol Biochem Behav*, 81, 248-262.
- Fuchs, A.R. and Fuchs, F. (1996). *Physiology and endocrinology of parturition, Obstetrics. Normal & problem pregnancies*, Churchill Livingstone Inc. 3th Ed, New York, 5, 111-136.
- Gabor, H. and James, M.R. (1982). Biochemistry and pharmacology of the myometrium and labor: regulation at the cellular and molecular levels, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 142, 225–237.
- Galiegue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carriere, D., Carayon, P. (1995). Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations, *Eur J Biochem*, 232, 54-61.
- Garfield, R.E., Ali, M., Yallampalli, C., Izumi, H. (1995). Role of gap junctions and nitric oxide in control of myometrial contractility, *Semin Perinatol*, 19, 41-45.
- Gelişen, O. (2001). Erken Doğum, *Maternal-fetal tıp & perinatoloji'de*, MN Medikal&Nobel, İstanbul, 1149s.
- Gelisen, O. (2002). Erken doğum. *Maternal-fetal tıp & perinatoloji'de*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 1149s.
- Gilbert, E.S. and Harmon, J.S. (2002). *Yüksek Riskli Gebelik ve Doğum El Kitabı*, Palme Yayıncılık, Ankara, 123s.
- Gillman, T.A. and Pennefather, J.N. (1998). Evidence for the presence of both P1 and P2 purinoceptors in the rat myometrium, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*, 25, 592–599.
- Gladstone, M., Neilson, J.P., White, S., Kafulafula, G., van den Broek, N. (2011). Post-neonatal mortality, morbidity, and developmental outcome after ultrasound-dated preterm birth in rural Malawi: a community-based cohort study, *PLoS Medicine*, 8, 1001121.
- Goldenberg, R.L. (2002). The management of preterm labor, *Obstet Gynecol*, 100(5), 1020-1037.
- Goldenberg, R.L. and Culhane, J.F. (2005). Prepregnancy health status and the risk of preterm delivery, *Arch Pediatr Adolesc Med*, 159, 89–90.
- Goldenberg, R.L., Culhane, J.F., Iams, J.D., Romero, R. (2008). Epidemiology and causes of preterm birth, *Lancet*, 5(371(9606)), 75–84.
- Gorodeski, G.I. (2002). Regulation of transcervical permeability by two distinct P2 purinergic receptor mechanisms, *Am J Physiol Cell Physiol*, 282(1), C75-83.
- Grewal, S., Carver, J., Ridley, A.J., Mardon, H.J. (2010). Human endometrial stromal cell Rho GTPases have opposing roles in regulating focal adhesion turnover and embryo invasion in vitro, *Biol Reprod*, 83(1), 75–82.
- Guo, Y., Wang, H., Okamoto, Y., Ueda, N., Kingsley, P.J. (2005). Nacylphosphatidylethanolamine- hydrolyzing phospholipase D is an important determinant of uterine anandamide levels during implantation, *J Biol Chem*, 280, 23429–23432.
- Guyton, C.A. and Hall, E.J. (2007). *Tibbi Fizyoloji, Yüce Yayınları ve Nobel Tıp Kitabevleri*, 11. Baskı, İstanbul, 1011s.
- Haas, D.M., Caldwell, D.M., Kirkpatrick, P., McIntosh, J.J., Welton, N.J. (2012). Tocolytic therapy for preterm delivery: systematic review and network meta-analysis, *BMJ*, 345, 6226.

- Habayeb, O.M., Taylor, A.H., Evans, M.D., Cooke, M.S., Taylor, D.J., Bell, S.C. (2004). Plasma levels of the endocannabinoid anandamide in women – a potential role in pregnancy maintenance and labor?, *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 5482–5487.
- Hertelendy, F. and Zakar T. (2004). Regulation of myometrial smooth muscle functions. *Curr Pharm Des*, 10(20), 2499-2517.
- Hillard, C.J., Manna, S., Greenberg, M.J., DiCamelli, R., Ross, R.A., Stevenson, L.A., Murphy, V., Pertwee, R.G., Campbell, W.B. (1999). Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1), *J Pharmacol Exp Ther*, 289(3), 1427-1433.
- Hillard, C.J. (2000). Endocannabinoids and vascular function, *J Pharmacol Exp Ther*, 294, 27-32.
- Hinds, N.M., Ullrich, K., Smid, S.D. (2006). Cannabinoid 1 (CB1) receptors coupled to cholinergic motoneurons inhibit neurogenic circular muscle contractility in the human colon, *Br J Pharmacol*, 148(2), 191-199.
- Houdeau, E., Rousseau, A., Meusnier, C., Prud'Homme, M.J., Rousseau, J.P. Sympathetic innervation of the upper and lower regions of the uterus and cervix in the rat have different origins and routes, *J Comp Neurol*, 399, 403–412.
- Hösli, I., Sperschneider, C., Drack, G., Zimmermann, R., Surbek, D., Irion, O. (2014). Tocolysis for preterm labor: expert opinion, *Arch Gynecol Obstet*, 289(4), 903-909.
- Hudson, C.A. and Bernal, A.L. (2012). The regulation of myosin phosphatase in pregnant human myometrium, *Biochemical Society Transactions*, 40, 262–267.
- Iden, S. and Collard, J.G. (2008). Crosstalk between small GTPases and polarity proteins in cell polarization, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9, 846-859.
- Izzo, A.A., Masscolo, N., Capasso, F. (2001). The gastrointestinal pharmacology of cannabinoids, *Curr Opin Pharmacol*, 1, 597-603.
- Growcott, J.W., Wilson, C., Holloway, B., Mainwaring, S. (1993). Evaluation of ICI D7114, a putative stimulant of brown adipocytes, on histamine-contracted guinea-pig ileum, *Br. J. Pharmacol*, 1(09), 1212-1218.
- Kalant, H. (2001). Medicinal use of cannabis: History and current status, *Pain Res Manag*, 6, 80-91.
- Kalant, H. (2004). Adverse effects of cannabis on health: an update of the literature since 1996, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 28, 849-863.
- Kamm, K.E. and Stull, J.T. (1985). The function of myosin and myosin light chain kinase phosphorylation in smooth muscle, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol*, 25, 593–620.
- Kaumann, A.J. and Molenaar, P. (1997). Modulation of human cardiac function through beta-adrenoceptor populations, *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 355, 667-81.
- Kawarabayashi, T., Tsukamoto, T., Shojo, H. (1997). Changes in responsiveness of freshly isolated longitudinal muscle cells from rats uterus towards oxytocin during gestation: contractility and calcium signaling, *Mol Cell Endocrinol*, 128, 77-84.
- Kaya, T., Karadas, B., Altun, A., Sarac, İ., Bagcivan, İ. (2012). Effects and Selectivity of CL 316243, Beta-3-Adrenoceptor Agonist, in Term-Pregnant Rat Myometrium, *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 73, 63–69.
- Kenyon, S.L., Taylor, D.J., Tarnow-Mordi, W. (2001). Broad-spectrum antibiotics for spontaneous preterm labour: the randomised trial, Oracle Collaborative Group, *Lancet*, 357, 989-94.

- Khambalia, A.Z., Ford, J.B., Nassar, N., Shand, A.W., McElduff, A., Roberts, C.L. (2013). Occurrence and recurrence of diabetes in pregnancy, *Diabet Med*, 30(4), 452-6.
- Khanam, T. and Burnstock G. (2007). Changes in expression of P2X1 receptors and connexin 43 in the rat myometrium during pregnancy, *Fertil Steril*, 88(4 Suppl), 1174-9.
- King, J.F., Flenady, V., Papatsonis, D., Dekker, G., Carbonne, B. (2003). Calcium channel blockers for inhibiting preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 1.
- King, J.F., Flenady, V., Cole, S., Thornton, S. (2005). Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 2.
- Kitazawa, T., Kobayashi, S., Horiuti, K., Somlyo, A.V. and Somlyo, A.P. (1989). Receptor-coupled, permeabilized smooth muscle: role of the phosphatidylinositol cascade, G-proteins, and modulation of the contractile response to Ca²⁺, *J. Biol. Chem*, 264, 5339–5342.
- Koucký, M., Germanová, A., Hájek, Z., Pařízek, A., Kalousová, M., Kopecký, P. (2009). Pathophysiology of Preterm Labour, *Prague Medical Report*, 110(1), 13–24.
- Kramer, M.S., Papageorghiou, A., Culhane, J., Bhutta, Z., Goldenberg, R.L., Gravett, M., Iams, J.D., Conde-Agudelo, A., Waller, S., Barros, F., Knight, H., Villar, J. (2012). Challenges in defining and classifying the preterm birth syndrome, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 206(2), 108-112.
- Kumcu, E.K., Büyüknacar, H.S., Göçmen, C., Evrúke, I.C., Onder, S. (2009). Differential effect of neocuproine, a copper(I) chelator, on contractile activity in isolated ovariectomized non-pregnant rat, pregnant rat and pregnant human uterus, *Eur J Pharmacol*, 1, 158-63.
- Kupittayanant, S., Burdyga, T., Wray, S. (2001). The effects of inhibiting Rho-associated kinase with Y-27632 on force and intracellular calcium in human myometrium, *Pflügers Arch*, 443, 112–114.
- Kupittayanant, S., Luckas, M.J. and Wray, S. (2002). Effect of inhibiting the sarcoplasmic reticulum on spontaneous and oxytocin-induced contractions of human myometrium, *BJOG* 109, 289–296.
- Lamont, R.F. (2008). Antibiotics used in women at risk of preterm birth, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 199(6), 583-584.
- Lams, J.D. (2003). Prediction and early detection and of preterm labor, *Obstet Gynecol*, 101, 402–12.
- Lands, A.M., Arnold, A., McAuliff, J.P., Luduena, F.P., Brown, T.G.Jr. (1967). Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines, *Nature*, 214, 597-598.
- Larroque, B., Ancel, P.Y., Marret, S., Marchand, L., Andre, M., Arnaud, C. (2008). Neurodevelopmental disabilities and special care of 5-year old children born before 33 weeks of gestation (the EPIPAGE study): a longitudinal cohort study, *Lancet*, 371, 813–820.
- Lartey, J., Smith, M., Pawade, J., Strachan, B., Mellor, H., Bernal, A.L. (2007). Up-regulation of myometrial RHO effector proteins (PKN1 and DIAPH1) and CPI-17 (PPP1R14A) phosphorylation in human pregnancy is associated with increased GTP-RHOA in spontaneous preterm labor, *Biol. Reprod*, 76, 971–982.

- Leung, T., Chen, X.Q., Manser, E., Lim, L. (1996). The p160 RhoA-binding kinase ROK alpha is a member of a kinase family and is involved in the reorganization of the cytoskeleton, *Mol. Cell. Biol.*, 16 (10), 5313–27.
- Lezama, E.J., Konkar, A.A., Salazar-Bookaman, M.M., Miller, D.D., Feller, D.R. (1996). Pharmacological study of atypical β_3 -adrenoceptors in rat esophageal smooth muscle, *European Journal of Pharmacology*, 308, 69-80.
- Lirussi, F., O'Brien, M., Wendremaire, M., Goirand, F., Sagot, P., Dumas, M., Morrison, J.J., Bardou, M. (2010). SAR150640, a selective β_3 -adrenoceptor agonist, prevents human myometrial remodelling and activation of matrix metalloproteinase in an in vitro model of chorioamnionitis, *British Journal of Pharmacology*, 159, 1354–1366.
- Luo, L. (2000). Rho GTPases in neuronal morphogenesis, *Nature Reviews Neuroscience*, 1, 173 – 180.
- Mabie, W.C., Pernoll, M.L., Witty, J.B., Biswas, M.K. (1983). Pulmonary edema induced by betamimetic drugs, *Southern Medical Journal*, 76, 1354–60.
- Maccarrone, M., Bisogno, T., Valensise, H., Lazzarin, N., Fezza, F., Manna, C. (2002). Low fatty acid amide hydrolase and high anandamide levels are associated with failure to achieve an ongoing pregnancy after IVF and embryo transfer, *Mol Hum Reprod*, 8, 188-95.
- Maccarrone, M. (2009). Endocannabinoids: friends and foes of reproduction, *Prog Lipid Res*, 48, 344–354.
- Maccarrone, M., Valensise, H., Bari, M., Lazzarin, N., Romanini, C., Finazzi-Agro, A. (2010). Relation between decreased anandamide hydrolase concentrations in human lymphocytes and miscarriage, *Lancet*, 355, 1326–1329.
- MacDonald, A., McLean, M., MacAulay, L., MacAulay, A. M. (1999). Shaw Effects of propranolol and L-NAME on β -adrenoceptor-mediated relaxation in rat carotid artery, *Journal of Autonomic Pharmacology*, 19, 145-149.
- Mach, F. and Steffens S. (2008). The role of the endocannabinoid system in atherosclerosis, *J Neuroendocrinol*, 20, 53-57.
- Maekawa, M., Ishizaki, T., Boku, S., Watanabe, N., Fujita, A., Iwamatsu, A., Obinata, T., Ohashi, K., Mizuno, K., Narumiya, S. (1999). Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase, *Science*, 285(5429), 895-8.
- Mallem, M.Y., Gogny, M., Gautier, F., Bucas, V., Desfontis, J.C. (2003). Evaluation of beta3-adrenoceptor-mediated relaxation in intact and endotoxin-treated equine digital veins, *Am J Vet Res*, 64(6), 708-14.
- Maloni, J.A. (1996). Bed rest and High-Risk Pregnancy, *Nurs Clin of North Am*, 31(2), 313-325.
- McNamara, H.M. (2003). Problems and challenges in the management of preterm labour, *BJOG*, 110(20), 79-85.
- Meis, P., Michielutte, R., Peters, T. (1995). Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales, *Am J Obstet Gynaecol*, 173, 597.
- Montecucco, F. and Di Marzo, V. (2012). At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction, *Trends Pharmacol Sci*, 33, 331-340.
- Moore, T.R. (1995). Patterns of human uterine contractions: Implications for clinical practise, *Semin Perinatol*, 19, 64-72.

- Moran, C.J., Friel, A.M., Smith, T.J., Cairns, M., Morrison, J.J. (2002). Expression and modulation of Rho kinase in human pregnant myometrium, *Mol. Hum. Reprod.*, 8, 196–200.
- Moritoki, H., Takei, M., Kasai, T., Matsumura, Y., Ishida, Y. (1979). Possible involvement of prostaglandins in the action of ATP on guinea-pig uterus, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 211, 104-111.
- Mueller, B.K., Mack, H., Teusch, N. (2005). Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders, *Nature Reviews Drug Discovery*, 4, 387-398.
- Mulè, F., Amato, A., Baldassano, S., Serio, R. (2007). Evidence for a modulatory role of cannabinoids on the excitatory NANC neurotransmission in mouse colon, *Pharmacol Res.*, 56(2), 132-9.
- Mwansa-Kambafwile, J., Cousens, S., Hansen, T., Lawn, J.E. (2010). Antenatal steroids in preterm labour for the prevention of neonatal deaths due to complications of preterm birth, *International Journal of Epidemiology*, 39, 122–133.
- Nakao, K., Inoue, Y., Okabe, K., Kawarabayashi, T., Kitamura, K. (1997). Oxytocin enhances action potentials in pregnant human myometrium—a study with microelectrodes, *Am J Obstet Gynecol*, 177, 222–228.
- Nardin, J.M., Carroli, G., Alfirevic, Z. (2006). Combination of tocolytic agents for inhibiting preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 4.
- Nathanielsz, P.W., (1998). Comparative studies on the initiation of labor, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio*, 78(2), 127-132.
- Ninomiya, J.G. and Suzuki, H. (1983). Electrical responses of smooth muscle cells of the mouse uterus to adenosine triphosphate, *J. Physiol.*, 342, 499–515.
- Noma, K., Oyama, N., Liao, J.K. (2006). Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system, *Am J Physiol Cell Physiol*, 290, 661– 668.
- Olsan, D.M., Mijovic, J.E., Sadowsky, D.W. (1999). Control of human parturition, *Semin Perinatol*, 19, 52-53.
- Olson, D.M. and Ammann, C. (2007). Role of the prostaglandins in labour and prostaglandin receptor inhibitors in the prevention of preterm labour, *Front Biosci.*, 12, 1329-1343.
- Papatsonis, D., Flenady, V., Cole, S., Liley, H. (2005). Oxytocin receptor antagonists for inhibiting preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3.
- Papka, R.E., Traurig, H.H., Schemann, M., Collins, J., Copelin, T., Wilson, K. (1999). Cholinergic neurons of the pelvic autonomic ganglia and uterus of the female rat: distribution of axons and presence of muscarinic receptors, *Cell Tissue Res*, 296, 293–305.
- Paria, B.C., Das, S.K., Dey, S.K. (1995). The preimplantation mouse embryo is a target for cannabinoid ligand-receptor signaling, *Proc Natl Acad Sci*, 92, 9460–9464.
- Paria, B.C., Song, H., Wang, X., Schmid, P.C., Krebsbach, R.J. (2001). Dysregulated cannabinoid signaling disrupts uterine receptivity for embryo implantation, *J Biol Chem*, 276, 20523–20528.
- Park, B., Gibbons, H.M., Mitchell, M.D., Glass, M. (2003). Identification of the CB1 cannabinoid receptor and fatty acid amide hydrolase (FAAH) in the human placenta, *Placenta*, 24, 990–995.
- Pedzinska-Betiuk, A., Modzelewska, B., Kostrzevska, A., Jozwik, M. (2008). Influence of potent and selective beta-adrenoceptor agonist, CL 316243, on the contractile response of non-pregnant human myometrium, *J Physiol Pharmacol*, 59, 9, 43-54.
- Pertwee, R.G. (1997). Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors, *Pharmacol Ther*, 74, 129-180.

- Pertwee, R.G. (1999). Pharmacology of cannabinoid receptor ligands, *Curr Med Chem*, 6(8), 635-64.
- Pertwee, R.G. (2001). Cannabinoids and the gastrointestinal tract, *Gut*, 48, 859-67.
- Piper, A.S. and Hollingsworth, M. (1996). P2-purinoceptors mediating spasm of the isolated uterus of the non-pregnant guinea-pig, *British Journal of Pharmacology*, 117, 1721-1729.
- Ralevic, V. and Burnstock, G. (1998). Receptors for purines and pyrimidines, *Pharmacol Rev*, 50(3), 413-492.
- Rathi, S., Kazerounian, S., Banwait, K., Schulz, S., Waldman, S.A., Rattan, S. (2003). Functional and Molecular Characterization of β_3 -Adrenoceptors in the Internal Anal Sphincter. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2003, 305: 615-624.
- Reis, N. (2001). Erken doğum eylemi ve klinik yol (clinical-pathway örneği), *Atatürk Üniversitesi HYO Derg*, 4(1), 54-62.
- Renthal, N.E., Williams, K.C., Mendelson, C.R. (2013). MicroRNAs--mediators of myometrial contractility during pregnancy and labour, *Nat Rev Endocrinol*, 9(7), 391-401.
- Robert, L. and Goldenberg, M.D. (2002). The management of preterm labor, *Obstet Gynecol*, 100(5), 1020-1037.
- Roberts, D. and Dalziel, S.R. (2006). Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth, *CochraneDatabase of Systematic Reviews*, Issue 3.
- Romero, R., Dey, S.K., Fisher, S.J. (2014). Preterm labor: one syndrome, many causes, *Science*, 345(6198), 760-765.
- Roselli, M., Keller, P.J., Dubey, P.K. (1998). Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction, *Hum Rep*, 4(1), 3-24.
- Rouget, C., Breuiller-Fouché, M., Mercier, F.J., Leroy, M.J., Loustalot, C., Naline, E., Frydman, R., Croci, T., Morcillo, E.J., Advenier, C., Bardou, M. (2004). The human near-term myometrial beta 3-adrenoceptor but not the beta2-adrenoceptor is resistant to desensitisation after sustained agonist stimulation, *British Journal of Pharmacology*, 141, 831-841.
- Sah, V.P., Seasholtz, T.M., Sagi, S.A., Brown, J.H. (2000). The role of Rho in G protein-coupled receptor signal transduction, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 40, 459-489.
- Sanchez-Ramos, L., Kaunitz, A.M., Delke, I. (2005). Progestational agents to prevent preterm birth: a meta-analysis of randomized controlled trials, *Obstet Gynecol*, 105(2), 273-9.
- Sarma, D.N.K., Banwait, K., Basak, A., Dimarino, A.J., Rattan, S. (2003). Inhibitory Effect of β_3 -Adrenoceptor Agonist in Lower Esophageal Sphincter Smooth Muscle: In Vitro Studies, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 304, 48-55.
- Schieve, L.A., Meikle, S.F., Fere, C. (2002). Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology, *N Engl J Med*, 346, 731.
- Schleussner, E. (2013). The Prevention, Diagnosis and Treatment of Premature Labor, *Dtsch Arztebl Int*, 110(13), 227-35.
- Schmid, P.C., Paria, B.C., Krebsbach, R.J., Schmid, H.H., Dey, S.K. (1997). Changes in anandamide levels in mouse uterus are associated with uterine receptivity for embryo implantation, *Proc Natl Acad Sci*, 94, 4188-4192.

- Seasholtz, T.M., Majumdar, M., Brown, J.H. (1999). Rho as a mediator of G protein-coupled receptor signaling, *Mol. Pharmacol*, 55, 949–956.
- Sharp, P.E. and La Regina, M.C. (1998). *The Laboratory Rat*, CRC Press, Washington D.C., 104-106.
- Shimokawa, H. and Takeshita, A. (2005). Rho-kinase is an important therapeutic target in cardiovascular medicine, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 1767-1775.
- Shmygol, A., Blanks, A.M., Bru-Mercier, G., Gullam, J.E. and Thornton, S. (2007). Control of uterine Ca²⁺ by membrane voltage: toward understanding the excitation-contraction coupling in human myometrium, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1101, 97–109.
- Shnol, H., Paul, N., Belfer, I. (2014). Labor pain mechanisms, *Int Anesthesiol Clin*, 52(3), 1-17.
- Slater, M., Murphy, C.R., Barden, J.A. (2002). Purinergic receptor expression in the apical plasma membrane of rat uterine epithelial cells during implantation, *Cell Calcium*, 31(5), 201–207.
- Snyder, S.W., Rigby, S.L., Adams, H.R. (1994). Evidence for decidual modulation of contractile function in the pregnant rat uterus, *Life Sci*, 55, 349-411.
- Somlyo, A.P. and Somlyo, A.V. (2003). Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase, *Physiol Rev*, 83(4), 1325-1358.
- Ständer, S., Reinhardt, H.W., Luger, T.A. (2006). Topical cannabinoid agonists. An effective new possibility for treating chronic pruritus, *Hautarzt*, 57, 801-807.
- Su, L.L., Samuel, M., Chong, Y.S. (2010). Progestational agents for treating threatened or established preterm labour, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1.
- Taggart, M.J., Lee, Y.H., Morgan, K.G. (1999). Cellular redistribution of PKC α , rhoA, and ROK α following smooth muscle agonist stimulation, *Exp. Cell Res*, 251, 92–101.
- Taggart, M.J., Arthur, P., Zielnik, B., Mitchell, B.F. (2012). Molecular pathways regulating contractility in rat uterus through late gestation and parturition, *Obstetrics & Gynecology*, 207, 76, 15-24.
- Tahara, M., Morishige, K., Sawada, K., Ikebuchi, Y., Kawagishi, R., Tasaka, K., Murata, Y. (2002). RhoA/Rho-kinase cascade is involved in oxytocin-induced rat uterine contraction, *Endocrinology*, 143(3), 920-929.
- Tamura, M., Nakao, H., Yoshizaki, H., Shiratsuchi, M., Shigyo, H., Yamada, H., Ozawa, T., Totsuka, J. and Hidaka, H. (2005). Development of specific Rho-kinase inhibitors and their clinical application, *Biochim. Biophys. Acta*, 245–252.
- Taylor, A.H., Ang, C., Bell, S.C., Konje, J.C. (2007). The role of the endocannabinoid system in gametogenesis, implantation and early pregnancy, *Hum Reprod Update*, 13, 501–513.
- Taylor, A.H., Amoako, A.A., Bambang, K., Karasu, T., Gebeh, A., Lam, P.M. (2010). Endocannabinoids and pregnancy, *Clin Chim Acta*, 411, 921–930.
- Trabucco, E., Acone, G., Marena, A., Pierantoni, R., Cacciola, G., Chioccarelli, T. (2009). Endocannabinoid system in first trimester placenta: low FAAH and high CB1 expression characterize spontaneous miscarriage, *Placenta*, 30, 516–522.
- Ulbrich, S.E., Rehfeld, S., Bauersachs, S., Wolf, E., Rottmayer, R., Hiendleder, S., Vermehren, M., Sinowatz, F., Meyer, H.H.D., Einspainer, R. (2006). Region-specific expression of nitric oxide synthases in the bovine oviduct during the oestrous cycle and in vitro, *J Endocrinol*, 188, 205-213.

- Van Vliet, E.O., Boormans, E.M., de Lange, T.S., Mol, B.W., Oudijk, M.A. (2014). Preterm labor: current pharmacotherapy options for tocolysis, *Expert Opin Pharmacother*, 15(6), 787-97.
- Vigil, D., Cherfils, J., Rossman, K.L., Der, J.C. (2010). Ras superfamily GEFs and GAPs: validated and tractable targets for cancer therapy, *Nature Reviews Cancer*, 10, 842–857.
- Voipio, H. and Nevalainen, T. (1998). Improved method for vaginal plug detection in rats, *Scand J Lab Anim Sci*, 25, 5-9.
- Vural, I.M., Ozturk, G.S., Sarioglu, Y. (2009). Functional characterization of nonadrenergic noncholinergic neurotransmitter release via endocannabinoids: an in vitro study in rabbit corpus cavernosum, *J Sex Med.*, 6(3), 717-29.
- Wafa, R., Al-Omari, Haider, B., Enas, M. (2006). Atosiban and nifedipine in acute tocolysis: A comparative study, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 128, 129-34.
- Wang, J., Paria, B.C., Dey, S.K., Armant, D.R (1999). Stage-specific excitation of cannabinoid receptor exhibits differential effects on mouse embryonic development, *Biol Reprod*, 60, 839–844.
- Wang, H., Matsumoto, H., Guo, Y., Paria, B.C., Roberts, R.L. (2003). Differential G protein-coupled cannabinoid receptor signaling by anandamide directs blastocyst activation for implantation, *Proc Natl Acad Sci*, 100, 14914–14919.
- Wang, H., Xie, H., Dey, S.K. (2006). Endocannabinoid signaling directs periimplantation events, *AAPS J*, 8, E425–E432.
- Wang, H., Xie, H., Dey, S.K. (2008). Loss of Cannabinoid Receptor CB1 Induces Preterm Birth, *PLoS ONE*, 3(10), e3320.
- Wenger, T., Fragkakis, G., Giannikou, P., Probonas, K., Yiannikakis, N. (1997). Effects of anandamide on gestation in pregnant rats, *Life Sci*, 60, 2361–2371.
- Wenger, T., Toth, B.E., Juaneda, C., Leonardelli, J., Tramu, G. (1999). The effects of cannabinoids on the regulation of reproduction, *Life Sci*, 65, 695-701.
- World Health Organization, Howson, C.P., Kinney, M.V., Lawn, J.E. editor(s). (2012). *Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth*, March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WHO, Geneva.
- Woodcock, N.A., Taylor, C.W., Thornton, S. (2004). Effect of an oxytocin receptor antagonist and rho kinase inhibitor on the $[Ca^{++}]_i$ sensitivity of human myometrium, *Am. J. Obstet. Gynecol*, 190, 222–228.
- Word, R.A., Kamm, K.E., Casey, M.L. (1992). Contractile effects of prostaglandins, oxytocin, and endothelin-1 in human myometrium in vitro: refractoriness of myometrial tissue of pregnant women to prostaglandins E2 and F2 alpha, *J Clin Endocrinol Metab*, 75, 1027–1032.
- Wray, S. (2007). Insights into the uterus, *Exp Physiol*, 92, 621–631.
- Yallampali, C., Garfield, R.E., Byam-Smith, M. (1993). Nitric oxide inhibits uterine contractility during pregnancy but not during delivery, *Endocrinol*, 133, 1899–1902.
- Yurtçu, N., Cetin, A., Güvenal, T., Cetin, M. (2001). Zamanlamalı Gebeligi Olan Sıçan Elde Edilmesinde Pediatrik Otokop ile Vajinal Kopulatuvar Plug Arastırması Yararlı Bir Yöntem Olabilir Mi, 3, 205-208.
- Zeza, L., Ralli, E., Conti, E., Passerini, J., Autore, C., Caserta, D. (2014). Hypertension in pregnancy: the most recent findings in pathophysiology, diagnosis and therapy, *Minerva Ginecol*, 66(1), 103-26.
- Ziganshin, A.U., Zaitzev, A.P., Zefirova, J.T., Ziganshina, L.E. (2003a). P2 receptor-mediated responses in pregnant human uterus, *Biomed. Res*, 14, 171–173.

- Ziganshin, A.U., Zefirova, J.T., Zaitcev, A.P. (2003b). The involvement of prostaglandins and NO in ATP-induced contractions of human pregnant uterus, *Kazan. Med. J.*, 84, 295–298.
- Ziganshin, A.U., Zaitcev, A.P., Khasanov, A.A., Shamsutdinov, A.F., Burnstock, G. (2006). Term-dependency of P2 receptor-mediated contractile responses of isolated human pregnant uterus, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 129(2), 128–134.
- Zygmunt, P.M., Hogestatt, E.D., Waldeck, K., Edwards, G., Kirkup, A.J., Weston, A.H. (1997). Studies on the effects of anandamide on rat hepatic artery, *Br J Pharmacol*, 122, 1679-86.

İZİNLER

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Sayı : B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/ 80
Konu : Etik Kurul Kararı hk.

07.11.2013

Sayın
Doç.Dr.Bülent SARAÇ
Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07.11.2013 tarihinde Prof.Dr.Ömer POYRAZ başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

Doç.Dr.Bülent SARAÇ'ın yürüttüçülüğünü yapmış olduğu 01.11.2013 tarih ve 398 sayılı "İzole gebe sıçan myometriyumunun kasılma hareketleri üzerinde adrenerjik, purinerjik, kannabinoid ve rhoA/rho-kinaz sistemine etkili ajanların yanıtlarının incelenmesi" isimli Doktora Tezi Projesi Etik Kurulumuzca kabul edilmiştir.

Prof.Dr.Eray BULUT
Üye

Prof.Dr.Mustafa TUBAN
Üye

Doç.Dr.İhsan HUBBEZOĞLU
Üye

Doç.Dr.Zübeyda AKIN-POLAT
Üye

Doç.Dr.Bülent SARAÇ
Üye

Doç.Dr.Mehmet TUZCU
Üye

Yrd.Doç.Dr.Gülşay YILDIRIM
Üye

Yrd.Doç.Dr.Hakan İŞİDAN
Üye

Uz.Vet.Hek.Yücel YALMAN
Üye – Başkanvekili

Semiha EKİNCİ
Sivil Üye

Turhan DUYMUŞ
Sivil Üye

Prof.Dr.Ömer POYRAZ
Başkan

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Merve ERGÜL
Doğum Yeri ve Tarihi	Kayseri - 1986
Medeni Hali	Evli
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, 58140-Sivas
E-posta Adresi	minanir@cumhuriyet.edu.tr mergulmerve@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Kayseri Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi, 2004
Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 2008
Ünvan	Araştırma Görevlisi

İş Tecrübesi

Kayseri Yahyalı Devlet Hastanesi	Hastane Eczacısı, 2009
Erciyes Üniversitesi	Araştırma Görevlisi, 2009-2012
Cumhuriyet Üniversitesi	Araştırma Görevlisi, 2012-