



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**OKSİTOSİN RESEPTÖR DESENSİTİZASYONU
OLUŞTURULMUŞ GEBE VE GEBE OLMAYAN
SIÇAN UTERUS DOKUSUNDA TRPV4
KANALLARININ ETKİSİ**

Merve KILIÇ

DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Mine DUMAN

TRABZON-2022

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eserim olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

24.02.2023
Merve KILIÇ

İthaf

Doktora tezimi, herşeye rağmen bitirebildiğim için kendime ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK SAYFASI	
KABUL ve ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ	xvi
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Anne Ölümü	3
2.2. Doğum	4
2.2.1. Doğum Eylemi Fizyolojisi	4
2.2.2. Doğum Sonrası Kanama	6
2.3. Uterus	6
2.3.1. Uterus Anatomisi	7
2.3.2. Uterusun Kanlanması	8
2.3.3. Uterusun İnnervasyonu	8
2.3.4. Uterus Kaslarının Kasılması	8
2.3.5. Uterus Atonisi	11
2.4. Oksitosin	12
2.4.1. Oksitosin Reseptörü	14
2.4.2. Oksitosin Reseptör Desensitizasyonu	17
2.5. TRP Kanalları	19
2.5.1. TRPV4 Kanalları ve Uterus	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM	24
3.1. Gereç	24

3.1.1. Deney Hayvanları	24
3.1.1.1. Gebe Sıçanlar	24
3.1.1.2. Gebe Olmayan Sıçanlar	24
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar	24
3.1.3. Kullanılan Solüsyonlar	25
3.2. Yöntemler	26
3.2.1. Deney Protokolü ve Metodlar	26
3.2.2. Miyometrial Striplerin Hazırlanışı	26
3.2.2.1. Gebe Sıçan Miyometrial Striplerin Hazırlanışı	26
3.2.2.2. Gebe Olmayan Sıçan Miyometrial Striplerin Hazırlanışı	26
3.2.3. İzole Organ Banyosu	26
3.2.4. Deney Protokolleri	28
3.2.5. Veri Analiz ve İstatistik	30
3.2.5.1. Veri Analizi	30
3.2.5.2. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
4.1. Gebe Hayvan Yanıtları	32
4.1.1. Gebe Hayvan Oksitosin Yanıtları	32
4.1.2. Gebe Hayvan GSK1016790A Yanıtları	34
4.1.3. Gebe Hayvan Oksitosin-GSK1016790A Yanıtları	37
4.1.3.1. Gebe Hayvan PSS’de Bekletilmiş Dokuların OKS-GSK1016790A Yanıtları	37
4.1.3.2. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokuların OKS-GSK1016790A Yanıtları	41
4.1.4. Gebe Hayvan OKS-HC067047 Yanıtları	43
4.1.4.1. Gebe Hayvan PSS’de Bekletilmiş Dokuların Oksitosin-HC067047 Yanıtları	43
4.1.4.2. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 Varlığında Oksitosin Yanıtları	45
4.1.5. Gebe Hayvan GSK1016790A-HC067047 Yanıtları	48
4.1.5.1. Gebe Hayvan PSS’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 Varlığında GSK1016790A Kasılma Yanıtları	48
4.1.5.2. Gebe hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 Varlığında GSK1016790A Yanıtları	50
4.1.6. Gebe Hayvan OKS ve GSK1016790A Birlikte Kullanım Yanıtları	53

4.1.6.1. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokularda OKS Varlığında Kümülatif GSK1016790A Yanıtları	53
4.1.6.2. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokularda GSK1016790A Varlığında Kümülatif OKS Yanıtları	54
4.2. Gebe Olmayan Hayvan Yanıtları	58
4.2.1. Gebe Olmayan Hayvan OKS Yanıtları	58
4.2.2. Gebe Olmayan Hayvan GSK1016790A Yanıtları	61
4.2.3. Gebe Olmayan Hayvan OKS- GSK1016790A Yanıtları	63
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	64
6. KAYNAKLAR	71
EKLER	77
EK 1. Etik Kurul Onayı	78
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Anne ölüm ölçekleri	4
Tablo 2.	Çalışmada kullanılan kimyasallar	25
Tablo 3.	Gebe sıçan grupları	28
Tablo 4.	Gebe olmayan sıçan grupları	29



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa
Şekil 1.	İnsan uterus kesiti 7
Şekil 2.	Uterus miyositlerinde kasılma ve gevşemenin fizyolojik yolları 10
Şekil 3.	Oksitosin molekülünün kimyasal yapısı 13
Şekil 4.	Oksitosin ve oksitosin reseptörünün yapısının şematik gösterimi 15
Şekil 5.	Oksitosin reseptörünün hücre içi sinyal yolları 16
Şekil 6.	Oksitosin reseptörü aracılığı ile aktive edilen kalsiyum kanalları 16
Şekil 7.	G-protein kenetli reseptör desensitizasyonu 18
Şekil 8.	TRP kanallarının yapısı 20
Şekil 9.	TRP kanal alt aileleri şematik gösterimi 21
Şekil 10.	PSS’de bekletilen prokollere ait iş akış şeması 27
Şekil 11.	OKS’de bekletilen prokollere ait iş akış şeması 27
Şekil 12.	HC067047 uygulanan protokollere ait iş akış şeması 27
Şekil 13.	Veri analizi grafiği 30
Şekil 14.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının EAA değişim grafiği 32
Şekil 15.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % EAA değişim grafiği 32
Şekil 16.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % frekans değişim grafiği 33
Şekil 17.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % amplitüd değişim grafiği 33
Şekil 18.	Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının EAA değişim grafiği 34

Şekil 19.	Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının % EAA değişim grafiği	35
Şekil 20.	Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının % frekans değişim grafiği	35
Şekil 21.	Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının % amplitüd değişim grafiği	36
Şekil 22.	Gebe hayvan kümülatif GSK1016790A yanıtları eğri altında kalan alan kümülatif doz değişim verilerinin değerlendirilmesi	36
Şekil 23.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin EAA değişim grafiği.	37
Şekil 24.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği	38
Şekil 25.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği	38
Şekil 26.	Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği	39
Şekil 27.	Gebe hayvan PSS’de bekletilmiş dokuda kümülatif OKS-GSK1016790A yanıtları doz değişim eğri altında kalan alan verilerinin değerlendirilmesi	39
Şekil 28.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin %EAA değişim grafiği	40
Şekil 29.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği	41

Şekil 30.	Gebe hayvan grup 2 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği	41
Şekil 31.	Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği	42
Şekil 32.	Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği	43
Şekil 33.	Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği	43
Şekil 34.	Gebe hayvan grup 2 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği	44
Şekil 35.	Gebe hayvan grup 2 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği	45
Şekil 36.	Gebe hayvan grup 2 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği	45
Şekil 37.	Gebe hayvan grup 4 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 13 (PSS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 7 (PSS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği	47

- Şekil 38.** Gebe hayvan grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 13 (PSS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 7 (PSS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği 47
- Şekil 39.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin EAA değişim grafiği 48
- Şekil 40.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin %EAA değişim grafiği 49
- Şekil 41.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği 49
- Şekil 42.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği 50
- Şekil 43.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği 51
- Şekil 44.** Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği 52

Şekil 45.	Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği	52
Şekil 46.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği	54
Şekil 47.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği.	54
Şekil 48.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği.	55
Şekil 49.	Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği.	55
Şekil 50.	Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği.	57
Şekil 51.	Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği.	57
Şekil 52.	Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği.	58
Şekil 53.	Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği.	58
Şekil 54.	Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği	59

- Şekil 55.** Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği 60
- Şekil 56.** Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği 60
- Şekil 57.** Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği 61
- Şekil 58.** Gebe olmayan hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği. 62
- Şekil 59.** Gebe olmayan hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. 62

KISALTMA, SİMGE ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

Ca⁺²	Kalsiyum
EAA	Eğri altında alan
GRK	G-protein reseptör kinaz
GTP	Guanozintrifosfat
IP₃	İnositol trifosfat
MAPK	Mitojen aktive protein kinaz
MBS	Miyozin bağlayan bölge
MHZ	Miyozin hafif zincir
MHZK	Miyozin hafif zincir kinaz
OKS	Oksitosin
OTR	Oksitosin Reseptörü
PIP2	Fosfatidilinositid 4,5 bifosfat
PKC	Protein kinaz
PLC	Fosfolipaz C
PPH	Post partum hemoraji
PSS	Fizyolojik tuz solüsyonu
ROK	Rho-kinaz
SR	Sarkoplazmik retikulum
TRP	Transient reseptör potansiyeli
TRPA	Transient reseptör potansiyeli ankirin
TRPC	Transient reseptör potansiyeli kanonik
TRPM	Transient reseptör potansiyeli melastin
TRPML	Transient reseptör potansiyeli mukolipin
TRPP	Transient reseptör potansiyeli polisistin
TRPV4	Transient reseptör potansiyeli vaniloid 4

Formüller

CaCl₂

Kalsiyum klorür

KCl₂

Potasyum klorür

KH₂PO₄

Potasyum fosfat monobazik

MgSO₄

Magnezyum sülfat

MOPS

3-(N-morfolino) propansulfonik asit

NaCl

Sodyum klorür

NaH₂PO₄·H₂O

Sodyum fosfat monobazik

NaHCO₃

Sodyum bikarbonat

Simgeler

α

Alfa

β

Beta

μ

Mikro

ÖZET

Oksitosin Reseptör Desensitizasyonu Oluşturulmuş Gebe ve Gebe Olmayan Sıçan Uterus Dokusunda TRPV4 Kanallarının Etkisi

Oksitosin doğum olayındaki en önemli hormondur. Uterus kontraksiyonlarının düzenlenmesinden sorumludur. Oksitosine devamlı yüksek miktarda maruziyet oksitosin reseptör desensitizasyonuna neden olur. Oksitosin reseptör desensitizasyonu uterus düz kaslarının doğum sonrası kasılamamasına (uterus atonisi) sebep olarak post partum hemoraji (PPH) yani doğum sonrası kanamaya yol açar. Bu çalışmada Oksitosin kullanımındaki sınırlamalar göz önünde bulundurularak uterus kasılmalarının düzenlenmesinde yeni bir tedavi hedefi bulunması amaçlanmıştır.

“Transient reseptör potansiyeli (TRP) kanalları” kalsiyum (Ca^{+2}) geçirgen katyonik bir kanal ailesidir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu ailenin bir üyesi olan Transient reseptör potansiyeli vaniloid 4 (TRPV4) kanallarının uterus miyometrial dokularında var oldukları, gebelikle beraber hem m-RNA hem de protein düzeyinde arttıkları tespit edilmiştir. TRPV4 kanal antagonistlerinin uterus kasılmalarının azaltılmasında ve erken doğumun önlenmesinde kullanılabilecekleri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. TRPV4 kanal agonisti GSK1016790A'nın sıçanlarda uterus kasılmalarını artırdığı gösterilmiştir. Ancak oksitosin desensitizasyonunda bu kanalların rolleri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada izole organ banyosu ortamında oksitosin desensitizasyonu geliştirilen gebe ve gebe olmayan sıçanların uterus stripleri TRPV4 agonist ve antagonistine maruz bırakılarak uterus kasılmaları kaydedildi. Söz konusu kanalların oksitosin desensitizasyonunda uterus dokusu üzerindeki etkileri araştırıldı.

Gebe ve gebe olmayan sıçanlarda oksitosin desensitizasyonu gerçekleşmiş dokularda GSK1016790A'nın oksitosin kadar kontraksiyonları artırdığı banyo ortamında GSK1016790A'nın varlığında kümülatif oksitosin uygulanmasının tek başına oksitosin uygulanmasından daha etkili olduğu tespit edildi. Bu etkinin farklı mekanizmalarla hücre içi Ca^{+2} düzeyini artırıyor olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Oksitosin, Oksitosin reseptör desensitizasyonu, Postpartum hemoraji, TRPV4 kanalları, Uterus atonisi

ABSTRACT

Effects of TRPV4 Channel in Pregnant and Non-pregnant Rat Uterine Tissue Induced by Oxytocin Receptor Desensitization

Oxytocin is the most important hormone in the labor. It is responsible for the regulation of uterine contractions. Continuous exposure to high doses oxytocin causes oxytocin receptor desensitization. Oxytocin desensitization causes postpartum haemorrhage (PPH), which is caused by failure in the contraction of the uterus following delivery (uterine atony). These limitations in the use of oxytocin have led to need for new therapeutic targets in the regulation of uterine contractions.

Transient receptor potential (TRP) channels' are superfamily of cation channels mostly permeable to calcium. In recent years studies have shown that the presence of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) channels, a member of this family, are present in uterine myometrial tissues. It was also found that mRNA and protein levels of these channels are increased with pregnancy. Studies have shown that TRPV4 channel antagonists can be used to reduce uterine contractions and prevent preterm labor. TRPV4 channel agonist GSK1016790A have also been shown to increase contractions rat uterus. However, no study has been done on the role of these channels in oxytocin desensitization.

In this study, uterus strips obtained from pregnant and nonpregnant rats, who developed Oxytocin desensitization in isolated organ bath environment, were exposed to TRPV4 agonist and antagonist. Uterus contractions were recorded and the effects of these channels in Oxytocin desensitization on uterine tissue were investigated.

In pregnant and non pregnant rats, it was determined that GSK1016790A increased contractions as much as oxytocin in oxytocin desensitized tissues, and cumulative oxytocin administration in the presence of GSK1016790A in organ bath was more effective than oxytocin administration alone. It is thought that this effect is due to the fact that they increase the intracellular Ca^{+2} level by different mechanisms.

Keywords: Oxytocin, oxytocin receptor desensitization, postpartum haemorrhage, TRPV4 channels, uterine atony

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bu çalışmada Oksitosin desensitizasyonu oluşturulmuş gebe ve gebe olmayan sıçan uterus dokusunda Transient reseptör potansiyeli vanilloid 4 (TRPV4) kanallarının doku kontraktilitesine etkisi araştırılmıştır.

Anne ölümü; ölüm nedenine bakılmaksızın gebelik sırasında veya gebelik sonlanmasından sonraki 42 gün içerisinde meydana gelen ölümler olarak tanımlanmaktadır (1). Her yıl yaklaşık 200 milyon kadının gebe kaldığı düşünüldüğünde anne sağlığının çok önemli bir konu olduğu anlaşılmaktadır. Tüm anne ölümlerinin %75'ini oluşturan başlıca komplikasyonlar; şiddetli kanama, enfeksiyonlar, hamilelik sırasında yüksek tansiyon ve uygun olmayan koşullarda kürtajdır. Amerika'da anne ölümlerinin %11'inin doğum sonrası kanamadan kaynaklandığı belirtilmiştir (2, 3). Türkiye Ulusal Anne Ölümleri Raporu'na göre doğum sonrası kanama görülme sıklığı 2005 yılında %8 olarak saptanmıştır (4).

Doğum sonrası kanamalarının en önemli nedeni uterus atonisidir (1). Uterus atonisi doğum sırasında salgılanan endojen oksitona yanıt olarak uterus miyometriyal hücrelerinin yeterince kasılamamalarıdır (5). Uterus atonisi tedavisinde ilk seçenek olarak oksitosinin kullanıldığı ancak oksitosine devamlı maruziyet sonucunda oksitosin reseptör desensitizasyonu geliştiği ve oksitosinin atoniyi durdurmada klinik düzeyde yetersiz kaldığı bilinmektedir (3). Uterus atonisinin yeni ve daha etkili ajanlarla tedavi edilmesi, atoniye neden olan fizyolojik olayların incelenmesi anne ölümlerinin önlenmesinde büyük öneme sahiptir.

Oksitosin hipotalamustaki paraventricüler nükleus ve supra optik nükleusta yer alan magnoselüler nöronlar tarafından sentezlenip hipofiz bezinin arka lobundan dolaşıma verilen bir nanopeptid yapıli hormondur (6). Oksitosin miyometrial hücre yüzeylerindeki oksitosin reseptörlerine (OTR) bağlanarak etki gösterir. OTR, rhodopsin tipi sınıf-1 G-protein kenetli reseptör ailesinin üyesidir. Oksitosine devamlı ve aşırı maruziyet OTR desensitizasyonuna neden olur. Oksitosin desensitizasyonu miyometrial hücrelerin oksitosine verdiği kontraksiyon cevabının bozulmasına buna bağli olarak uterus kontraksiyonlarının sağlanamaması ve doğum sonrası kanamanın durdurulamamasına neden olur (7).

Transient reseptör potansiyel (TRP) iyon kanalları non selektif- seçici olmayan katyon kanallarıdır. Aktivasyon mekanizmaları ve seçicilikleri bakımından diğeri iyon kanallarından daha fazla çeşitlilik gösterdiklerinden dikkat çekicidirler (8). Bu grubun bir alt

tipi de Transient reseptör potansiyeli vanilloid (TRPV) kanallarıdır. TRPV kanalları Ca^{+2} Na ve Mg iyonlarına geçirgendir, endojen ligandlar, ısı, mekanik ve osmotik stres tarafından aktive edilen duyuşsal aracılar olarak işlev görürler (9). Literatürdeki çalışmalar bu grubun bir alt tipi olan TRPV4 kanallarının uterus dokusunda hem myometrial hem endometrial düzeyde var olduğunu göstermiştir (10). Yapılan çalışmalarda özellikle doğum eyleminin yaklaştığı son dönemde bu kanalların ekspresyonunun arttığı, TRPV4 kanal agonistlerinin uterus kontraktilesini arttırdığı ve oksitosinin gösterdiği kontraktil etkinin TRPV4 antagonistleri varlığında azaldığı gösterilmiştir (11). Doğum eylemini takiben gerçekleşen OTR desensitizasyonun oluşmasında ve tedavi edilmesinde TRPV4 kanallarının bir rolü olabileceği fikrini düşündürmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında, uterus dokusunda OTR desensitizasyonunda TRPV4 kanallarının rolünü incelemek üzere izole organ banyosu yöntemi kullanılarak deneysel çalışmalar yapılmıştır. Gebe ve gebe olmayan Sprague-Dawley sıçan gruplarının uterusları kullanılmıştır. İzole organ banyosuna asılan miyometrial striplere oksitosin, TRPV4 agonist ve antagonist kullanılarak söz konusu ajanların uterus üzerinde oluşturdukları kontraktil yanıtlar incelenmiştir.

Doğum eylemi yaklaştıkça uterus dokusunda TRPV4 ekspresyonunun artması eylemin gerçekleşmesinde bu kanalların bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Doğum eylemi sırasında uterus kontraksiyonlarını indükleyen temel endojen molekül oksitosindir. TRPV4 kanal antagonistleri varlığında oksitosinin oksitosik etkisinin azalması bu kanalların oksitosinin kontraktil etkisine katkıda bulunduğunu göstermektedir. Tüm bu veriler bir arada düşünüldüğünde; oksitosinden yeterince faydalanılamamasından kaynaklanan bir patolojinin tedavisi için aracı bir başka kanalın aktivitesi artırılarak desensitizasyon sonucunda oluşan yanıtsızlığın giderilmesinin sağlanabileceği düşünülmüştür.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmada, anne ölümlerinin en önemli nedenlerinden biri olan uterus atonisi tedavisinde gelişen OTR desensitizasyonunda literatürde daha önce incelenmemiş olan TRPV4 kanallarının rolleri araştırılmıştır. Bu kanallar, uterus atonisi tedavisinde yeni bir tedavi hedefi olarak değerlendirilmiştir. Çalışma kapsamında, izole organ banyosuna asılan gebe ve gebe olmayan sıçanlara ait miyometrial stripler üzerinde TRPV4 kanal agonistlerinin tek başlarına ya da oksitosinle beraber kullanımlarında uterus düz kası kontraktil yanıtına etkileri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anne Ölümü

Anne ölümü; gebelik süresince, doğumda ya da doğumu izleyen 42 gün içerisinde meydana gelen ölümler olarak tanımlanmaktadır. 42 gün ile 1 yıl arasında gerçekleşen ölümlere ‘geç anne ölümleri’ denir. Her yıl dünyada yaklaşık 200 milyon kadın gebe kalmaktadır. Bu yüzden anne sağlığı toplum sağlığı açısından çok önemli durumdur. 2017 yılındayapılan bir çalışmada dünyada her gün yaklaşık 810 kadın gebelik ve doğumla ilgili önlenemez nedenlerle öldüğü tespit edilmiştir. Anne ölümleri tüm dünyada tabloda belirtilen ölçeklere göre değerlendirilir (1, 12).

Tablo 1. Anne ölümü ölçekleri

Anne Ölümü Oranı	Her 100000 canlı doğumda görülen anne ölümlerinin sayısıdır. Geç anne ölümleri bu orana dahil değildir.
Anne Ölümü Hızı	Her 100000 gebelikte (canlı veya ölü doğumla sonuçlanan gebelikler ≥ 20 hafta) görülen anne ölümü sayısıdır. Geç anne ölümleri bu orana dahil değildir.
Gebelik ilişkili Ölüm Oranı	Her 100000 canlı doğumda görülen gebelikle ilişkili anne ölümlerinin sayısıdır.
Yaşam Boyu Risk	Bir kadının doğurganlık yılları boyunca kümülatif olarak hem hamile kalma olasılığını hem de bu hamileliğin sonucu olarak ölme olasılığını hesaba katar

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2000-2017 yılları arasında anne ölüm oranı dünya çapında %38 azalmıştır. Bu ölümlerin %94’ü az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde gerçekleşmiştir. Dünyada gebelikle ilişkili olarak 2017 yılında toplam 295.000 kadın ölmüştür. 2017 yılında düşük gelirli ülkelerde anne ölüm oranı 100.000 canlı doğumda 462

iken, yüksek gelirli ülkelerde 100.000 canlı doğumda 11'dir (13). Kadınlar gebelik ve doğum sırasında ya da sonrasında meydana gelen istenmeyen olaylar nedeni ile ölmektedir. Tüm anne ölümlerinin %75'ini oluşturan başlıca istenmeyen olaylar; şiddetli kanama, enfeksiyonlar, gebelik sırasında yüksek tansiyon ve uygun olmayan koşullarda kürtajdır. Sürdürülebilir kalkınma hedefleri bağlamında ülkeler 2030 yılına kadar anne ölümlerinin azaltılması için yeni bir hedef oluşturmuştur. Bu hedef küresel anne ölüm oranını 100.000 canlı doğumda 70'in altına düşürmek ve hiçbir ülkede bu oranın küresel ortalamasının iki katından fazla olmamasını sağlamaktır (1, 14).

Türkiye için incelendiğinde ise, Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre ülkemizde yılda 2 milyon civarı gebelik olduğu ve maalesef bu gebelerden 465.000'inin gebelikleri süresince hiç bakım almadığı 1998 yılı Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması'nda yayınlanmıştır. Yine aynı araştırmada son beş yıldaki doğumların %26.7'sinin evde ve %19.4'ünün sağlık personeli yardımı olmadan gerçekleştiği belirlenmiştir. Ülkemizde anne ölüm oranı her 100.000 canlı doğum için 49.2 iken, yaşam boyu anne ölüm riski 570 gebelikte birdir. Yani Türkiye'de her 570 kadından biri gebeliğe bağlı nedenler ile yaşamını yitirmektedir (4).

2.2. Doğum

2.2.1. Doğum Eylemi Fizyolojisi

Doğum eylemi; miyometrium, desidua ve servikste günler ve haftalar içerisinde kademeli olarak meydana gelen, saatler içinde hızlı değişikliklerle gebe kalma ürünlerinin (fetüs ve plasenta) atılması ile sonuçlanan ardışık entegre bir dizi değişiklik içeren fizyolojik bir süreçtir. Eylemin gerçekleşmesi için uterus kontraksiyonları ve servikal dilatasyon başlamadan önce rahim ağzında biyokimyasal bağ doku değişiklikleri meydana gelir. Tüm bu olaylar fetal membranın yırtılmasından önce tamamlanmış olur. Doğum sonrası uterus gebelik öncesi durumuna yavaşça geri döner (15, 16).

Doğum eylemi fizyolojik olarak değerlendirildiğinde uterus uyarıcılarının aktive ettiği bir süreçten çok gebeliğin uterus üzerindeki baskılayıcı etkilerinin son bulduğu bir salıverilme süreci olduğu ortaya çıkar. Örneğin miadında hareketsiz bir uterustan alınan ve izotonik bir su banyosuna yerleştirilen miyometrium şeritleri ilave uyarıcı olmadan kendiliğinden kuvvetli şekilde büzülürler. Bununla birlikte hem inhibe edici hem uyarıcı yollar uterus aktivitesinde rol oynar (17).

Gebelik sırasında uterus aktivitesi dört farklı fizyolojik aşamaya ayrılabilir. Bu evreler; inhibisyon, aktivasyon, stimölasyon ve involüsyon evreleridir. İnhibisyon evresinde inhibitörlerin etkisinde uterus işlevsel durgunluk halindedir. Bu inhibitörlere progesteron, prostasiklin, nitrik oksit ve kalsitonin örnek gösterilebilir. Aktivasyon evresinde doğum periyodu yaklaştıkça progesteronun fonksiyonel etkisinde bir geri çekilme görülür. Östrojen gibi üterotropinlerin miktarı artar. Kontraksiyon ile ilişkili proteinlerin (prostaglandin ve oksitosin gibi) ekspresyonları artar, spesifik iyon kanalları aktive olur ve gap junctionların önemli bir parçası olan connexin 43 seviyeleri artar. Bu durumda bitişik miyometrial hücreler arasında gap junction artışı olur. Bu da miyometrium içerisinde elektiriksel senkronizasyonun artışına ve kasılmaların daha etkili koordinasyonuna olanak sağlar. Stimölasyon evresinde miyometrial aktivasyonun ardından uyarıcı prostaglandinler (prostaglandin E2 ve prostaglandin F2 alfa) ve oksitosin gibi endojen ve eksojen uterotonik agonistler hazırlanmış uterusu kasılmak üzere uyarır ve doğuma yol açar. Son evre involüsyon evresidir. Doğumdan sonra uterus involüsyona uğrar yani küçülür ve eski haline döner. Bu sürece oksitosin aracılık eder (17).

Doğum eyleminin kendiliğinden başlamasını takiben müdahale yapılmadan normal fizyolojik süreci takip ederek gerçekleşen doğumlar müdahalesiz doğumlardır. Doğum eyleminin gerçekleşmesi için maternal ya da fetal sorunlar varsa dışarıdan sürece müdahale edilir. Bu doğum türüne müdahale edilen doğum denir. Bu doğumları güvenli bir şekilde gerçekleştirmek veya hızlandırmak için kullanılan yöntemlerden bazıları lavman uygulaması, epizyotomi, oksitosin indüksiyonu, amniyotomi, vakum uygulaması, elektronik fetal monitarizasyon, litotomi pozisyonu, perine traşı ve sık vajinal muayenedir (18, 19).

Doğum eylemine yapılan cerrahi bir müdahale olan sezaryen operasyonu da müdahaleli doğuma örnektir. Sezaryen açık karın kesisi ve uterusu bir kesi ile meydana gelen fetal bir doğumdur. Belgelenen ilk sezaryen milattan sonra 1020 yılında gerçekleşmiş, o günden bugüne değin büyük gelişmeler göstermiştir. Her yıl bir milyondan fazla kadının sezaryen ile doğum yapması nedeni ile günümüzde Amerika Birleşik Devletleri'nde en sık yapılan ameliyattır. Bir fetüsün vajinal yolla doğamaması pek çok nedene bağlı olabilir. Doğum distosisi, anormal fetal kalp hızı, fetüsün malprezentasyonu, çoğul gebelik, plasenta anomalileri sezaryen endikasyonu sayılabilir. İlk doğumun sezaryen ile yapılmış olması sonraki doğumlarını da sezaryenle yapılmasını zorunlu kılmaktadır (20).

Sezaryen vajinal doğuma göre konforlu bir yöntem gibi görünmesine rağmen pek çok komplikasyonu vardır. Ameliyat sonrası kanama riski bunlardan en önemlisidir. Kanama Amerika Birleşik Devletleri'nde maternal mortalitenin en önemli nedenlerindendir. Özellikle uzamış doğum eylemi ve fetal makrozomi kanama riskini artırır (20).

2.2.2. Doğum Sonrası Kanama

Doğum sonrası kanama hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde anne ölümlerinin en önemli nedenidir. Doğum sonrası kanamalar; vajinal doğumdan sonra 500 mL'nin ya da sezaryen ile doğumdan sonra 1000 mL'nin üzerinde, hemodinamide bozukluğa yol açan, anne hayatını tehdit eden, kan ve kan ürünü replasmanı gerektirecek obstetrik kanamalardır (21). Genellikle ilk 24 saat içindeki kanamalara 'erken doğum sonrası kanama', 24 saat-6 hafta arası kanamalara 'geç doğum sonrası kanama' denir. Erken doğum sonrası kanamalar düşük (500-100 mL), orta (1001-2000 mL) ve şiddetli (≥ 2000 mL) kanamalar olarak sınıflandırılabilir (22).

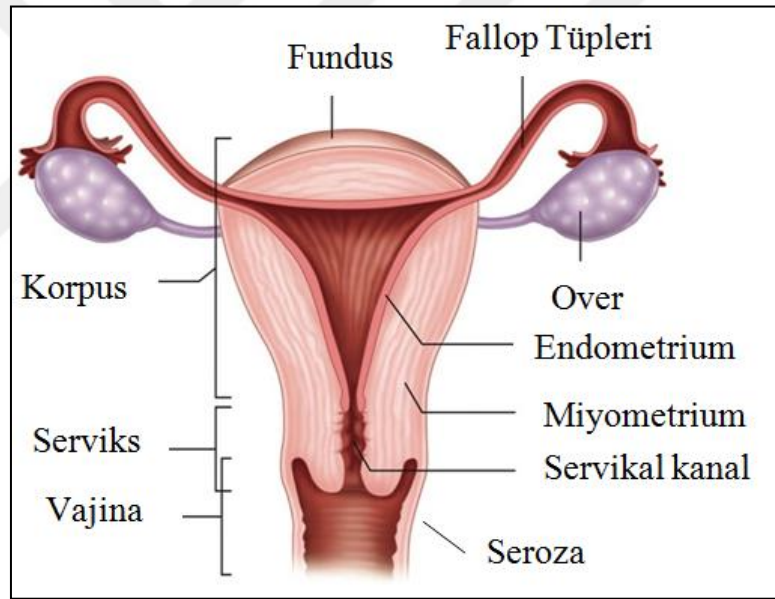
Gelişmekte olan ülkelerde anne ölümlerinde yıllık morbiditenin 20 milyon, mortalitenin ise yaklaşık 125.000 olduğu tespit edilmiştir (23). Amerika Birleşik Devletleri'nde anne ölümlerinin %11'inin doğum sonrası kanamadan kaynaklandığı belirtilmiştir (22). Türkiye Ulusal Anne Ölümleri Raporu'na göre doğum sonrası kanama görülme sıklığı 2005 yılında %8 olarak saptanmıştır. Doğum sonrası kanama vajinal doğumların yaklaşık %4'ünde, sezaryen doğumların ise %6'sında oluşur. En sık görülen nedeni doğum sonrası uterus kaslarının yeterince kasılamamasıdır (24). Bu duruma uterus atonisi denir ve olguların %60 ila 80'inden, anne ölümlerinin ise %20 ila 30'undan sorumludur. 1994-2006 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'nde doğum sonrası kanama oranının %26 arttığı ve bu durumda artan uterus atonisi oranları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (25, 26).

2.3. Uterus

Uterus gebelik, menstrüasyon ve doğum olaylarından sorumlu içi boş armut şeklinde bir organdır. Gebelik oluşumunda fallop tüpünden geçen döllenmiş yumurtayı besleyerek işlev gösterir. Yumurta daha sonra endometriuma implante olur ve burada özellikle bu amaç için geliştirilmiş damarlardan beslenir. Embriyo büyüyüp olgunlaştıkça uterus gelişen fetüse uyum sağlamak için genişler. Normal doğum sırasında serviks genişledikçe uterus kasılır ve bu da bebeğin doğumu ile sonuçlanır (27).

2.3.1. Uterus Anatomisi

Koronal kesimde bakıldığında ters bir üçgen görünümündedir. Anatomik olarak uterus, mesanenin hemen arkasında ve rektumun önünde kadın pelvisinde bulunur. Uterus yukarıdan aşağıya üç ana bölüme ayrılır. İlk kısma fundus adı verilir. Fundus, fallop tüplerinin uterusu bağlandığı geniş kavisli bir alandır. İkinci kısım olan korpus uterusun ana kısmıdır. Doğrudan fallop tüplerinin seviyesinin altında başlar ve aşağı doğru devam eder. Üçüncü kısım olan serviks ise uterusun alt bölgesi, yani rahim ağzı vajinaya açılan kısımdır. Uterus içeriden dışarıya doğru üç katmandan oluşur. En içte endometrium tabakası yer alır. menstrüel siklus sırasında dökülerek yenilenir. İkinci katman miyometrium adı verilen kalın düz kastır. Büyüyen bebeği tutmak için gebelik sırasında genişler. Doğum sırasında bebeği dışarı itmek için kasılır. En dışta yer alan katman serozadır. Uterusu kaplar ve gerektiğinde uterusun pelvis içinde hareketini sağlar (Şekil 1) (28, 29).



Şekil 1. İnsan uterus kesiti (Gentry'dan, (29))

Uterus etrafındaki pek çok ligament tarafından desteklenir. Overian ligamentler fibroz yapılıdır. Overlerin uterusun lateral yüzeyine bağlanmasını sağlar. Raund ligamenler uterus lateralinden başlar, inguinal kanaldan geçer ve labium majusa uzanır. Broad ligament uterus ve tubaları pelvis yüzeyine bağlar. Kardinal ligament uterusun başlıca ligamentlerindendir. Uterusun kanlanmasını sağlayan uterin arter ve uterin venler içinde bulundurulur. Serviks kardinal ligament tarafından pelvik duvara tutturulur. Ayrıca uterus aşağı taraftan pelvik diyagram, ürogenital diyagram ve perineal cisim tarafından desteklenir.

Uterus doğal olarak antevert/retrovert (öne eğik/arkaya eğik) ya da orta hatta uzanabilir ya da gebelikte olduğu gibi dönebilir (28, 29).

2.3.2. Uterusun Kanlanması

Uterus internal iliak arterin ön dalından çıkan uterin ve yumurtalık arterler ile kanlanmaktadır. Uterus arterleri uterusu kan sağlayan ana kan damarlarıdır. Myometriuma girerken arkuat arterlere, arkuat arterlerde daha sonra radial arterlere dallanır. Endometrium seviyesine geldiklerine bazal ve spiral arterlere dallanırlar. Uterin arterler uterusun farklı noktalarını besler menstrüasyon ve gebelik sırasında kan akışının sürdürülmesinde önemli bir rol oynarlar (30).

Uterusun fundal bölgesi yumurtalık ve fallop tüpleri lenfatik drenajı ile birlikte para-aortic lenf düğümlerine drene olur. Bazıları ayrıca raund ligament boyunca inguinal lenf düğümlerine drene olur. Uterusun alt kısımları uterus kan damarları boyunca dış ve içi iliak lenf düğümlerine drene olur (30).

2.3.3. Uterusun İnnervasyonu

Uterus esas olarak kan damarları ve miyometrial düz kasları innerve eden sempatik, parasempatik ve duyuşal sinirler tarafından beslenir. Uterin gövde ve serviksin sempatik innervasyonunun önemli bir kısmı üretro-vajinal kavşakta bulunan pelvik pleksustaki nöronlardan kaynaklanır. Uterusa giden kolinerjik sinirler esas olarak paraservikal gangliyonlardan kaynaklanır ve pelvik pleksus yolu ile uterusu girer.

Uterusun innervasyonu afferent ve efferent olmak üzere iki bileşenden oluşur. Efferent yolağı oluşturan otonomik sinir lifleri sempatik uçlarından noradrenalin, parasempatik sinir liflerinden asetil kolin salgılar. Uterusun kontraksiyonları ve kan akışı sağlanması için nörojenik komponentler çok önemlidir. Kronik pelvik ağrı, endometriyozis, adenomyozis gibi hastalıkların patofizyolojik mekanizmalarında bu komponentler rol alır (31).

Pudental sinir alt vajinaya duyuşal innervasyon sağlar. Erken doğum sırasında pudental sinir bloğu annenin ağrısını hafifletmek için bir seçenek olarak kullanılır (31).

2.3.4. Uterus Kaslarının Kasılması

Uterus düz kası miyometriyumun gebelik, doğum ve doğum sonrası sürecin sağlıklı şekilde yürütmesinde sorumlu olduğu için üreme sistemi fizyolojisinin önemli bir parçasıdır.

Miyometrium ile ilgili sorunları önleyebilmek ve tedavi edilmesini sağlayabilmek için uterus kasılmasını oluşturan ve modüle eden mekanizmaları anlamak çok önemlidir (32).

Uterus kasılması gebelikte ve gebe olunmayan dönemde menstrüel döngünün düzenlenmesinde rol alan karmaşık ve dinamik bir fizyolojik olgudur. Gebe olmayan miyometrium menstrüel döngünün farklı aşamalarında farklı kasılmalar sergiler. Bunlardan ilki uterus peristaltisi olarak da bilinen ritmik dalga benzeri kasılmalardır. İkinci tip kasılma ise sürekli kasılmalara yol açan miyometriumun fokal ve sporadik şişmesi olarak tanımlanır. Bu kasılmalar endometriumun dökülmesine hizmet eder ve sperm geçişine yardımcı olur. Gebelikte miyometrium başarılı bir doğum için sessiz kasılmayan bir durumdan aktif ve güçlü bir şekilde kasılan bir dokuya dönüşür (32).

Uterus kasılmaları hücresel bir element olan uterus miyositlerinin kasılma aktivitelerine bağlıdır. Uterus miyositleri değişken frekans, amplitud ve süreye bağlı aralıklı kasılmalar ve onları takip eden dinlenme tonuslarının olduğu fazik bir kasılma süreci gösterir. Uterus düz kaslarının kasılma mekanizması aktin ve miyozin miyoflamenteleri üzerinden yürür. Ağırlıklı olarak hücre içi kalsiyum miktarı ile düzenlenir. Fizyolojik olarak kasılmada farklılıklara yol açan kalsiyum miktarı değişiklikleri üç çeşit olabilir. Kalsiyum bazal konsantrasyonunda olabilir bu durumda myometriumun bazal tonusu korunur. Kontraktıl bir agonist stimülasyonu ile artmış kalsiyum konsantrasyonu olabilir. Bunu takiben stimülasyonun ardından dinlenme durumuna geri dönülmesi için hücre içi kalsiyumun azalması gerçekleşir (32).

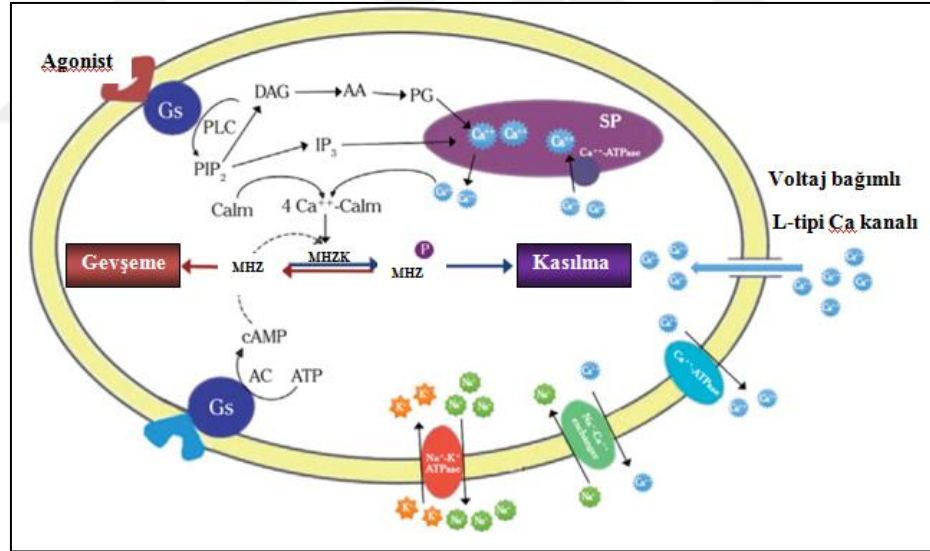
Hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı iki mekanizma ile olur. Birincisi hücre içi kalsiyum depoları olan sarkoplazmik retikulumdan (SR) hücre içine kalsiyum salıverimesi, ikincisi voltaj bağımlı kalsiyum kanalları aracılığı ile hücre dışından hücre içine kalsiyum geçişidir (28).

SR aracılığı ile hücre içi kalsiyum miktarının artışı agonist aktivasyonu ile fosfatidil inositol sinyal yolağının devreye girmesidir. Kasıcı etki oluşturan agonist moleküller olan oksitosin, endotelin, prostaglandin, anjiotensin ve bradikinin gibi pek çok hormonun reseptörü yedi transmembranal segmentli G-proteinlerine kenetli reseptörlerdir. Bu agonistlerin hücre yüzeyindeki G-protein reseptörlerine bağlanmaları ile trimerik yapıdaki G-proteinleri aktive olur. G-proteinlerinin farklı alt grupları fosfolipaz C (PLC) enzimlerini uyararak fosfatidilinositid 4,5 bifosfat (PIP₂)’den diaçilgliserol (DAG) ve inozitol 1,4,5-trifosfat (İP₃) oluşumunu katalize ederler. İP₃ sarkoplazmik retikuluma etki eder, hücre içine

kalsiyum salıverilmesini uyarır. Bu artışı takiben kalsiyuma bağlı bir protein olan ve dört kalsiyum molekülünü bağlayabilen kalmodulin proteini aktive olur. Artmış sitozolik kalsiyum kalmodulinin miyozin hafif zincir kinaz (MHZK)'ı aktive etmesiyle sonuçlanır. MHZK tarafından fosforile edilen miyozinin hafif zinciri (MHZ) miyozin-ATPaz enzimini aktive eder ve miyometriyumda kontraktıl yanıt oluşur (28).

Miyometriyum ağırlıklı olarak voltaj bağımlı L-tipi kalsiyum kanallarını içerir. T-tipi kalsiyum kanallarının varlığı da gösterilmiş ancak fonksiyonları tam anlamıyla henüz aydınlatılamamıştır. Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları aracılığı ile hücre dışı boşluktan sitozole kalsiyum akışı agonistle uyarılan IP₃ aracılı kalsiyum akışından çok daha güçlüdür.

Her iki mekanizma birlikte ele alındığında SR'dan kalsiyum salımının geçici olduğu ve hızla tükendiği farklı türlerden elde edilen deneysel verilerle desteklenmiştir. Bu durumda agonist uyarımı ve IP₃ varlığında bile ekstraselüler ortamdan kalsiyum giriş engellendiğinde oksitosinin uterusu kontraktile oluşturamadığı gözlemlenmiştir. Bu durum oksitosinin etkisine voltaj bağımlı kalsiyum kanallarının aracılık ettiğini göstermektedir (Şekil 2) (28).



Şekil 2. Uterus miyositlerinde kasılma ve gevşemenin fizyolojik yolları (Pehlivanoğlu'ndan, (28))

Bununla birlikte miyometriyumda ve diğer bazı kasılabilir dokularda hücre içi kalsiyum konsantrasyonu her zaman MHZ'nin fosforilasyon hızına paralel olarak artış göstermez. Dolayısıyla bazı durumlarda MHZ fosforilasyonu ve kasılma kalsiyumdan bağımsız bir mekanizma ile meydana gelebilmektedir. Bu durum 'kalsiyum sensitizasyon fenomeni' olarak adlandırılmaktadır (12). Kalsiyum sensitizasyonunu açıklayan

mekanizmalardan biri Rho/Rho-kinaz yolağıdır. Bu yolakta GTP-bağımlı küçük monomerik bir protein olan Rho, GTP tarafından aktive edilmekte ve onun aktivasyonu da Rho-kinaz (ROK) enzimini aktive etmektedir. Rho-kinaz enzimi miyozin fosfataz üzerindeki miyozin bağlayan bölgeyi (MBS) fosforile ederek bu enzimin aktivitesini inhibe etmektedir (Şekil. 7). Bu yolak aktive edildiğinde MHZ, miyozin fosfataz tarafından defosforile edilemeyecek ve dolayısıyla düz kasta kasılma devam edecektir (13). Miyometriyumda RhoA/Rho-kinaz yolağının varlığı gösterilmiştir (14).

2.3.5. Uterus Atonisi

Uterus atonisi doğum sırasında salınanan endojen oksitona yanıt olarak uterus miyometriyal hücrelerinin yeterince kasılamamalarıdır (4). Küresel olarak anne ölümlerinin ilk 5 nedeninden biridir. Doğum sonrası uterusun etkili bir şekilde kasılamaması Amerika Birleşik Devletleri'nde her 40 doğumdan birini zorlaştırır ve doğum sonrası kanama vakalarının en az %75 'inden sorumludur (3).

Anne kanı plasentaya uterusun spinal arterleri aracılığı ile iletilir. Plasentanın vücuttan atılmasının ardından ortamda parçalanmış spiral arterler kalır. Bu arterler kaslardan yoksun yapıdadır. Dolayısı ile mekanik olarak hemostazın sağlanabilmesi için uterus kasılmalarına bağımlıdır. Uterus yeterli kasılamazsa bu arterler kapanamaz ve doğum sonrası kanama görülür (33).

Uterus atonisi risk faktörleri olarak polihidramnios, çoğul gebelik, fetal makrozomi, hızlı doğum eylemi, uzamış doğum eylemi, doğum indüksiyonu için oksitosin kullanımı, plasentanın elle çıkarılması, anneye genel anestezi verilmesi, magnezyum sülfat gibi uterus gevşetici ajanların kullanılması, geçmişte doğum sonrası kanama geçirmiş olma öyküsü, obezite, vücut kitle indeksinin 40'ın üstünde olması ve 35 yaş üstü olma gibi nedenler tespit edilmiştir (34).

Miyometrium kasılmaları; doğum eyleminin son evresinde fetüs ve plasentanın ayrılmasından sonra plasental yatağı besleyen kan damarlarının mekanik olarak sıkışmasını sağlayarak uterus hemostazını sağlar. Lokal ve sistemik hemostatik faktörlerin koagülasyonu sağlaması ile kanama kontrol tamamen kontrol altına alınır. Bu faktörlere tip-1 plazminojen doku faktörü, sistemik koagülasyon faktörleri olan plateletler örnek verilebilir (33).

Doğum öncesi öykü ve muayenelerde risk faktörlerinin tespit edilmesi optimal kriz yönetimi şeklidir. Personel, ekipman ve kan ürünleri açısından hazırlık yapılmasına olanak sağlar. Tanı vajinal doğum ya da sezaryen operasyonunun hemen ardından fizik muayene ile konulur. Sezaryenla doğumda uterus insizyonun kapatılmasından hemen sonra doğrudan palpasyonla ya da vajinal doğumdan sonra bimanuel muayenede kanama ile birlikte yumuşak ve alışılmadık şekilde genişlemiş bir uterusun tespit edilmesi ile tanı koyulur. Uterus tonusunu düzenlemek ve kasılmaları indüklemek için ilaç tedavisine geçilir. Bu süreçte uterusu masaj yapılması da etkilidir. Doğumu takiben oluşan uterus atonisinin tedavisinde ilk seçenek olarak oksitosin kullanılır. Oksitosin dışında metil ergonovin, mizoprostol ve dinoprostol kullanılabilir (33, 35).

İlaçlı tedaviye yanıt alınamazsa cerrahi tedaviye başlanır. Uterus tamponu yapılır, uterin arter ligasyonu devamında tedaviye yanıt olmazsa histeroktomi yapılarak uterus tamamen çıkarılabilir.

Gebeliğin olmadığı durumlarda uterus kan akımı yaklaşık olarak 100 mL/dak iken gebelikte bu rakam yaklaşık olarak 700 mL/dak ulaşır. Bu da kardiyak debini %10' unu alır. Tüm medikal ve cerrahi müdahalelere rağmen bu kadar yoğun bir kan akımını olduğu durumda kanamanın durdurulamaması sonucu anne kısa sürede hayatını kaybedebilir (34).

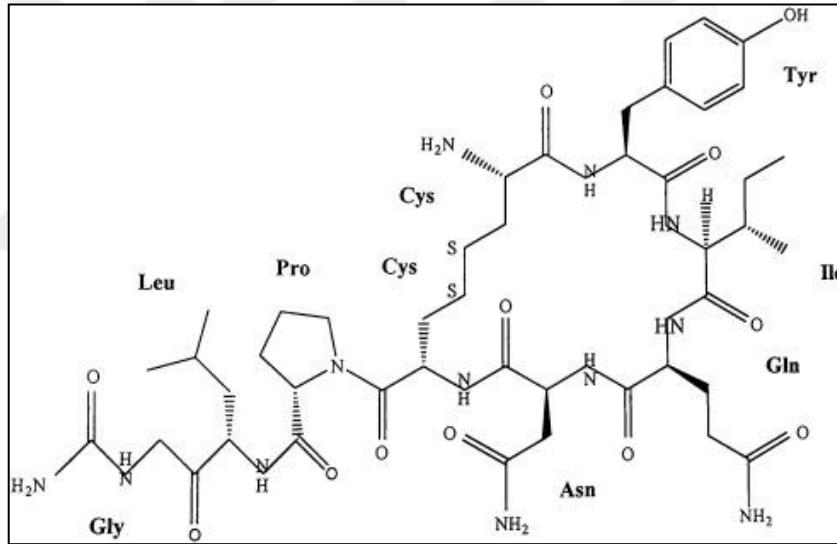
2.4. Oksitosin

Oksitosin hipotalamustaki paraventriküler nükleus ve supra optik nükleusta yer alan magnoselüler nöronlar tarafından sentezlenip hipofiz bezinin arka lobundan dolaşıma verilen bir nanopeptid yapılı hormondur (36). Emzirme ve doğumdaki rolü ile bilinir.

Oksitosinle ilgili yapılan araştırmaların geçmişi incelendiğinde ilk çalışmaların 1895'te hipofiz bezinin ve özlerinin ilk fizyolojik etkilerini ortaya çıkaran G. Oliver ve E. A. Schäfer tarafından yapıldığı görülür. 1906'da İngiliz araştırmacı Sir Henry H. Dale, tesadüfen bir kedinin erken gebelik döneminde rahmine uygulanan hipofiz ekstraktının rahim kasılma özelliklerine sahip olduğunu bulmuştur. Oksitosin ismi bu etkinin keşfini takiben yunanca hızlı doğum anlamına gelen 'oxys' ve 'tokos' kelimelerinden türetilmiştir. Arka hipofiz hormonlarının fizyolojik etkilerine ilişkin bu ilk keşifler, doğumda terapötik kullanımının yolunu açmıştır. Daha sonra 1909 yılında Ott ve Scott tarafından meme bezlerinden süt çıkışını tetikleyen etkisi tanımlanmıştır. 1953 yılında Vincent DuVigneu ve ark. yaptıkları bir çalışmada sığır hipofiz bezlerinin liyofilize arka loblarından izole edildikten sonra oksitosinin ilk başarılı dizilimini gerçekleştirmiştir (37).

Bu çalışmaları takiben oksitosinin periferel sistem üzerindeki etkilerinin yanı sıra santral sinir sistemi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Oksitosin uterus, plasenta, amnion, korpus luteum, testis ve kalp gibi dokularda bulunur, pek çok fizyolojik ve patolojik olayda rol oynar. Vücutta en önemli rolü doğum sırasında uterus kontraksiyonlarını stimüle etmesidir. Oksitosin sistemine bilimsel ilgi, son 30 yılda hem hayvanlarda hem de insanlarda çok sayıda davranışsal ve fizyolojik etkinin keşfedilmesiyle artmıştır. İnsanlarda ve diğer hayvanlarda oksitosinin anksiyolitik etkileri tespit edilmiştir. Oksitosinin intranazal uygulamaları sosyal kaygı ve psikiyatrik işlev bozuklukları tedavisinde önerilmiştir (37, 38).

Oksitosin; $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ kimyasal formülüne sahiptir. Dokuz aminoasitlik (Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-GlyNH₂) bir diziden oluşur. Bir ucu amidlenmiş karboksil grubu olan üç aminoasitlik lineer bir kısım ile iki sistein aminoasidi arasında bir disülfür bağı ile oluşmuş siklik bir kısımdan oluşur (Şekil-3).



Şekil 1. Oksitosin molekülünün kimyasal yapısı (Froemke'den,39)

Oksitosinin yapısı bir başka nanopeptid olan vazopresin ile birbirine çok benzer. İki yapı arasında iki aminoasitlik bir fark vardır. Bu iki hormonda evrimsel olarak iyi korunarak gelmiş iki nöropeptid hormondur. Vazopresine benzer şekilde başlangıçta aktif olmayan öncü peptid şeklinde sentezlenir ve nörofizin -1 içerir. Nörofizinler oksitosinin taşıma depolanma ve salınması için önemli proteinlerdir. İnsan oksitosin geni ve nörofizin-1 20p13 kromozomu üzerindedir ve üç ekzondan oluşur. Oluşan prepropeptidler büyük çekirdekli veziküllere paketlenir salınmak üzere akson ve dendritlere taşınır. Eksositozun ardından plazma ve serebrospinal sıvını yükselen pH'sı nedeniyle nörofizin-1 kolayca oksitosinden ayrılır ve oksitosin oksitosin reseptörüne bağlanacak hale gelir (39).

Oksitosinin öncelikle karaciğerde metabolize olduğu bilinmektedir. Ancak aminopeptidazların enzimatik etkileri ile plazma ve diğer bazı organlarda da metabolize olmaktadır (39).

Oksitosin vücutta pek çok doku ve beyin üzerinde major etkileri vardır. Anne davranışı ve sosyal ilişkiler için gerekli sinaptik transmisyonu modüle eder, termoregülasyonda rol alır, meme bezleri ve genital organları etkiler. Oksitosinin laktasyon dönemindeki süt atma fonksiyonu kesinlikle oksitosin gerektirdiği bilinen tek işlevidir. Oksitosin peptid eksikliği olan dişi farelerin gebe kalabildikleri, sağlıklı yavrular doğurabildikleri ancak asla süt veremedikleri tespit edilmiştir. Benzer şekilde oksitosin geni susturulmuş farelerde emzirme olmadığı ve anne bakım davranışının azaldığı görülmüştür. Oksitosin süt üretimini değil sütün dışarı atılmasını kontrol eder. Süt üretimi bir başka hipofiz hormonu olan prolaktin tarafından kontrol edilir (40, 41).

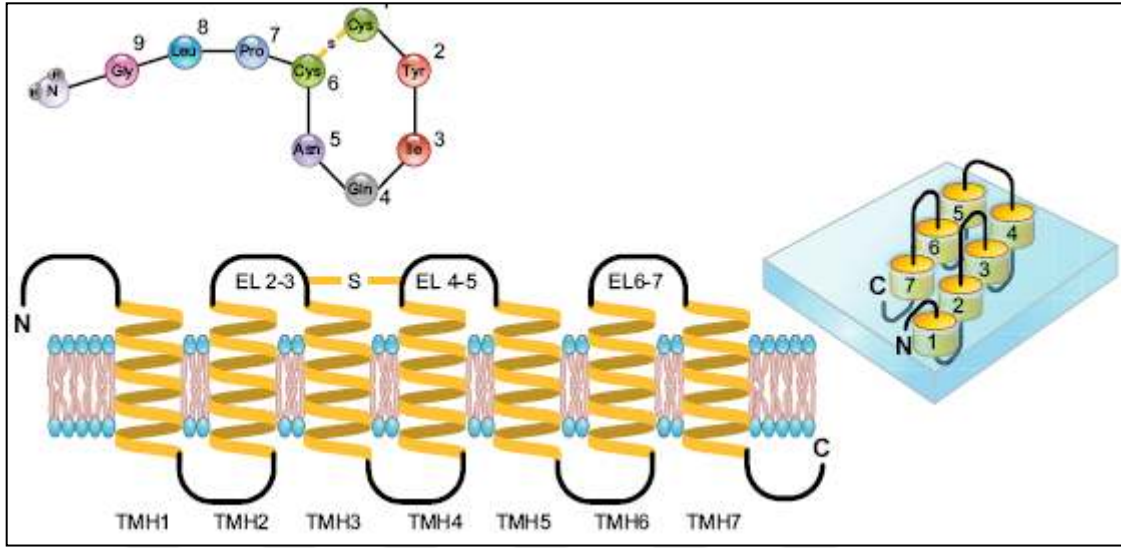
Oksitosinin uterusu iki ana işlevi vardır. Birincisi doğum sırasında fetüs ve plasentanın dışarı atılması için gerekli uterus kasılmalarını sağlar ve doğumun ardından uterusun kan damarlarının kapanmasını sağlayarak doğum sonrası kanamayı önler. Özellikle gebeliğin son döneminde oksitosin reseptör ekspresyonu artar. Doğum sonrası oksitosin reseptör miktarı hızla bazal seviyeye düşer. Böylelikle emzirme döneminde istenmeyen uterus kasılmaları önlenmiş olur. İkinci işlevi menstürel döngüde prostaglandin $F_{2\alpha}$ 'nın üretimini artırarak luteolizi sağlamaktır. Yani yumurtalık folikülünün serbest bırakılmasının ardından oluşan bir yapı olan korpus luteumun dölleme olmaması durumunda gerilemesini sağlar (37, 38).

Oksitosinin doğum ve emzirmedeki rolleri düşünüldüğünde kadın fizyolojisinin önemli bir parçası olduğu düşünülür. Fakat bunun yanında erkek üreme davranışları üzerinde de etkisi vardır. Ayrıca her iki cinsiyette de kan dolaşımından intersitisyel boşluğa kolayca geçebilir ve reseptörlerinin var olduğu kalp, böbrek, düz kas gibi dokularda etki gösterir (38).

2.4.1. Oksitosin Reseptörü

Oksitosin miyometrial hücre yüzeylerindeki oksitosin reseptörlerine (OTR) bağlanarak etki gösterir. OTR, rhodopsin tipi sınıf-1 G-protein kenetli reseptör ailesinin üyesidir. OTR geni üç intron dört ekzon içerir ve 3p25 kromozomu üzerine tek kopya halinde kodlanmıştır. Oksitosinin OTR'ye bağlanmasıyla çeşitli hücre içi sinyal yolları aktive olur. Böylece oksitosinin kontraksiyon dahil pek çok etkisi ortaya çıkmış olur (5).

OTR üç hücre dışı ve üç hücre içi döngü içeren yedi transmembranal sarmal içeren bir reseptördür (Şekil 4).

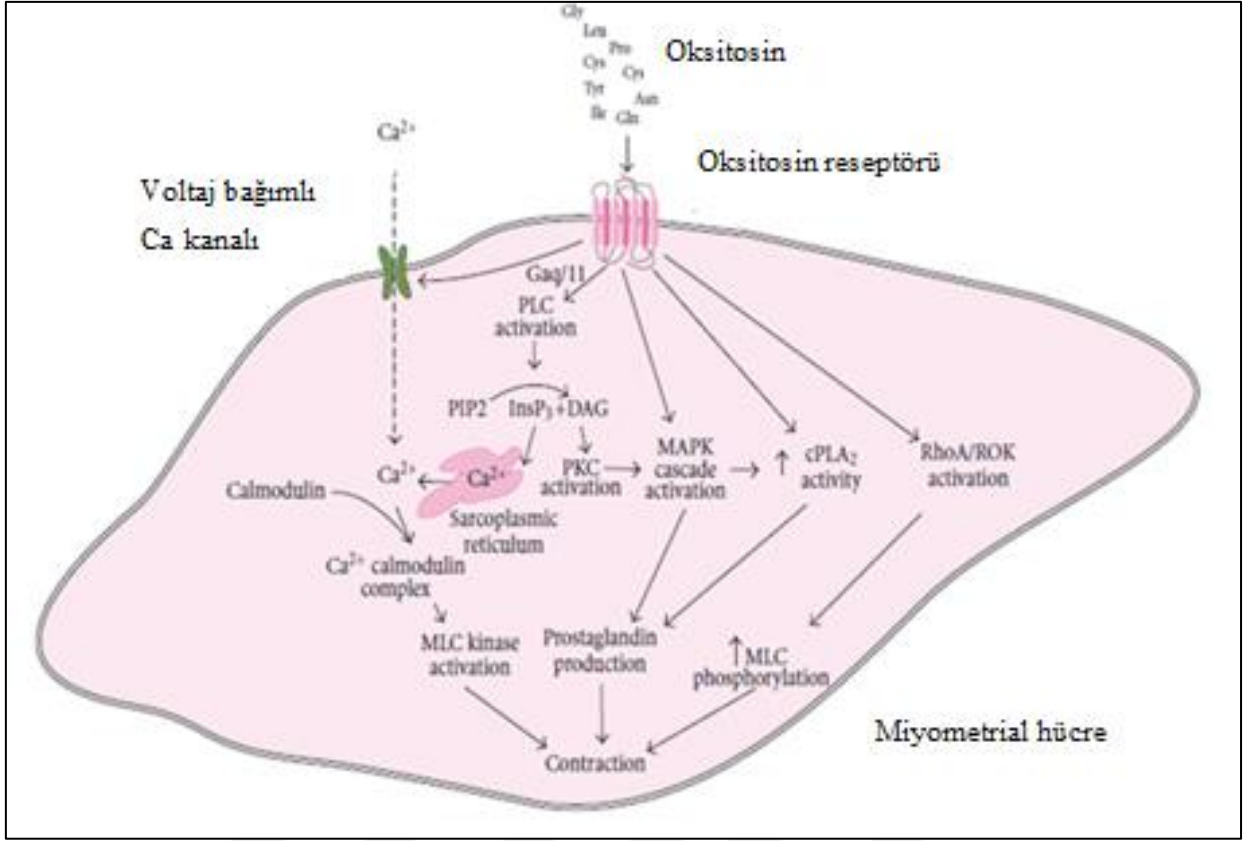


Şekil 4. Oksitosin ve oksitosin reseptörünün yapısının şematik gösterimi (Jurek'ten , 37)

Oksitosin trimerik bir kompleks olan G proteinine bağlanır. Bu kompleks $G\alpha$ ve β/γ alt ünitelerinden oluşmaktadır. Ligand reseptöre bağlandıktan sonra $G\alpha$ ve β/γ alt üniteleri birbirlerinden ayrılır. Değişik α -protein alt grupları kompleksin oluşumuna katkıda bulunabilir. $G\alpha$ proteininin tipine bağlı olarak, reseptör aktivasyonunun fonksiyonel sonucu, uyarıcı veya engelleyici olabilir (37).

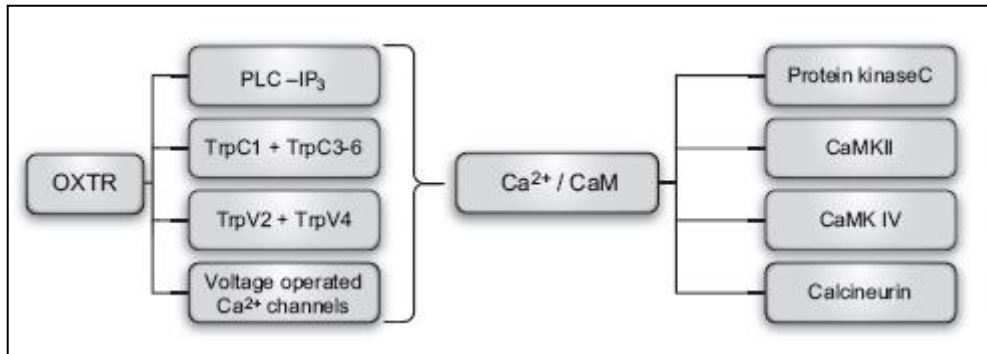
Miyometrial membranlarda OTR $Gq/11$ guanozintrifosfat (GTP) proteini ile kenetlenir. $Gq/PLC/IP3$ sinyal yolağı reseptörün etkisine aracılık eden majör yoldur. Oksitosin OTR'ye bağlandıktan sonra $Gq/11$ üzerinden PLC aktive olur. PLC fosfatidilinositol 4,5 bifosfatın hidrolize uğrayarak $IP3$ ve DAG oluşmasını sağlar. $IP3$ hücre içi depolardan Ca^{+2} salınmasını artırır. Sitoplazmada Ca^{+2} miktarı artar. Ca^{+2} iyonları kalmuduline bağlanır. Ca^{+2} -kalmudulin kompleksi MHZK'ı aktive ederek miyometrial kasların kasılmasını sağlar. Diğer yandan oluşan DAG ise protein kinaz C'yi (PKC) aktive eder. PKC, mitojen aktive protein kinaz (MAPK) aracılığı ile prostaglandin sentezini artırarak kontraksiyona katkıda bulunur (5).

OTR ayrıca voltaj kapılı ve reseptör kenetli iyon kanalları aracılığı ile membran depolarizasyonunu etkileyerek hücre dışı ortamdan hücre içine Ca^{+2} girmesine neden olur. OTR; MAPK ve Rho kinaz sinyal yollarını aktive ederek kontraksiyonu sağlar (Şekil 5) (42).



Şekil 5. Oksitosin reseptörünün hücre içi sinyal yolları (Vrachnis'ten , 42)

Oksitosin ile indüklenen hücre içi kalsiyum akışında birkaç farklı tipte kalsiyum kanalının etkili olduğu gösterilmiştir. Transient reseptör potansiyeli (TRP) kanallarının TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC6, TRPV2 ve TRPV4 alt tipleri, voltaj bağımlı kalsiyum kanalları örnek verilebilir (37) (Şekil 6).



Şekil 6. Oksitosin reseptörü aracılığı ile aktive edilen kalsiyum kanalları (Jurek'ten ,37)

Miyometrial durgunluktan doğum evresine geçiş pek çok faktörün etkili olduğu karmaşık bir süreçtir. Progesteron, kortikotropin salıveren hormon çok önemli bir role sahiptir. Özellikle erken doğum vakalarında bağışıklık sistemi tarafından indüklenen

sitokinlerin ve diğer inflamasyon araçlarının salımı çok önemlidir. Oksitosin doğuma hem doğrudan hem de diğer faktörlerle etkileşerek dolaylı katkıda bulunur.

Dolaşımdaki oksitosin insanlarda doğumun başlaması ve tamamlanması için gerekli görünmemektedir. Hipofiz disfonksiyonu olan vakalar normal doğum yapabilmektedir. Gebelik boyunca dolaşımda oksitosin seviyeleri artmaz. Bununla birlikte gebe kadınlarda oksitosin seviyesinde pulsatil değişiklikler meydana gelir. Doğum için önemli olan plasentada üretilen bölgesel oksitosindir. OTR, gebeliğin son dönemlerinde artarak oksitosin kaynaklı kasılmalara duyarlı hale gelir (41).

Doğum sırasındaki koordineli senkronize kasılmalar koneksin 43 proteini multimerleri tarafından oluşturulan gap bağlantıları arası boşluklarla sağlanır. Oksitosin connexin 43 seviyelerini artırarak gap bağlantılarını düzenler. Doğumun ardından uterusda oksitosin reseptörleri hızla azalırken memede laktasyona katkıda bulunmak için yüksek miktarda yer alır.

OTR agonistleri anksiyete, şizofreni, otizm gibi nöropsikiyatrik hastalık tedavisinde yeni bir farmakolojik hedef olarak çalışılmaktadır. Doğumu indüklemek ve doğum sonrası kanamayı önlemek için sentetik oksitosin analogları kullanılır. Karbetoksin, peptid yapılı sentetik oksitosin analogudur. Yarı ömrünün oksitosine göre daha uzun olması ve tek doz kullanıma uygun olması nedeniyle özellikle sezaryen ameliyatlarında spinal veya epidural anestezi ile birlikte verilir.

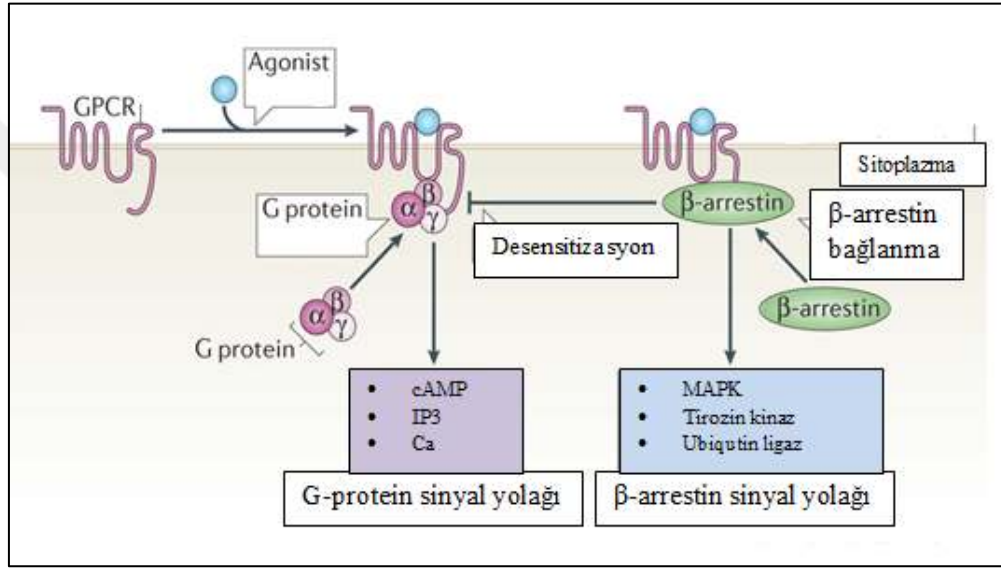
Erken doğum eyleminin durdurulması için uterus kasılmalarının inhibe edilmesinde çeşitli tokolitik ajanlar kullanılır. Beta-2 reseptör agonistleri, kalsiyum kanal blokerleri, nitrik oksit donörleri tokolitik ajanlara örnektir. OTR antagonistlerinden atosiban oksitosin reseptörüne bağlanarak oksitosinin etki göstermesini engeller. Günümüzde Avrupa ve Amerika'da kullanılan tek oksitosin antagonistidir. Ancak vazopresin reseptörüne de bağlandığından istenmeyen etkileri çoktur. Bu durum kullanımını kısıtlar (43).

2.4.2. Oksitosin Reseptör Desensitizasyonu

Oksitosine devamlı ve aşırı maruziyet oksitosin reseptör desensitizasyonuna neden olur. Desensitizasyon G-protein kenetli reseptörlerini ilgilendiren bir olgudur. Fosforilasyon, internalizasyon, reseptör m-RNA düzey değişiklikleri gibi değişik mekanizmalarla meydana gelebilir. Amacı hücreyi aşırı uyarılmaya karşı korumaktır.

OTR internalizasyonu ve desensitizasyonu ile ilgili memeli hücre kültürlerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Desensitizasyonun diğer Tip-1 G-protein kenetli reseptörlerde

olduğu gibi klasik klatrin aracılı yol ile olduğu düşünülmektedir. İki aşamada oluşur. Birinci aşama agonist ile uyarılan reseptörün G-proteinlerinin bir süre sonra G-protein reseptör kinaz (GRK) enzimleri ile fosforile ederek aktive olmasının engellenmesidir. İkinci aşama ise arrestin proteinlerinin bağlanması ile reseptörün G-proteininden ayrılması ardından klatrin kaplı veziküller aracılığı ile internalizasyonun sağlanmasıdır (Şekil 7). Büyük bir GTPaz olan dynamin, klatrin kaplı vezikülleri sıkıştırarak reseptörün ya hücre zarına geri dönüşünü ya da lizozom aracılığı ile tamamen parçalanıp yok olmasını sağlar. Kesin akıbet reseptöre özgüdür (5).



Şekil 7. G-protein kenetli reseptör desensitizasyonu (Ghosh'dan,44)

Oksitosin doğum sırasında pulsatil bir mekanizma ile salınır. Doğumun ikinci aşamasında en yüksek düzeye ulaşır. Pulsatil salımın agonist uyarımından kaynaklı desensitizasyonu önlemek ve uterusun uzun doğum süreci boyunca oksitosine duyarlı kalmasını sağlamak için geliştirilmiş bir mekanizma olduğu düşünülmektedir.

Oksitosin desensitizasyonu miyometrial hücrelerin oksitosine verdiği kontraksiyon cevabının bozulmasına buna bağlı olarak uterus kontraksiyonlarının sağlanamaması ve doğum sonrası kanamanın durdurulamamasına neden olur. Bu durum anne ölümü ya da uterusun tamamen alınması ile sonlanabilir (3).

Oksitosin hormonu doğum sırasında uterus kasılmalarını başlatmak ve doğum sonrası kanamayı önlemek için kullanılır. Bununla birlikte hastalarda klinik yanıt için gerekli oksitosin dozunda ciddi farklılıklar vardır. 2022 yılında Malik ve ark. yaptıkları bir çalışmada tarafından yapılan bir çalışmada bu değişkenliğin altında yatan mekanizmayı

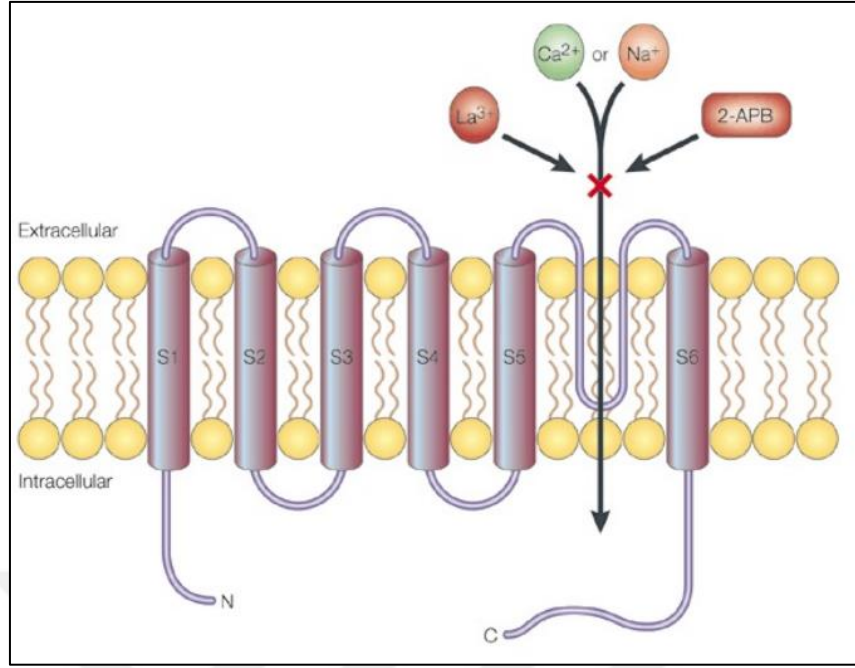
anlamak için en yaygın olarak bilinen 11 OTR mutasyonu incelenmiştir. Varyantların uygun oksitosin dozu için kritik olan aktivasyon ve desensitizasyon arası dengeyi nasıl değiştirdiklerini araştırmışlardır. Oksitosinin klinik yanıtının belirlenmesi açısından çarpıcı sonuçlara ulaşılmıştır. Örneğin V45L ve P108A varyantları OTR nin hücre içine giren birinci kısmının boyunun kısa olmasına neden olduğu bu nedenle arrestin proteinlerinin bu reseptörlere bağlanamadığı tespit edilmiştir. Dolayısı ile bu varyantı taşıyan hastalarda desensitizasyon görülmezken uterus hiperstimülasyonuna maruza kalabilecekleri tespit edilmiştir. Oksitosin dozlamasına yönelik hassas tıp yaklaşımlarının geliştirilmesinde farmakolojik çalışmaların genetik analizlerle desteklenmesi yeni tedavi hedefleri bulunması açısından çok önemlidir (45).

Uterus atonisi tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan oksitosine devamlı ve aşırı maruz kalındığında reseptör desensitizasyonuna bağlı etki kaybı olması üzerine ernovin ve çeşitli prostaglandinler gibi farklı uterotonik ajanlar denenerek başka reseptör ve sinyal mekanizmaları üzerinden uterus kontraksiyonları artırılmaya çalışılmıştır. Ancak bu ajanlarla kıyaslandığında desensitizasyona rağmen oksitosinin daha yüksek kontraktıl yanıt gösterdiği bulunmuştur (46).

2.5. TRP Kanalları

Hücre içi Ca^{+2} düzeyi regülasyonu birçok yolak aracılığı ile olabilir. Hem hücre içi depolardan Ca^{+2} açığa çıkması, hem de hücre dışı ortamdan hücre içine Ca^{+2} girişi bunda rol oynar. Hücre içi depolardan Ca^{+2} salınımı sarkoplazmik/endoplazmik retikulum üzerindeki IP_3 ve ryanodin reseptörleri aracılığı ile olur. Plazma membranından hücre içine Ca^{+2} girişi ise voltaj ya da ligand bağımlı Ca^{+2} geçirgen iyon kanalları aracılığı ile olur. Son keşfedilen Ca^{+2} 'a geçirgen katyonik kanal ailesi 'Transient reseptör potansiyeli (TRP)' kanallarıdır.

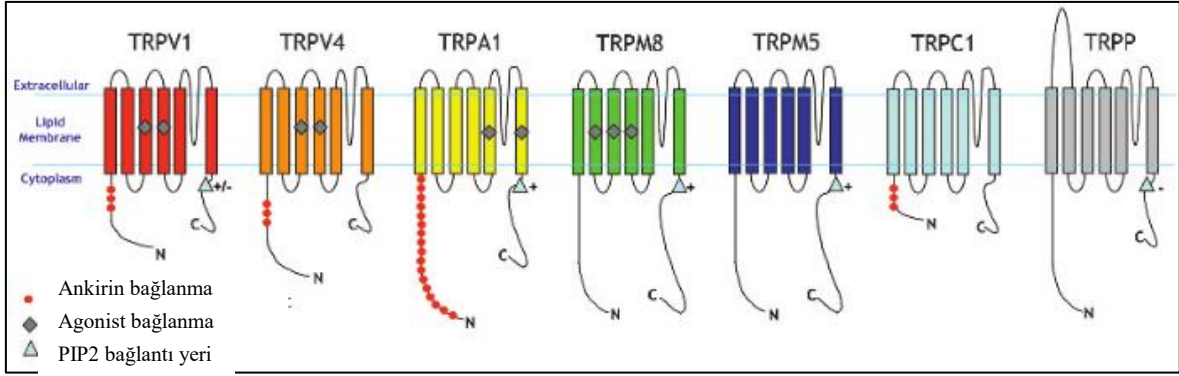
TRP kanal ailesi voltaj ve ligand bağımlı kanallardan farklı yapıdadır. İlk kez 1969 yılında Cosens ve Manning tarafından Drosophila melanogaster türü sivrisineklerin mutant bir türünde gösterilmişlerdir. Memelilerde ilk defa 1995'te gösterilmiştir. İsmi sürekli ışığa verilen geçici yanıt (transient response to sustained intense light) almaktadır (47). TRP kanalları altı transmembranal segmentten oluşurlar. Beşinci ve altıncı segmentler arasında bir por yer alır. Hücre içerisinde uzun bir NH_2 ve $COOH$ terminali yer alır. NH_2 terminalinin olduğu tarafta tekrarlanan ankirin domainleri vardır (Şekil 8) (48).



Şekil 8. TRP kanalllarının yapısı (Clapham'dan, 48)

TRP kanalları tekrarlanan aminoasit sekans homolojilerine dayanılarak toplam 28 üyesi olan 6 alt aileye ayrılmıştır. Bunlar; TRPC (Kanonik) kanalları, TRPV (vaniloid) kanalları, TRPM (melastatin) kanalları, TRPP (polisistin) kanalları, TRPA (ankirin) kanalları, TRPML (mucolipin) kanallarıdır (49).

TRPC alt ailesi kanonik TRP familyası olarak bilinir. İlk kez 1995 yılında *Drosophila* TRP geni homolojisine dayanılarak keşfedilmiştir. Bu ailenin yedi üyesi sekans homolojilerine göre 4 gruba ayrılır. Birinci grup TRPC1; ikinci grup TRPC2; üçüncü grup TRPC3, TRPC6, TRPC7; dördüncü grup TRPC4 ve TRPC5'tir. Alt üyelerin hepsi altı transmembranal segment, beş ve altıncı segmentler arası bir por, hücre içinde bir NH₂ ve COOH grubu taşımaları bakımından klasik Trp motifi özelliğindedir. Farklı olarak üç ila dört ankirin tekrarı içerir. Reseptör ilişkili ya da depo ilişkili olarak aktive edildikleri düşünülmektedir. Mekanik duyarlılığında kanalın düzenlenmesinde etkili olduğu yönünde veriler vardır. TRPC1 kanalları fetal beyin karaciğer ve böbrek dokularının yanı sıra yetişkin kalp, testis, yumurtalıklar ve beyinde bulunmuştur. Parkinson hastalığındaki rolü araştırılmaktadır (Şekil 9) (50,51).



Şekil 9. TRP kanal alt aileleri şematik gösterimi (Blackshaw' dan, (52))

TRPV alt ailesi vaniloid TRP familyası olarak bilinir. Bu grubun kurucu üyesinin vaniloid benzeri bir molekül olan kapsaisin tarafından etkinleştirilmesine dayanarak adlandırılmıştır (53). 1997 yılında duyuşal nöronlarda TRPV1 kanallarının 42° C'den yüksek sıcaklıkta kapsaisin tarafından aktive edildiği bulunmuştur. Bu ailenin beş üyesi homolojilerine göre üç gruba ayrılır. Birinci grup TRPV1 ve TRPV2, ikinci grup TRPV3 ve TRPV4, üçüncü grup TRPV5 ve TRPV6'dır. TRPV3, 31° ila 39° C arası zararsız sıcaklıkları algılamaktan sorumludur. En belirgin eksprese olduğu yer derinin epitelyum hücreleri, ağız boşluğu ve gastro intestinal hücrelerdir. TRPV4 vücutta geniş bir dağılıma sahiptir. Hücresel ortamdaki osmotik değişikliklere ve mekanik strese yanıt verdiği gösterilmiştir. TRPV5 sadece böbrekte eksprese edilirken TRPV6 barsak, pankreas ve plasental dokular dahil olmak üzere geniş bir dağılıma sahiptir. Hem TRPV5 hem de TRPV6'lar epitel hücre apikal membranlarında bulunur. Absorbsiyon ve reabsorbsiyon sırasında Ca^{+2} geçişini sağlar (54,55).

TRPM alt ailesi melastatin ilişkili TRP olarak da bilinir. Bu grubun kurucu üyesi ilk olarak iyi huylu melanomlardan klonlanmış bir Ca^{+2} geçirgen iyon kanalıdır. Klasik TRP motifinin yanında C terminalinde tetramerik bir sarmal bobin alanı içerir ve diğer alt ailelerin aksine amino ucunda ankirin üniteleri yoktur. Bu ailenin sekiz üyesi sekans homolojilerine göre 4 gruba ayrılır. TRPM1 ve TRPM3 birinci grupta, TRPM6 ve TRPM7 ikinci grupta, TRPM2 ve TRPM8 üçüncü grupta, TRPM4 ve TRPM5 dördüncü grupta yer alır. TRPM1 metastatik olmayan melanomlarda daha yüksek seviyede bulunduğundan melanomun agresifliğinin bir göstergesi olduğu düşünülmüştür. Kanseri olmayan insan dokularında beyinde melanositlerde makrofajlarda ve çok düşük miktarda kalpte bulunur. TRPM4 barsak ve prostatta, TRPM5 barsak ve tat tomurcuklarında bulunur. TRPM8'in adenokarsinom, melanom, akciğer ve meme kanserinde rol oynadığı bulunmuştur (55).

TRPP alt ailesi polisistin ilişkili TRP kanalları olarak bilinir. Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı olarak adlandırılan patolojik duruma atfedilen integral membran proteinlerinden oluşur. Bu alt ailenin dört üyesi vardır. Klasik TRP motifinin yanında büyük bir hücre dışı N terminaline, nispeten küçük bir hücre içi C ucuna sahiptir. İşlevsel bir iyon kanalı değildir. Bu nedenle bir integral membran proteini olan polisistin 1 ile sol sağ simetrisi korumaktan tübüler morfogenez kadar önemli fizyolojik roller oynayan bir reseptör kanal sinyal kompleksi oluştururlar (53).

TRPA alt ailesi ankirin 1 TRP kanalı olarak bilinir. Mevcut TRP kanallarına benzerlik gösteren ankirin benzeri bir transmembran proteini olarak keşfedilmiştir. Klasik TRP motifinin yanında N terminal ucunda 14-17 ankirin grubu içerir. Önceleri önemli bir soğuk algılayıcısı olduğu düşünülüyordu ancak günümüzde çok iyi bir kemo nosiseptör olduğu bulunmuştur. Bu özelliği ile analjezikler için ideal bir hedef haline dönüşmüştür. Peptiderjik ve peptiderjik olmayan nöronlarda, epitelial hücrelerde, melanositlerde, mast hücrelerinde varlığı gösterilmiştir (54).

TRPML alt ailesi mukolipin ilişkili TRP kanalı olarak bilinir. Üç üyeli bir alt ailedir. Bunlar; TRML1, TRPML2, TRPML3. Fiziksel olarak TRP ailesinin en küçüğüdür. Herhangi bir ankirin tekrarı içermez. Diğer üyelerin aksine bu kanallar hücre zarında değil hücre içi bölümlerde yer alırlar. Hücre içi görevleri tam olarak bilinmemekle beraber veziküler trafiği yönettikleri düşünülmektedir.

TRP kanallarının fonksiyonları tamamen aydınlatılamamış olsa da duyu transferinden sekresyona, hücre büyümesine kadar pek çok olayda rolleri olduğu bilinmektedir (48-53).

2.5.1. TRPV4 Kanalları ve Uterus

TRPV4 kanallarının beyin, böbrek, mesane, endotel gibi pek çok uyarılabilen ve uyarılamayan hücrede var oldukları bilinmektedir. Fiziksel stimülasyonla (mekanik, ısı) ya da çeşitli liganlar (endokannabinoidler, araşidonik asit metabolitleri) ile aktive olabilirler (52).

Singh ve ark. 2014 yılında yaptığı bir çalışmada TRP kanal ailesinin bir üyesi olan TRPV4 kanallarının uterus dokusunda eksprese edildiği ortaya konmuştur (9). TRPV4 kanallarının gebe ve gebe olmayan sıçanlarda hem mRNA hem de protein düzeyinde varlıkları PCR, Westernblot ve immünohistokimyasal analizler ile gösterilmiştir. TRPV4

kanalları hem miyometrium hem endometrium tabakalarında yer almaktadır. Aynı çalışmada TRPV4 kanalı agonisti GSK1016790A'nın gebe ve gebe olmayan sıçanlarda uterus kontraksiyonlarını artırdığı bulunmuştur. TRPV4 kanal antagonisti HC067047 varlığında GSK1016790A'nın kontraktıl etkisi yok olmuştur.

Ying ve ark. 2016 yılında yaptığı bir çalışmada TRPV4 kanal ekspresyonun gebe sıçanlarda hem mRNA hem de protein düzeyinde gebe olmayanlara oranla daha çok arttığı bulunmuştur (11). Bu durum gebelik ilerledikçe TRPV4 kanallarının artmasının doğum eyleminin gerçekleşmesinde bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Yine aynı çalışmada gebe sıçanlarda TRPV4 kanallarının aktive edilmesiyle hücre içi Ca^{+2} düzeyinin gebe olmayan sıçanlar göre daha çok arttığı tespit edilmiştir. TRPV4 antagonisti HC067047 varlığında uterusun oksitosine verdiği kontraktıl yanıtların azaldığı görülmüştür. Bununla beraber TRPV4 geni susturulmuş hayvanlarda oksitosin yanıtlarının azaldığı bulunmuştur. Bu durum oksitosinin uterusu oluşturduğu kontraktıl yanıtta TRPV4 kanallarının rolü olduğunu ortaya koymaktadır.

Tüm bu veriler ışığında; anne ölümlerinin en önemli nedenlerinden biri olan uterus atonisine neden olan OTR desensitizasyonu durumunda gebelikle beraber arttığı tespit edilen TRPV4 kanallarının hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu artırarak kontraksiyonun sağlanmasında önemli bir alternatif yol olarak gözükmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı izole organ laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmamızda gebe ve gebe olmayan Sprague-Dawley dişi sıçanlar (250-300 g) kullanılmıştır. Sıçanlar deney protokolü süresince kontrollü oda sıcaklığında (22 °C), 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusu doğrultusunda barındırılmış ve ad libitum beslenmiştir. Deneysel çalışmanın yapılabilmesi için KTÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'na başvurulmuş 2018/07 nolu etik kurul onayı alınmıştır.

3.1.1.1. Gebe Sıçanlar

Gebe sıçanlar elde edilmesi için daha önce hiç çiftleşmemiş Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlar beş dişiye bir erkek olacak şekilde üç gün süre ile kafeste bırakılmıştır. Erkek sıçanın kafesten alınmasını takip eden 19-21. günlerde servikal dislokasyon ile ötenazi yapılmıştır. Uterus disekte edilmiş çevre dokulardan temizlenmiştir.

3.1.1.2 Gebe Olmayan Sıçanlar

Gebe olmayan Sprague-Dawley cinsi dişi sıçanlardan vajinal sıvı örnekleri alınarak mikroskopik olarak incelenmiş östrus evresinde oldukları tespit edilmiştir. Östrus evresinin tespiti için üç hücre tipinin varlığı incelenmiştir. Yuvarlak ve çekirdekli olan epitelyal hücreler, çekirdeksiz ve düzensiz kornifiye hücreler ve küçük yuvarlak lokositlere bakılmıştır. Kornifiye hücrelerin gözlendiği sıçanların östrus evresinde olduğu tespit edilmiştir. Bu sıçanlar servikal dislokasyon ile ötenazi yapılmıştır. Uterus disekte edilmiş çevre dokulardan temizlenmiştir (54).

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar aşağıda (Tablo 2) yer almaktadır. Oksitosin, GSK1016790A (TRPV4 Kanal agonisti) ve HC067047 (TRPV4 kanal antagonisti) distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan kimyasallar

Ürün Kodu	Açıklama	Marka
O4375	Oksitosin	Sigma
G0798	GSK-1016790A	Sigma
SML0143	HC-067047	Sigma
P2256	Sodyum piruvat	Merck
RDD018	MOPS Sodyum Tuzu	Sigma
71383	Sodyum Klorür (NaCl)	Sigma
13433	Sodyum Bikarbonat (NaHCO ₃)	Reider-de Haen
471687	Potasyum Fosfat Monobazik (KH ₂ PO ₄)	Carlo Erba Reagenti
360107	Potasyum Klorür (KCl ₂)	Carlo Erba Reagenti
31420	Magnezyum Sülfat (MgSO ₄)	Reider-de Haen
12022	Kalsiyum Klorür (CaCl ₂)	Reider-de Haen
627K2027845	Sodyum Fosfat Monobazik (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O)	MERCK

3.1.3.Kullanılan Solüsyonlar

Bu çalışmada Modifiye Krebs solüsyonu ve MOPS [3-(N-morfolino) propansulfonik asit] solüsyonu kullanılmıştır. Modifiye Krebs solüsyonu içeriği: 112 mmol/L NaCl, 25 mmol/L NaHCO₃, 1 mmol/L KH₂PO₄, 5.0 mmol/L KCl, 1.2 mmol/L MgSO₄.7H₂O, 11.5 mmol/L Dekstroz, 2.5 mmol/L CaCl₂. Bu solüsyon izole organ banyolarında kullanıldı.

MOPS solüsyonu içeriği: 145 mmol/L NaCl, 4.7 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L CaCl₂, 1.17 mmol/L MgSO₄.7H₂O, 1.2 mmol/L NaH₂PO₄.H₂O, 3.0 mmol/L MOPS, 5.0 mmol/L dekstroz, 2.0 mmol/L sodyum piruvat. Bu solüsyon sadece uterus sıçandan çıkarıldıktan sonra preparat hazırlanıncaya kadar içinde bekletilen ve striplerin hazırlandığı solüsyon olarak kullanıldı. MOPS solüsyonu ile 6,5-7.9 pH aralığında tamponlama yapılmasına olanak veren bir solüsyondur. İnert özelliklerinden dolayı biyolojik ve biyokimyasal çalışmalarda sıklıkla kullanılır.

3.2 Yöntemler

3.2.1. Deney Protokolü ve Metodlar

Bu çalışma klasik farmakolojik yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiş *in vitro* deneysel bir çalışmadır. İzole organ banyosu kullanılarak gebe ve gebe olmayan sıçanlar ile çalışılmıştır.

3.2.2. Miyometrial Striplerin Hazırlanışı

3.2.2.1. Gebe Sıçanlara Ait Miyometrial Striplerin Hazırlanması

Gebe sıçanlar gebeliğin 19-21. günlerde servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldıktan sonra orta hat abdominal kesi ile girilerek uterus alt ucu vajenle birleştiği yerden üst uçları overle birleştiği yerin iki mm altından kesilerek çıkarılmıştır. Plasenta ve fetüsler ayrıldıktan sonra myometrial doku diğer diseksiyon işlemleri için MOPS solüsyonuna koyulmuştur. Çevre dokularından temizlenmiştir. Hazırlanan longitudinal myometrial stripler (10×10×2 mm³ her biri) iki uçlarından bağlanarak izole organ banyosuna asılmıştır.

3.2.2.2. Gebe Olmayan Sıçanlara Ait Miyometrial Striplerin Hazırlanması

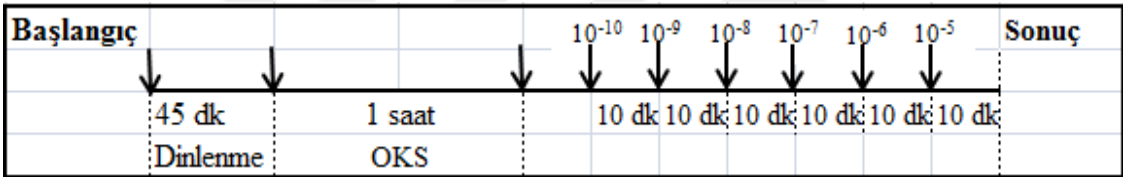
Gebe olmayan östrus evresinde olduğu tespit edilmiş Spraque Dawley cinsi dişi sıçanlar deneye alınmıştır. Servikal dislokasyon ile ötenazi yapıldıktan sonra orta hat abdominal kesi ile girilerek uterus alt ucu vajenle birleştiği yerden, üst uçları overle birleştiği yerin 2 mm altından kesilerek çıkarılmıştır. Uterus bütün olarak MOPS solüsyonuna koyulmuştur. Çevre dokularından temizlenen longitudinal myometrial stripler (10×10×2 mm³ her biri) iki uçlarından bağlanarak izole organ banyosuna asılmıştır.

3.2.3. İzole Organ Banyosu

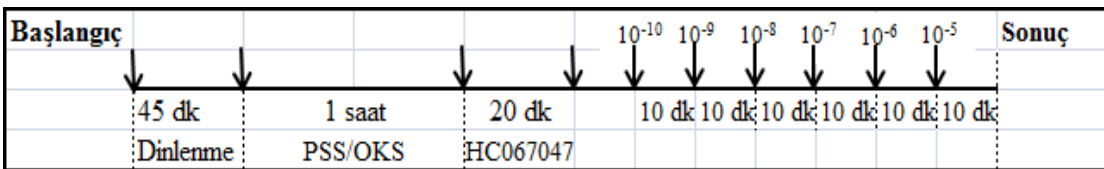
Hazırlanan myometrial stripler Modifiye krebs solüsyonu içeren, 37°C sabit sıcaklıkta (pH 7.4) tutulan ve gazlandırılan (%95 O₂ +%5 CO₂) 10 ml'lik organ banyolarına yerleştirilmiştir. Uterus parçalarının bir ucu banyo tabanına bir askı yardımıyla sabitlenirken, diğer ucu kalibrasyonu önceden yapılmış güç transdüseri (force displacement transducer; MAY FTD 10-A)'na bağlanmıştır. Deneylerde kullanılan tüm preparatlar 1 gram'lık istirahat gerilimi altında izometrik koşullarda 15 dakikada bir banyo solüsyonu değiştirilerek en az 45 dakika süreyle dengelenmeye bırakılmıştır. Myometrial striplere deney gruplarına göre aşağıda yer alan protokoller uygulanmıştır.

Fizyolojik tuz solüsyonu (physiological saline solution- PSS)'de bekletilen gruplar için 45 dakikalık istirahat periyodunu takiben PSS eklenmiş herhangi bir yıkama yapılmadan 1 saat beklenmiştir. 1 saatin sonunda dokular iki kez yıkanmış protokollere uygun ilaçlar 10 dakikalık aralıklarla kümülatif olarak ($10^{-10} \rightarrow 10^{-5}$ M) eklenmiştir (Şekil 10).

Şekil 10. PSS’de bekletilen prokollere ait iş akış şeması



Şekil 11. OKS’de bekletilen prokollere ait iş akış şeması



Şekil 12. HC067047 uygulanan protokollere ait iş akış şeması

3.2.4 Deney Protokolleri

Bu çalışmada gebe sıçanlara ait 18 grup (Tablo 3) ve gebe olmayan sıçanlara ait 18 grup (Tablo 4) olmak üzere toplam 36 grup çalışılmıştır.

Tablo 3. Gebe sıçanlara ait gruplar

Gebe Sıçan Grupları (A)	n
1. PSS (1 saat) + Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
2. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat) + Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
3. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
4. PSS (1 saat) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
5. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)	6
6. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
7. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
8. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)	6
9. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
10. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
11. PSS (1 saat) + HC067047 (200nm, 20 dk)	4
12. PSS (1 saat) + HC067047 (200 nm, 20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	4
13. PSS (1 saat) + HC067047 (200 nm, 20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	4
14. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)	4
15. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	4
16. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	4
17. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ Oksitosin (10^{-6}) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	5
18. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ GSK1016790A (10^{-6}) + Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	5

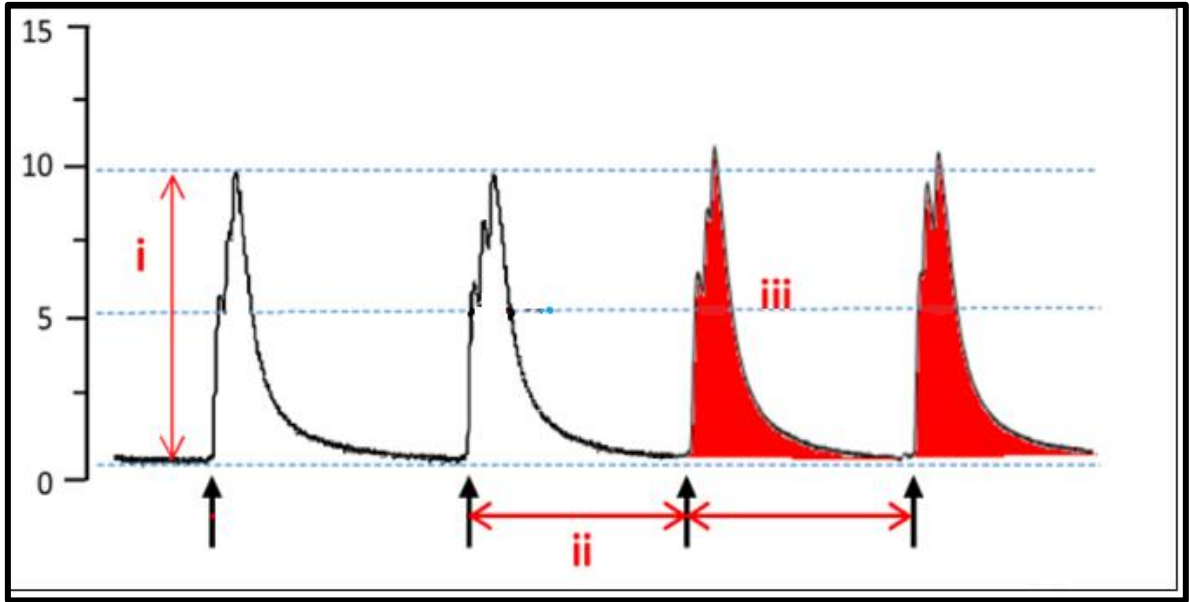
Tablo 4. Gebe olmayan sıçan grupları

Gebe olmayan Sıçan Grupları (B)	n
1. PSS (1 saat) + Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
2. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat) + Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
3. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
4. PSS (1 saat) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
5. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)	6
6. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
7. PSS (1 saat) + HC067047 (1 μ m,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
8. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)	6
9. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	6
10. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (1 μ m,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
11. PSS (1 saat) + HC067047 (200nm, 20 dk)	6
12. PSS (1 saat) + HC067047 (200 nm, 20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	4
13. PSS (1 saat) + HC067047 (200 nm, 20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	4
14. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)	4
15. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)+ Oksitosin (10^{-10} - 10^{-5})	4
16. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ HC067047 (200 nm,20 dk)+ GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	4
17. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ Oksitosin (10^{-6}) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6
18. Oksitosin (10^{-8} ,1 saat)+ Oksitosin (10^{-6}) + GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5})	6

3.2.5 Veri Analizi ve İstatistik

3.2.5.1. Veri Analizi

Deneysel sonucunda asılan uterus striplerinin spontan kasılmaları ve banyo ortamına eklenen ilaçlara verdikleri kontraktıl yanıtlar değerlendirildi. Üç farklı kasılma parametresinin değerlendirilmesi ile ölçüm yapıldı. Birinci parametre olan amplitud kasılma gücü ölçen kasılma genliğidir. Dokunun bir spontan kasılma içinde ulaştığı en yüksek kasılma gücüdür. İkinci parametre frekans kasılma oranını ölçen kasılma sıklığıdır. Üçüncü parametrede eğri altındaki alanın (EAA) ölçümüne dayanan parametredir. Bu ölçüm işin bütünü ile ilgili genel bilgi verir (Şekil 13).



Şekil 13. Veri analizi grafiği: (i)Amplitud, (ii)Frekans, (iv) eğri altında alan (EAA). (Arrowsmith'ten, 42)

Bu çalışmada amplitud, frekans ve EAA değerleri kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Her dokunun kendi spontan kasılma güçleri farklı olduğundan ilaçlara verilen yanıtlar değerlendirilirken ilgili dokunun dinlenme periyodunun son on dakikasındaki spontan kasılmalarına göre normalize edilmiştir. Kümülatif ilaç dozları değerlendirilirken iki doz arasındaki 10 dakikalık süredeki kontraksiyonlar incelenmiştir.

3.2.6.2. İstatistiksel Analiz:

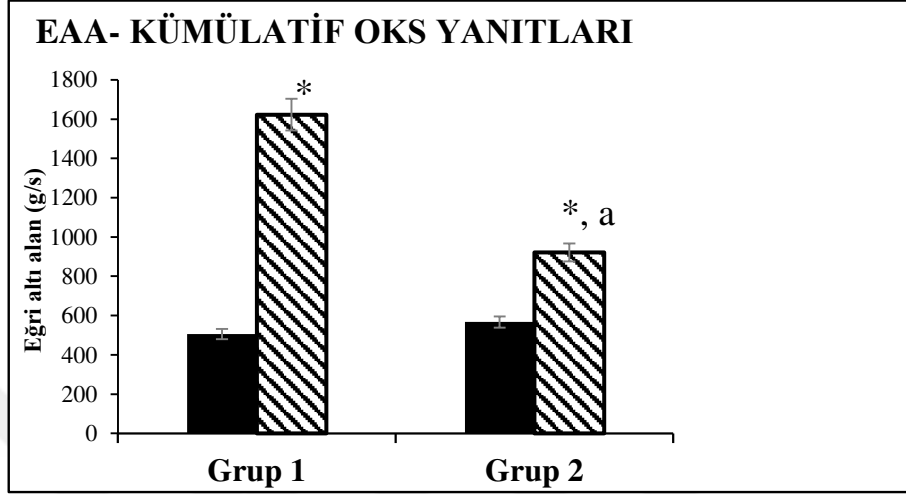
İstatistiksel analiz için SPSS versiyon 23.0 programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu incelendi. Verilerin tanımlayıcı analizleri yapıldı. Gruplar “Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) testi” kullanılarak karşılaştırıldı. P değeri 0,05’in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunan durumlarda Post hoc testi olarak Bonferroni testi kullanıldı. (İstatistik analizler istatistik uzmanı Tuğba KURT’a danışılarak gerçekleştirildi). Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak sunuldu.



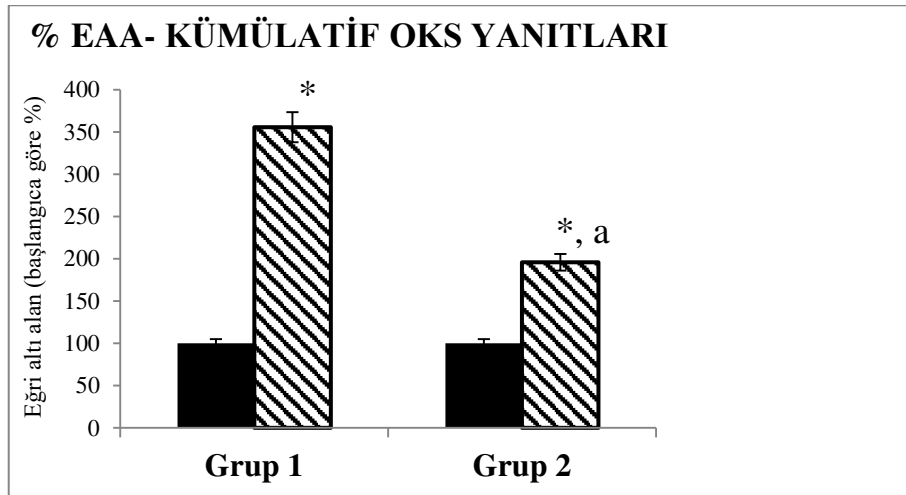
4. BULGULAR

4.1. Gebe Hayvan Yanıtları

4.1.1. Gebe Hayvan OKS Doz Yanıtları

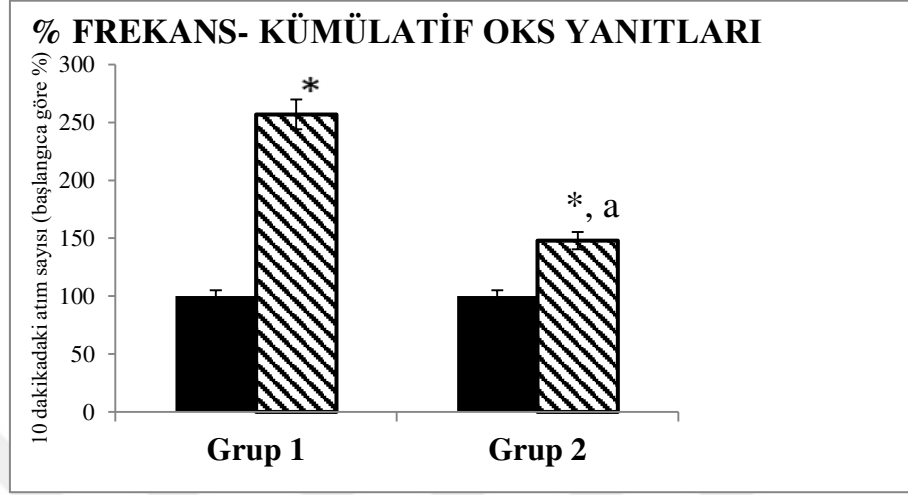


Şekil 14. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS uygulanmış konsantrasyon yanıtına göre.

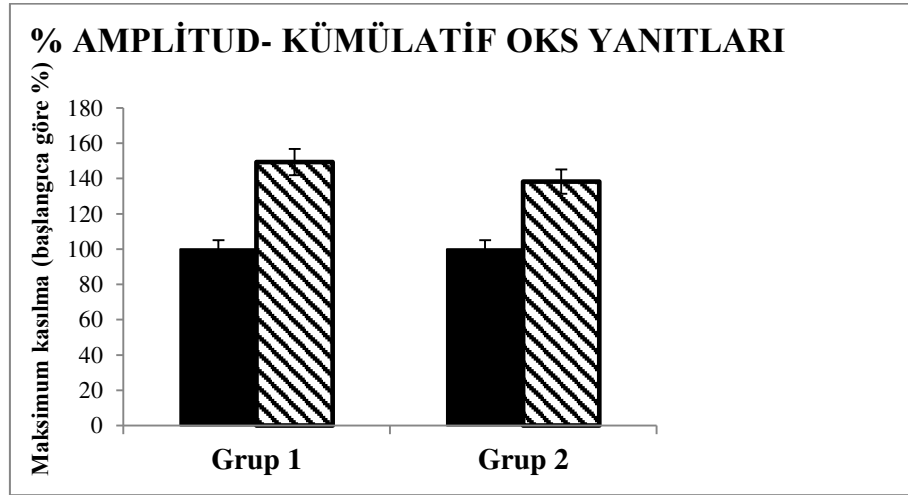


Şekil 15. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi

başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 16. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨ :kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir.*: $p < 0,05$; kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş OKS konsantrasyon yanıtına göre.



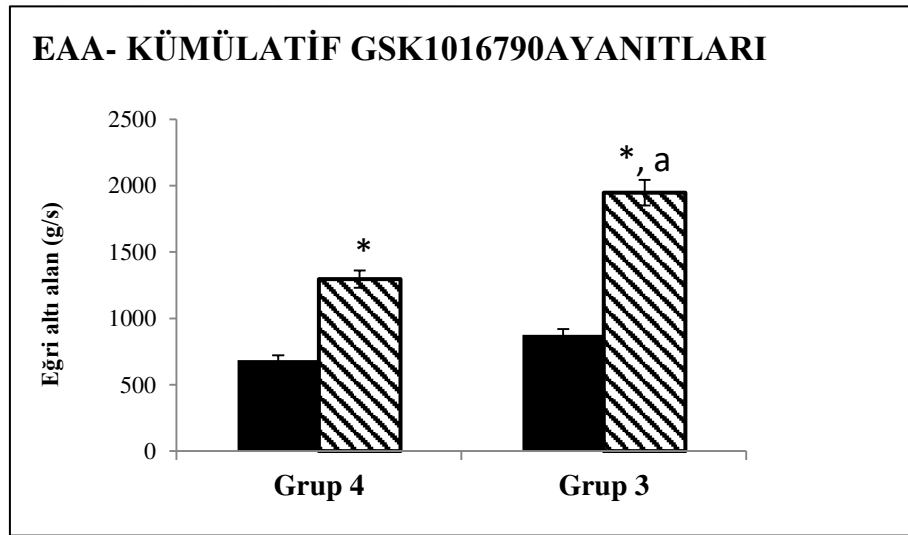
Şekil 17. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş) ve grup 2 (OKS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS yanıtlarının % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨ :kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir.

PSS ve OKS’de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif oksitosin tedavisi (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

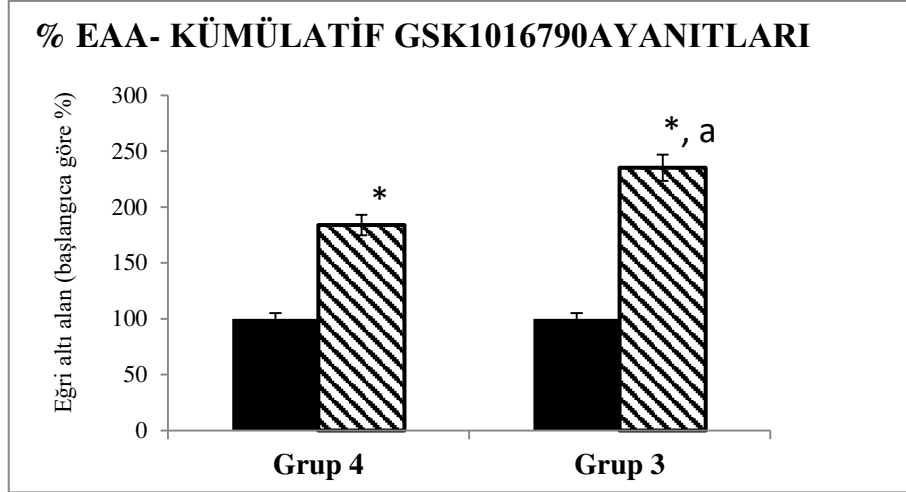
Eğri altında kalan alan değerleri incelendi; PSS ve OKS’de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif oksitosin uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 14). PSS ve OKS’de bekletilen dokulara ait eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri kıyaslandığında ise OKS’de bekletilen dokuların kümülatif OKS yanıtlarının PSS’de bekletilen dokulara oranla anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 15).

Farklı deney gruplarına ait uterus frekans sayıları incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandı. Bulgulara göre OKS’de bekletilen dokuların kümülatif OKS yanıtlarının PSS’de bekletilen dokulara oranla anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 16). Ayrıca kontraksiyonların amplitüd değerleri incelendi ve yüzde değişim olarak kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi (Şekil 17).

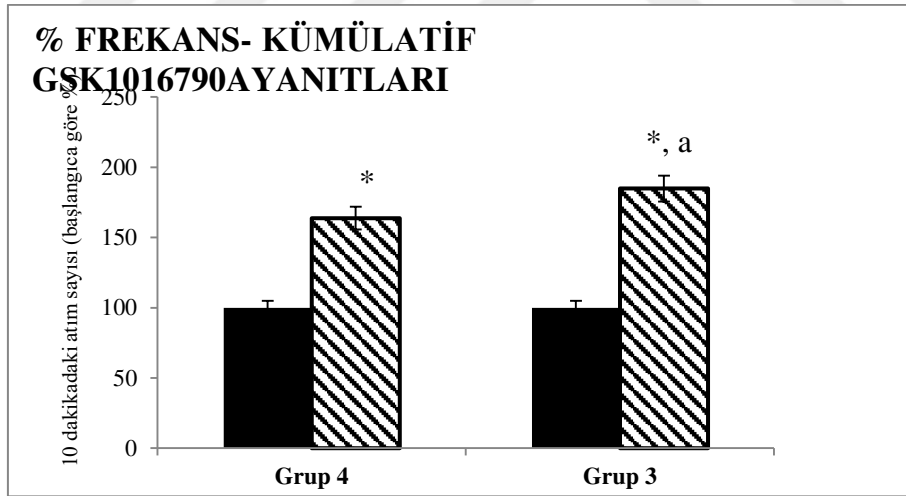
4.1.2 Gebe Hayvan GSK1016790A Doz Yanıtları



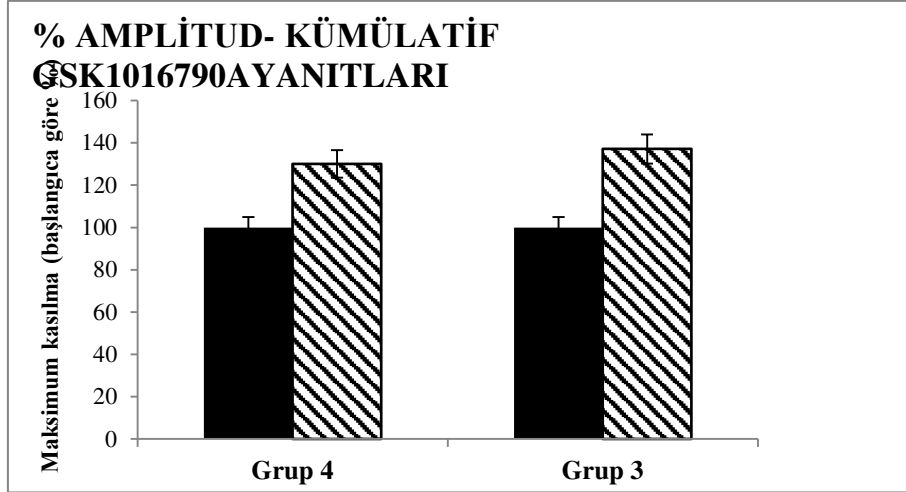
Şekil 18. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



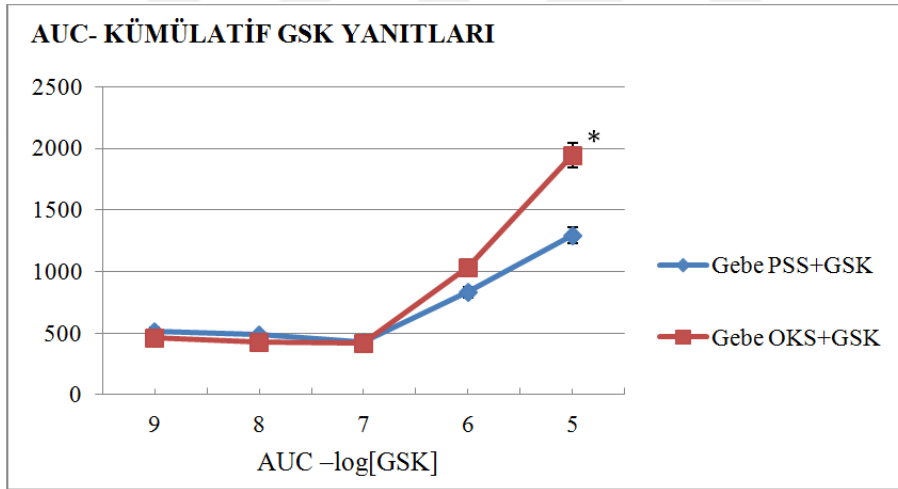
Şekil 19. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının %EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 20. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) uterus striplerinin kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A yanıtlarının % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨ :kümülatif (10^{10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 21. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş) grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir.



Şekil 22. PSS ve OKS’de bekletilmiş gebe uterus striplerinin (Grup 3 ve Grup 4) kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtları eğri altı alan değişim grafiği. *: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.

PSS ve OKS’de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son dozun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

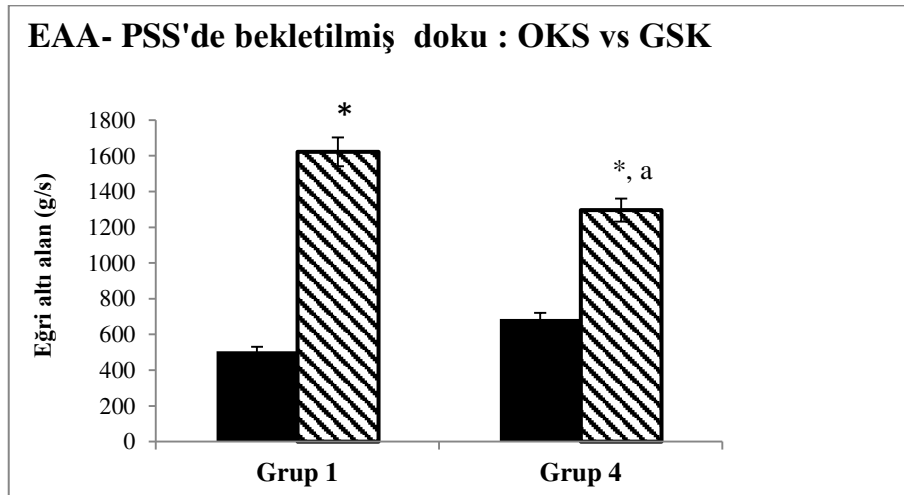
Eğri altında kalan alan değerleri incelendi; PSS ve OKS’de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif GSK1016790A uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 18). PSS ve OKS’de bekletilen dokulara ait eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri kıyaslandığında ise OKS’de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının PSS’de bekletilen dokulara oranla anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 19).

Farklı deney gruplarına ait frekans sayıları incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandı. OKS’de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının PSS’de bekletilen dokularda oranla anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 20). Ayrıca amplitüd değerleri incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 21).

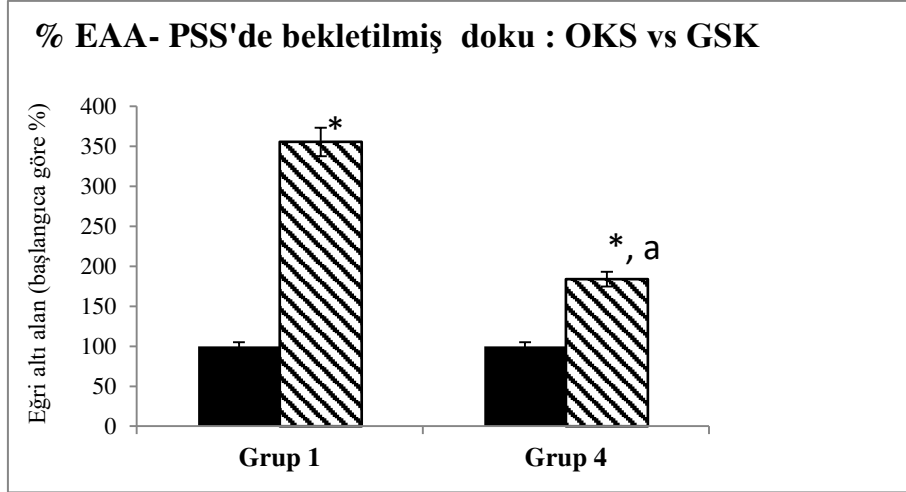
Kümülatif doz yanıtları karşılaştırıldığında sadece 10^{-5} M konsantrasyonda OKS’de bekletilen dokularda GSK1016790A yanıtları PSS’de bekletilen dokulara göre anlamlı şekilde arttı (Şekil 22). Diğer konsantrasyonlarda herhangi bir anlamlı fark bulunmadı.

4.1.3. Gebe Hayvan OKS-GSK1016790A Yanıtları

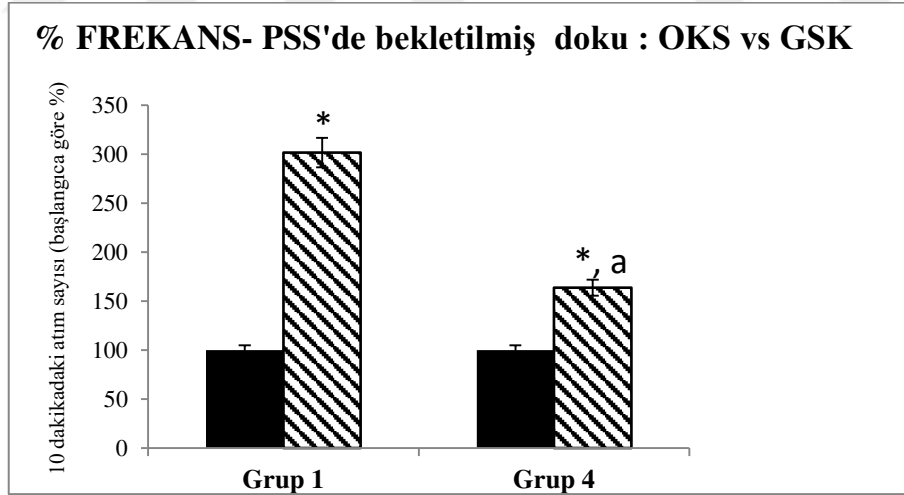
4.1.3.1. Gebe Hayvan PSS’de Bekletilmiş Dokuda OKS-GSK1016790A Yanıtları



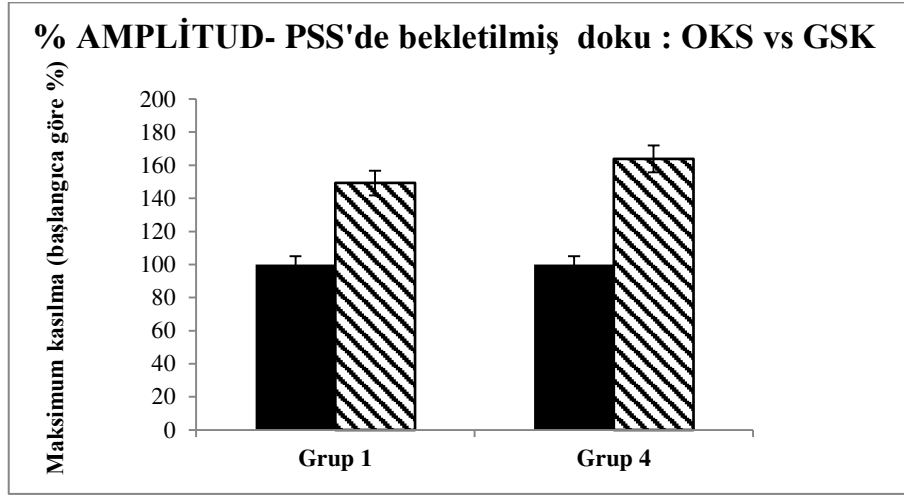
Şekil 23. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



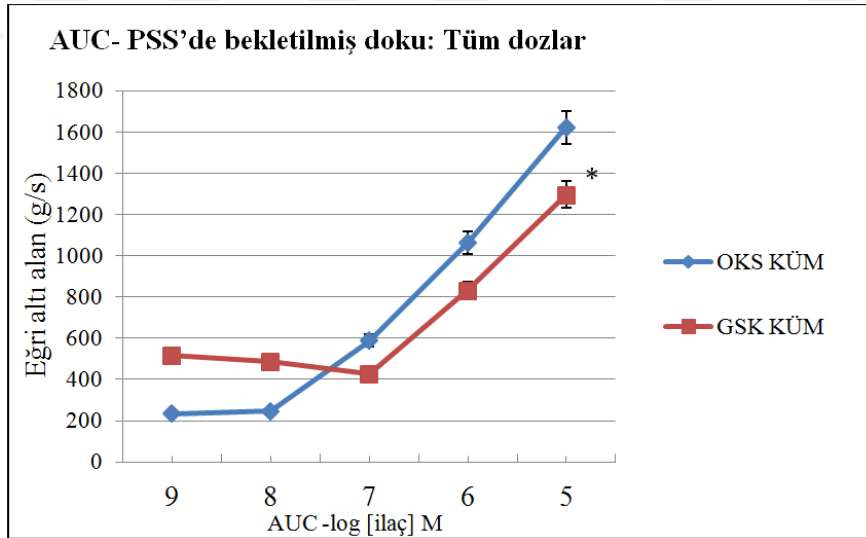
Şekil 24. Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin %EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS'de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 25. Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS'de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 26. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir.



Şekil 27. PSS’de bekletilmiş gebe uterus striplerinin (Grup 1 ve Grup 4) kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS ve kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtları eğri altı alan grafiği. . *: $p < 0,05$ OKS 10^{-5} ’e göre.

PSS’de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) ve kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden

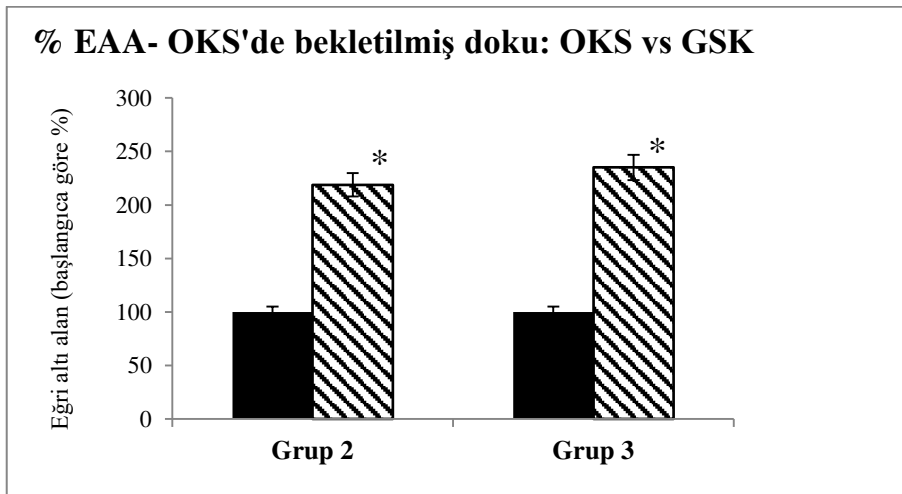
10 dk'lık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarının eğri altında kalan alan değerleri incelendi ve PSS'de bekletilen dokuların eğri altındaki alan değerlerinin kümülatif GSK1016790A ve kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 23). Bu dokuların eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri kıyaslanmış kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) verilen dokulara ait değerlerin kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) verilen dokulara göre anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi (Şekil 24).

Deney gruplarına ait frekans değerleri incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandı. Kümülatif GSK1016790A ve kümülatif OKS verilen dokuların frekanslarının başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı, kümülatif GSK1016790A verilen dokuların frekans yüzde değişiminin kümülatif OKS verilen dokulara göre anlamlı şekilde az olduğu tespit edildi (Şekil 25). Ayrıca amplitüd değerleri incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandığında anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi (Şekil 26).

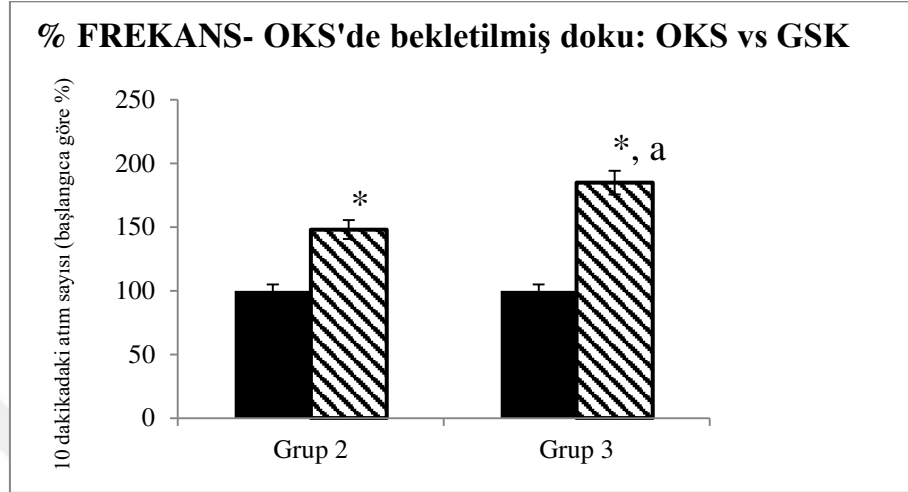
Kümülatif konsatrasyon yanıtları karşılaştırıldığında sadece 10^{-5} M konsantrasyonda kümülatif GSK1016790A verilen dokuda yanıtın anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 27).

4.1.3.2. Gebe Hayvan OKS'de Bekletilmiş Oksitosin-GSK1016790A Yanıtları

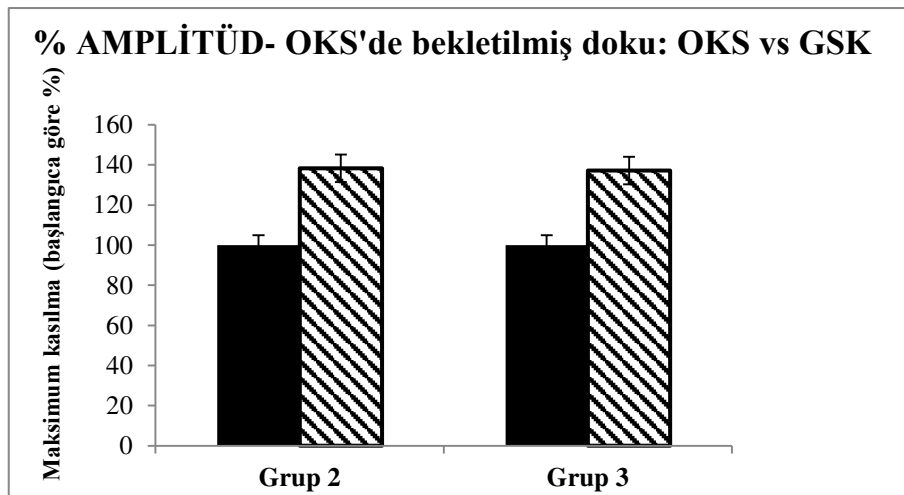


Şekil 28. Gebe hayvan grup 2 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin %EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10

dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre.



Şekil 29. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 30. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş) ve grup 3 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M)

GSK1016790A veya OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir.

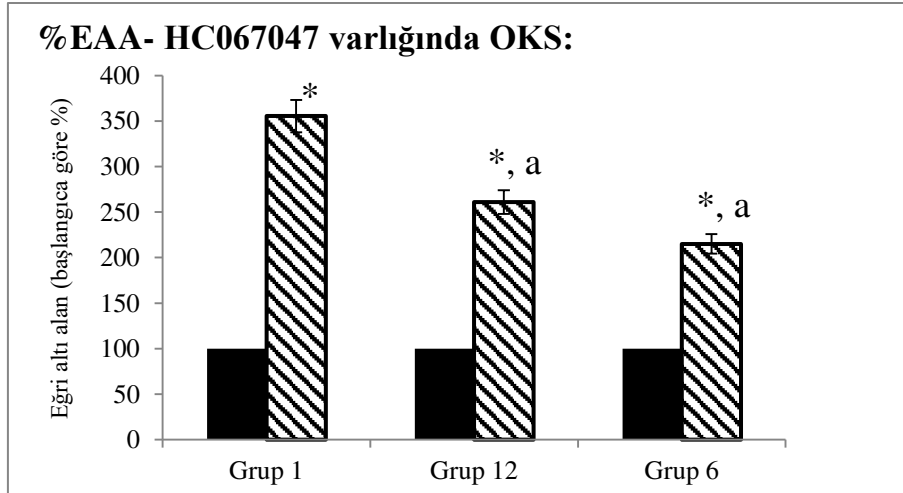
OKS'de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) ve kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyonlarda uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dk'lık periyoddaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların eğri altında alan değerlerinin kümülatif GSK1016790A ve kümülatif OKS uygulanması ile başlangıça göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 28).

Deney gruplarına ait frekans değerleri incelendi ve yüzde değişim verileri kıyaslandı. Kümülatif GSK1016790A ve kümülatif OKS verilen dokuların frekanslarının başlangıça göre anlamlı şekilde arttığı, kümülatif GSK1016790A verilen dokuların frekans yüzde değişiminin kümülatif OKS verilen dokulara göre anlamlı şekilde fazla olduğu tespit edildi (Şekil 29). Ayrıca amplitüd değerleri incelendi; yüzde değişim verileri kıyaslandı ; anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edildi (Şekil 30).

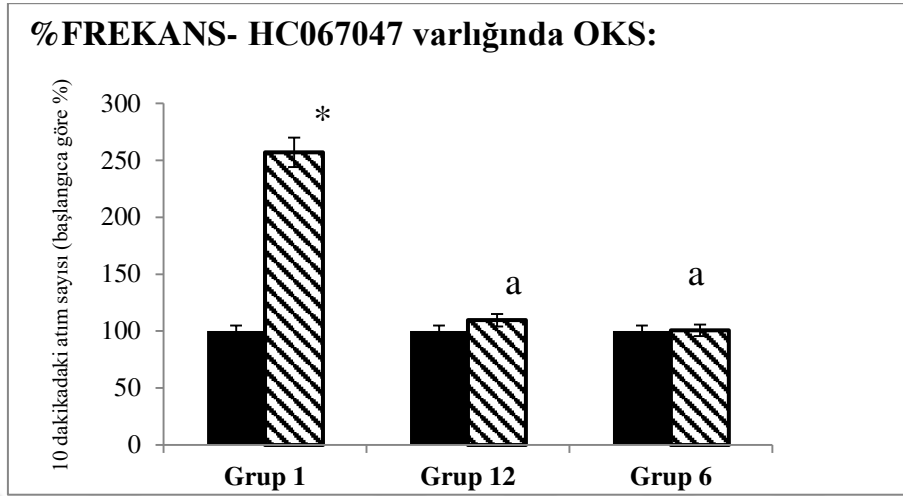
Gebe Hayvan Oksitosin- HC067047 Yanıtları

4.1.4.1. Gebe Hayvan PSS'de Bekletilmiş Dokuların Oksitosin-HC067047 Yanıtları

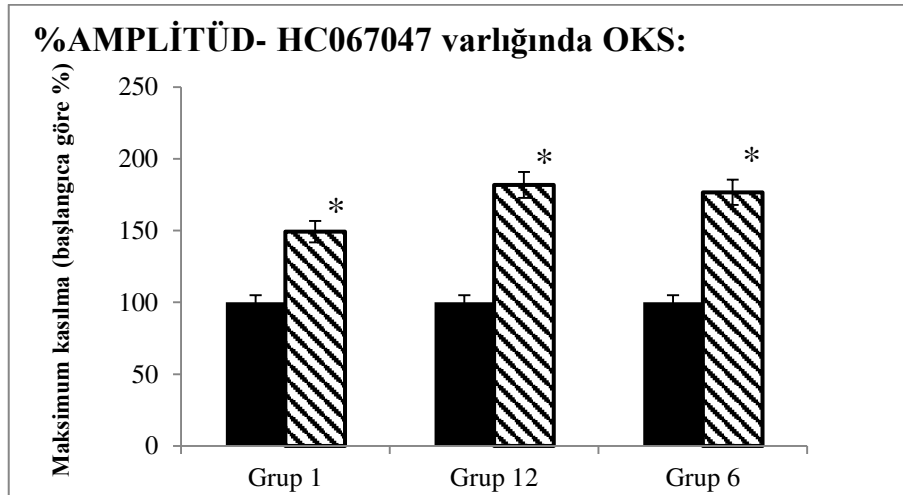


Şekil 31. Gebe hayvan grup 1 (PSS'de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS'de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen

EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 32. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS’de bekletilmiş, 1 μ m HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 33. Gebe hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (PSS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (PSS’de bekletilmiş, 1 μ m HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) gebe uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10

dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre.

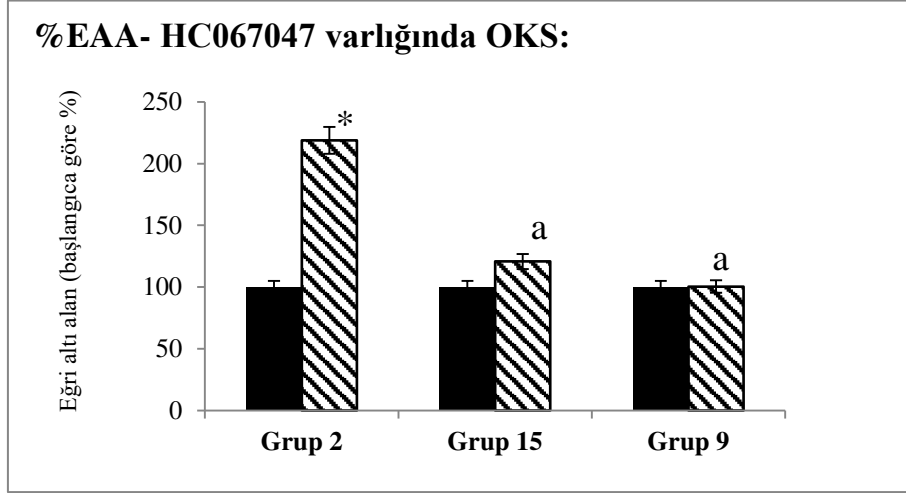
PSS’de bekletilmiş uterus dokuları TRPV4 reseptör antagonisti HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile 20 dk bekletildi (inkübasyon) ve üzerine kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dk’lık periyoddaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri incelendi. PSS’de bekletilen dokuların eğri altında alan değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların eğri altında alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 31).

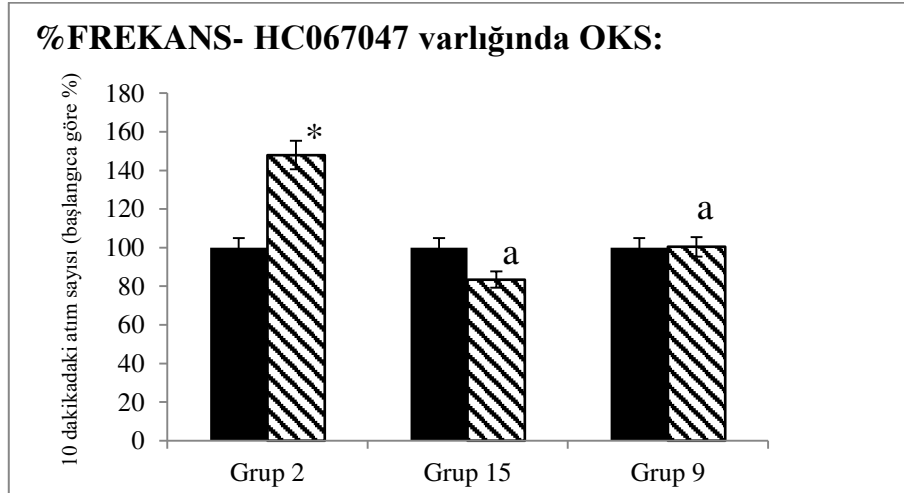
Deney gruplarına ait frekans yüzde değişim verileri incelendi. PSS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların frekans değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 32). Ayrıca amplitüd değerleri yüzde değişim verileri incelendi; PSS’de bekletilen dokuları amplitüd değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların oksitosin yanıtlarında anlamlı bir değişiklik yoktur (Şekil 33).

4.1.4.2. Gebe Hayvan OKS ’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 varlığında Oksitosin

Kasılma Yanıtları

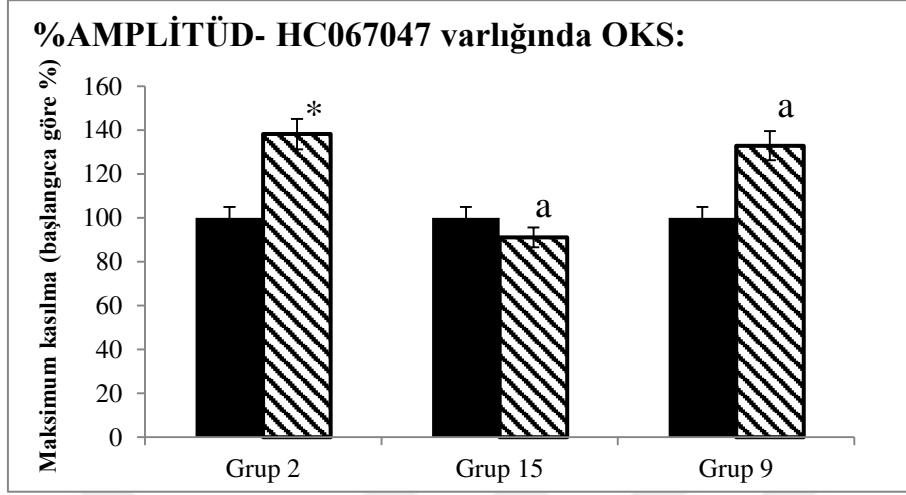


Şekil 34. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 35. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a:

p<0,05, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 36. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 12 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş), grup 6 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) gebe uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: p <0,05, kendi başlangıç değerine göre; a: p<0,05, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.

OKS’de bekletilmiş uterus dokuları TRPV4 reseptör antagonisti HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile 20 dk inkübe edildi, üzerine kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırılmıştır.

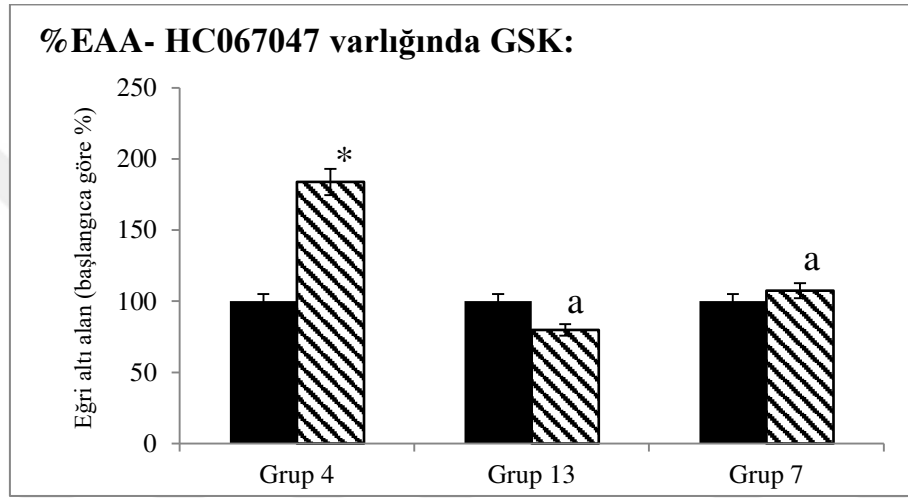
Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % yüzde değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile inkübe edilen dokularda oksitosinin yaptığı bu kasılmanın ortadan kalktığı aptandı (Şekil 34).

Deney gruplarına ait frekans değerleri yüzde değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile inkübe edilen dokularda oksitosinin yaptığı kasılmaların frekansının başlangıçtan farklı olmadığı tespit

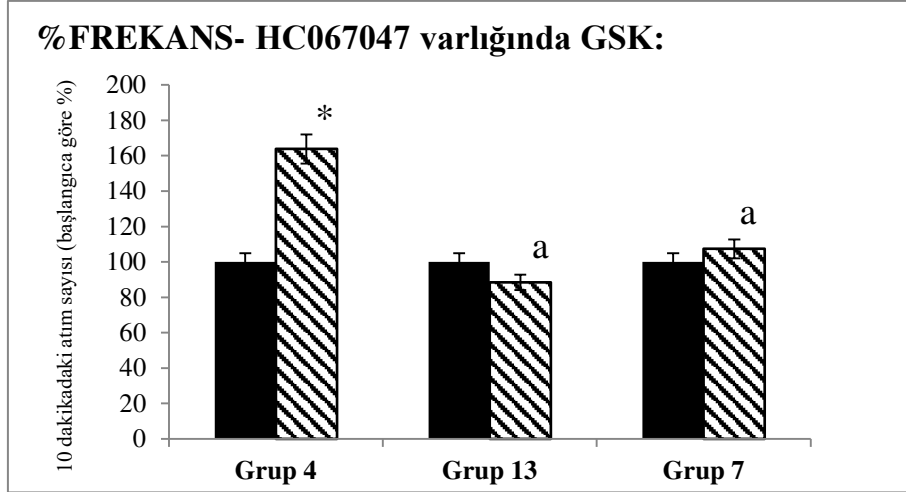
edildi (Şekil 35). Ayrıca amplitüd değerleri yüzde değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile inkübe edilen dokularda oksitosinin yaptığı bu kasılmanın ortadan kalktığı saptandı (Şekil 36).

4.1.5 Gebe Hayvan GSK1016790A- HC067047 Konsantrasyon Yanıtları;

4.1.5.1. Gebe Hayvan PSS’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 Varlığında GSK1016790A Kasılma Yanıtları



Şekil 37. Gebe hayvan; grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 13 (PSS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 7 (PSS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$ PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



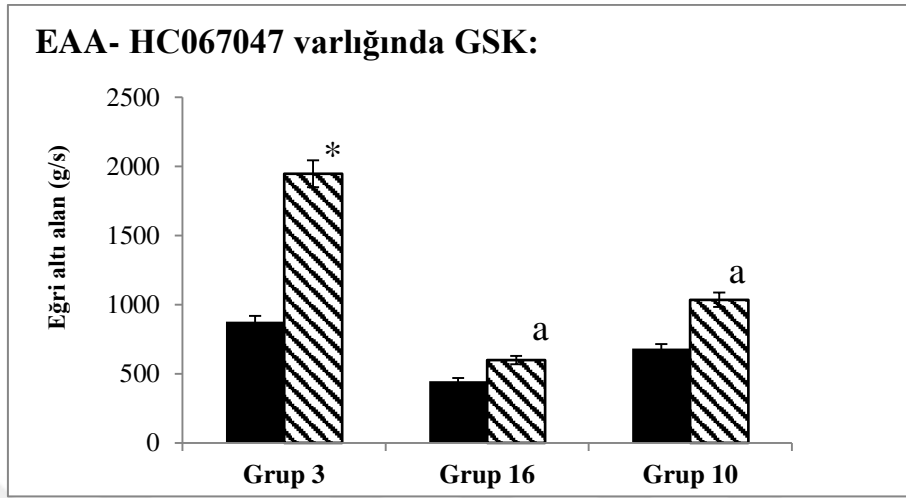
Şekil 38. Gebe hayvan; grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 13 (PSS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 7 (PSS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif OKS verilmiş) uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$ PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.

PSS’de bekletilmiş uterus dokuları TRPV4 reseptör antagonisti HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile 20 dk inkübe edildi, üzerine kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

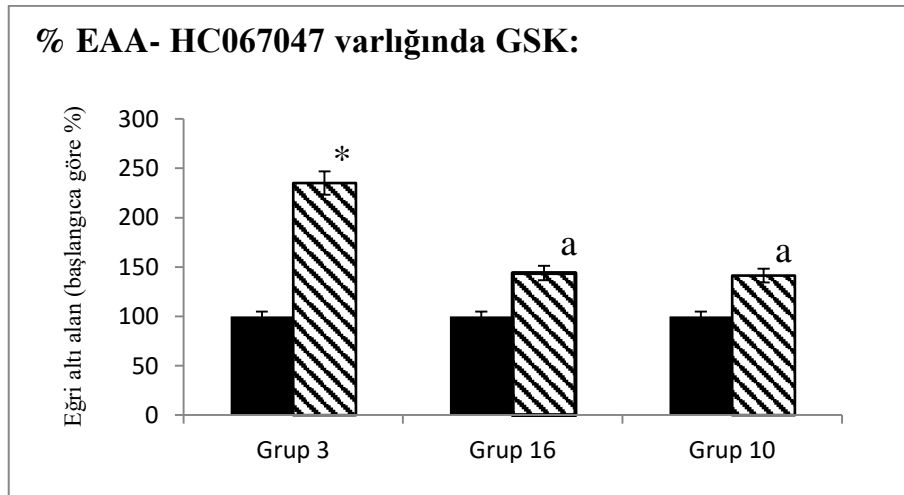
Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan yüzde değişim verileri incelendi. PSS’de bekletilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile inkübe edilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde az olduğu tespit edildi (Şekil 37).

Deney gruplarına ait frekans yüzde değişim verileri incelendi. PSS’de bekletilen dokuların eğri altında alan değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. HC (200 nmol) ve HC (1µmol) ile inkübe edilen dokuların eğri altında alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 38).

4.1.5.2. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokuların HC067047 varlığında GSK1016790A Konsantrasyon Yanıtları

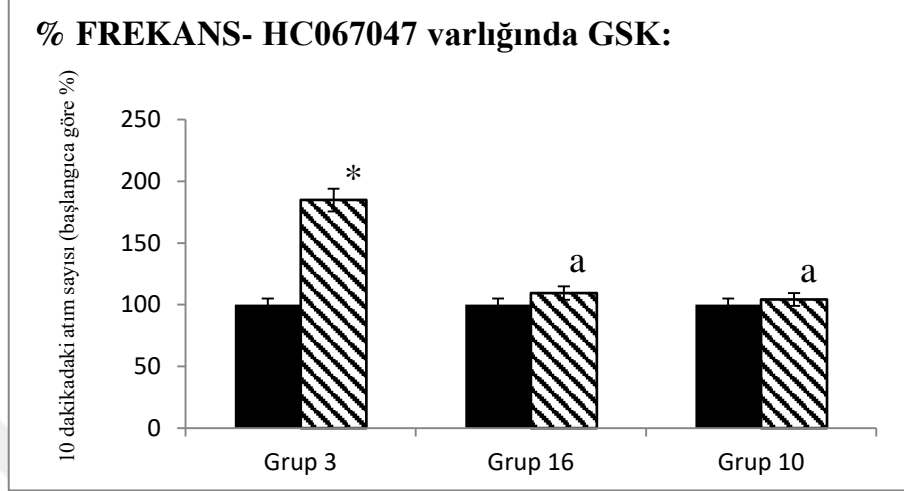


Şekil 39. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.

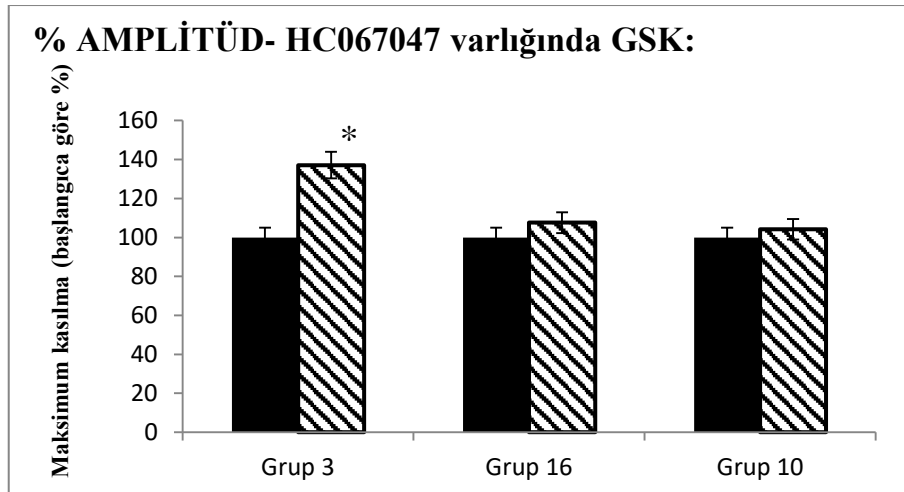


Şekil 40. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS’de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS’de bekletilmiş, 1 µm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10

dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS'de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 41. Gebe hayvan grup 3 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS'de bekletilmiş, 1 μ m HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS'de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 42. Gebe hayvan grup 3 (OKS'de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 16 (OKS'de bekletilmiş, 200 nm HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 10 (OKS'de bekletilmiş, 1 μ m HC067047 varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş) gebe uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS

uygulanması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre.

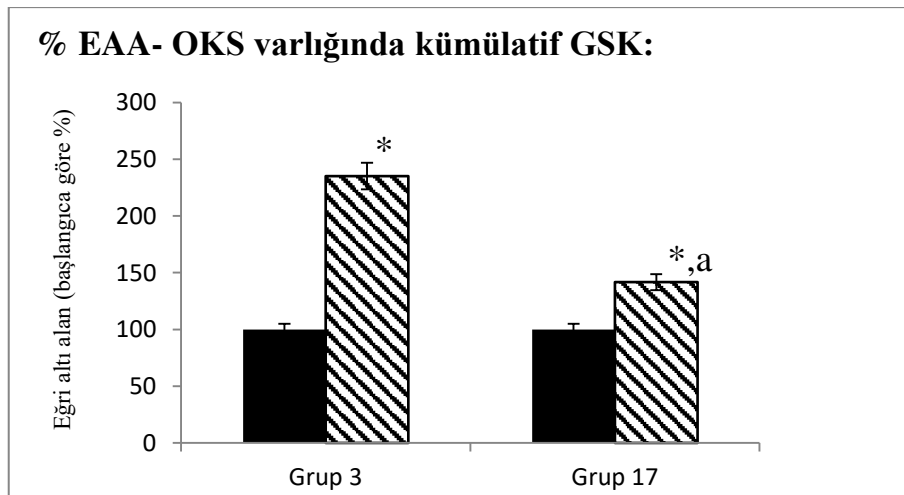
OKS’de bekletilmiş uterus dokuları TRPV4 reseptör antagonisti HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile 20 dk inkübe edildi, üzerine kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyonlarda uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan verileri incelendi. HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) yanıtlarının inhibe olduğu görüldü (Şekil 39). Eğri altında kalan alan % değişim verileri incelendiğinde HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyon yanıtlarının da inhibe edildiği tespit edildi (Şekil 40).

Deney gruplarına ait frekans değerleri incelendi. HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) konsantrasyon yanıtlarının frekans değerlerinin de inhibe edildiği tespit edildi (Şekil 41). Ayrıca amplitüd değerleri incelendi ve HC (200 nmol) ve HC (1 μ mol) ile inkübe edilen dokuların amplitüd değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı bir değişiklik saptanmadı (Şekil 42).

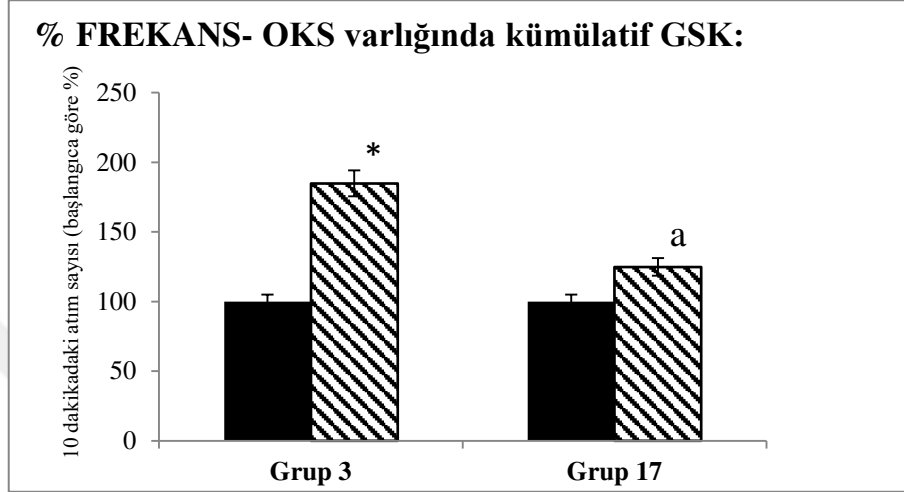
4.1.6 Gebe Hayvan Oksitosin ve GSK1016790A Bir Arada Kullanım Doz Yanıtları

4.1.6.1. Gebe Hayvan OKS’de Bekletilmiş Dokularda OKS Varlığında Kümülatif GSK1016790A Yanıtları

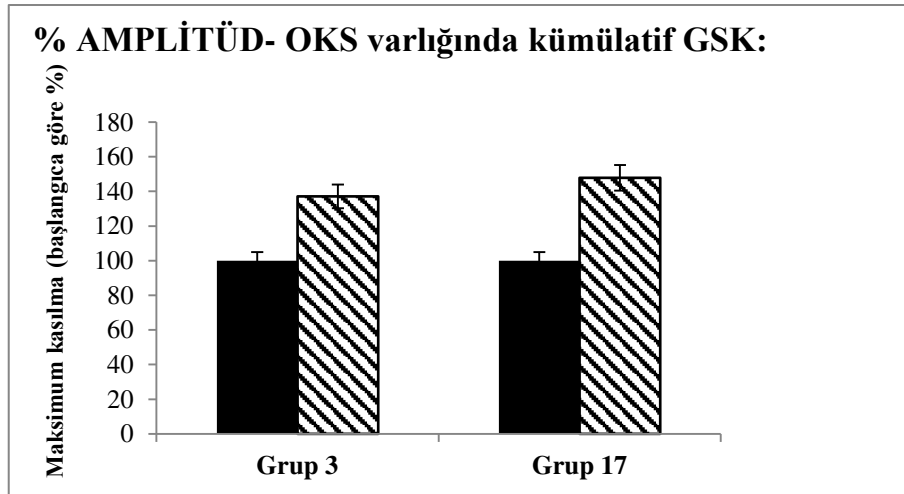


Şekil 43. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya

başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 44. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 45. Gebe hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 17 (OKS’de bekletilmiş, OKS varlığında kümülatif GSK1016790A verilmiş),

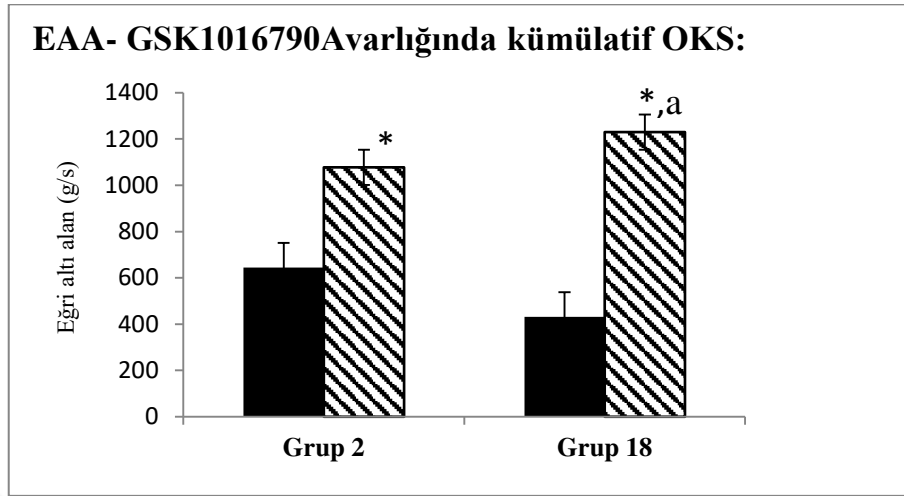
uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.

OKS’de bekletilmiş uterus dokuları OKS (10^{-6} M) ile 20 dk inkübe edildi, üzerine kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

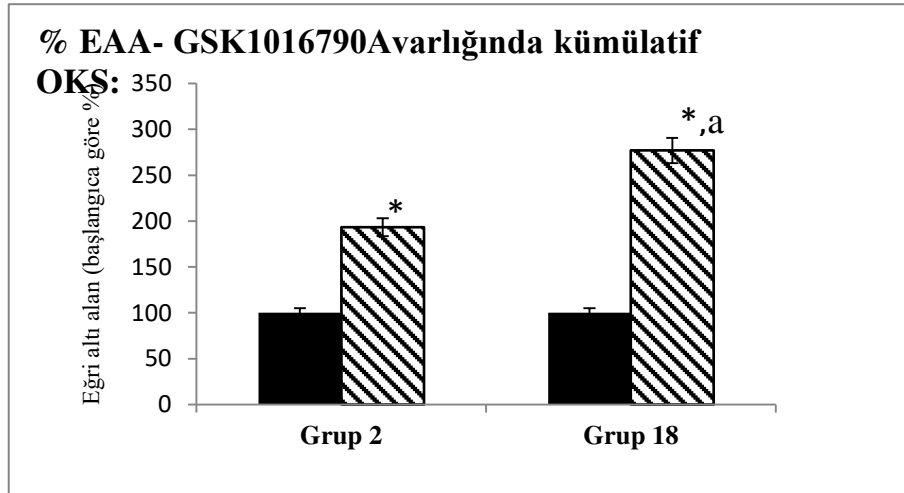
Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 43).

Deney gruplarına ait frekans değerleri % değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların frekans değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde düşük olduğu tespit edildi (Şekil 44). Ayrıca amplitüd değerleri % değişim verileri incelendi. OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların amplitüd değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı bir fark olmadığı saptandı (Şekil 45).

4.1.6.2. Gebe hayvan OKS’de bekletilmiş dokularda GSK1016790A varlığında kümülatif OKS yanıtları

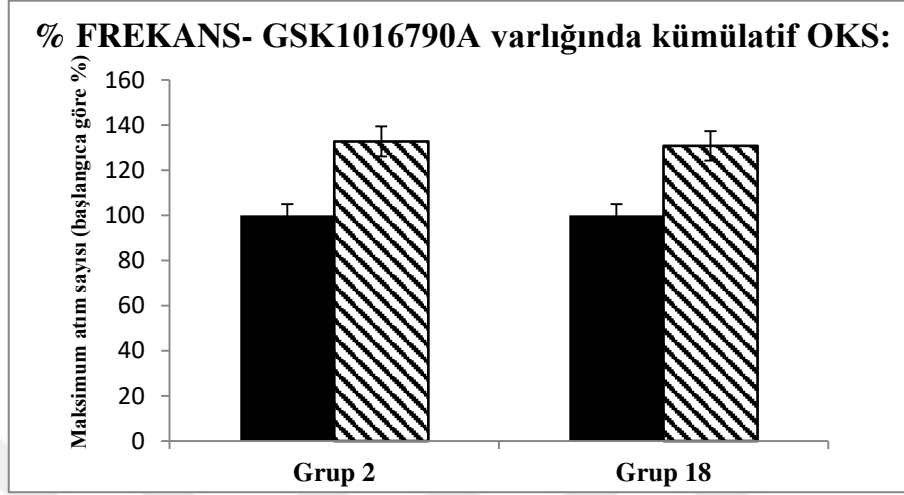


Şekil 46. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.

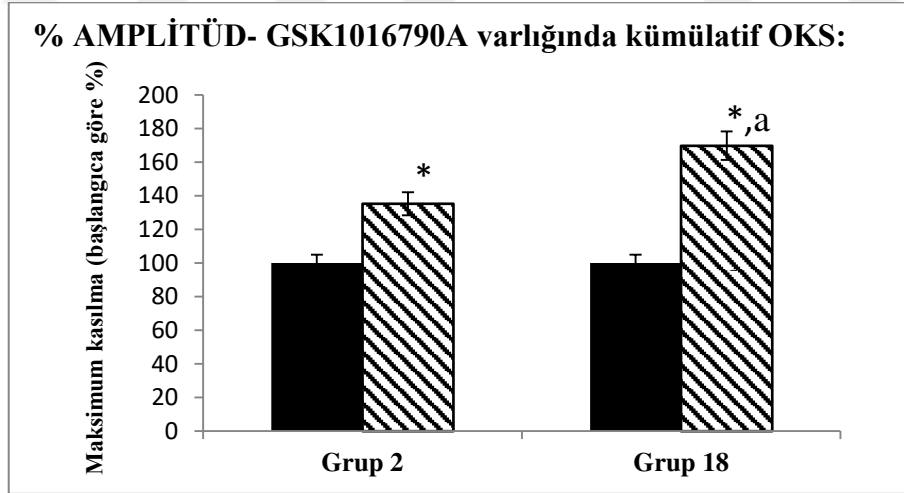


Şekil 47. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), gebe uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç

değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 48. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir.



Şekil 49. Gebe hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 18 (OKS’de bekletilmiş, GSK1016790A varlığında kümülatif OKS verilmiş), gebe uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨ :kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.

OKS'de bekletilmiş uterus dokuları GSK1016790A(10^{-6} M) ile 20 dk inkübe edildi, üzerine kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son konsantrasyonun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

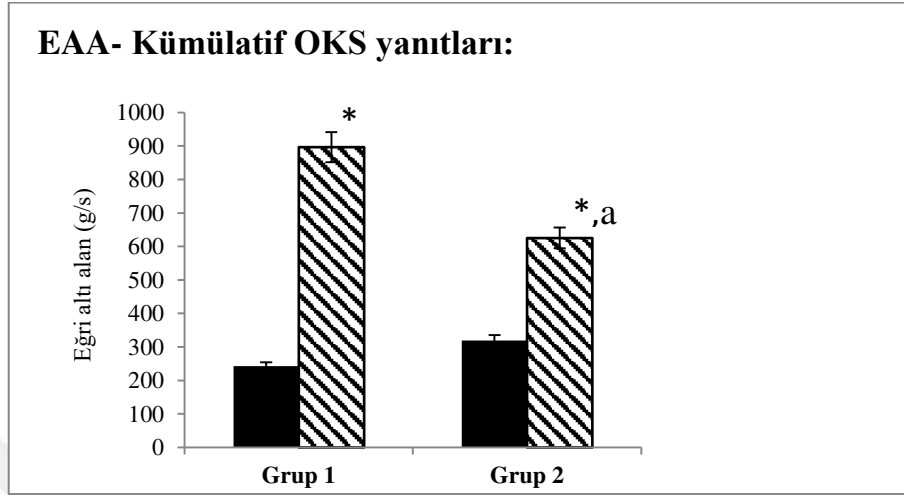
Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan verileri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıça göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. GSK1016790A (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 46).

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % değişim verileri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıça göre anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir. GSK1016790A (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların eğri altında kalan alan değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 47).

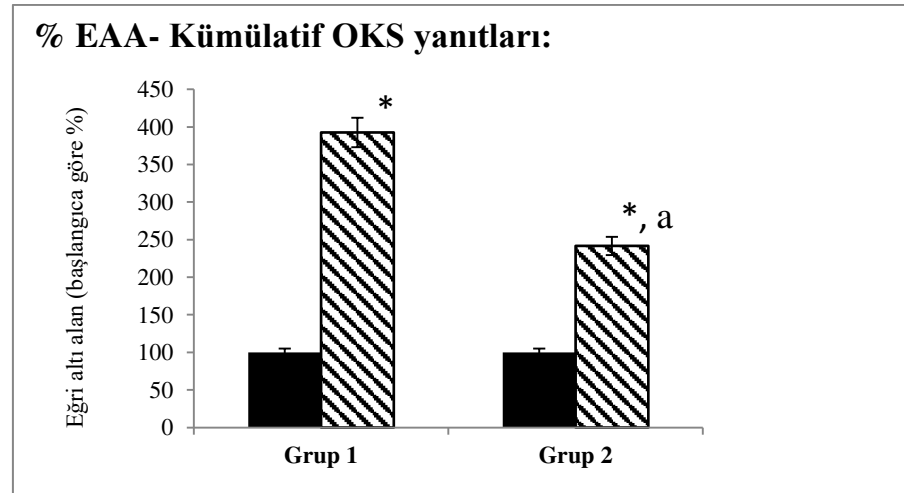
Deney gruplarına ait frekans değerleri % değişim verileri incelendi. GSK'da bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıça göre anlamlı bir değişim göstermediği tespit edildi (Şekil 48). Ayrıca amplitüd değerleri % değişim verileri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların amplitüd değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıça göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. GSK1016790A (10^{-6} M) ile inkübe edilen dokuların amplitüd değerlerinin inkübe edilmemiş dokulara göre anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 49).

4.2. Gebe Olmayan Hayvan Protokolleri

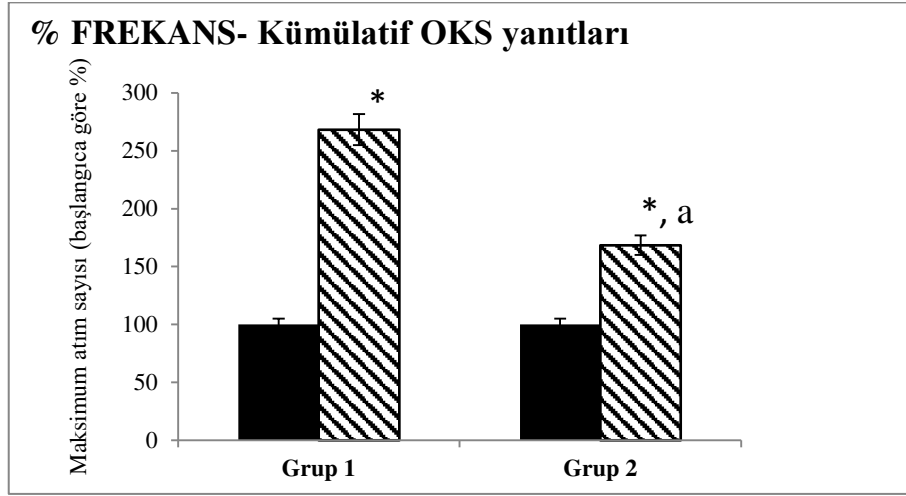
4.2.1 Gebe Olmayan Hayvan Oksitosin Yanıtları



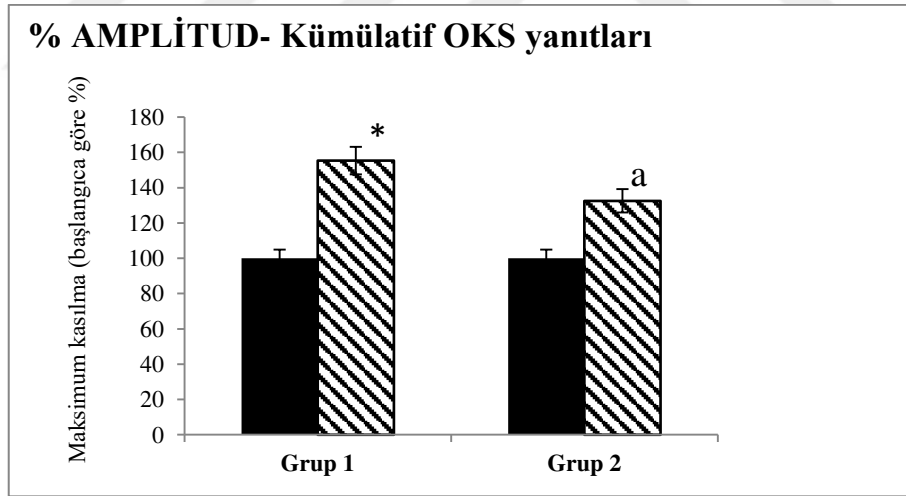
Şekil 50. Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 51. Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 52. Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 53. Gebe olmayan hayvan grup 1 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre; a: $p < 0,05$, PSS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS konsantrasyon yanıtına göre.

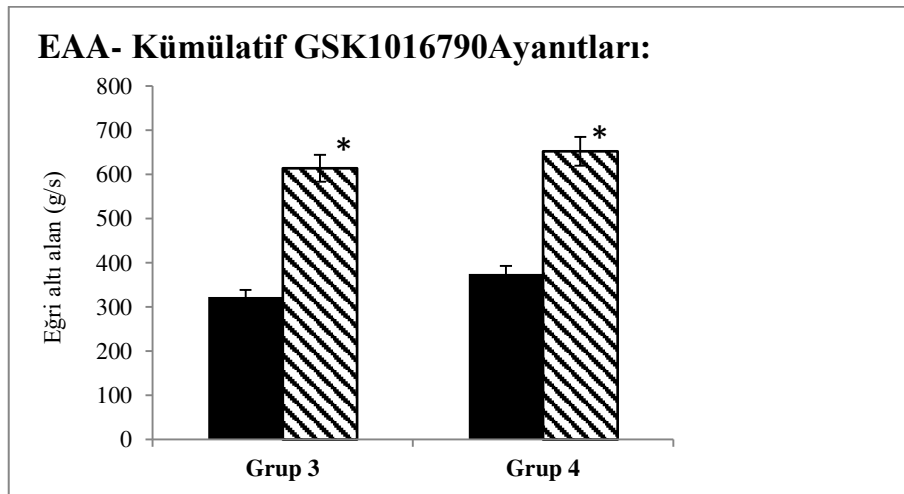
PSS ve OKS’de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son dozun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan değerleri incelendi. PSS ve OKS’de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif oksitosin uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS’de bekletilen dokuların kümülatif OKS yanıtlarının PSS’de bekletilen dokulara oranla anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 50).

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % değişim değerleri incelendi. PSS ve OKS’de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif oksitosin uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS’de bekletilen dokuların kümülatif OKS yanıtlarının PSS’de bekletilen dokularda oranla anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 51).

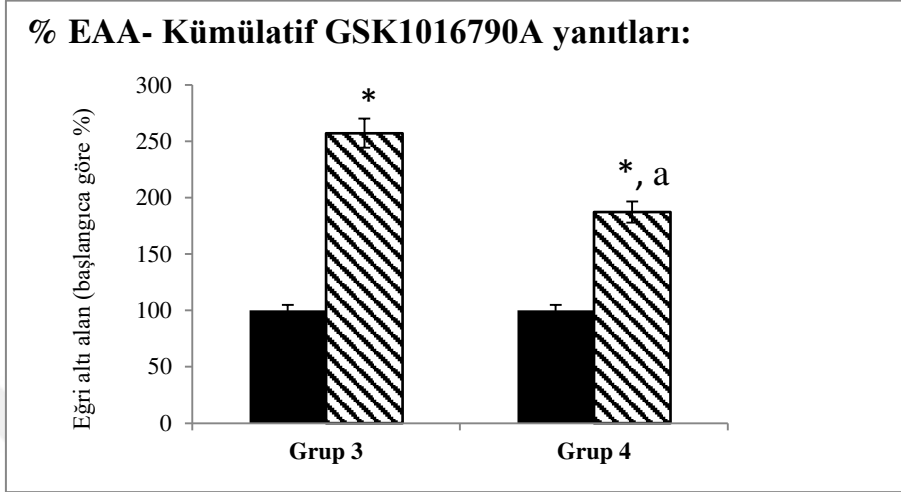
Deney gruplarına ait frekans değerleri % değişim verileri incelendiğinde PSS ve OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif OKS uygulanması ile başlangıca göre anlamlı bir değişim gösterdiği tespit edildi. OKS’de bekletilen dokuların kümülatif OKS yanıtlarının PSS’de bekletilen dokularda oranla anlamlı olarak azaldığı saptandı (Şekil 52). Ayrıca amplitüd değerleri % değişim verileri incelendiğinde OKS’de bekletilen dokuların amplitüd değerlerinin PSS’de bekletilen dokulara göre anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 53).

4.2.2 Gebe Olmayan Hayvan GSK1016790A Yanıtları

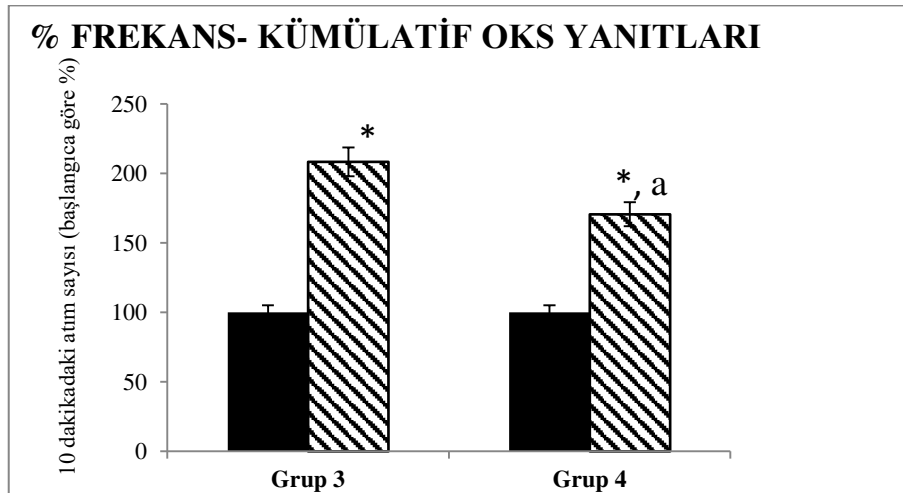


Şekil 54. Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan

önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre.

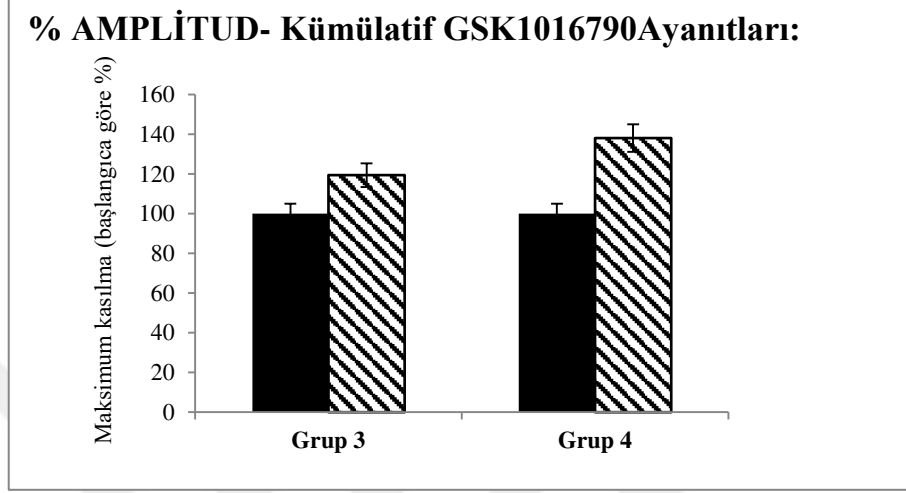


Şekil 55. Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç EAA değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen EAA değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre. a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 56. Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % frekans değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif

(10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre. a: $p < 0,05$, OKS’de bekletilmiş kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A konsantrasyon yanıtına göre.



Şekil 57. Gebe olmayan hayvan grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), grup 4 (PSS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % amplitüd değişim grafiği. ■ : dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç amplitüd değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen amplitüd değerini göstermektedir.

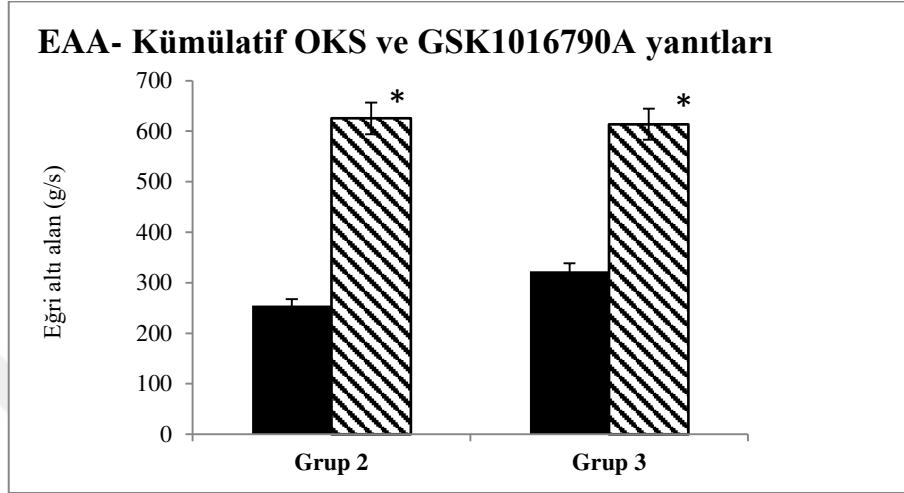
PSS ve OKS’de bekletilmiş uterus dokusuna kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son dozun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % değişim değerleri incelendi. PSS ve OKS’de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif GSK1016790A uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. PSS’de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının OKS’de bekletilen dokularda oranla anlamlı şekilde azaldığı saptandı (Şekil 55).

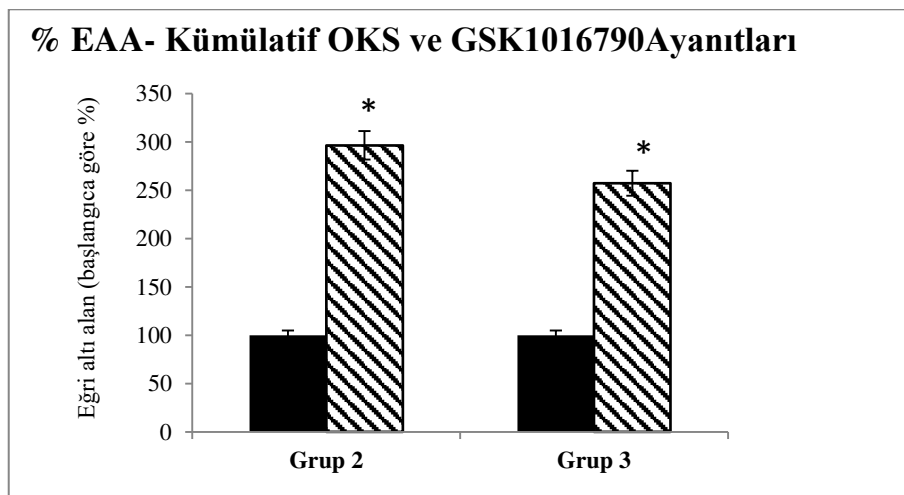
Deney gruplarına ait frekans değerleri % değişim verileri incelendi ve PSS ve OKS’de bekletilen dokuların frekans değerlerinin kümülatif GSK1016790A uygulanması ile başlangıca göre anlamlı bir değişim gösterdiği tespit edildi. OKS’de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının OKS’de bekletilen dokularda oranla anlamlı olarak

azaldığı tespit edildi (Şekil 56). Ayrıca amplitüd değerleri % değişim verileri incelendiğinde anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi (Şekil 57).

4.2.3 Gebe Olmayan Hayvan OKS- GSK1016790A Yanıtları



Şekil 58. Gebe olmayan hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS veya kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: p <0,05, kendi başlangıç değerine göre.



Şekil 59. Gebe olmayan hayvan grup 2 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif OKS verilmiş), grup 3 (OKS’de bekletilmiş, kümülatif GSK1016790A verilmiş), uterus striplerinin % EAA değişim grafiği. ■: dokunun protokol uygulanmaya başlamadan önceki 10 dakikada ölçülen başlangıç frekans değerini, ▨:kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) OKS

veya kümülatif (10^{-10} - 10^{-5} M) GSK1016790A uygulaması sonrası son dozu takip eden 10 dakikada ölçülen frekans değerini göstermektedir. *: $p < 0,05$, kendi başlangıç değerine göre.

OKS'de bekletilmiş gebe olmayan uterus dokusuna kümülatif OKS (10^{-10} - 10^{-5} M) ve kümülatif GSK1016790A (10^{-10} - 10^{-5} M) uygulandı; son dozun uygulanmasını takip eden 10 dakikalık periyottaki traselere ait veriler dokuların dinlenme periyodunu takip eden 10 dakikadaki traselerine ait veriler ile karşılaştırıldı.

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan değişim değerleri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif OKS uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS'de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının kendi başlangıç kasılmalarına göre anlamlı şekilde arttığı saptandı (Şekil 58).

Deney gruplarına ait eğri altında kalan alan % değişim değerleri incelendi. OKS'de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif OKS uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. OKS'de bekletilen dokuların kümülatif GSK1016790A yanıtlarının kendi başlangıç kasılmalarına göre anlamlı şekilde arttığı saptandı (Şekil 59).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Desensitizasyon G-protein kenetli reseptörleri ilgilendiren fosforilasyon, internalizasyon, reseptör m-RNA düzey değişiklikleri gibi değişik mekanizmalarla meydana gelebilen bir süreçtir. Amacı hücreyi aşırı uyarılmaya karşı korumaktır. İki aşamada oluşur. Birinci aşama reseptörün G-protein reseptör kinaz (GRK) enzimleri ile fosforile ederek G-proteinlerinin aktive olmasının engellenmesi, ikinci aşama ise arrestin proteinlerinin bağlanması ile reseptör internalizasyonun sağlanmasıdır. İnternalizasyonu takiben reseptörler lizozom aracılığı ile tamamen parçalanıp yok olabilir ya da bir süre sonra tekrar hücre yüzeyine dönebilirler (6). Oksitosin desensitizasyonu miyometrial hücrelerin oksitosine verdiği kontraksiyon cevabının bozulmasına buna bağlı olarak uterus kontraksiyonlarının sağlanamaması ve doğum sonrası kanamanın durdurulamamasına neden olur (7). Aynı insanlardaki gibi çeşitli deney hayvanı modellerinde de gebe sıçanlardan elde edilen ve oksitosine uzun süre maruz bırakılan uterus striplerinde de oksitosin yanıtlarının azaldığı gösterilmiştir (57).

İzole organ banyosunda oksitosin reseptör desensitizasyonun sağlanması için Joyce K. R. S. Magalhaes ve ark. yaptıkları bir çalışma referans alınmıştır (57). Araştırmacılar bu çalışmalarında değişik süre (1 saat ve 4 saat) ve değişik konsantrasyonlarda (10^{-10} ve 10^{-8} M) oksitosin maruziyetine uğramış uterus dokularının oksitosin yanıtlarını incelemiştir. Bu çalışma sonucunda kümülatif oksitosin uygulamasına verilen yanıtlar eğri altında kalan alan, frekans ve amplitüd yönünden incelenmiştir. Düşük doz oksitosin uygulandığında (10^{-10} M) oksitosin uygulanmayan dokuya göre hem bir saat hem de dört saat bekletmede anlamlı bir değişiklik görülmezken yüksek doz oksitosin uygulandığında (10^{-8} M) hem bir saatlik maruziyet süresinde hem de dört saatlik maruziyet süresinde uterus yanıtlarının azaldığı tespit edilmiştir. Bir saat oksitosin maruziyeti ile dört saat maruziyet arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Buradan hareketle çalışmamızda izole organ banyosunda oksitosin desensitizasyonu sağlanması için oksitosine 10^{-8} M dozunda bir saat maruziyet uygulanmıştır.

Oksitosine maruz bırakılan uterus stripleri ile PSS'de bekletilen stripler karşılaştırıldığında hem gebe hayvanlardan elde edilen dokularda (Şekil 14) hem de gebe olmayan hayvanlardan elde edilen (Şekil 50) ve oksitosinde bekletilen dokulardaki kümülatif oksitosin doz yanıtı eğri altında alanın anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi. Dokuların başlangıcındaki spontan gözlenen değerlerinin mümkün olduğunca birbirine

benzer olması istenmesine rağmen her zaman mümkün olmadığı için aynı zamanda kendi kontrolüne göre yüzde grafisi de çizilerek karşılaştırma yapıldı gebe (Şekil 15) ve gebe olmayan (Şekil 51) dokularda anlamlı şekilde azalma görüldü. Eğri altı alanda gözlenen bu azalma aynı zamanda frekansta (Şekil 16 ve Şekil 52) da gözlenirken maksimum amplitud de (Şekil 17 ve Şekil 53) anlamlı bir azalma saptanmadı. Böylece beklenen oksitosin desensitizasyonu hem gebe hem gebe olmayan sıçan uteruslarında oluşturduğu gösterildi.

Visakko ve ark. yaptıkları bir çalışmada 2014 yılında yaptığı bir çalışmada Ca^{+2} 'a geçirgen katyonik kanal ailesi olan TRP kanal ailesinin üyesi TRPV4 kanallarının uterus dokusunda var olduğu ortaya konmuştur (10). TRPV4 kanallarının gebe ve gebe olmayan sıçanlarda hem mRNA hem de protein düzeyinde varlıkları PCR, Westernblot ve immünohistokimyasal analizler ile gösterilmiştir. Aynı çalışmada TRPV4 kanalı agonisti GSK1016790A'nın gebe ve gebe olmayan sıçanlarda uterus kontraksiyonlarını artırdığı bulunmuştur. 2016 yılında Ying ve ark. yaptığı bir çalışmada TRPV4 kanal ekspresyonun gebe sıçanlarda hem mRNA hem de protein düzeyinde gebe olmayanlara oranla daha çok arttığı bulunmuştur (11). Bu durum gebelik ilerledikçe TRPV4 kanallarının artmasının doğum eyleminin gerçekleşmesinde bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda da uterusu hem gebe olan hem de gebe olmayan hayvanlardan elde edilen dokularda TRPV4 kanal agonisti GSK1016790A denendi. Protokolde PSS'de bekletilen dokular ile oksitosin desensitizasyonu oluşturulan dokularda GSK1016790A konsantrasyon yanıtı alındı. Hem gebe hem de gebe olmayan sıçan uteruslarında eğri altında kalan alan değerleri incelendiğinde; PSS ve OKS'de bekletilen dokuların kontraksiyonlarının kümülatif GSK1016790A uygulanması ile anlamlı şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 18, Şekil 54). Üstelik bu artış gebe hayvanlara ait oksitosinde bekletilerek oksitosin desensitize hale getirilmiş uterus dokularında PSS'de bekletilenlere göre anlamlı şekilde daha fazla idi. Kümülatif doz yanıtları karşılaştırıldığında GSK1016790A 10^{-5} M dozunda desensitize dokuda PSS'de bekletilene göre anlamlı şekilde artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 24). Gebe olmayan oksitosin desensitize dokular ile PSS'de bekletilmiş dokular arası anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum daha önce de belirtildiği gibi gebelik sürecinde TRPV4 kanallarının artması ile ilişkili olabilir. Sonuçlar bize oksitosin desensitizasyonu gelişen gebe hayvanlara ait dokularda kasıcı ajan olarak GSK'nın kullanılabileceğine dair bir fikir oluşturdu. Literatürde GSK'nın uterus dokusu üzerine kasıcı etkisi çeşitli çalışmalarla gösterilmiş olmasına rağmen bizim çalışmamız ile **oksitosin**

desensitizasyonu yaratılmış uterus dokularında da kasıcı etkisinin olduğu ilk kez gösterilmiş oldu.

OTR desensitizasyonu ile GSK'nın etki artışı arasındaki ilişki anlaşılmaya çalışıldı. G-protein kenetli reseptör desensitizasyon iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada fosforilasyon enzimleri, ikinci aşamada ise arrestin proteinleri görev almaktadır. Shukla ve ark. yaptıkları bir çalışmadan 2010 yılında yayınladıkları bir makalede ilk kez arrestin proteinleri ve TRPV4 kanalları arası işlevsel bir bağlantı gösterilmiştir (60). Hücre membranında bir kompleks halinde yer alan G-protein kenetli reseptör ailesinin bir üyesi olan anjiyotensin reseptörünün uyarılmasının arrestin proteinlerin komplekse hareket etmesine sebep olduğu, komplekse gelen arrestin proteinlerinin şaşırtıcı şekilde TRPV4 kanallarının ubikitinasyonuna neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca aynı çalışmada g- protein kenetli reseptörler için keşfedilen bazı paradigmaların başka kanallar ve taşıyıcıları da etkileyebileceği gösterilmiştir. Literatürdeki bu veriden farklı olarak bizim çalışmamızda G-protein kenetli reseptör ailesinin bir başka üyesi olan OTR'nin desensitize olduğu uterus dokusunda TRPV4 agonistlerinin daha etkili olduğu bulunmuştur. OTR ve TRPV4 kanallarının hücre yüzeyindeki fiziksel yerleşimleri bilinmediğinden bu iki yapının anjiyotensin reseptörleri ve TRPV4 kanalları gibi kenetli olmadığından kaynaklanabilir. Shukla ve ark. çalışması arrestin proteinleri ile TRPV4 kanallarının ubikitinasyonu arası ilişkiyi ortaya koymuştur. Buradan hareketle hücrede yer alan arrestin proteinlerinin OTR reseptör desensitizasyonunda görev almasının hücre membranında TRPV4 ubikitinasyonunun azalmasına ve buna paralel TRPV4 miktarının artmış olmasına neden olabileceğini düşündük. Ancak çalışmamızda oksitosin desensitizasyonunda miyometrial hücre zarındaki TRPV4 miktarındaki değişim moleküler düzeyde incelenememiştir. İlerleyen çalışmalarda konfokal mikroskop kullanılarak gözlenen etkinlik artışının hücre yüzeyindeki TRPV4 miktarı ile ilişkisi incelenebilir.

PSS'de bekletilen dokularda oksitosin ve GSK'nın kümülatif uygulanması sonucu elde edilen kasılmalar değerlendirildiğinde GSK'nın desensitize olmamış uterus striplerinde oksitosin kadar güçlü kasılmalar yapmadığı gözlemlendi (Şekil 23,24). Bu durumun frekanslardaki azalmadan kaynaklandığı görülmüştür (Şekil 25). Çünkü amplitudlar arası anlamlı bir fark yoktur (Şekil 26).

Çalışmamızda oksitosin ile desensitize edilmiş dokulara oksitosin verildiğinde elde edilen kasılmalar, desensitize dokulara GSK1016790A verildiğinde elde edilen kasılmalar

ile karşılaştırıldığında; GSK'nın oksitosine yakın kasılmalara neden olduğu gözlemlendi. Eğri altında kalan alan verileri incelendiğinde oksitosin ve GSK1016790 arasında anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 28). Yüzde frekans değişimlerinde GSK'nın anlamlı şekilde daha yüksek olduğu tespit edildi (Şekil 29). İki grup arası amplitüd verilerinde anlamlı bir fark görülmedi (Şekil 30).

Oksitosin uterus için özel ve güçlü bir kasıcı ajandır ve gebelik döneminde doğum eyleminin en önemli başlatıcısı ve sürdürücüsüdür. Oksitosin kadar güçlü kasılma yapan bir ajan bulunmaması nedeniyle doğum eylemi başlatılması ve sürdürülmesinde klinikte en sık kullanılan ilaç oksitosindir. Ancak daha önce de bahsedildiği gibi oksitosinin belli süre uygulanması sonucunda desensitizasyon gelişmektedir ki bu durumda oksitosinin kendisi de iyi bir kasıcı olmaktan çıkmaktadır. Bu durum uterus atonisi tedavisinde alternatif seçenekler aranmasına neden olmuştur. Uterus kasılmaları oksitosin, prostaglandin E2 (PGE2), prostaglandin F2 α (PGF2 α) moleküllerinin OTR, PGE2 reseptörleri (EP) ve PGF2 α reseptörleri (FP) üzerindeki etkileri ile gerçekleşir. Doğum sırasında PGE2 etkisini esas olarak EP3 reseptör alt tipi yoluyla gösterir. 2012 yılında Balki ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada oksitosin desensitizasyonu oluşturulmuş banyo ortamında desensitize dokulara oksitosin, PGF2 α , dinoprostol, alprostadil ve mizoprostol kümülatif dozlarda uygulanmıştır. Uterotonik ilaçların desensitizasyondan etkilenmedikleri tespit edilmiştir. Desensitizasyon nedeni ile gücü azalsa da oksitosinin hala diğer moleküllerden daha çok kasıcı etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Uterus atonisi tedavisinde ikinci sıra tedavi seçeneği olarak EP2/EP3 agonisti mizoprostol ve PGF2 α 'nin sentetik analogu olan karboprost kullanılır. 2013 yılında Xu C ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada oksitosinin arşidonik asitin PGE2 ve PGF2 α ya dönüşümünü sağlayan siklooksijenaz enziminin yukarı akış düzenleyicisi (upstream regülatör) olduğunu tespit etmiştir. Oksitosin antagonistleri miyometriumda PGF2 α kaynaklı kasılmaları ve inflamatuvar yanıtları inhibe eder. Bu bulgular çalışmaları OTR ve FP arasında arasındaki ilişkiye yönlendirmiştir (61). 2021 yılında Liao ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada OTR desensitizasyonunda EP3 ve FP ekspresyon ve aktivasyonunda desensitizasyonu telafi edici artışlar olabileceği düşünülmüştür. OTR, EP3 ve FP'de mRNA düzeyinde bir artış gözlemlenmedi. Miyometriumun karboprost duyarlılığının arttığı ancak maksimum kasılma gücünün değişmediği görüldü. Mizoprostolün ise normal miyometriumda inaktifken desensitize dokularda daha aktif olduğu bulundu (62).

PSS’de bekletilen dokularda TRPV4 reseptör antagonisti HC067047 iki farklı dozda banyo ortamına koyularak kümülatif oksitosin yanıtları incelendiğinde dokuların kendi başlangıç kontraksiyonlarına göre anlamlı şekilde kasıldıkları görülmüştür. Antagonist olan banyo ortamlarındaki dokularla antagonist olmayan ortamdaki dokular arasında eğri altında alan anlamlı şekilde azalmıştır (Şekil 31). Frekans verilerinin antagonist varlığında anlamlı şekilde azaldığı görülürken (Şekil 32), amplitüd verilerinde anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 33).

OKS’de bekletilen dokularda TRPV4 reseptör antagonisti HC067047 iki farklı dozda banyo ortamına koyularak kümülatif oksitosin uygulanması ile dokuların eğri altında alan değerlerinin başlangıca göre anlamlı şekilde arttığı ve HC067047’nin bulunduğu banyo ortamında bu kasılmaları azalttığı gözlemlendi (Şekil 34). Frekans ve amplitüd değerleri incelendiğinde; HC067047’nin hem frekansları hem de amplitüdlere azalttığı gözlemlendi (Şekil 35- 36).

Ying ve ark. yaptıkları bir çalışmadan 2016 yılında yaptığı çalışmada TRPV4 kanal ekspresyonunun gebe sıçanlarda gebe olmayanlara oranla daha çok arttığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada gebe sıçanlarda TRPV4 kanallarının aktive edilmesiyle hücre içi Ca^{+2} düzeyinin gebe olmayan sıçanlar göre daha çok arttığı tespit edilmiştir. TRPV4 antagonisti HC067047 varlığında uterusun oksitosine verdiği kontraktıl yanıtların azaldığı görülmüştür (11). **Bizim çalışmamızda da PSS’de ve oksitosinde bekletilen dokulardaki oksitosin kasılmalarının TRPV4 reseptör antagonisti uygulaması ile azalması ve özellikle OKS’de bekletilen dokularda etkinin neredeyse ortadan kalkması oksitosinin desensitize uterusu oluşturduğu kontraktıl yanıtı TRPV4 kanallarının etkili olduğu sonucunu ortaya koymaktadır.**

Singh ve ark. yaptıkları bir çalışmadan yaptığı çalışmada TRPV4 kanal antagonisti HC067047 varlığında GSK1016790A’nın kontraktıl etkisi yok olmuştur (10). Bizim çalışmamızda da PSS’de bekletilmiş dokularda da oksitosin ile desensitize edilen dokularda da GSK1016790A’nın kontraktıl etkisi HC067047 tarafından inhibe edildi (Şekil 37-38).

Oksitosin G-protein kenetli OTR’ne bağlanarak GSK1016790A ile TRPV4 kanallarını aktive ederek etki gösterir. Çalışmamızda oksitosin ve GSK’nın desensitize dokuda kasıcı etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. İki molekülün farklı mekanizmalarla hücreye kalsiyum girişini arttırdığını düşününce beraber kullanımlarında hücre içi kalsiyum miktarının artışı potansiyelize edecekleri ve buna paralel olarak daha güçlü kasıcı yanıtı

neden olacaklarını düşündürmüştür. Bu da bize oksitosin ile desensitize olan dokularda beraber kullanımının kasılmaları artırarak uterus atonisi tedavisine katkıda bulunacağını düşündürmüştür.

Post partum dönemde uterus kontraksiyonunu sağlamak ve kanamayı önlemek için farmakolojik yöntemlerin yanı sıra non farmakolojik girişimler yapılmaktadır. Rutin ilaçsız müdahalelerden biri eksternal uterus masajıdır. Bu masajın prostaglandin salımını ve rahim kasılmasını uyararak doğum sonu kanama miktarını azalttığı düşünülmektedir (63). Non selektif katyon kanalı olan TRPV4 kanallarının esneme, kesme osmotik şişme ve büzülme, sertleşme, yüzey genleşmesi gibi mekanik uyarılara yanıt olarak hücrel bir mekanosensör görevi gördüğü öne sürülmüştür (64,65). Literatürdeki bu iki veri birarada değerlendirildiğinde uterus masajı ile oluşan kontraktıl etkiye TRPV4 kanallarının mekanosensör etkilerinin aracılık ediyor olabileceğini düşündürmüştür.

Buradan hareketle çalışmamızda GSK1016790Ave oksitosinin bir arada kullanıldığında oluşan kontraktıl yanıt incelendi. GSK'nın oksitosin ile birlikte uygulanmasının etkisini değerlendirmek için desensitize edilmiş dokulara oksitosin inkübasyonunu takiben kümülatif GSK1016790Auygulanmıştır. Banyo ortamında oksitosin varlığının GSK'nın etkisini azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 43). GSK'nın oksitosin konsantrasyon yanıt eğrisi almadan önce banyo ortamına konulup beklenmesi durumunda oksitosin yanıtlarını artırdığı gözlemlendi. Bu bulgu bize GSK'nın kendine özgü TRPV4 kanallarını uyararak hücre içine kalsiyum girişini artırıp oksitosin desensitizasyonunun ortadan kaldırılmasına yardımcı olabileceğini düşündürdü.

Gebe olmayan sıçanlardan elde edilen bulgular gebe sıçanlarda da benzer şekildeydi.

Sonuç olarak; izole organ banyosunda oksitosin desensitizasyon modeli başarı ile oluşturulmuştur. Gebe ve gebe olmayan sıçan dokularında TRPV4 agonistinin desensitize dokularda kasılmaları artırdığı literatürde ilk kez gösterilmiştir. TRPV4 antagonisti varlığında oksitosin kasılmalarının azalması özellikle gebe ve desensitizasyon oluşturulmuş dokuda nerede ise yok olması bu durumda oksitosinin etkisine TRPV4 kanallarının katkısı olduğunu göstermiştir. GSK1016790Avarlığında oksitosinin etkisindeki artış iki molekülün bir arada kullanımının yeni bir tedavi yöntemi olabileceğini ortaya koymuştur. TRPV4 kanalları oksitosin desensitizasyonunun ortadan kaldırılmasına yardımcı olma potansiyeli taşımaktadır. Kısıtlı bütçe ile yapılan projeden sonra moleküler düzeyde daha ayrıntılı bir şekilde bu oksitosin desensitizasyonunun altında yatan mekanizmaların açıklanması

planlanmaktadır. Ayrıca bu çalışmanın gelecekte uzamış doğum eylemi ve yapılan indüksiyon sonucunda sezaryen ameliyatına alınan gebelerden elde edilen insan uterus dokularında çalışılması planlanmıştır.



6. KAYNAKLAR

1. World health oraganisation (2022). Trends in maternal mortality [online]. Available from <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/maternal-mortality-2017/en/>. [Accessed 30 August 2022].
2. Callaghan WM, Kuklina EV, Berg CJ (2010). Trends in post partum hemorrhage: United States. *Am J Obstet Gynecol.* 202 : 353-359.
3. Bingham D, Jones R (2012). Maternal death from obstetric hemorrhage. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 41:531-540.
4. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (1998). Türkiye nüfus ve sağlık araştırmaları [online]. Available from: <http://www.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=aramadetay&id=15&kelime=anne%20ölümü&page>
5. ACOG Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. Practice Bulletin 2016. Management of Preterm Labor. Number. 171: *Obstet Gynecol.* 128(4):155-164.
6. Vigneaud V, Ressler C, Swan, JM, Roberts CV, Katsoyannis PG (1954). The synthesis of oxytocin. *Journal of the American Chemical Society.* 76(12): 3115-3121.
7. Robinson, C., Schuman, R., Zhang, P., Young, R.C. 2003. Oxytocin-induced desensitization of the oxytocin receptor, *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 187: 497-502.
8. Samanta A, Hughes TET, Moiseenkova-Bell VY (2018). Transient Reseptör potansiyeli (TRP) Channels. *Subcell Biochem.* 87:141-165.
9. Nilius B, Watanabe H, Vriens J (2003). The TRPV4 channel: structure-function relationship and promiscuous gating behaviour. *Pflugers Arch.* 446(3): 298-303.
10. Singh V, Ram M, Kandasamy K, Thangamalai R, Choudhary S, Dash RJ, Kumar D, Parida S, Singh TU, Kumar MS (2015). Molecular and functional characterization of TRPV4 channels in pregnant and nonpregnant mouse uterus. *Life Sciences.* 122:51-58.
11. Ying L, Becard M, Lyell D, Han X, Shortliffe L, Iosef HC, Alvira CM, Cornfield DN (2015). The trasient reseptör potansiyeli vanilloid 4 channel modulates uterine tone during pregnancy. *Science Translational Medicine.* 7: 204-319.
12. Mhyre JM (2020) . Maternal mortality. *Chestnut's Obstetric Anesthesia Altıncı baskı.* 39: 959-970. <https://www.clinicalkey.com/#!/content/book/3-s2.0-B9780323566889000399> [Accessed 30 August 2022].

13. ACOG Committee on Practice Bulletins-Obstetrics. Practice Bulletin 2017. Postpartum Hemorrhage. Number 183: Obstet Gynecol. 130(4):168-186.
14. ACOG Committee Opinion: 2019. Quantitative Blood Loss in Obstetric Hemorrhage, Number 794. Obstet Gynecol. 134(6):150-156.
15. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (1998). Türkiye nüfus ve sağlık araştırmaları [online]. Available from: <http://www.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=aramadetay&id=15&kelime=anne%20ölümü&page>
16. López BA, Rivera J, Europe-Finner GN (1995). Parturition: activation of stimulatory pathways or loss of uterine quiescence. Adv Exp Med Biol. 395:435-51.
17. Garrioch DB (1978). The effect of indomethacin on spontaneous activity in the isolated human myometrium and on the response to oxytocin and prostaglandin. Br J Obstet Gynaecol. 85(1):47.
18. Challis JRG, Gibb W (1996). Control of parturition. Prenat Neonat Med. 1:283.
19. Dutta A (2021). Presentation and mechanism of labor. Glob. libr. women's med. 11:1756-2228. doi:10.3843/GLOWM.414323.
20. Lynch CB, Lalonde Ab, Keith LG, Karoshi M (2010). Text book of post partum hemorrhage. Çeviren: Demir C, Matus Basımevi Reklam ve Yay. Tic. Ltd. Şti.
21. Sung S, Mahdy H. (2022). Cesarean Section. [Accessed 2022 Apr 21]. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;
22. ACOG Committee Opinion: 2019. Quantitative Blood Loss in Obstetric Hemorrhage, Number 794. Obstet Gynecol. 134(6):150-156.
23. Feduniw S, Warzecha D, Szymusik I, Wielgos M (2020). Epidemiology, prevention and management of early postpartum hemorrhage — a systematic review. Ginekologia Polska. 91(1):38-44.
24. Selo-Ojeme DO (2002). Primary post partum haemorrhage. Journals of Obstetrics and Gynecology 22(5): 463-469.
25. Combs CA, Murphy EL, Laros RK (1991). Factors associated with postpartum hemorrhage in cesarean delivery. Obstetrics & Gynecology. 77:69-76.
26. Carroli G, Cuesta C, Abalos E, Gulmezoglu AM (2008). Epidemiology of postpartum haemorrhage: a systematic review. Best Practise & Research Clinical Obstetrics Gynecology. 22(6): 999-1012.

27. Selo-Ojeme DO (2002). Primary post partum haemorrhage. *Journals of Obstetrics and Gynecology* 22(5): 463-469.
28. Ameer MA, Fagan SE, Sosa-Stanley JN (2022). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Uterus. [Updated 2022 Feb]. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan
29. Pehlivanoğlu B, Bayrak S, Doğan MA (2013). Close look at the contraction and relaxation of the myometrium; the role of calcium. *J Turkish Germany Gynecol Assoc.* 14:230-234
30. Gentry A, Pagidas K (2020). Assessment of Uterine Anatomy and Implications of Müllerian Disorders and Acquired Uterine Lesions on Fertility. In: Allahbadia GN, Ata B, Lindheim SR, Woodward BJ, Bhagavath B (ed). *Textbook of Assisted Reproduction*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-2377-9_2
31. Chaudhry R, Chaudhry K. (2021). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Uterine Arteries. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; September 9, 2021.
32. Aleksandrovykh V, Kurnik-Łucka M, Bereza T, et al. The Autonomic Innervation and Uterine Telocyte Interplay in Leiomyoma Formation. *Cell Transplant.* 2019;28(5):619-629. doi:10.1177/0963689719833303.
33. McEvoy A, Sabir S (2022). Physiology, Pregnancy Contractions. [Updated 2021 Sep 20]. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.
34. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin: Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists Number 76, October 2006: postpartum hemorrhage. *Obstet Gynecol.* 2006 Oct;108(4):1039-47. doi: 10.1097/00006250-200610000-00046.
35. Breathnach F, Geary M (2008). Uterine Atony: Definition, prevention, non surgical management and uterine tamponade. *Seminars in Perinatology.* 33:82-87.
36. Miller HE, Ansari JR. (2022). Uterine atony. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1;34(2):82-89. doi: 10.1097/GCO.0000000000000776. PMID: 35102109.
37. Vrachnis N, Malamas FM, Sifakis S, Deligeoroglou E, Iliodromiti Z (2011). The Oxytocin-Oxytocin receptor system and its antagonists as Tocolytic agents. *International Journal of Endocrinology.* 2011:350546
38. Jurek B, Neumann ID. The Oxytocin Receptor: From Intracellular Signaling to Behavior. *Physiol Rev.* 2018;98(3):1805-1908. doi:10.1152/physrev.00031.2017
39. Lee HJ, Macbeth AH, Pagani JH, Young WS 3rd. Oxytocin: the great facilitator of life.

- Prog Neurobiol. 2009 Jun;88(2):127-51. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.04.001.
40. Froemke R, Carcea I (2017). Oxytocin and Brain Plasticity. Principles of gender specific medicine. 9:161-182.
 41. Nishimori K, Young LJ, Guo Q, Wang Z, Insel TR, Matzuk MM (1996). Oksitosin is required for nursing but it is not essential for parturition or reproductive behavior. PNAS. 93(21): 11699-11704.
 42. Arrowsmith S, Keov P, Muttenthaler M, Gruber CV (2018). Contractility Measurements of Human Uterine Smooth Muscle to Aid Drug Development. J. Vis. Exp. 131: 56639.
 43. Sanborn BM, Ku CY, Shlykov S, Babich L (2005). Molecular signaling through G-protein-coupled receptors and the control of intracellular calcium in myometrium. Journal of the Society for Gynecologic Investigation, 12(7):479-487.
 44. Lipshitz J, Klose CW (1985). Use of tocolytic drugs to reverse oxytocin-induced uterine hypertonus and fetal distress. Obstet Gynecol. 66(3):16-18.
 45. Ghosh E, Kumari P, Jaiman D (2015). Methodological advances: the unsung heroes of the GPCR structural revolution. Nat Rev Mol Cell Biol. 16:69–81. <https://doi.org/10.1038/nrm3933>
 46. Malik M, Ward WD, Fang Y, Porter JR, Zimmerman MI, Koelblen T, Roh M, Frolova AI, Burris TP, Bowman GR, Imoukhuede IP, England SK (2021). Naturally occurring genetic variants in the oxytocin receptor alter receptor signaling profiles. ACS Pharmacology & Translational Science. 4(5):1543-1555.
 47. Balki M, Kanwal N, Soussi ME, Kingdom J, Carvalho JCA (2008). Uterine atony Contractile Efficacy of Various Prostaglandins in Pregnant Rat Myometrium Pretreated With Oxytocin. Reproductive sciences. 19: 968-975.
 48. O'Neil RG, Brown RC (2003). The Vanilloid Receptor Family of Calcium-Permeable Channels: Molecular Integrators of Micro Environmental Stimuli. News in Physiological Sciences. 18(6): 226-231.
 49. Clapham DE, Runnels LW, Strübing C (2001). The TRP ion channel family. Nat Rev Neurosci. 2(6):387-396.
 50. Benemei S, Patacchini R, Trevisani M, Geppetti P (2015). TRP Channels. Current Opinion in Pharmacology. 22, 18-23.
 51. Samanta A, Hughes TDT, Moiseenkova VY (2018). Transient reseptör potansiyeli (TRP) channels. Subcell Biochem. 87:141-165.

52. Zheng J (2013). Molecular mechanism of TRP channels. *Compr Physiol.* 3(1):221-42. doi: 10.1002/cphy.c120001.
53. Blackshaw LA, Brierley SM, Hughes PA (2010). TRP channels: New targets for visceral pain. *Gut.* 59(1):126-135.
54. Venkatachalam K, Montell C (2007). TRP channels. *Annu Rev Biochem.*76: 387-417. doi:10.1146/annurev. biochem.75.103004.142819
55. Dyer RA, Van DYK, Dresner A (2010). The use of uterotonic drugs during caesarean section. *International Journal of Obstetric and Anesthesia.* 19:313-9.
56. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian journal of biology.* 62(4):609-614.
57. Magalhaes KRS, Carvalho CA, Parkes RK, Kingdom J, Li Y, Balki M (2009). Oxytocin Pretreatment Decreases Oxytocin-induced Myometrial Contractions in Pregnant Rats in a Concentration-dependent But Not Time-dependent Manner. *Reproductive Sciences.* 16:501-508.
58. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP (2002). Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian journal of biology.* 62(4):609-614.
59. Aleksandrovykh V, Kurnik-Łucka M, Bereza T, Białas M, Pasternak A, Cretoiu D, Walocha JA, Gil K (2019). The Autonomic Innervation and Uterine Telocyte Interplay in Leiomyoma Formation. *Cell Transplant.* 28(5):619-629
60. Shukla AK, Kim J, Ahn S, Xiao K, Shenoy SK, Liedtke W, Lefkowitz RJ (2010). Arresting a transient reseptör potansiyeli (TRP) channel: beta-arrestin 1 mediates ubiquitination and functional down-regulation of TRPV4. *J Biol Chem.* 24;285(39):30115-25. doi: 10.1074/jbc.M110.141549.
61. Chen Xu, Alicia Long, Xin Fang, Stephen L. Wood, Donna M. Slater, Xin Ni, David M. Olson (2013). Effects of PGF_{2α} on the Expression of Uterine Activation Proteins in Pregnant Human Myometrial Cells From Upper and Lower Segment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 98;7(2975–2983 <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2829>
62. Li-Mei Liao, Jian-Ying Hu, Ting-Ting Wang, Shao-Qiang Huang (2021). Uterine receptor activation in response to uterotonic agents in late-pregnancy rat myometrium following pretreatment with oxytocin: an in vitro study. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 48(3), 500–508. <https://doi.org/10.31083/j.ceog.2021.03.2303>
63. Hofmeyr GJ, Abdel-AleemH, Abdel-Aleem MA. (2013). Uterine massage for

preventing postpartumhaemorrhage. Cochrane Database Syst Rev. 2013;1:CD006431. URL: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006431.pub3>.

64. Liedtke W, Friedman JM (2003). Abnormal osmotic regulation in trpv4^{-/-} mice. Proc Natl Acad Sci USA. 100:13698–703. doi: 10.1073/pnas.1735416100.
65. Michalick L, Erfinanda L, Weichelt U, van der Giet M, Liedtke W, Kuebler WM (2017). Transient reseptör potansiyeli Vanilloid 4 and serum glucocorticoid-regulated kinase 1 are critical mediators of lung injury in overventilated mice in vivo. Anesthesiology. 126:300–11. doi: 10.1097/ALN.0000000000001443





EKLER

BİLDİRİLER

1. Renda G., Çiçen M., **Sağlam M.**, Duman M., Kırmızıbekmez H (2016). Bioactivity guided isolation of antiinflammatory constituents from the roots of *Scrophularia cinerascens*. Plant Omics and Biotechnology for Human Health (POBHH), International PSE Symposium, Gent, Belçika, 21 - 24 Kasım 2016
2. Renda G., Korkmaz B., **Sağlam M.**, Duman M., Kırmızıbekmez H (2016). Bioactivity guided isolation of antiinflammatory compounds from *Scrophularia Kotschyana*. Trends in Natural Product Research: A Young Scientist Meeting of PSE and IUNG, Pulawy, Polonya, 30 Mayıs - 02 Haziran 2016, ss.8
3. Renda G., Korkmaz B., **Sağlam M.**, Yazıcı Bektaş N., Duman M., Kırmızıbekmez H. (2016). In vivo analgesic activity and phytoconstituents of *Scrophularia Kotschyana*. 63rd International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research (GA), Budapeşte, Macaristan, 23 - 27 Eylül 2015, ss.81.
4. Engin S, **Sağlam M.**, Gazioğlu EN, Duman M (2015). Effects of trimebutine maleate on isolated rat detrusor muscle contractility. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 9-12 Haziran 2015, Poster Bildirisi, 193-194, Ankara
5. Gazioğlu EN, **Sağlam M.**, Engin S, Duman M (2015). Effects of trimebutine maleate on xascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. 11th International Symposium on Pharmaceutical Sciences, 9-12 Haziran 2015, Poster Bildirisi, 186-187, Ankara.
6. Gazioğlu EN, **Sağlam M.**, Erköseoğlu İ, Altıntaş Aykan D, Günak SK, Duman M (2013). Karadeniz Teknik Üniversitesi teratojenite bilgi servisine gebelikte ilaç kullanımı nedeniyle başvuran gebelerin retrospektif olarak değerlendirilmesi. 22. Ulusal Farmakoloji Kongresi, 4-7 Kasım 2013, Poster Bildirisi, 260-261, Antalya.

ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. TÜBİTAK 3501 Projesi (113S252) Bursiyer
2. TÜBİTAK 3001 Projesi (218S257) Bursiyer