



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OVEREKTOMİZE RATLARIN İSKEMİK KALP
DOKUSUNDA GPER-1 DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

MAHMUT AY

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMÜHENDİSLİK VE BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2019

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OVEREKTOMİZE RATLARIN İSKEMİK KALP
DOKUSUNDA GPER-1 DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

MAHMUT AY

Bu tez,
Biyomühendislik Ve Bilimleri Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Mahmut AY tarafından hazırlanan “**OVEREKTOMİZE RATLARIN İSKEMİK KALP DOKUSUNDA GPER-1 DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27/12/2019 tarihinde oy birliği ile Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

.....

Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı, KSÜ

Dr. Öğr. Üyesi Ebru SALMANOĞLU

Nükleer Tıp Ana Bilim Dalı, KSÜ

.....

Prof. Dr. Serap YALIN

Biyokimya Ana Bilim Dalı, MEÜ

.....

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Mahmut AY



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:2018/10- 01 YÜKSEK LİSANS

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**OVEREKTOMİZE RATLARIN İSKEMİK KALP DOKUSUNDA GPER-1
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

MAHMUT AY

ÖZET

Kardiyovasküler hastalıklar, günümüz toplumunda sıklıkla karşımıza çıkan ve tedavi maliyeti oldukça yüksek olan bir hastalıklardır. Menopozla beraber kadınlarda kardiyovasküler hastalıklarda artma ve endotel fonksiyonlarında bozulma olmaktadır. Östrojenin sağlıklı postmenopozal kadınlarda aorta esnekliği ve sol ventriküler diyastolik fonksiyonu düzelttiği bildirilmiştir. Östrojenin hücredeki etkilerine klasik östrojen reseptörleri (ER'ler; α ve β) ve G proteini bağlı östrojen reseptörü 1 (GPER-1, GPER veya GPR30) aracılık etmektedir. GPER, estradiol (E2)'e yüksek afinite ile bağlanan, ancak diğer östrojen reseptörlerden (ER α ve ER β) farklı sinyalleri veren membran bağlı bir reseptör'dür.

İlk defa yapılan bu çalışmada, overektomize ratların iskemik kalp dokusunda biyokimyasal ve histopatolojik etkileri 32 ergin dişi rat üzerinde araştırıldı. Ratlar randomize olarak dört gruba ayrıldı; grup 1; Kontrol (n=8), grup 2; Overektomi uygulanan grup (n=8), grup 3; Sadece İskemi-reperfüzyon uygulanacak grup (n=8), ve grup 4; Overektomi + İskemi-reperfüzyon uygulanan grup (n=8). Overektomi yapılan gruplar kalp iskemisi-reperfüzyon yapılmadan 14 gün öncesinde overleri cerrahi olarak alındı. Overektomi yapılmayan gruplar ise operasyon stresini ekarte etmek amacıyla sadece batınlar açılıp kapatıldı. Menapoz oluştuktan sonra tüm gruptaki ratların kalbine 10 dakika iskemisi ve 10 dakika reperfüzyona uygulandı. Reperfüzyon sonrasında tüm gruplardan kan alındı ve plazmada kreatin kinaz (CK-MB), östrojen ve progesteron düzeyleri ölçüldü. Daha sonra hayvanlar sakrifiye edilerek kalp dokuları çıkarıldı. Doku örneklerinde GPER düzeyleri ölçüldü. Biyokimyasal parametrelerin tümü (CK-MB, östrojen, progesteron ve GPER) ELİZA cihazında ticari kitler ile ölçüldü.

Biyokimyasal incelemeler sonunda; Gruplar arasında CK-MB düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermedi ($p>0,05$). Östrojen düzeyleri kontrole kıyasla diğer gruplarda oldukça düşüktü ($p<0,05$). Buna karşın, gruplar arasında progesteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar yoktu ($p>0,05$). GPER düzeyleri Overektomi ve Overektomi+ İskemi-reperfüzyon gruplarında diğer gruplara göre kıyasla oldukça yüksekti ($p<0,05$). Histopatolojik olarak, kontrol grubu hariç tüm gruplarda

miyokardiyal ödem, miyositolizis, hemoraji ve polimorf nüveli lökosit (PMNL) infiltrasyon bulguları gözlemlendi.

Sonuç olarak, artmış GPER düzeyleri overektomi sonrası bozulmuş ve/veya yetersiz östrojen sentezinden kaynaklanmaktadır ki, bu da kalp disfonksiyonunu neden olmaktadır.

Anahtar Kelimeler: GPER, kalp iskemi-reperfüzyon hasarı, overektomize, östrojen

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik ve Bilimleri, Aralık/ 2019

Danışman: Prof. Dr. Ergül Belge KURUTAŞ

Sayfa sayısı: 52

INVESTIGATION OF GPER-1 LEVELS IN ISCHEMIC HEART TISSUE OF OVERECTOMIZED RATS

MAHMUT AY

ABSTRACT

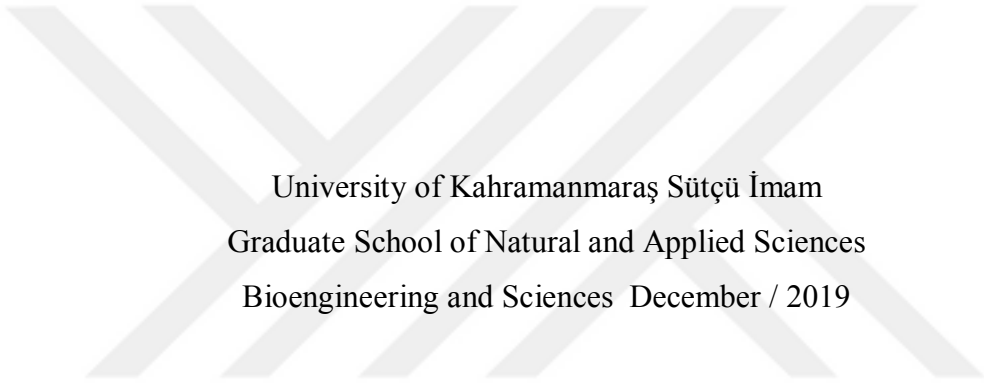
Cardiovascular diseases are frequently encountered in today's society and have high treatment costs. With menopause, there is an increase in cardiovascular diseases and a decrease in endothelial functions in women. Estrogen has been reported to improve aortic flexibility and left ventricular diastolic function in healthy postmenopausal women. The effects of estrogen in the cell are mediated by conventional estrogen receptors (ERs; α and β) and G protein-bound estrogen receptor 1 (GPER-1, GPER or GPR30). GPER is a membrane-bound receptor that binds estradiol (E2) with high affinity but gives different signals from other estrogen receptors (ER α and ER β).

In this first study, the biochemical and histopathological effects of ischemic heart tissue on ovariectomized rats were investigated on 32 adult female rats. Rats were randomly divided into four groups; group 1; Control (n = 8), group 2; Ovariectomy group (n = 8), group 3; Ischemia-reperfusion only group (n = 8), and group 4; Ovariectomy + ischemia-reperfusion group (n = 8). Ovariectomy groups were surgically removed 14 days before cardiac ischemia-reperfusion. In order to exclude surgical stress, only the abdomen was opened and closed. After menopause, rats in the whole group were applied to the heart of ischemia and reperfusion for 10 minutes. Blood was collected from all groups after reperfusion and plasma creatine kinase (CK-MB), estrogen and progesterone levels were measured. The animals were then sacrificed and cardiac tissues were removed. GPER levels were measured in tissue samples. All biochemical parameters (CK-MB, estrogen, progesterone and GPER) were measured by commercial kits on the ELIZA device.

At the end of biochemical examinations; CK-MB levels did not show statistically significant differences between the groups ($p > 0.05$). Estrogen levels were significantly lower in the other groups compared to the control group ($p < 0.05$). However, there was no statistically significant difference in progesterone levels between the groups ($p > 0.05$). GPER levels were significantly higher in the Ovariectomy and Ovariectomy + Ischemia-reperfusion groups compared to the other groups ($p < 0.05$). Histopathologically, myocardial edema, myocytolysis, hemorrhage and polymorphic leukocyte (PMNL) infiltration were observed in all groups except the control group.

As a result, elevated GPER levels result from impaired and / or inadequate estrogen synthesis after ovariectomy, which leads to cardiac dysfunction.

Key words: GPER, heart ischemia-reperfusion injury, overrectomized, estrogen



University of Kahramanmaraş Sütçü İmam
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Bioengineering and Sciences December / 2019

Supervisor: Prof. Dr.Ergül Belge KURUTAS

Page Numbers:52

TEŐEKKÖR

Bu tez alıŐması sűresince engin bilgi ve tecrűbelerinden faydalandıĐım ve çalıŐmamın her aŐamasında saĐladıĐı bilimsel katkılardan dolayı danıŐman hocam Ergűl BELGE KURUTAŐ'a, tezime saĐladıkları katkılarında dolayĐ Fatih YŪZBAŐIOĐLU ve Sevgi BAKARIŐ hocalarıma, her fırsatta bilgi ve birikimlerinden yararlandıĐım tűm bűlűm hocalarıma ve Erkan ŐNER'e teŐekkűr ederim.

Son olarak, ilk gűnden bugűnlere gelinceye kadar bana her konuda yardımcı olan her tűrlű maddi ve manevi desteklerini gűrdűĐűm aileme sonsuz teŐekkűrlerimi sunarım.

Mahmut AY



İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ.....	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	11
2.GENEL BİLGİLER.....	12
2.1. Hormonlar.....	12
2.2. Hormonların Hekimlik Yönünden Önemi.....	14
2.3. Östrojen.....	15
2.3.1. Östrojen Sentezi.....	16
2.3.2. Östrojenlerin Transportu ve Metabolizması.....	17
2.3.3. Östrojenlerin Etkileri.....	17
2.3.4. Östrojen Reseptörleri.....	19
2.3.5. GPER.....	19
2.4. Menapoz.....	20
2.5. Overektomi.....	22
2.6. Kalbin Yapısı.....	23
2.7. Kalpte İskemi Reperfüzyon Hasarı.....	24
2.8. Kalpte İskemi Reperfüzyon Östrojen ile İlişkisi.....	26
3. MATERYAL VE METOT.....	28
3.1. Deney Grupları.....	29
3.2. Cerrahi Yöntem.....	30
3.3. Araştırma Sırasında Kullanılan Aygıtlar.....	32
3.3. Araştırma Sırasında Kullanılan Aygıtlar.....	32
3.4. Araştırma Sırasında Kullanılan Kimyasallar.....	32
3.5. Biyokimyasal Ölçümler.....	34
3.5.1. Homojenat Hazırlama.....	34
3.5.2. GPER-1 Düzeyi.....	35
3.6. Histopatolojik Değerlendirme.....	36
3.7. İstatistiksel Analiz.....	36
4-BULGULAR.....	37
5-TARTIŞMA.....	43
6-SONUÇ.....	45
7. KAYNAKLAR.....	46
EKLER.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GPER-1	: G protein ilişkili östrojen reseptör 1
DOPA	: dihidroksifenilalanin
ATP	: Adenozin Trifosfat
ADP	: Adenozin Difosfat
α	: Alfa
β	:Beta
γ	:Gama
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
NO	: Nitrik oksit
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
cAMP	:siklik AMP
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
PKC- β	: protein kinaz C- β
ER	: estrojen reseptörü
OD	: Optik Dansite
RNA	: Ribonükleik Asit
AC	:Adenilat Siklaz
PLCb	:Fosfolipaz C
GIRK	:G prteini ile düzenlenen dışarı düzeltilmiş potasyum kanalı
GRK	:G proteini ile düzenlenen kinaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1: Hormon regülasyonunun sistemi	12
Şekil 2: Östrojenin moleküler yapısı.....	15
Şekil 3: Estriol, estradiol ve estronun moleküler yapıları	16
Şekil 4: Östrojen sentezi.....	16
Şekil 5: Östrojenin etkileri	18
Şekil 6: Östrojenin GPER aracılıklı etki mekanizması.....	20
Şekil 7: Östrojenin reseptörleri.....	21
Şekil 8: Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi	23
Şekil 9: Kalbin Yapısı	24
Şekil 10: GPER-1 Standart Grafiği.....	35
Şekil 11: Beden Ağırlığı Değişimleri.....	37
Şekil 12: CK-MB düzeyleri.....	38
Şekil 13: Plazma Östrojen Düzeyleri.....	39
Şekil 14: Serum Progesteron Düzeyleri	40
Şekil 15: Tüm Gruplarda Kalp Dokusu GPER Düzeyleri	41
Şekil 16: İskemi Reperfüzyona Bağlı Lökosit Antienflamatuar Görüntü.....	41

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1: Ratların fizyolojik durumu	28
Tablo 2: Ratların genel özelliği	37
Tablo 3: Kardiyak enzim CK-MB değerleri.....	38
Tablo 4: Tüm Gruplarda Serum Östrojen Düzeyleri	39
Tablo 5: Tüm Gruplarda Serum Progesteron Düzeyleri	40
Tablo 6: Kalp Dokusunda GPER-1 düzeyleri	40



FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Fotoğraf 1: Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-1	29
Fotoğraf 2: Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-2	30
Fotoğraf 3: Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-3	31
Fotoğraf 3: Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-3	32



1. GİRİŞ VE AMAÇ

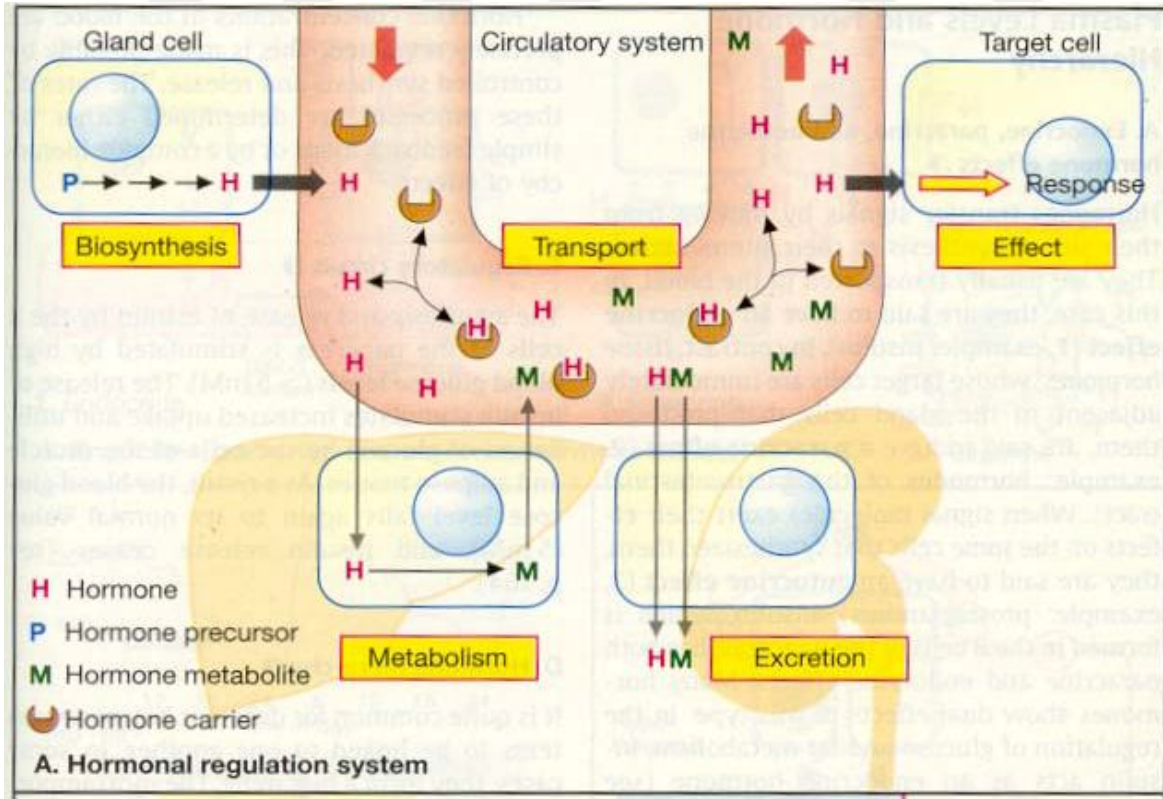
Kardiyovasküler hastalıklar, günümüz toplumunda sıklıkla karşımıza çıkan ve tedavi maliyeti oldukça yüksek olan hastalıklardır. Menopozla beraber kadınlarda kardiyovasküler hastalıklarda artma ve endotel fonksiyonlarında bozulma olmaktadır. Östrojen hormonu, reseptörleriyle kalp üzerinde pek çok etki göstermektedir. Kardiyak fibroblast proliferasyonunu inhibe ederken, pek çok patolojik durumda kardiyak gen ekspresyonunu baskılamaktadır. Östrojenin sağlıklı postmenopozal kadınlarda aorta esnekliği ve sol ventriküler diyastolik fonksiyonu düzelttiği bildirilmiştir. Bununla birlikte, östrojenin kardiyak kontraktıl fonksiyonu pek çok mekanizma aracılığıyla düzenlediği düşünülmektedir. Yakın zamana kadar, östrojenlerin vasküler etkisine sadece klasik östrojen reseptörlerinin (östrojen reseptör alfa ve beta) aracılık ettiği biliniyordu. Ancak, son birkaç yıl içinde yapılan çalışeesel malar G-protein ilişkili östrojen reseptörünün (GPER-1, GPER ya da GPR30) varlığı gösterilmiş ve östrojen bu reseptör aracılığıyla hızlı sinyal yanıtları veya transkripsiyon olayları oluşturarak etkilerini gösterdiği saptanmıştır. Bu gen, G-protein eşli reseptör 1 ailesinin bir üyesidir ve endoplazmik retikulumda lokalize, çok geçişli bir membran proteinini kodlar. Proteinin östrojene bağlanması, hücre içi kalsiyum mobilizasyonu ve çekirdekte fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat senteziyle sonuçlanır. Bu nedenle GPER-1, östrojen ile hücre ve dokuların uyarımını takiben gözlenen hızlı non-genomik sinyal olaylarında rol oynar. GPER-1, kardiyovasküler sistemde vasküler ve miyokardiyal fonksiyonun düzenlenmesinde önemli fizyolojik bir rol oynayabileceği tespit edilmiştir.

İlk defa yapılan bu tez çalışmamızda overektomi uygulanan ratların iskemik kalp dokusunda GPER düzeyleri ölçülerek tedavideki yerinin ortaya çıkarılması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİLER:

2.1. Hormonlar

Hormon kelimesi, Yunancadan gelmektedir; bir şeyi uyarmak, harekete geçirmek anlamına gelmektedir. Hormonlar, endokrin sistemin organlarından; hipofiz, böbrek üstü bezleri, tiroit, paratiroid, gonadlar gibi kanalsız iç salgı bezlerinde sentezlenen ve kan aracılığı ile taşınarak belli hedef doku hücrelerinde etki eden organik bileşiklerdir (Şekil 1). Hormonların genel tanımına uymayan, ama hormon gibi davranan bileşikler de vardır: Hipotalamik düzenleyici hormonlar, hipotalamusta sentezlenir, hipofizer portal sistem aracılığı ile taşınırlar ve kısa mesafedeki hipofizin sekretuar hücrelerine etki ederler. Antidiüretik hormon (ADH) ve oksitosin, hipotalamusta sentezlenirler, nöronlar vasıtasıyla hipofize giderler ve gerektiğinde de salgılanmak üzere burada depo edilirler. Prostaglandinler, neredeyse bütün dokularda sentez edilirler, yakına ve uzakğa etki ederler. Gastrin, sekretin, somatostatin gibi hormonlar gastrointestinal sisteminin özel hücrelerinde sentez edilirler, lokal diffüzyonla parakrin etki gösterirler. Anjiyotensin, karaciğer kökenli prekürsörden spesifik enzimatik etki ile oluşur [1]:



Şekil 1. Hormon regulasyonunun sistemi [2]

Hormonlar kimyasal yapı olarak heterojendir. Tirotropin saliverici hormon (TRH, TRF) ve diğer hipotalamus hormon veya faktörleri, adrenokortikotropik hormon (ACTH, kortikotropin) ve diğer hipofiz ön lop hormonları, antidiüretik hormon (ADH, vazopressin), insülin, oksitosin, parathormon, glukagon, kalsitonin, ve bir hormon olarak kabul gören gastrointestinal polipeptitler, peptit yapıda ya da protein yapıda hormonlardır. Katekolaminler (adrenalin, dopamin, noradrenalin), tiroit hormonları (triiodotironin, tiroksin), amino asit türevi hormonlardır. Glukokortikoidler (kortizon, kortizol), mineralokortikoidler (aldosteron), cinsiyet ile ilgili hormonlar (östrojenler, testosteron, progesteron), steroid yapısında hormonlardır. Prostaglandinler, tromboksanlar, lökotrienler ise eikozanoid yapısında hormonlardır [1].

Hormonların biyolojik olarak etkili olması için düşük konsantrasyonda olmaları yeterlidir; serumda nmol, pmol düzeyinde bulunurlar; dolayısıyla serum düzeyleri çok hassas bir metot yöntemi ile ölçülebilirler. Serum hormon düzeylerini ölçmek için en sık kullanılan metotlardan biri ise RIA'dır [1,2].

Hormonların hepsi uyarıcı değildir; bazıları inhibitör etkilidir. Örneğin somatostatin, diğer bazı hormonların sekresyonunu azaltırken epinefrin (adrenalin) ise bazen stimulatör bazende inhibitör etkilidir [1,2].

Hormonların sekresyon hızları sabit değildir; hormon sekresyon hızının düzenlenmesi; hormona duyulan gereksinim ve hormonun inaktivasyon hızına bağlıdır [1].

Hormonların bazılarının depo edilme özelliği vardır. Katekolaminler (noradrenalin ve adrenalin), sinir uçlarında ve adrenal medülla, hormon-kromogranin a-ATP kompleksi şeklinde depo edilirler; tiroit hormonları ise tiroit bezinde depolanırlar.

Steroid hormonların ise depolanma özelliği yoktur [1]

Hormonlar, dolaşım sisteminde serbest bulunurlar veya transport proteinlerine bağlı bir şekilde bulunurlar; peptit yapıdaki hormonlar ve katekolaminler serbest formda olurlar, steroidler ve tiroite sentezlenen hormonlar transport proteinler vasıtasıyla taşınırlar. Hormonların serbest formları biyolojik olayları regüle edebilirler [1].

Hormonlar bazen etki ederken, serotonin, histamin ve büyüme faktörleri gibi bazı aktif maddeler tarafından gösterilebilir ve endokrin organları tarafından salgılanmayan ama hormon etkisi gösterebilen böyle maddelere **doku hormonları** denir [1,2].

Hormonlar tarafından başlatılan yanıt uzun süreli olur; hormonlar ortadan kaybolursa bile etkileri devam eder.

Hedef dokuların hormonlara karşı verdiği fizyolojik yanıt, yaşa ve genetik yapıya göre değişir.

2.2. Hormonların Klilik Bakımdan Önemi

Hormonlar, büyüme, su ve elektrolit alış verişi, metabolizma , seksüel gelişim ve seksüel fonksiyonları regülatörleri olarak hayati önem taşımaktadır. Hormonların yokluğu, yetersizliği ve fazlalığı farklı türden çeşitli hastalıklara neden olur; bazı hormonların ise yokluğu ölüm nedeni olur. Bu sebeple klinik bakımda bir endokrin organının hipofonksiyonu veya bir hormon eksikliği zamanında saptamak yetersiz hormonu yerine koymak (replasman tedavisi) önemlidir [1,2]. Bir endokrin sistem organında hiperfonksiyonda hastalık belirtisi olabilir.

Hormon üretiminde patoloji, kandaki hormon miktarının veya karakteristik hormon yıkılım ürünlerinin kantitatif tayini ile saptanabilir. Ayrıca kan plazmasındaki inorganik veya organik maddelerin normal konsantrasyonlarında değişiklik de ilgili maddenin metabolizması üzerine etkili hormonun etkisindeki patolojileri tanımaya yardımcı olur [2].

Herhangi bir hormon yetersizliği veya yokluğu, buna karşılık gelen hayvansal bir organdan saf halde elde edilen hormonun verilmesi suretiyle tedavisi mümkündür. Böyle durumlarda genelde hayat boyu süren sürekli tedavi edilmesi gerekir. Hormon tedavisi, protein yapıdaki hormonların enjeksiyon gibi sindirim yolu dışı bir yoldan verilme zorunluluğu vardır; protein yapıdaki hormonlar ağız yoluyla alınması durumunda, sindirim kanalında parçalanması ve emilmemesi söz konusudur [2].

2.3. Östrojen

Östrojen, kadınlardaki adet döngüsünün ve memelilerin dışilerindeki estrus döngüsündeki rol alan bir takım steroid hormondur. Östrojen hormonu hemen hemen bütün omurgalılar ve böceklerin bazılarında bulunur [2].

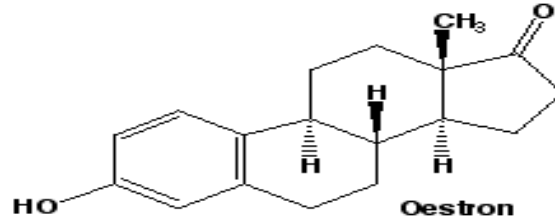
Östrojen hem erkeklerde hemde kadınlarda bulunurlar. Üreme yaşlarındaki dişilerde seviyeleri daha yüksek olur. Östrojenler kadınlardaki göğüs gibi ikincil cinsiyet organlarının gelişimini sağlar ve adet döngüsüyle ilişkisi olan endometrium kalınlaşmasını ve diğer süreçleri düzenlerler [2]. Folikül uyarıcı hormon (*follicle stimulating hormone*, FSH) ve lüteinizan hormon (LH), yumurtalayan kadınlarda östrojen üretimini düzenlerler [4].

Dolaşımda bulunan östrojenler, FSH ve LH'nin seviyesinin düşmesine sebep olduğu için bazı oral kontraseptiflerde östrojen bulunur [2].

Kadınlardaki 3 temel östrojen şunlardır; östron ,östriol ve östradiol . Menarş ile menopoz arasındaki östrojen ise östradiol'dür. Bu östrojen türevleri enzimatik reaksiyonlar sonucu androjenlerden sentez edilirler. Östradiol sentezi testosterondandır, östron ise androstenedion'dan sentez edilir. Östron, östradiolden daha az etkilidir ve menopozdan sonra östradiolden çok östron oluşur [2] .

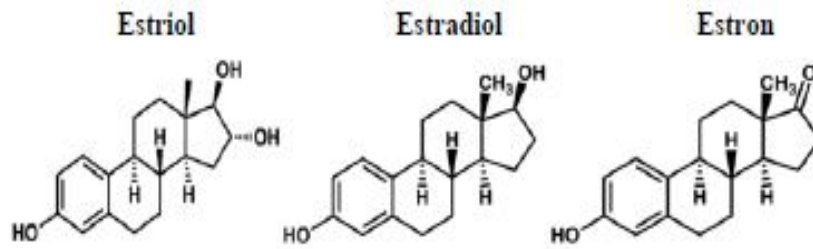
Östrojenler kadınların doğum sancısı gibi yüksek acılara dayanmayı sağlar. Östrojenler saldırgan bir kişilik ortaya çıkarır. Saçların uzamasını ve çıkmasını güçlendirir [2].

Östrojenler, 18 karbonludur ve steroid yapıdadır; androjenlerden farkı, C-10'daki metil grubunun olmaması ve A halkasında aromatik olmasıdır [Şekil 2].



Şekil 2. östrojenin moleküler yapısı (2).

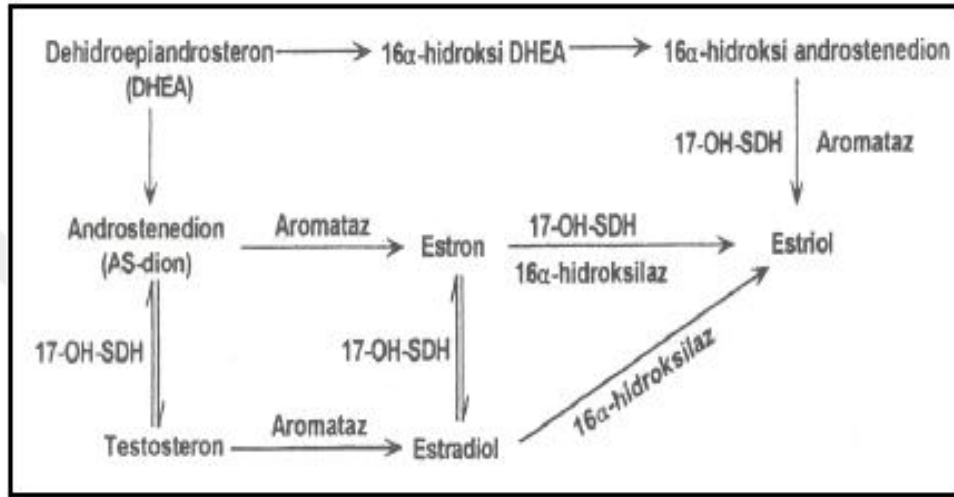
Kandaki başlıca östrojen hormonu, östrojenlerin en aktif formu olan **östradiol (E₂)** ve dahada az aktif formda olan **östron** ile denge halindedir. Östronun türevi olan **östriol (E₃)**, gebelerde idrar ve plasentada görülen başlıca östrojendir [şekil 3]:



Şekil 3. Estriol, estradiol ve estronun moleküler yapıları [2]

2.3.1. Östrojen sentezi

Östrojenlerin büyük bir bölümü bazı durumlar hariç dışı cinste bulunan overlerde graaf folikülünde sentez edilirler. Overlerdeki sentezde prekürsör görevi, teka hücrelerinde sentezlenip ganuloza hücrelerine sunulan androjenik maddedir. Overlerdeki estron kısmında testesterona dönüştürülür. Testesteron ise aromatazasyon ve dimetilasyon işlemiyle estradiole dönüştürülür [şekil 4].



Şekil 4. Östrojen sentezi [3]

Östrojenler, overler, böbrek üstü bezler, plasenta ve testislerde sentez edilirler; moleküler oksijen ve NADPH'a gerek duyan enzim sistemi, östrojen sentezini katalizeler. Östrojenin sentezlenmesi için prekürsör, androstenedion ve testesterondur [3].

Östrojen hormonunun sentezlenmesi, FSH (*follicle stimulating hormone*) tarafından uyarılır. Metirapan, 19-hidroksilasyonu engelleyerek östrojen hormonunun sentezlenmesini inhibe eder [3].

2.3.2 Östrojen Taşınması Ve Metabolizması

Kanlarda bulunan ve östrojen hormonunun en aktif formu olan östradiol, androjenleri de taşıyan özel bir transport proteine bağlı bir şekilde taşınır.

Östrojenler, aktif olmayan 2-hidroksiöstradiolde dönüşebilir; 2-hidroksiöstradiol de katekolaminlerin COMT (Katekol-O-metiltransferaz) ile metabolize edilmelerini kompetitif şekilde inhibe eder ve gebelikte katekolaminlerin plazma düzeylerinin artışı ile kan basıncı artışına neden olabilir [3].

Östrojenler, idrar yoluyla, sülfat veya glukuronat konjugeleri şeklinde vucuttan atılırlar. Östriol, gebelerin idrarında en fazla bulunan östrojendir [3]

2.3.3. Östrojen Hormonunun Etkileri

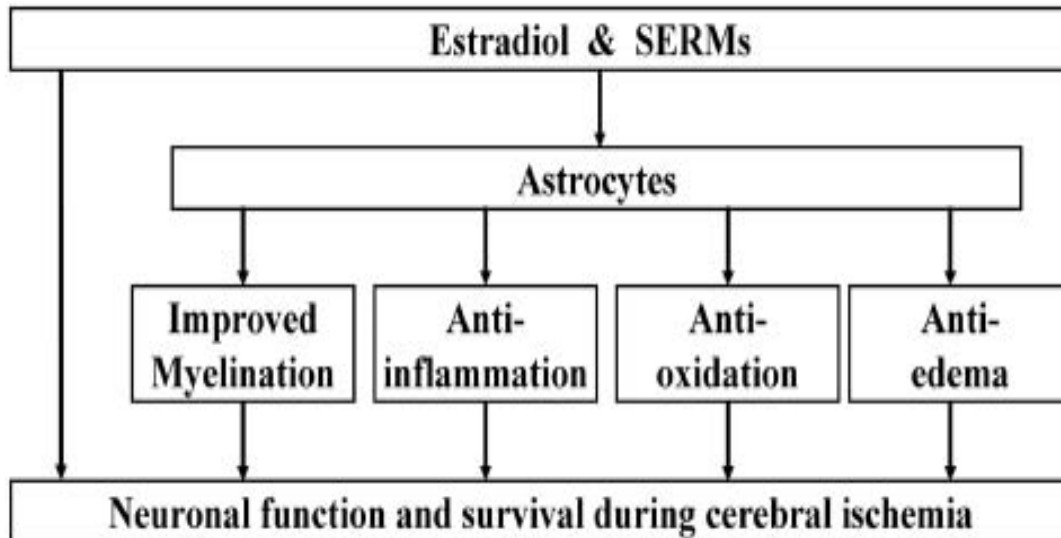
Östrojen veya türevleri, diğer steroid hormonlara benzer bir şekilde, nükleer düzeyde gen aktivasyonu suretiyle hormonal etki gösterirler.

Östrojenler, dişilerde menstruasyon döngüsündeki kanama dindikten sonra azar azar artarak uterus mukozasını progestasyonal hormonların daha sonra etkisi hazırlar; endometriumun proliferatif büyümesini ve uterus bezlerinin derinleşmesini, endometrium vaskülaritesinin artışı sağlarlar; fallop tüplerini ve vaginal epiteli değiştirirler. Değişiklikler, menstruasyon kanaması durduktan hemen sonra başlar [1,3].

Östrojen hormonları, menstruasyon döngüsünün hemen başlangıcında follikülün gelişimini başlatmış olan FSH'un üretimini baskılayarak LH'un üretimini uyarır. Bundan dolayı, ovulasyondan birkaç gün öncesinde kanda bulunan östrojen seviyesi maksimum seviyeye ulaştığı zaman serum FSH seviyesi hafif bir şekilde düşerken LH seviyesi pik yapmaya başlar. Ovülasyonla birlikte serum FSH ve LH miktarı hızla düşerek döngünün sonunda bazal değerlere düşer. Östrojen düzeyi de ovulasyondan birkaç gün önceden itibaren düşmeye başlar ve ovulasyon sonrası daha da hızlı bir şekilde azalarak döğü sonrasında bazal değere düşer [1,3].

Östrojenler, kadınlarda veya dişilerde ikincil cinsiyet karakteristiklerinin sürdürülmesinde etkilidir; iç ve dış genital organlardaki gelişim ve olgunlaşmasında östrojenler düzenler.

Östrojenler, metabolik etkilerden bazılarında sahiptirler[Şekil5]. Östrojenlerin karaciğerdeki yağlanmayı önleyici, kolesterol miktarını düşürücü metabolik etkisi vardır; LDL'leri azaltırken HDL'leride artırıcıdır; ayrıca osteoblastların Ca^{2+} depo etmesi için uyarırlar [2].



Şekil 5. Östrojenin etkileri [2]

2.3.4. Östrojen Reseptörleri

Östrojenin etkileri, genel olarak 2 farklı yolak ile ortaya çıkmaktadır:

1. Genomik etkiler: Östrojen reseptörüne (ER) bağlanınca, reseptör “heat shock” proteinleriyle (hsp) birlikte salınır ve reseptörde biçimsel değişiklikler oluşur. Östrojenin, reseptörleri aracılığıyla oluşturduğu etkiler, genomik etkiler adını alır [5].

2. Nongenomik etkiler: Östrojenin reseptörlerine bağlanmadan da ortaya çıkardığı etkileri, protein-protein etkileşmesini içermektedir. ER-ligand kompleksi, transkripsiyonel faktörler olarak bilinen nükleer faktör kappaB (NF-kB), aktivator protein-1 (AP-1) ve spesifik protein-1 (SP-1) ile etkileşir. Tüm bu etkiler de nongenomik etkiler adını alır [5].

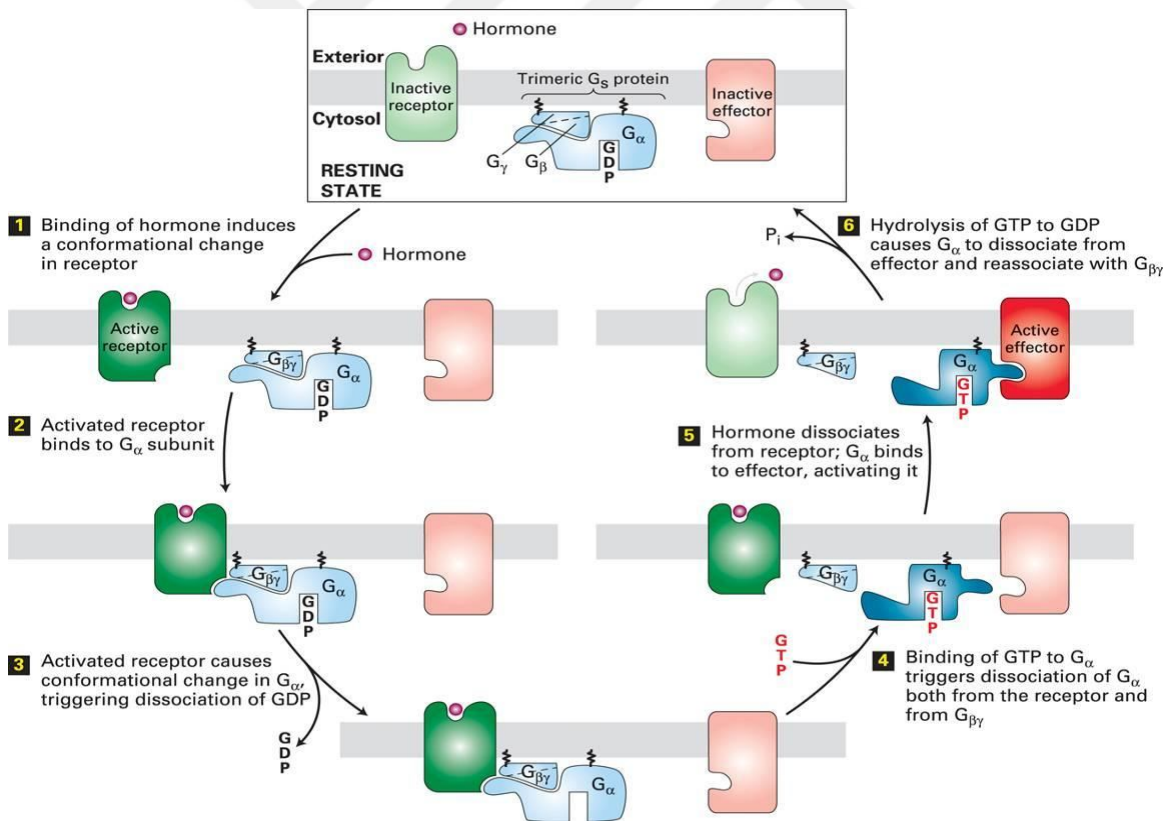
Östrojen, büyüme, gelişme ve reproduksiyonda önemli role sahiptir ve tüm bu etkileri, hücre içi reseptörleri (ER) aracılığıyla gerçekleştirmektedir.

Bu reseptörlerden östrojen reseptör alfa ($ER\alpha$), uterus ve meme bezlerinde bulunurken, östrojen reseptör beta ($ER\beta$) merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, bağışıklık sistemi, ürogenital sistem, kemikler, böbrekler ve akciğerlerde baskındır . Östrojen, paradoksal olarak hem yararlı hem de zararlı etkilere sahiptir. Yararlı etkilerinin yanında seksüel gelişimi sağlamak, kolesterol üretimini denetlemek ve kemik bütünlüğünü korumak gelirken, başlıca zararlı etkileri uterus ve meme kanseri oluşturma riskidir. Östrojenlerin hücre içi Ca^{2+} düzeylerini, protein kinaz C ve Rho-kinaz sinyallerini düzenlemek, endotelial nitrik oksit üretimini artırmak, damar düz kas hücre proliferasyonunu inhibe etmek, vasküler inflamasyonu azaltmak ve kolesterol düzeylerini modüle etmek suretiyle kardiyovasküler sistemde koruyucu etki yaptığı bildirilmiştir [7,8].

2.3.5. GPER

Yakın zamana kadar, östrojenlerin vasküler etkisine sadece klasik östrojen reseptörlerinin ($ER\alpha$ ve $ER\beta$) aracılık ettiği biliniyordu. Klasik östrojen reseptörlerin aktivasyonu sonrasında bu reseptörler çekirdeğe geçerek, genomik veya nongenomik yanıtları oluştururlar. Ancak $ER\alpha$ ve $ER\beta$ inhibisyonu veya bu reseptörlerin silinmesi (knock-out ya da knock down) kardiyovaskülersistemde östrojen cevaplarını ortadan kaldırmamıştır [9,10].

Östrojen, bilinmekte olan reseptörleri dışında da farklı bir reseptör aracılığıyla kardiyovasküler etkisini oluşturabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda GPER-1'in varlığı gösterilmiştir. Bu reseptör, G-proteini eşli reseptör 1 ailesinin bir üyesidir ve endoplazmik retikulumda lokalizedir, çok geçişli bir membran proteini'dir. Östrojen, GPER-1 aracılığıyla hızlı sinyal cevapları veya transkripsiyon olayları oluşturur [Şekil 6].



Şekil 6. Östrojenin GPER aracılıklı etki mekanizması [10].

GPER-1 ilk olarak 1996 yılında klonlanmış ve başlangıçta GPR-30 adı verilmiştir. Haas ve arkadaşları, 2007 yılında insan arter ve ven düz kaslarında GPR-30 ekspresyonunu göstermişlerdir. GPER-1'in, plazma zarı ve endoplazmik retikulum da lokalize olduğu ve insan vücudunda beyin, karaciğer, kalp, akciğer, pankreas, plasenta, kan damarları, kemik, lenfoid doku, endometrium, over ve meme kanseri dokularında eksprese edildiği gösterilmiştir. İnsan ve kemirgen miyokardiumun da ve kardiyomyosit hücrelerinde GPER-1 mRNA ile birlikte protein ekspresyonu gösterilmiştir. Erkek hayvanlarda GPER-1 yokluğu sol ventrikül genişlemesine ve diyastol sonu basınç artışına neden olurken dişi hayvanlarda böyle bir etki gözlenmemiştir. Ancak dişi hayvanlarda kardiyomyosit hücrelerinde miyokard infarktüsü sonrası GPER-1 mRNA ve protein ekspresyonu artışına neden olmuştur. (Şekil 7).

Receptor characteristic	ER α	ER β	GPER1
Receptor superfamily	nuclear steroid hormone receptor superfamily		G-protein coupled receptor superfamily
Type	nuclear		membrane-bound G protein-coupled
Structure	DNA-binding domain, ligand-binding domain, N-terminal domain		7 transmembrane α -helical regions, 4 extracellular and 4 cytosolic segments
Chromosome region	6q25.1	14q23.2	7p22.3
Number of isoforms	3	5	1
Size	595 aa	530 aa	375 aa
Distribution in human tissues	uterus, epididymis, breast, liver, kidney, white adipose tissue, prostate, ovary, testes, skeleton, brain	colon, salivary gland, vascular endothelium, lung, bladder, prostate, ovary, testes, skeleton, brain	central and peripheral nervous system, uterus, ovaries, mammary glands, testes, spermatogonial cells, gastrointestinal system, pancreas, kidney, liver, adrenal and pituitary glands, bone tissue, cardiovascular system, immune cells
Tamoxifen activity	partial agonist	antagonist	agonist

ER – estrogen receptor; GPER1 – G protein-coupled estrogen receptor 1; aa – amino acids.

Şekil 7. Östrojenin reseptörleri [11]

2.4. Menopoz

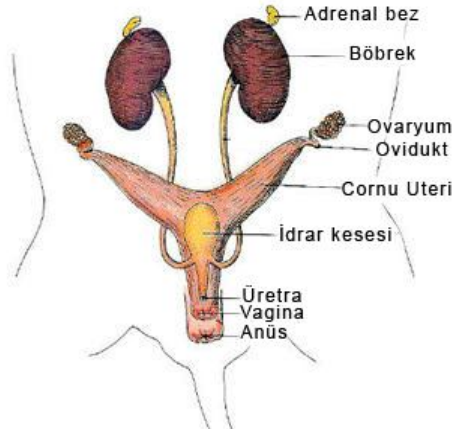
Menopoz; overlerin aktivasyonunun kaybından dolayı menstürasyon döngüsünün kalıcı bir biçimde sonlanmasıdır. Toplumların endüstrileşmesi ve yaşam sürelerinin zamanla artması kadınlarda menopoz sonrasındaki süreci arttırmaya neden olmuştur. Bundan dolayı postmenopozal kadınlar daha uzun süre östrojen yetersizliğine maruz kalmaktadır. [13,14].

Menopozun kardiyovasküler sistem üzerine negatif etkileri vardır. Bu etkilerden iyi bilineni; plazmadaki lipidler ve lipoproteinleri olumsuz değişimlere yol açmasıdır. Plazmadaki toplam kolesterolü, LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) ve trigliseridler konsantrasyonları artar, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve özellikle

subfraksiyonunu olan HDL₂ konsantrasyonları azalır. HDL'nin ise kardiyoprotektif etkisi olduğu bilinmekte ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir. Erkeklerde hipertansiyon ve koroner arter hastalığı geçirme riski, premenopozal kadınlardan daha yüksektir; bununla birlikte postmenopozal dönemdeki bir kadın aynı yaştaki erkekle aynı derecede kardiyovasküler hastalık riski taşımaktadır. Koroner arter hastalıklarının, kadınlarda erkekler ile karşılaştırıldığında ortalama 10 yıl sonra geliştiği bildirilmiştir. Bu gecikmenin nedeni menopoza öncesinde özellikle östrojen olmak üzere kadın seks hormonlarının koruyucu etkisine bağlı olabilir. Menopozla beraber kadınlarda kardiyovasküler hastalıklarda artma ve endotel fonksiyonlarında bozulma olmaktadır [15,16,17,18].

2.5. Overektomi

Yetişkin ratlarda ovaryum foliküllerle dolu bir yapıdır ve böbreklerin kranial kutbunda yer alırlar. Helezonik yapıdaki ovidukt ovaryumu bikornual yapıdaki uterusu

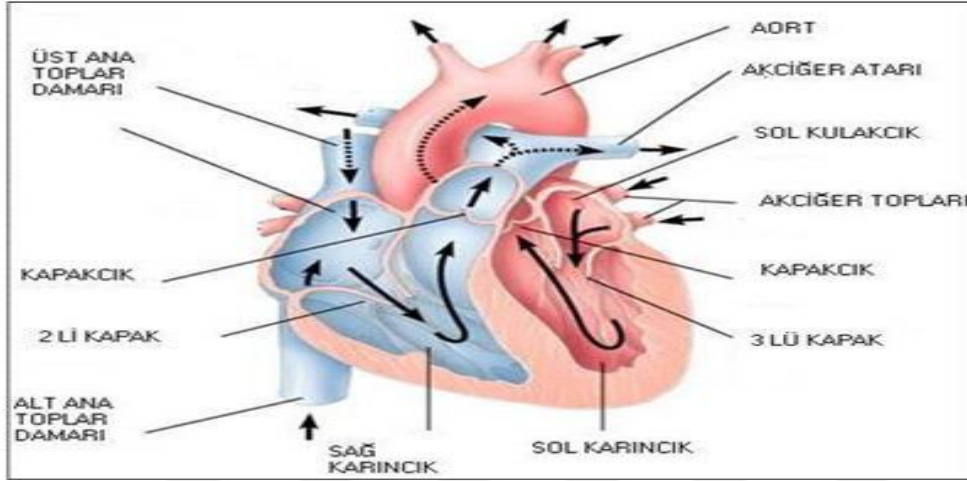


Şekil 8. Dişi ratlarda ürogenital sistemin anatomisi [22]

Overektomi (OVR), cerrahi yolla overlerin çıkarılması işlemidir. Bu prosedür ratlarda sıklıkla kullanılır. Bunun nedeni, overler alındıktan sonra uterusun hızla regrese olması ve operasyon sonrası hayatta rodentlerde uterus hastalıklarındaki görülmenin azlığıdır. 2. ve beşinci lumbar vertebralar ile aynı hizadaki linea alba üzerinden 0.5-1.0 cm arası bir insizyon açılır. Ratlardaki deri esnek olduğu için ovarlar alınırken, uygun tarafa doğru esnetilebilir. Hafifce bir manipülasyon ile ovarlar ve etrafındaki yağ dokusu saptanıp çıkartılabilir. Ovaryumlardan hiç parça bırakılmamalıdır. Aksi halde siklik aktivitesi devam edebilir. 4-0 emilebilir iplikle damarlarının kranial kısımları ve uterus ligatüre edilmelidir. Sonra ovidukt, ovaryum ve uterusunda küçük bir kısmı çıkartılmalıdır. Oviduktun tamamının alınmalıdır aksi takdirde östrus siklusu devam eder [23,24,25].

2.6. Kalbin Anatomik Yapısı

Kalp iki tane kulakçıktan ve iki tane karıncıktan oluşmak üzere dört tane odacığı olan bir yapıdır. Sağ kulakçık ile sağ karıncık arasında üçlü, sol kulakçık ile sol karıncık arasında ise ikili kapakçık bulunur. Sağ kulakçığa üst ana toplardamar ile sağ karıncığa ise alt ana toplar damar ile bağlanır (Şekil 9). Sağ olan aort atardamarı bağlantılıdırsonucunda meydana gelen kemotaksisin düzenleyicilerinden biri olduğu düşünülmektedir [26,27,28].



Şekil 9. Kalbin Anatomik Yapısı [26]

Kulakçıklar ile karıncıklar arasındaki kapakçıklar karıncıklara doğru tek yönde açılır. Karıncıkları atardamarlara bağlayan açıklıklarda da yarım ay şeklinde üçlü kapakçıklar bulunur. Kalbin yapısında içten dışa doğru endokard, miyokard ve perikard olmak üzere üç farklı yapı görülür. Kalp kırmızı (çizgili) kastan yapılmış bir pompadır. Çizgili kastan yapılmış olmasına rağmen isteğimiz dışı çalışır. Kalbin sol tarafında temiz, sağ tarafında ise kirli kan bulunur [26].

Kirli Kan: Besin ve oksijen bakımından fakir olan kana kirli kan denir.

Temiz Kan: Besin ve oksijen bakımından zengin olan kana temiz kan denir. Kalbimiz yaşadığımız sürece sürekli kasılıp gevşeyerek çalışır. Kulakçık ve karıncıkların kasılıp gevşemesi kanın hareketi için itici bir güç oluşturur. Kulakçık ve karıncıkların kasılıp gevşemesi birbirine zıttır[28].

Kulakçıkların her ikisi aynı anda kasılırken karıncıklar gevşeme durumuna geçer. Kalbin her odacığı kasılma sırasında içindeki kanı pompalar. Gevşeme sırasında ise kanla

dolar. Kulakçıklar ile karıncıklar arasında kanın geri dönmesini engelleyen kapakçıklar bulunur[28].

2.7. Kalpte İskemi-Reperfüzyon (I/R) Hasarı:

Dokunun metabolik ihtiyaçlarını karşılamak için arteriyel akım ile yeterli oksijen ve besinin sağlanamadığı durumlarda iskemiden söz edilir. İskemi, doku hasarına yol açtığı için önemli bir durumdur. Oluşan hasarın miktarında, iskeminin ciddiyeti kadar süresi de önemli bir faktördür. Ciddi bir iskemide bile süre 40 dk. dan az ise hücrel ve fonksiyonel değişiklikler geri dönüşümlüdür ve tedaviye olanak vardır. İskemi süresi, 40–50 dk. ise tam bir fonksiyon kaybı ve iskemi süresine bağlı ve ilerleyici olan geri dönüşümsüz bir hasar meydana gelir. Bu süre 50 dk. dan fazla ise reoksijenasyon ya da reperfüzyon hasarına benzeyen, fakat aynı olmayan mekanizmalar devreye girer .

İskemik doku en az üç fizyolojik anormallik gösterir [30,31,32].

- a) Hipoksi; oksidatif metabolizma için oksijen sunumunun az olması,
- b) Aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya dönüşü ifade eden toksik metabolitlerin birikimi,
- c) Uygun elektron akseptörü yokluğunda katabolik reaksiyonlar sonucu meydana gelen asidoz.

Deneysel koşullarda, ana koroner arterin ani kapatılması ile oluşan iskemideki metabolik değişiklikler; aerobik metabolizmanın durması, kreatin fosfatın (CP) azalması, anaerobik glikolizin başlaması, laktat ve alfa-gliserol fosfat (GP) gibi glikolitik ürünler ile nükleotid yıkım ürünlerinin birikmesi şeklindedir. Bu metabolik değişikliklere bağlı olarak kontraksiyon durur, membran potansiyelleri değişir ve elektrokardiyografik değişiklikler meydana gelir.

Miyokardiyumun yüksek enerjili fosfatlara olan ihtiyacı, yapılandıran fazla olduğu için dokudaki net ATP miktarı azalmıştır. Ciddi bir iskemik hasarda tüketilen ATP'nin % 80'i anaerobik glikoliz kaynaklıdır. İskeminin ilk dönemlerinde varolan ATP, kontraktıl fonksiyon için kullanılmasına karşın, süre ilerledikçe, artık kontraksiyon yapılamadığı için, mitokondriyal ATPaz'lar tarafından, muhtemelen bozulan durumların restorasyonu için harcanır. ATP'nin az bir kısmı da iyon transport ATPaz'ları tarafından tüketilir. İskemi süresi uzadıkça tüm bu metabolik olayların yavaşladığı görülmüştür.

Geri dönüşümsüz hasara maruz kalmış bir hücrede, ATP seviyelerinin aşırı düştüğü, anaerobik glikolizin durduğu, H⁺, AMP, inozin, laktat ve GP'nin arttığı, osmolar bir artış olduğu, hücre zarı harabiyeti, mitokondrilerde şişme ve amorf cisimciklerin oluştuğu tespit edilmiştir [33,34,35].

Miyokardial reperfüzyon hasarı, uzun süreli iskemiye takip eden reperfüzyon sırasında meydana gelen hasarı ifade etmektedir (Kaplan P ve ark., 1992). Reperfüzyon hasarının patofüzyolojisinin anlaşılmasındaki zorluk, iskemik fazda meydana gelen hasarda reperfüzyon fazında oluşan hasarın tam ayrımının yapılmasının güç olmasıdır.

Deneysel çalışmalar 4 reperfüzyon hasarının olduğunu göstermiştir [36].

- 1. Ölümcül reperfüzyon hasarı:** Reperfüzyondan hemen önce hala yaşıyor olan kardiyak miyositlerin koroner kan akımı yeniden sağlandığında reperfüzyona bağlı olarak ölmesi,
- 2. Vasküler reperfüzyon hasarı:** No-reflow fenomeni ve koroner vazodilatör rezervin azalması ile sonuçlanan ilerleyici mikrovasküler hasar,
- 3. Miyokardial stunning:** Anormal intrasellüler metabolizmanın neden olduğu azalmış enerji üretimine bağlı olarak, reperfüzyon sırasında meydana gelen geri dönüşümlü mekanik disfonksiyondur.
- 4. Reperfüzyon aritmileri:** Reperfüzyonu takip eden saniyelerde ventriküler taşikardi veya fibrilasyon gelişmesi.

2.8. Kalpte İskemi-Reperfüzyonun östrojen ile ilişkisi

Önkoşullama, insanda oluşabileceği fikri ilk defa tarafından ortaya atılmıştır [37]. Koroner bypass ameliyatı olan hastalarda geçirilen geçici iskemik atak sayısının artması ile, ventriküler fibrilasyon sonrası ventriküler ATP düzeylerinin korunduğu bulunmuştur. Daha sonra da farklı araştırmacılar, infarktüs öncesi geçirilen anjina krizinin miyokard infarktüsü üzerindeki koruyucu etkisini göstermişlerdir [38]. Koroner arter hastalığı olan olgularda, egzersiz testlerinde ilk testin ardından geçen kısa bir süreden sonra yapılan ikinci testte daha az anjina ile egzersizi tolere edebildikleri biliniyordu. egzersiz ile ortaya çıkan anjinal ağrının ileriki dönemlerde aynı egzersiz yapıldığında giderek azaldığı, iskemik parametrelerde ve st segment değişimlerinde azalma saptandığı araştırmalarda gözlenmiştir [39]. İnsan atrial veya ventrikül trabeküllerinde, ventriküler miyosit hücre

kültürlerinde yapılan in vitro çalışmalar ile önkoşullama oluşabileceği ortaya konmuştur [40]. Açık kalp ameliyatı geçirecek hastalara farklı dozlarda adenozin uygulamış ve bu hastaların postoperatif periyodu daha rahat geçirdiklerini ve kalp fonksiyonlarının daha çabuk düzeldiğini göstermişlerdir [41]. İskemik önkoşullama kollateral kan akımına bağlı değildir, az ya da hiç kollateral sirkülasyonu olmayan deney hayvanlarında da meydana gelmektedir [43]. Bazı kardiyovasküler ilaçlar iskemik önkoşullamayı modifiye etmektedir. uzun süreli oral antidiyabetik ilaç kullanan diyabetik hastalardan alınan miyokard dokusunda önkoşullama ile oluşan korumanın ortaya çıkmadığı gösterilmiştir [45]. Östrojen miyokardiyal KATP (ATP'ye duyarlı bir potasyum kanalı) kanallarını aktive ederek farmakolojik önkoşullama oluşturabilmektedir [52]. Kalsiyum kanal blokörleri insan kalp dokusunda iskemik önkoşullamayı bloke etmektedir [55]. Koroner arter bypass veya kapak cerrahisi uygulanan hastaların kalbi, operasyon sırasında sıklıkla iskemireperfüzyona maruz kalmaktadır ve iskemik önkoşullama bu durumlarda doku hasarında azalma sağlayabilir. iskemik önkoşullamanın, aortik crossclamp tekniği uygulanan operasyonlarda ATP yıkımını ve troponin T sızmasını azalttığı bulunmuştur [46]. İzofluran anestezisinin iskemik önkoşullamayı taklit ettiği ve koroner bypass cerrahisi geçiren hastalarda koruma oluşturduğu gösterilmiştir [47]. 90 saniyelik iki balon oklüzyonundan ikincisinde anjinal rahatsızlığın, ST segment kaymasının ve ortalama pulmoner arter basıncının daha düşük, hız-basınç ürününün, kardiyak ven akımının ve miyokardiyal laktat oluşumunun daha az olduğunu ortaya koymuşlar ve ilk kez anjiyoplasti ile iskemik önkoşullamanın oluştuğunu göstermişlerdir. Bu semptom ve belirtilerin azalması anjioplasti öncesi bir katp kanal blokeri olan glibenklamid verilerek önlenmiştir [43]. Benzer çalışmalar da insanda anjioplasti ile önkoşullama oluştuğunu göstermiştir. 1999 yılında iskemik önkoşullamanın geç fazının insanda da ortaya çıktığını ilk kez gösterdiler [49,50,51,52].

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmamızda Sütçü İmam Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Çalışmamızda 250-300 g ağırlığında 32 adet dişi ergin Wistar albino dişi rat kullanıldı. Denekler 22-24 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlatma periyodunda tutularak ve standart laboratuvar yemi ile beslendi. Ratların genel fizyolojik bilgileri Tablo 1'de verildi. Miyokardiyal IR modellerinde kullanılması ve miyokardiyal koroner kollateral dolaşımının az olması nedeniyle, deney hayvanı olarak rat seçilmiştir. Ratlar oda sıcaklığında, bir kafeste beşer tane olmak üzere temiz bir ortamda, standart laboratuvar koşullarında, pellet yem kullanılarak bakıldı. Cerrahi işlemden 12 saat önce yeme işlemi kesilerek su serbest bırakıldı. Deneyin sonunda ratlar sakrifiye edildiğinden postoperatif bakım gerekmedi.

10/10/2018 tarihli ve 01 sayılı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul izni ile başlanan çalışmamız süresince hayvan hakları ile ilgili NIH (National Institutes of Health) tarafından belirlenen 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

Tablo 1. Sıçanların fizyolojik değerleri.

Ortalama Yaşam	1-2 yıl
Ağırlık	200-300 g
Beden ısı	37.5 °C
Solunum sayısı	100-150/dk.
Kan basıncı	80—130 mmHg
Kan hacmi /vücut ağırlığı	1/20
Kalp ritmi	200-360(240)/dk
Hemoglobin	16-19
Hematokrit	0.1gr/100ml
Sodyum	320mgr/100mg
Potasyum	17.5-22.0 mgr/100ml

3.1.Deney Grupları

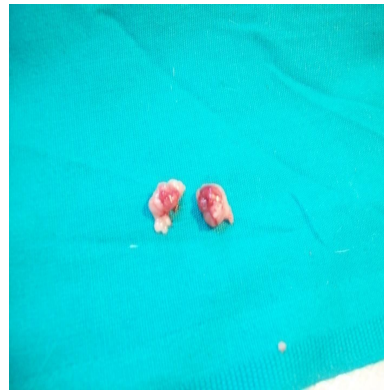
Çalışmamız başlıca 4 gruptan oluştu. Deneklere anestezik olarak ketamin (50mg/kg) intramüsküler injeksiyon ile uygulandı.

Grup-1 kontrol grubu (n=8): Batın açılıp, overler çıkarılmadan kapatıldı. Bu şekilde, ameliyat stresinin etkisi ekarte edildi. 2 ay sonra kalp dokusu çıkarılarak denekler sakrifiye edildi.

Grup-2 Sadece Overektomi uygulanan grup (n=8): Bu gruptaki ratlara standart intraperitoneal ketamin 50 mg/kg + ksilasin 5 mg/kg anestezisi uygulandı ve cerrahi işlem öncesi ayak geri çekme refleksi ile anestezisi oluşup oluşmadığı kontrol edildi. Cerrahi işlem için öncelikle sıçanlar lateral pozisyonda yatırılarak batının her iki tarafındaki tüyler tıraş edildi. Tıraş edilen bölge batticon ile temizlendi. Orta axiller çizginin beşinci lumbar vertebra ile kesiştiği bölgeye 0,5 cm'lik kesi yapıldı. Cilt, cilt altı, kas dokusu kesilerek ovaryuma ulaşıldı. Ovaryum dikkatlice dışarıya çıkartılarak, cornu uteriye bağlandığı yerden 3/0 ipek iplikle bağlandı ve kesilerek çıkartıldı. Kanama kontrolü yapıldıktan sonra cornu uteri dikkatlice tekrar yerine yerleştirildi. Önce kas dokusu, sonra deri altı ve deri primer sütür ile kapatıldı. Sütür atılan yer batticon ile temizlendi. Diğer taraftaki ovaryum da aynı işlemler uygulandı. Overektomi işleminden sonra sıçanların menopoza girmeleri için 14 gün beklendi [Resim 1 ve 2]. 14 gün sonra kalp dokusu çıkarılarak denekler sakrifiye edildi.



Fotoğraf 1. Overektomi işlemi



Fotoğraf 2. Overektomi sonrası

Grup-3 Sadece İskemi-reperfüzyon uygulanan grup (n=8): Batın açılıp, overler çıkarılmadan kapatıldı. Bu şekilde, ameliyat stresinin etkisi ekarte edildi. 14 gün sonra ön koşullama tekniğiyle kalp dokusuna iskemi- reperfüzyon yapıldı. Sıçanların yaklaşık 3 mm olmak üzere göğüs kafesi açıldı. Perikardiyum uzaklaştırılıp, abdomene bası yapılarak kalp nazikçe göğüs kafesi dışına çıkarıldı ve sol ön inen koroner arterin orjinine yakın yerinden 6/0 iplikli atravmatik yuvarlak iğne geçirildikten sonra kalp tekrar göğüs kafesi içine bırakıldı. İpek ipliğin her iki ucu kısa bir polietilen borudan (iç çapı 1mm, uzunluk 15 mm) geçirildi. 10 dakikalık stabilizasyon periyodundan sonra koroner arter etrafına yerleştirilen iplik bir klips yardımıyla sıkıştırıldı ve 10 dakika süreyle geçici bölgesel iskemi yapıldı. İplerin gevşetilmesi ve borunun çıkarılması ile reperfüzyon yapıldı [Resim3].



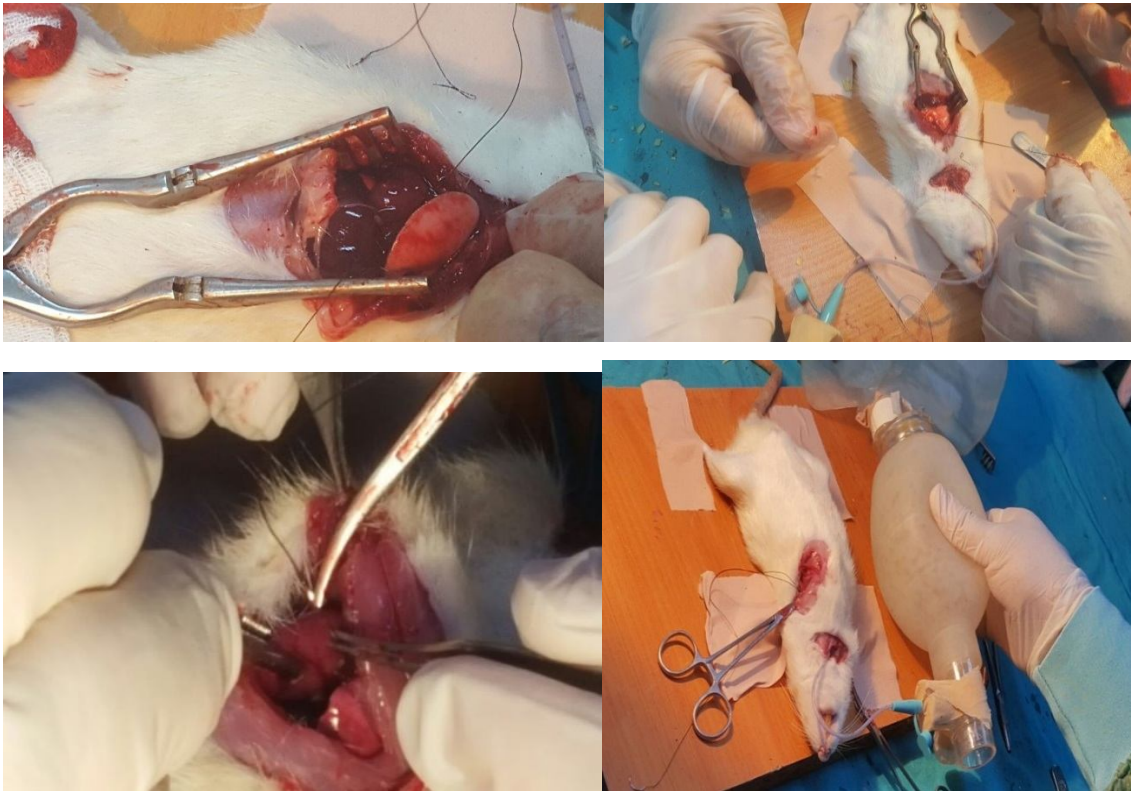
Fotoğraf 3. Kalp dokusunda İskemi-reperfüzyon işlemi

Grup 4 Ovariectomize+ İskemi-reperfüzyon uygulanacak grup (n=10): Anestezi altında her iki over ve overe ait yağ dokusu ayrılarak arteriya ve vena ovarica'lar bağlandıktan sonra overler çıkarıldı (ovariectomizeli grupta anlatılan teknik). 14 gün bekleddikten sonra ön koşullama tekniğiyle kalp iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturuldu (iskemi-reperfüzyon grubunda anlatılan teknik).

3.2.Cerrahi Yöntem

Çalışma KSÜ Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi. Ratlar tek tek tartılarak her birine intraperitoneal olarak 50 mg/kg dozunda ketamin hidroklorid (Ketalar flakon, Eczacıbaşı Türkiye) verilerek anestezi sağlandı. Anestezi altında (Ketamin ile anestezi) sıçanlarda trake entübasyonu yapıldı. Sıçanların yaklaşık 3 mm olmak üzere 4.ve 5.torakslar sol toraktomi yapılarak göğüs kafesi açıldı. Perikardiyum uzaklaştırılıp, abdomene baskı yapılarak kalp nazikçe göğüs kafesi dışına çıkarıldı ve sol ön inen koroner arterin orjinine yakın yerinden 6/0 ipek iplikli atravmatik yuvarlak iğne geçirildikten sonra kalp tekrar göğüs kafesi içine bırakıldı. İpek ipliğin her iki ucu kısa bir polietilen borudan (iç çapı 1mm, uzunluk 15 mm) geçirildi. 15 dakikalık stabilizasyon periyodundan sonra koroner arter etrafına yerleştirilen iplik bir klips yardımıyla sıkıştırılarak ve 10 dakika süreyle geçici bölgesel iskemi yapıldı. İplerin gevşetilmesi ve borunun çıkarılması ile reperfüzyon yapıldı [Resim 4,5].

Deney sonunda her dört gruptaki ratların kalp dokuları alındı. Dokular ikiye bölünerek bir kısmı biyokimyasal analizler için ayrıldı. Diğer doku parçaları ise kap içerisinde alınarak formaldehit ile muhafaza edildi. Histopatolojik değerlendirme Sütçü imam Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, biyokimyasal değerlendirmeler ise KSÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında yapıldı.



Resim 4. Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-1



Resim 5. Deneysel Kalp İskemi Reperfüzyon Çalışması-2

3.3. Araştırma Sırasında Kullanılan Aygıtlar

- Cam Kalem
- Enjektör
- Hassas Terazi
- Kronometre
- Lam
- Lamel
- Manyetik Karıştırıcı
- Mezür (25ml,50 ml,100 ml,250 ml,500 ml)
- Mikroskop
- Otomatik pipet
- Pastör pipeti
- Pipet uçları (1000 ve 100)
- Soğutmalı santrifüj
- ELIZA(ChemWell)

- Su Banyosu
- Vorteks
- Buzdolabı
- Buz Makinesi
- Distile Su
- Biyokimya tüpü
- Vacutenier
- Etüv
- Balon Joje
- Beher
- Ependorf

3.4. Araştırma sırasında kullanılan kimyasallar

- GPER-1 Elisa Kit 96 well
- Distile su
- Etanol
- Serum Fizyolojik(% 0,9 NaCl)

3.5. Biyokimyasal Ölçümler

3.5.1 Homojenat Hazırlama

Dokuların homojenize işlemine geçmeden önce dokulara 1 gr 9 hacim (hacim/ağırlık) %1,15 KCl çözünme sağlamak amacıyla eklendi. Dokular 16.000 devir/dakika hızda 3 dk boyunca homojenize edildi. Daha sonra homojenatlar +4 °C'de 14000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi ve üstteki süpernatantlar alındı ve ependorf tüplere ayrıldı.

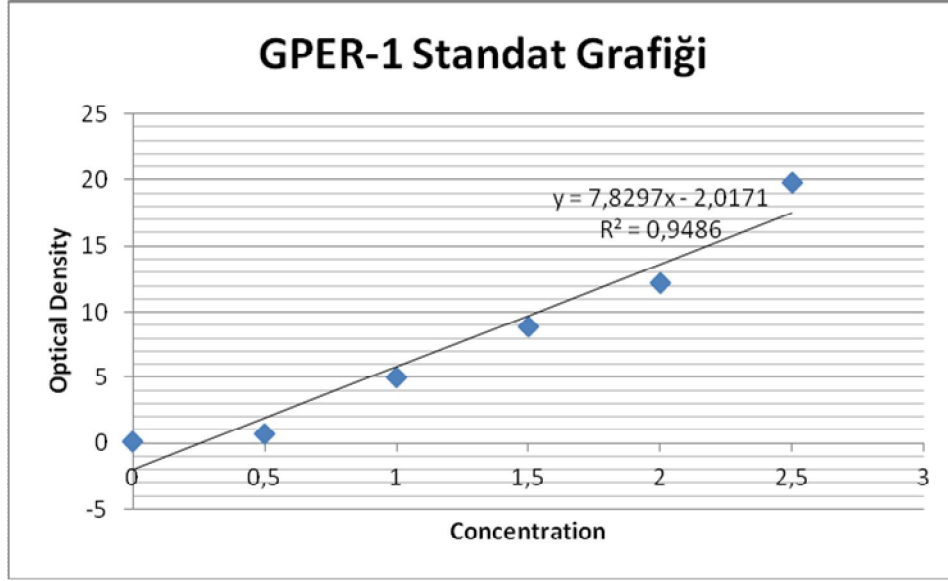
3.5.2. GPER-1 Düzeyi

Rat kalp dokusunda GPER düzeyleri ELİZA cihazında ticari kit (Rat-GPER-1 Katalog No: MBS095620) yardımıyla 450 nm'de ölçüldü. (Kit referans aralıkları 0.156 ng/ml-10ng/ml, sensitivitesi: 0.038 ng/ml)

Kit içeriğinde bulunan ayıraçlar

- 96'lık kaplamalı kuyucuk
- Standart(Liyofilize)
- Belirleme Reaktifi A (Green)
- Belirleme Reaktifi B (Red)
- A Reaktifi için Seyreltme Çözeltisi
- B Reaktifi için Seyreltme Çözeltisi
- TMB Substrat
- Yıkama Tamponu (Wash Buffer) (30x konsantre)

Prensibi: Örneklerde GPER-1 düzeyleri kantitatif sandviç immünoassay tekniği (ELİZA) ile ölçüldü. Mikrotitre plakası GPER-1'e özgü bir antikor ile önceden kaplandı. Standartlar ve numuneler daha sonra GPER-1'e özgü bir biyotin-konjuge antikor ile uygun bir mikro-titre plaka oyuklarına ilave edildi. Daha sonra, Avidin bağlı horseradish peroksidaz (HRP) her bir mikrolakaya ilave edildi ve inkübe edildi. TMB substrat çözeltisi GPER-1, biyotin-konjuge antikor ve enzim-konjuge avidin içeren kuyucuklara ilave edildikten sonra bir renk değişimi oluştu. Enzim-substrat reaksiyonu, sülfürik asit çözeltisi ilave edilerek sonlandırıldı ve renk değişimi 450 nm bir dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. Numunelerde GPER-1 konsantrasyonu, Standart eğride numune O.D.lerin karşılaştırılmasıyla saptandı.



Şekil 10. GPER-1 Standart Grafiği

Kit Prosedürü

1. Tüm reaktifler, örnekler ve standartlar hazırlandı.
2. Standart ve örneklerden ilgili her kuyucuđa 100µL eklendi. 1 saat 37 °C’de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
3. Aspirasyon işlemi yapıldı ve her kuyucuğa Belirleme Çözeltisi A’dan 100µL eklendi. 1 saat 37 °C’de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
4. 3 kez aspirasyon ve yıkama işlemi yapıldı.
5. Aspirasyon işlemi yapıldı ve her kuyucuğa Belirleme Çözeltisi B’dan 100µL eklendi. 30 dakika 37 °C’de inkübasyon işlemine tabi tutuldu.
6. 4 kez Aspirasyon ve yıkama işlemi yapıldı.
7. Her kuyucuğa 90µL Substrat Solüsyonu eklendi. 15-25 dakika 37°C’de inkübasyon işlemi yapıldı.
8. Her kuyucuğa 50µL Stop Solüsyonu eklendi. 450nm’de okuma yapıldı.

3.6. Histopatolojik Değerlendirme

Histopatolojik inceleme için, dokular % 10’ luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildi. Örneklerin tümü doku takip cihazında rutin takibe alınarak parafin bloklar hazırlandı. Bu parafin bloklardan mikrotom ile her doku örneği için 5 µm’lik seri kesitler hazırlanarak Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ile boyandı. Çalışma, aynı patolog tarafından hangi doku örneğinin hangi gruba dahil olduğunu

bilmeden ve doku örnekleri içinden rastgele seçim yapılarak gerçekleştirildi. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile histopatolojik incelemeye tabi tutuldu. Gruplar; miyokardiyal ödem, myositolizis, fokal hemoraji ve polimorfonüveli lökosit (PNL) infiltrasyonu göre değerlendirildi.

3.7. İstatistiksel analiz

İstatiksel analizin yapılmasında SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanıldı. Sonuçlarımız ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi. Biyokimyasal verilerimizin değerlendirilmesinde ise gruplar arasındaki farkların incelenmesi için Non Parametrik Kruskal-Wallis testi, iki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde de Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her iki test içinde $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

4.1. Deney Hayvanlarının Özellikleri

4.1.1. Beden Ağırlığı

Yaptığımız bu çalışmada, deney hayvanlarının deney boyunca takip edilen beden ağırlık profillerinin değerlerinde, 14 gün sonunda OVR ve OVR+I/R grubunda beden ağırlığı kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde artmıştı ($p<0.01$). Ancak, I/R grubunun beden ağırlığı ameliyat stresine maruz kalmaması 14. günde I/R yapılmadan hemen önce ölçüldü ve $239,1\pm 5,8$ olarak belirlendi. Çalışmamızda cerrahi menapozun beden ağırlığı üzerine etkisini görmek için Grup 1, 2 ve 3'ün beden ağırlıklarının sonuçları Tablo 2'de sunuldu.

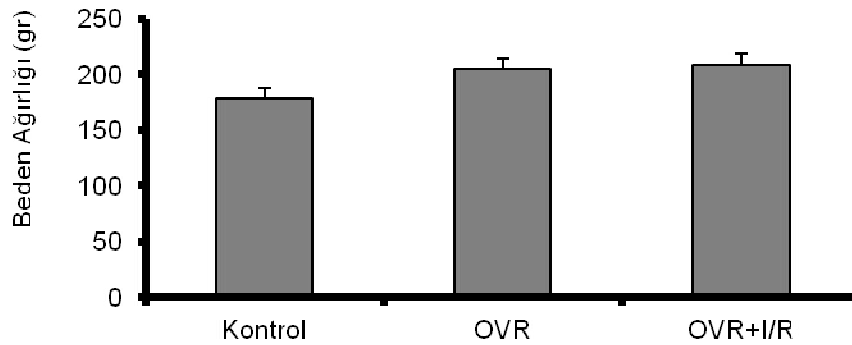
Tablo 2. Ratların Beden Ağırlığı Değerleri

	Beden Ağırlığı (g)
Grup 1 (Kontrol)	$179,0\pm 3,08$ g
Grup 2 (OVR)	$*205,3\pm 13,2$ g
Grup 4 (OVR+I/R)	$*209,0\pm 7,4$ g

* OVR ve OVR+I/R gruplarında beden ağırlığı kontrole kıyasla anlamlı ölçüde yüksekti ($p<0.05$).

-Beden ağırlığı grup 1 ve 2 arasında ($p=0,003$) ve grup 1 ve 3 arasında ($p=0,003$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar vardı ($p<0,05$).

-Beden ağırlığı grup 2 ve 3 arasında ($p=0,573$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar yoktu ($p>0,05$).



Şekil 11. Beden Ağırlığı Değişimleri

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. CK-MB Bulguları

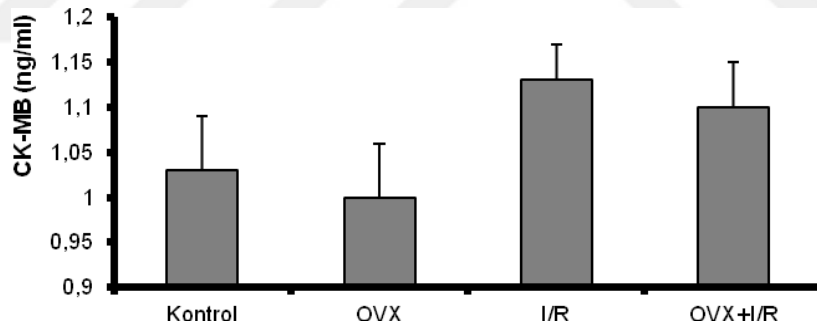
Reperfüzyonun sonunda kan örnekleri alındı. Kardiyak enzim olan kreatin kinaz (CK-MB) düzeylerine bakıldı. (Tablo 3).

Tablo 3. Kardiyak enzim CK-MB değerleri

	CK-MB (ng/mL)
Grup 1 (Kontrol)	1,03±0,06*
Grup 2 (OVR)	1,00±0,06*
Grup 3 (I/R)	1,13±0,04**
Grup 4 (OVR+I/R)	1,10±0,05**

*Grup 1 ve 2 arasında reperfüzyonun 0.dk da CK-MB değerleri açısından anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

**Grup 2 ve 3'de CK-MB değerleri diğer gruplara kıyasla oldukça yüksekti ancak gruplar arasında fark yoktu ($p>0,05$).



Şekil 12. CK-MB düzeyleri

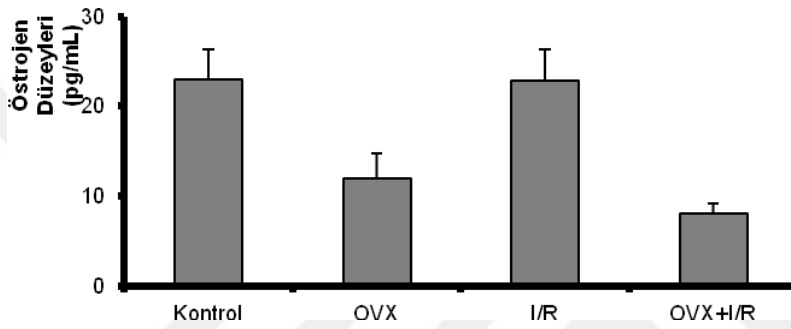
4.2.3. Plazma Östradiol ve Progesteron Düzeyi

Ratlara uygulanan Overektomiye analiz edebilmek için, plazma östradiol ve progesteron düzeylerine bakılmıştır. Gruplar arasında östradiol düzeyleri karşılaştırıldığında, OVR ve OVR+I/R gruplarına ait değerlerin, diğer gruplardan anlamlı bir şekilde düşüş olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). Bu dört grup arasındaki progesteron düzeyi kıyaslandığında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 4. Tüm Gruplarda Plazma Östrojen Düzeyleri

	Östrojen Düzeyleri (pg/mL)
Grup 1 (Kontrol)	23,02±3,26*
Grup 2 (OVR)	11,95±2,82*
Grup 3 (I/R)	22,82±3,49*
Grup 4 (OVR+I/R)	8,08±1,05*

- Grup 2 ve 4'te östrojen düzeyleri kontrole ve I/R gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşmüştür (p<0,05).

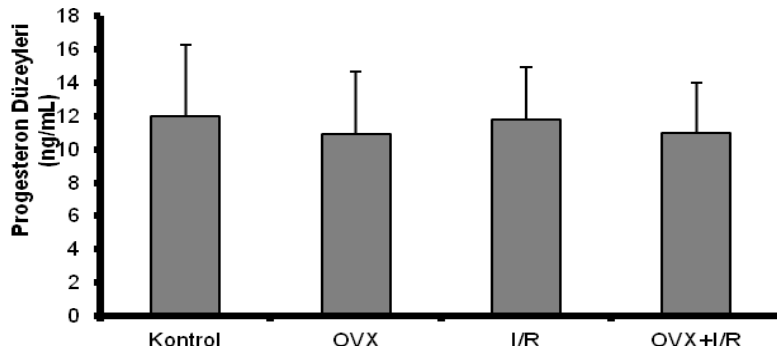


Şekil 13. Plazma Östrojen Düzeyleri

Tablo 5. Tüm Gruplarda Plazma Progesteron Düzeyleri

	Progesteron Düzeyleri (ng/mL)
Grup 1 (Kontrol)	12,02±4,26*
Grup 2 (OVR)	10,95±3,71*
Grup 3 (I/R)	11,82±3,16*
Grup 4 (OVR+I/R)	10,96±3,02*

*Gruplar arasında istatistiksel farklılıklar yoktu (p<0,05) .



Şekil 14. Serum Progesteron Düzeyleri

Tablo 6. Kalp Dokusunda GPER düzeyleri

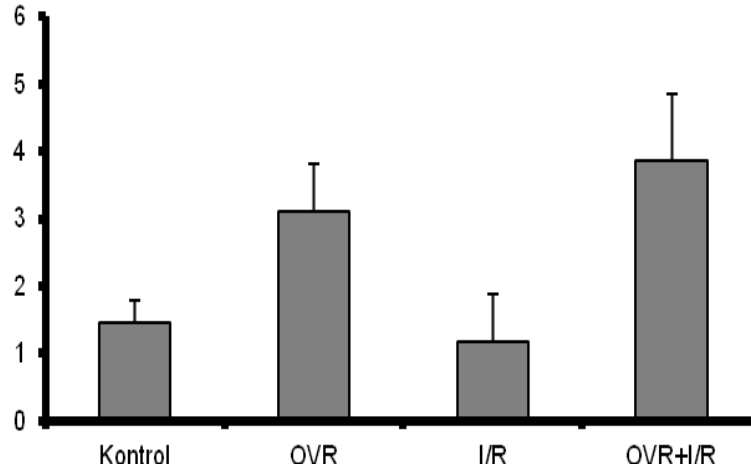
	GPER Düzeyleri (pg/mL) (Min-Max)
Grup 1 (Kontrol)	1,46±0,33 (1,03-2,02)
Grup 2 (OVR)	3,10±0,72* (2,0-3,9)
Grup 3 (I/R)	1,17±0,72 (0,07-2,09)
Grup 4 (OVR+I/R)	3,85±1,01* (2,51-5,81)

* Grup 2 ve 4'de GPER düzeyleri anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$).

-GPER düzeyleri grup 1 ve 3 arasında ($p=0,529$) ve grup 2 ve 4 arasında ($p=0,172$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmadı ($p>0,05$).

-GPER düzeyleri Grup 1 ile 2 arasında ($p=0,001$) ve grup 2-3 arasında ($p=0,001$) istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$).

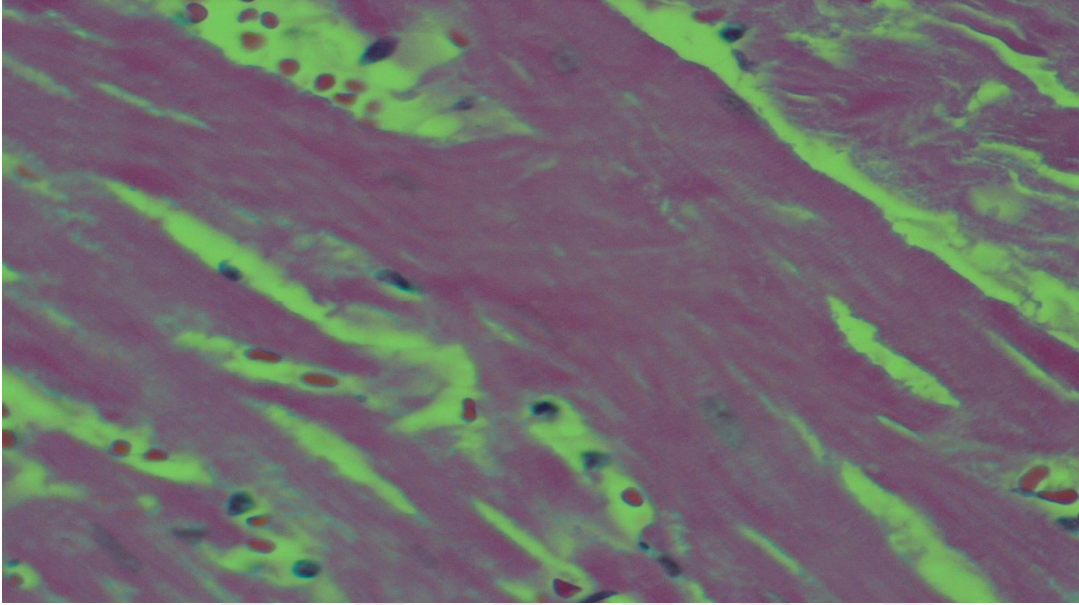
GPER Düzeyleri (pg/mL)



Şekil 15. Tüm gruplarda GPER-1 düzeyleri

Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu hariç tüm gruplarda miyokardiyal ödem, miyositolizis, hemoraji ve PMNL infiltrasyonu bulundu (Şekil 1,2,3 ve 4).



Şekil 16. İskemi Reperfüzyona Bağlı Lökosit Antienflamatuar Görüntü

5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler hastalık (KVH) her iki cinsiyette en önemli ölüm sebebi olmaya devam etmekte ve yılda 17,3 milyon ölüme neden olmaktadır. Koroner kalp hastalığı, kardiyovasküler hastalığa bağlı ölümlerin en yüksek yüzdesini oluşturur. Kadınlarda KVH insidansı erkeklerde olduğundan daha düşüktür, ancak bu cinsiyet eşitsizliği, menopozun başlamasından sonra yavaş yavaş tersine çevrilir. Kadınlarda iki taraflı bir ovektomi ameliyatından (OVR) sonra östrojen yoksunluğu ayrıca KVH'den kaynaklanan ölümlerde artışa neden olur ve bir estradiol replasmanı, kadın cinsiyet hormonu yoksunluğunun kalp sorunları üzerindeki etkisini gösteren ölüm riskini azaltabilir. Endojen östrojen eksikliğinin, miyokard iskemisi ve reperfüzyon (I/R) 'dan sonra daha ciddi kalp dokusu hasarı ve fonksiyon bozukluğu ile sonuçlandığı gösterilmiştir. Kardiyak I/R uygulanan OVR hayvanlarında, kardiyak mitokondri hasar görmüş ve bozulmamış ve OVR olmayan hayvanlardan daha büyük oranda bozulmuştur, bu da sağlam olanlara kıyasla azalmış mitokondriyal fonksiyona neden olmuştur. Ayrıca menopoz, vücut ağırlığının, iç yağ ağırlığının, toplam kolesterolün, LDL kolesterolün, trigliseritlerin ve sistolik kan basıncının artması, metabolik sendrom riskinde artışa katkıda bulunan tüm faktörlerle de ilişkilidir. Metabolik sendromun varlığı, birçok ülkede kadın ölümlerinin önde gelen nedeni olan kalp-damar hastalıkları, özellikle de koroner arter hastalığı ve miyokard iskemisi riskini artırabilir.

Deney süresince kullanılan hayvanların beden ağırlıkları deney öncesi (Overektomi yapılmadan önceki gün) ve deney sonrası (14 gün sonra, menopoz dönemi) ölçülmüştür. Grupların beden ağırlığı kıyaslandığında, OVR ve OVR+I/R grubunda anlamlı bir artış görülmüştür.

Menopozdan sonra kardiyovasküler olayların görülme sıklığı artmaktadır. Bununla birlikte, östrojen tedavisi (E2) kullanımı tartışmalıdır. ancak mekanizma/mekanizmalar belirsizdir. GPER-1, 17-Estradiol'e (E2) bağlanan reseptörlerden biridir. Bugüne kadar, menopozda iskemik kalp hastalığında GPER-1 ve düzeyleri hakkında hiçbir bilgi yoktur. Bu çalışma, GPER-1'in, overektomize ve iskemik kalp hastalığı modeli oluşturulan sıçanlarda GPER-1 düzeylerinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Çalışmamızda miyokardiyal hasarın göstergelerinden olan kardiyak enzim CK-MB düzeyleri reperfüzyonun 0 dk.' da ölçülmüştür. Kontrole kıyasla, sadece I/R, ve OVR+I/R gruplarında CK-MB düzeyi reperfüzyonun 0. dak. da yükselme gözlemlendi. Ancak gruplar

arasında C-MB yönünden istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0,05$). Kalp hasarında ki morfolojik değişikliklerin 4-12 saatte belirgin hale geldiği için 0. dak da CK-MB düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı fark göstermediği düşünülmüştür.

Çalışmamız kapsamında bulunan her 4 grubun plazmasında östrojen ve progesteron düzeyleri araştırılmıştır. Kontrol grubuna göre, OVR ve OVR+IR grubunda plazma östrojen düzeylerinde belirgin düşüş gözlenmiştir. Ayrıca plazmadaki progesteron düzeyi de ölçülmüş ve gruplar arasında fark görülmemiştir. Sonuçlarımızda progesteron düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması progesteronun farklı plazma proteinlerine bağlanması ile neden olmuş olabilir(Brunton L.L. ve ark., 2005).

GPER hakkında artan bilgi ve çeşitli hastalıklarda GPER düzeyleri hakkında bilgi sahibi olmak, tanı ve prognostik yaklaşımlara katkıda bulunabilir ve tedavi yaklaşımlarında GPER agonisti (G-1) veya antagonistinin (G-36) kullanılmasını sağlayabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan deneysel çalışmalar, estradiolün antidepresan benzeri etkisine ER β ve GPER aracılık ettiğini ve GPER'in depresyon tedavisinde yeni bir hedef olabileceğini göstermiştir (Fındıklı E ve ark, 2017). Çalışmamızda, OVR ve OVR+IR grubunda GPER düzeylerinin artmış ve östrojen düzeyleri düşmüştür. Bu gruplarda overektomiden dolayı yeterli östrojen sentezlenmediğinden dolayı hormon-reseptör ilişkisinden de yola çıkarak yeterli östrojen-GPER ile birleşmediği için GPER düzeylerinde artış olduğu düşünülmektedir. İskemik kalp dokusunda artan GPER düzeyini düşürmek bu tip hastalara GPER antogonisti (G-36) uygulanabilir. Bunun için tedaviye yönelik ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

PMNL'ler iskemi-reperfüzyon sonrasında kalp hasarında esas role sahiptirler ve PMNL lökositlerin azaltılması bu hasardan koruyucu bir etki oluşturur (Lopez-Nebolina F ve ark., 1996; Frangogiannis NG ve ark., 2007). Çalışmamızda histopatolojik olarak kalp İR uygulanan I/R, sham ve OVR+I/R gruplarında PMNL infiltrasyonu, ödem, hemoraji ve myositolizis gözlenmiş olması, ortaya çıkan doku hasarında esas olarak hücre içi Ca⁺² dengesinin bozulması ve inflamatuvar kaskatın aktivasyonu ile oluştuğunu düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda, biyokimyasal ve histopatolojik veriler neticesinde;

- 1- CK-MB değerleri açısından anlamlı fark yoktu (Tablo 3),
- 2- Grup 2 ve 4 'te östrojen düzeyleri kontrole kıyasla anlamlı derecede düşmüştür (Tablo 4),
- 3- Gruplarda serum progesteron düzeyleri arasında istatistiksel farklılıklar yoktu ($p<0,05$) (tablo 5),
- 4- Kalp dokusunda GPER-1 düzeyleri Grup 2 ve 4'de diğer gruplara göre kıyasla oldukça yüksekti ($p<0,05$) (tablo 6).
- 5- Histopatolojik olarak I/R grubunda, sham ve OVR+I/R gruplarında PMNL infiltrasyonu, ödem, hemoraji ve myositolizis gözlemlendi.

Menapozdan dolayı yeterli östrojen sentezlenmemektedir. Nitekim çalışmamızda, yeterli östrojen-GPER (hormon+reseptör ilişkisi) ile birleşmediği için GPER düzeylerinde artış olduğu düşünülmektedir. İskemik kalp dokusunda artan GPER düzeyini düşürmek için bu tip hastalara GPER antagonisti (G-36) tedavisi uygulanabilir. Ancak, tedaviye yönelik hayvan modelleriyle ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- [1] Altınışık, M., (2012). Hormonlar. <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/>.
(Erişim tarihi:17.01.2019)
- [2] Ası, T., (1999). *Tablolarla Biyokimya Cilt 2*. Nobel Tıp Kitapevleri Yayınları. NO:98, Ankara, 282s
- [3] Ryan, K.J., (Ağustos 1982). Biochemistry of aromatase: significance to female reproductive physiology. *Cancer Research*. Cilt 42, Sayı 8 Eki, s.33342s-3344s
- [4] Mechoulam, R., Brueggemeier, R.W., Denlinger, D.L., (Eylül 2005). Estrogens in insects. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 40 (9), s. 942–944. doi:10.1007/BF01946450.
- [5] Ellmann, S., Sticht, H., Thiel, F., et al.(2009). Estrogen and progesterone receptors: from molecularstructures to clinical targets. *Cell Mol Life Sci*, 66:2405-2426.
- [6] Fu, XD., Simoncini, T., (2008) Extra-nuclear Signaling of Estrogen Receptors. *IUBMB Life*, 60:502-510.
- [7] Kuiper, GG., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., Gustafsson, JA., (1996) Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA*, 93:59:25-30.
- [8] Deroo, BJ., Korach, KS., (2006). Estrogen receptors and human disease., *CA Cancer J Clin*. 116:561-570.
- [9] Kimura, K., Ito, M., Amano, M., Chihara, K., Fukata, Y., Nakafuku, M., Yamamori, B., Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kiabuchi K. (1996). Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rhoassociated kinase (Rho-kinase). *Science*, 273:245-248.
- [10] Sah, V.P., Seasholtz, T.M., Sagi, S.A., Brown, J.H., (2000). The role of Rho in G-protein coupled receptor signal transduction. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 40:459-489
- [11] Soules, Mr, Sherman, S., Parrott, E., (2001). Executive summary: Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW). *Fertil Steril*. 76:874–878.
- [12] Richardson, S., Nelson, J., (1990). Follicular depletion during the menopausal transition. *Ann N Y Acad Sci*. 592:13–20.
- [13] Weiss, G., Skurnick, J., Goldsmith, L., Santoro, N., Park S., (2004). Menopause and hypothalamic-pituitary sensitivity to estrogen. *JAMA*. 292:2991–2996.
- [14] Freedman, R., (2005). Hot flashes: behavioral treatments, mechanisms, and relation with sleep. *Am J Med*. 118:124 –130.

- [15] Schmidt, Pj., (2005). Mood,depression, and reproductive hormones in the menopause transition. *Am J Med.* 118:54 –58.
- [16] Dennerstein, L., Guthrie, Jr., Clark, M., Lehert, P., Henderson, (2004) Apopulation-base study of depressed mood in middle-aged, Australian-born women. *Menopause* 11:563-568
- [17] Görgel, E.B., Çakıroğlu, F.P., (2007) Menopoz Döneminde Kadın, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara,. <http://kitaplar.ankara.edu.tr/dosyalar/pdf/007.pdf> [Erişim Tarihi:25.07.2016]
- [18] Altuntug, K., Ege, E., Akin R, Kocak V, Benli S. (2016) Sexual quality of life in women during the climacteric period. *International Journal of Caring Sciences.* 9(1): 296-307.
- [19]. Al-Azzawi, F., Palacios, S., (2009). Hormonal changes during menopause. *Maturitas.* 63(2): 135-137.
- [20] Rat Urogenital System. http://www.biologycorner.com/worksheets/rat_urogenital.html (Erişim tarihi: 07.06.2019)
- [21] Olson, M.E., Bruce, J., (1986). Ovariectomy, Ovariohysterectomy and Orchidectomy in Ro-dents and Rabbits. *Can Vet J.* 27; 12.
- [22] Brouwer, E.A., Dailey, R., Brouwer, J.B. (1980). Ovariectomy of newborn rats: a descriptive procedure. *Lab Anim Sci.* 30:546-548.
- [23] Leonard, Ep.,(1968). Fundamentals of small animal surgery. Philadelphia: *WB Saunders*; p. 215-248.
- [24] Loukas, M., Tubbs, R.S., Louis, R.G., Pinyard, J., Vaid, S., Curry, B. (2007).The cardiovascular system in the preHippocratic era. *International Journal of Cardiology.* 120:145–149.
- [25] Diepgen, P., Ruska, J. (1933). Quellen und Studien zur Geschichte der Naturwissenschaften und Der Medizin. *Band 4 Heft 1, In: İbn ün-Nefis, Şerh Teşrih al-Kanun li'bn Sina*, Berlin, 89.
- [26] Hajar, A., (2005). 4,500-Year Voyage From Pulse Tension to Hypertension. *History of Medicine.* 6(3):124-133.
- [27] Couse, J.F., Korach, K.S. (1999). Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr. Rev.* 20:358-417
- [28] Kaplan, P., Hendriks, M., Mubagwa, K., Flameng, W.(1992). Effect of ischemia and reperfusion on sarcoplasmic reticulum uptake.*Circ Res*;71:1123-1130.

- [29] Moens, A.L., Claeys, M.J., Timmermans, J.P., Vrints, C.J. (2005). Myocardial ischemia / reperfusion - injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International Journal of Cardiology*;100:179– 190.
- [30] Hearse, D.J., (1990). Ischemia reperfusion, and the determinants of tissue injury. *Card Drugs Ther*;4:767–776.
- [31] Ambrosio, G., Weisman, H.F., Manisi, J.A., et al. (1989). Progressive impairment of regional myocardial perfusion after initial restoration of post-ischemic blood flow. *Circulation*;80:1846–1861.
- [32] Murry, C.E., Jennings, R.B., Raimor, K.A.(1986). Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.*,74,1124-1136.
- [33] Cavalieri, B., Perelli, M,G,, Aragno, M,, Mastrocola, R., Corvetti, G., Durazzo, M., Poli, G., Cutrin, J.C.(2002). Ischemic preconditioning attenuates the oxidant-dependent mechanisms of reperfusion cell damage and death in rat liver. *Liver Transpl.* 8;990-999.
- [34] Pagliaro, P., Gattullo, D., Rastaldo, R., Losano, G.(2001). Ischemic preconditioning from the first to the second window of protection. *Life Sciences.*69,1-15.
- [35] Yellon, D.M., Alkhulaifi, A.M., Pugsley, W.B. (1993). Preconditioning the human myocardium.*The Lancet.* 342:276-7.
- [36] Kloner, R.A., Shook, T., Przyklenk, K., Davis, V.G., Junio, L., Matthews, R.V., (1995)Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. *A clinical correlate to preconditioning.* 91:37-45.
- [37] Maybaum, S., Ilan, M., Mogilevsky, J., Tzivoni, D. (1996) Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: A possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol*, 78:1087-91.
- [38] Tomai, F., Crea, F., Chiariello, L., Gioffre, P.A. (1999) Ischemic preconditioning in humans: *Models, mediators, and clinical relevance.* *Circulation*, 100:559-63.
- [39] Mentzer, R.M. Jr, Rahko, P.S., Molina-Viamonte, V., Canver, C.C., Chopra, P.S., Love, R.B., (1997). Safety, tolerance, and efficacy of adenosine as an additive to blood cardioplegia in humans during coronary artery bypass surgery. *Am J Cardiol* , 79:38-43.
- [40] Ovize, M., Kloner, R.A., Hale, S.L., Przyklenk, K. (1992). Coronary cyclic flow variations "precondition" ischemic myocardium. *Circulation*, 85:779-89.
- [41] Meldrum, D.R. (1997). Mechanisms of cardiac preconditioning: Ten years after the discovery of ischemic preconditioning. *J Surg Res*, 73:1-13.

- [42] Cleveland, J.C., Jr, Meldrum, D.R., Cain, B.S., Banerjee, A., Harken, A.H. (1997) Oral sulfonylurea hypoglycemic agents prevent ischemic preconditioning in human myocardium. *Two paradoxes revisited. Circulation* , 96:29-32.
- [43] Cain, B.S., Meldrum, D.R., Cleveland, J.C., Jr, Meng. X., Banerjee, A., Harken, A.H. (1993). Clinical L-type Ca²⁺ channel blockade prevents ischemic preconditioning of human myocardium. *J Mol Cell Cardiol* , 31:2191-7.
- [44] Jenkins, D.P., Pugsley, W.B., Alkhulaifi, A.M., Kemp, M., Hooper, J., Yellon, D.M. (1997).Ischaemic preconditioning reduces troponin T release in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Heart*, 77:314-8.
- [45] Belhomme, D., Peynet, J., Louzy, M., Launay, J.M., Kitakaze, M., Menasche, P. (1997).Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 100 (19 Suppl):II340-4.
- [46] Deutsch, E., Berger, M., Kussmaul, W.G., Hirshfeld, J.W., Jr, Herrmann, H.C., Laskey, W.K. (1990). Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Clinical, hemodynamic, and metabolic features. Circulation* ,82:2044-51.
- [47] Bolli, R., Leesar, M.A., Stoddard, M. (1997).Ischemic preconditioning during coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* ,29:469- 70.
- [48] Noda, T., Minatoguchi, S., Fujii, K., Hori, M., Ito, T., Kanmatsuse, K., (1966). Evidence for the delayed effect in human ischemic preconditioning: prospective multicenter study for preconditioning in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 34:1966-74.
- [49] Levinson, R.M., Shure, D., Moser, K.M. (1986). Reperfusion pulmonary edema after pulmonary artery thromboendarterectomy. *Am Rev Respir Dis*.134:1241-5.
- [50] Claeys, M.J., Vrints, C.J., Bosmans, J.M., Conraads, V.M., Snoeck, J.P. (1996).Aminophylline inhibits adaptation to ischaemia during angioplasty: Role of adenosine in ischaemic preconditioning. *European Heart Journal* 17:539-44.
- [51] Lee, T.M., Su, SF, Chou, T.F., Tsai, C.H.(2002). Pharmacologic preconditioning of estrogen by activation of the myocardial adenosine triphosphate-sensitive potassium channel in patients undergoing coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol*, 39:871-7
- [52] Tomai, F., Crea, F., Gaspardone, A., Versaci, F., Ghini, A.S., De, Paulis, R., (1997).Phentolamine prevents adaptation to ischemia during coronary angioplasty. *AHA / ASA Journals*. 96:2171-7.

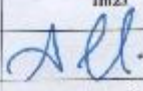
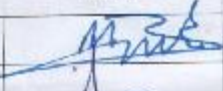
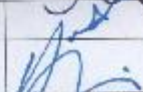
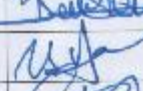
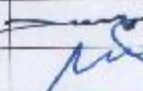



EKLER

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Overeoktonize Rattların İskemik Kalp Dokusunda GPER 1 Düzeyinin Araştırılması	
	Başvuru Tarihi	18.07.2018	
	Protokol No	29	
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Dili	
	Başvuru Formu	Türkçe	
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2018/10	Karar No: 01	Tarih: 10.10.2018
	Prof. Dr. Ergül BELGE KURUTAS'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.		

K.S.Ü. TIP FAKÜLTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI	Doç. Dr. Arif Hükan KURT
--------------------------------	--------------------------

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Araştırma ile İlişki (*)		Katılım (**)		İmza
Doç. Dr. Arif Hükan KURT Başkan	Tabii Farmakoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Fatma İNANCI TOLUN Üye	Tabii Biyokimya	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Prof. Dr. Mehmet BOSSAK Üye	Fizyoloji	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İbrahim ORHAN Üye	KBB	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet ACIPAYAM Üye	Kalp Damar Cerrahi	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Anıl YILDIZ Üye	Anatomi	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. İdris ALTIN Üye	Bev. ve Sine Cerrahi	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR Üye	Anatomi	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Gülay GİŞİ Üye	Anestez ve Rean	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Dr. Öğr. Üyesi Eray ERKEN Üye	İç Hastalıklar (Nefroloji)	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLI
Yrd. Hek. Faruk YILMAZ Üye	veteriner	K.S.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	RAPORLU
Nedim Okan ÇİMÜSTAKIM Üye	Avukat	Serbest	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mehmet ÇANSAKARAN Üye	Mühendis	Barın H. Mühürüğü	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
SERH (VARSA)							

*Araştırma ile İlişki
**Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Mahmut AY
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 1986/KAHRAMANMARAŞ
Medeni hali : Bekar
Telefon : (0543) 4919707
Yabancı dil : İngilizce
e-posta : mahmuatay@gmail.com
Hobileri : Film, Kitap, yürüyüş

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	GOP, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü	2016
Lise	Çukurova Elektrik Anadolu Lisesi /K.MARAŞ	2007

YAYINLAR

1. Ay M, Demirhen İ, Bakarıs S, Kurutas EB. Resveratrol, a Natural Antioxidant, Attenuates Liver Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. XXVII. Balkan Clinical Laboratory Federation Meeting BCLF 2019, Antalya (P-208).