



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KUDRET NARI'nın (Momordica charantia) ÖSTROJEN
RESEPTÖRLERİNDEN ESR1 ve ESR2 GEN DÜZEYLERİ İLE
OKSİDATİF DNA HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Hikmet Akpınar

Yüksek Lisans Tezi

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç Dr. Rabia OBA

2. DANIŞMAN

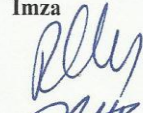

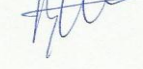
Yrd. Doç. Dr. Özge ÇEVİK

İSTANBUL 2013

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Biyokimya (Eczacılık)
Tez Sahibi : Hikmet Akpınar
Tez Başlığı : **KUDRET NARI' nın (Momordica charantia) ÖSTROJEN
RESEPTÖRLERİNDEN ESR1 VE ESR2 GEN DÜZEYLERİ İLE
OKSİDATİF DNA HASARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**
Sınav Yeri : Biyokimya Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 09.09.2013

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Yrd.Doç.Dr.Rabia Oba	M.Ü.Eczacılık Fakültesi.Biyokimya	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı,)		
Prof.Dr.Azize Şener	M.Ü.Eczacılık Fak.Biyokimya Anb	
Yrd.Doç.Dr.Betül Karademir	M.Ü.Tıp Fakültesi.Biyokimya Anb	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 09./09./2013 tarih ve 46 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütun bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütun bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih

Ad

İmza

TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu araştırma konusunu veren, çalışmayı yöneten, deneylerimin yapılması ve tezimin yazımı sırasında her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen çalışmalar esnasında sabır ve anlayış gösteren beni yönlendiren ve tecrübeleriyle karşılaştığım zorlukları kolayca aşmamı sağlayarak sıcak ve hoşgörülü bir çalışma ortamı sunan çok değerli danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. Özge Dağdeviren Çevik ve Yrd Doç Dr. Rabia Oba'ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerinden faydalanma imkanı bulduğum değerli hocalarım Prof Dr. Ayşen Yarat, Prof. Dr. Azize Şener, Doç Dr. Kadir Turan, Doç Dr. Derya Özsvacı, Yrd Doç Dr. Bahar Göker, ve Öğretim Görevlisi Dr. Halil Aksoy' a teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerim sırasında yardım, bilgi ve tecrübelerinden yararlanma imkanı bulduğum değerli hocalarım Öğretim görevlisi Özlem Tuğçe Çilingir, Öğretim Görevlisi Zarife Nigar Özdemir'e teşekkürlerimi sunarım. Yine deneylerim sırasında destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Nazlıgül Altındış ve Özge Doğan'a teşekkürü bir borç bilirim.

Son olarak, yıllardır maddi ve manevi desteklerini hep arkamda hissettiğim ve benim için birçok sıkıntıya katlanan aileme sonsuz teşekkürler...

İçindekiler

Kısaltmalar	viii
Tablo Listesi.....	xi
Şekil Listesi	xii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Kudret Narı	5
4.1.1. Genel Özellikleri	5
4.1.2. Bileşenleri.....	6
4.1.3. Bilinen Faydaları.....	6
4.1.4. Etki Mekanizması	8
4.1.5. Yan Etkileri.....	9
4.1.6. Yapılan Çalışmalar	9
4.2. Östrojen Hormonu.....	13
4.2.1. Genel Özellikleri	13
4.2.2. Östrojenin Etki Mekanizması	15
4.2.3. Nükleer Faktör Kappa B (NF-kB)	18
4.2.4. Östrojen Reseptörü (ER) ve Nükleer Faktör Kappa B (NF-kB) arasındaki ilişki	19
4.3. Menopoz	19
4.3.1. Hormonal Değişiklikler	20
4.3.1.1. Östrojen.....	20
4.3.1.2. Progesteron.....	20
4.3.1.3. Androjenler.....	21
4.3.2. Diğer Değişiklikler	21
4.3.3. Hormon Replasman Tedavisi	21

4.4. Oksidatif Stres.....	22
4.4.1. Serbest Radikaller	22
4.4.1.1. O ₂ ⁻ (Süperoksit) Radikali.....	24
4.4.1.2. H ₂ O ₂ (Hidrojen Peroksit).....	24
4.4.1.3. Hidroksil radikali (·OH).....	25
4.4.1.4. Nitrik Oksit (NO).....	25
4.4.1.5. Lipid Peroksidasyonu	26
4.4.1.6. Oksidatif DNA Hasarı.....	27
4.4.1.7. Proteinlerin Oksidasyonu	29
4.4.1.8. Karbonhidratların Oksidatif Hasarı	29
4.4.2. Antioksidanlar	30
4.4.2.1. Süper Oksid Dismutaz (SOD)	31
4.4.2.2. Katalaz (CAT)	31
4.4.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	32
4.4.2.4. Glutasyon Redüktaz (GSH-R)	33
4.4.2.5. Glutasyon-S-Transferaz (GST).....	33
4.4.2.6. Glutasyon (GSH).....	34
4.4.2.7. C Vitamini (Askorbat)	35
4.4.2.8. E Vitamini (α-tokoferol)	36
4.4.2.9. β-Karoten	37
4.4.2.10. Likopen	37
5. MATERYAL-METOD.....	39
5.1. Overektomi İşlemi ve Hayvan Gruplarının Oluşturulması	41
5.2. Kudret Narı Meyve Ekstresi ve Östrodiol Uygulaması	42
5.3. Kudret Narı Meyve İçeriğinde Bazı Temel Bileşenlerin Analizi	43
5.4. Östrojen Düzeyi Ölçümü	45
5.5. Oksidatif DNA Hasarı Ölçümü.....	47
5.6. Lipid Peroksidasyon Tayini.....	49
5.7. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini.....	50
5.8. Glutasyon Tayini	52

5.9. Glutatyon-S Transferaz Aktivitesi Tayini	53
5.10. Katalaz Aktivitesi Tayini.....	54
5.11. Superoksid Dismutaz Aktivitesi Tayini	55
5.12. ESR1, ESR2 ve NF-kB Gen Düzeylerinin Ölçümü.....	57
5.13. Histolojik İnceleme	64
6. BULGULAR.....	65
6.1. Kudret Narı içerisinde bulunan bazı temel bileşenler	65
6.2. Serum Östrojen Düzeyleri	66
6.3. Serum Oksidatif DNA hasarı düzeyleri	67
6.4. Kudret Narı'nın Karaciğer Üzerindeki Etkileri	68
6.4.1. Karaciğer MDA seviyeleri.....	68
6.4.2. Karaciğer MPO seviyeleri	68
6.4.3. Karaciğer GSH seviyeleri.....	69
6.4.4. Karaciğer SOD aktivite seviyeleri	69
6.4.5. Karaciğer Katalaz aktivite seviyeleri	70
6.4.6. Karaciğer GST aktivite seviyeleri.....	70
6.5. Kudret Narı'nın Böbrek Üzerindeki Etkileri.....	71
6.5.1. Böbrek MDA seviyeleri	71
6.5.2. Böbrek MPO seviyeleri.....	71
6.5.3. Böbrek GSH seviyeleri.....	72
6.5.4. Böbrek SOD aktivite seviyeleri	72
6.5.5. Böbrek Katalaz aktivite seviyeleri	73
6.5.6. Böbrek GST aktivite seviyeleri.....	73
6.6. Kudret Narı'nın Uterus Üzerindeki Etkileri	74
6.6.1. Uterus MDA seviyeleri	74
6.6.2. Uterus MPO seviyeleri	74
6.6.3. Uterus GSH seviyeleri.....	75
6.6.4. Uterus SOD aktivite seviyeleri	75
6.6.5. Uterus CAT aktivite seviyeleri	76
6.6.6. Uterus GST aktivite seviyeleri.....	76

6.7. Kudret Narı'nın Uterus Östrojen Reseptör Geni ESR1 Üzerindeki Etkisi	77
6.7.1. ESR1 geni için ESR1-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları	77
6.7.2. ESR1 geni için ESR1-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları	78
6.8. Kudret Narı'nın Uterus Östrojen Reseptör Geni ESR2 Üzerindeki Etkisi	79
6.8.1. ESR2 geni için ESR2-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları	79
6.8.2. ESR2 geni için ESR2-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları	80
6.9. Kudret Narı'nın Uterus NF-kB Üzerindeki Etkisi	81
6.9.1. NF-kB geni için NF-kB-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları	81
6.9.1. NF-kB geni için NF-kB-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları	82
6.10. Histolojik Bulgular	83
6.10.1. Uterus Dokusunda Histolojik Bulgular	83
6.10.2. Böbrek Dokusunda Histolojik Bulgular	87
6.10.3. Karaciğer Dokusunda Histolojik Bulgular	92
7. TARTIŞMA	97
8. KAYNAKLAR.....	105

Kısaltmalar

8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
ACP	: Asit Fosfataz
ALP	: Alkalen Fosfataz
ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
ATP	: Adenozin trifosfat
Caco-2	: İnsan kolon kanseri hücre hattı
CAT	: Katalaz
CDNB	: 1-klor-2,4-dinitro-benzen
CuZnSOD	: Bakır-Çinko içeren Süperoksid Dismutaz
CYP	: Sitokrom p450
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E2	: 17- β Östradiol
EC-SOD	: Ekstraselüler Süperoksid Dismutaz
eNOS	: Endotelial Nitrik Oksit Sentetaz
ER	: Östrojen Reseptörü
ERE	: Östrojen Tepki Elemanı
ESR	: Östrojen Reseptörü
EST	: 17- β Östradiol
ETZ	: Elektron Transport Zinciri
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSH-R	: Glutasyon Redüktaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HAART	: Yüksek Aktiviteli Antiretroviral Terapi
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein

HEPG-2	: HIV enfeksiyonlu karaciğer hücresi
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
IKB	: Kappa B inhibitörü
IL	: İnterlökin
iNOS	: İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentetaz
KN	: Kudret Narı
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehid
MCF-7	: Meme kanseri hücre hattı
MDA-MB-231	: Meme kanseri hücre hattı
MnSOD	: Mangan içeren Süperoksid Dismutaz
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik asit
MPO	: Miyeloperoksidaz
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NF-kB	: Nükleer Faktör Kappa-B
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentetaz
nNOS	: Nöronal Nitrik Oksit Sentetaz
OV	: Overektomi
PARP	: Poli ADP-riboz Polimeraz
PEG	: Polietilen Glikol
PI	: Proteaz İnhibitörü
RIP	: Ribozom İnaktive Edici Protein
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik asit
SGOT	: Serum Glutamik Okzaloasetik Transaminaz
SGPT	: Serum Glutamik Pürüvik Transaminaz
SOD	: Süperoksid Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
SR	: Serbest Radikal

STZ	: Streptozotosin
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TGF- β	: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta
THP-1	: İnsan Akut Monositik Hücre Hattı
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
tRNA	: Taşıyıcı Ribonükleik asit
XIAP	: X' e bağlı Apoptoz Protein İnhibitörü

Tablo Listesi

Tablo 1. Kudret narının ülkelerdeki kullanım amacı.....	7,8
Tablo 2. Kullanılan kimyasal maddeler.....	39,40
Tablo 3. Kullanılan araç ve gereçler.....	40
Tablo 4. Standart solüsyonların dilüsyon içeriği.....	46
Tablo 5. MDA ölçümünde kullanılacak prosedür.....	50
Tablo 6. MPO ölçümünde uygulanacak prosedür.....	51
Tablo 7. GSH ölçümünde uygulanacak prosedür.....	52
Tablo 8. GST ölçümünde uygulanacak prosedür.....	53,54
Tablo 9. CAT ölçümünde uygulanacak prosedür.....	55
Tablo 10. SOD ölçümünde uygulanacak prosedür.....	57
Tablo 11. cDNA sentez kiti içeriği.....	59
Tablo 12. PCR Master mix içeriği.....	60
Tablo 13. PCR tüp içeriği.....	60
Tablo 14. PCR siklus bilgileri.....	61,62
Tablo15. Gen düzeyleri için seçilen primerler	62,63
Tablo 16. Kudret narı meyve içeriği.....	65

Şekil Listesi

Şekil 1. Kudret narı yaprak, çiçek ve meyvesi.....	5
Şekil 2. Östrojen hormonlarının 3 boyutlu yapıları.....	14
Şekil 3. Östrojen hormonlarının insan vücudundaki rolü.....	15
Şekil 4. Östrojen hormonunun etki mekanizması.....	16
Şekil 5. İnsan östrojen reseptörü α ve β ' nin fonksiyonel domainleri.....	17
Şekil 6. Östrojen reseptörleri ilişkili sinyal yolağı.....	17
Şekil 7. NF-kB aktivasyon yolağı.....	18
Şekil 8. DNA hasarının bilinen formları.....	28
Şekil 9. Antioksidan enzim sistemi.....	30
Şekil 10. Glutasyonun ksenobiyotiklere GST katalizli reaksiyonu.....	33
Şekil 11. Glutasyonun kimyasal yapısı.....	34
Şekil 12. C Vitamininin kimyasal yapısı.....	35
Şekil 13. E vitaminin kimyasal yapısı.....	36
Şekil 14. β -Karoten' in kimyasal yapısı.....	37
Şekil 15. Likopen'in kimyasal yapısı.....	37
Şekil 16. Ligatürasyon tekniği ile overektomi işlemi.....	41
Şekil 17. E2 Standart Grafiği.....	47
Şekil 18. 8-OHdG Standart Grafiği.....	49
Şekil 19. Serum östrojen seviyeleri.....	66
Şekil 20. Serum Oksidatif DNA hasarı düzeyleri.....	67
Şekil 21. Karaciğer MDA seviyesi.....	68
Şekil 22. Karaciğer MPO seviyesi.....	68
Şekil 23. Karaciğer GSH seviyesi.....	69

Şekil 24. Karaciğer SOD seviyesi.....	69
Şekil 25. Karaciğer CAT seviyesi.....	70
Şekil 26. Karaciğer GST seviyesi.....	70
Şekil 27. Böbrek MDA seviyesi.....	71
Şekil 28. Böbrek MPO seviyesi.....	71
Şekil 29. Böbrek GSH seviyesi.....	72
Şekil 30. Böbrek SOD seviyesi.....	72
Şekil 31. Böbrek CAT seviyesi.....	73
Şekil 32. Böbrek GST seviyesi.....	73
Şekil 33. Uterus MDA seviyesi.....	74
Şekil 34. Uterus MPO seviyesi.....	74
Şekil 35. Uterus GSH seviyesi.....	75
Şekil 36. Uterus SOD seviyesi.....	75
Şekil 37. Uterus CAT seviyesi.....	76
Şekil 38. Uterus GST seviyesi.....	76
Şekil 39. ESR1-1 primeri kullanılarak ESR1 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi.....	77
Şekil 40. ESR1-2 primeri kullanılarak ESR1 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi.....	78
Şekil 41. ESR2-1 primeri kullanılarak ESR2 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi.....	79
Şekil 42. ESR2-2 primeri kullanılarak ESR2 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi	80
Şekil 43. NF-kB-1 primeri kullanılarak NF-kB gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi.....	81

Şekil 44. NF-kB-2 primeri kullanılarak NF-kB gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi.....	82
Şekil 45. Uterus kontrol grubu histolojik görüntüsü.....	83
Şekil 46. Uterus OV grubu histolojik görüntüsü.....	84
Şekil 47. Uterus OV+EST grubu histolojik görüntüsü.....	85
Şekil 48. Uterus OV+KN grubu histolojik görüntüsü.....	86
Şekil 49. Böbrek kontrol grubu histolojik görüntüsü.....	87
Şekil 50. Böbrek OV grubu histolojik görüntüsü.....	88
Şekil 51. Böbrek OV grubu histolojik görüntüsü-2.....	89
Şekil 52. Böbrek OV+EST grubu histolojik görüntüsü.....	90
Şekil 53. Böbrek OV+KN grubu histolojik görüntüsü.....	91
Şekil 54. Karaciğer kontrol grubu histolojik görüntüsü.....	92
Şekil 55. Karaciğer OV grubu histolojik görüntüsü.....	93
Şekil 56. Karaciğer OV+EST grubu histolojik görüntüsü.....	94
Şekil 57. Karaciğer OV+EST grubu histolojik görüntüsü-2.....	95
Şekil 58. Karaciğer OV+KN grubu histolojik görüntüsü.....	96

1. ÖZET

Menopoz döneminde ortaya çıkan değişiklikler, bayanların yaşam kalitesinin düşmesine ve çeşitli hastalıkların görülmesine yol açmaktadır. Bu değişikliklerin temel nedeni dolaşım sisteminden 17- β Östradiol (E2) hormon düzeyinin azalması ve yerini östron hormonuna bırakmasıdır. Son yıllarda fitoöstrojen içeriği yüksek olan bitkiler menopoz döneminde tedavi edici olarak tavsiye edilmektedir. Bu çalışmada deneysel overektomize modelinde, *Momordica charantia* olarak isimlendirilen Kudret Narının östrojen reseptörlerinden ESR1 ve ESR2 gen düzeyleri ile oksidatif DNA hasarı üzerindeki etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmada *Wistar albino* türüne ait sıçanlar ligatürasyon yöntemi ile overektomi modeli oluşturularak 2 gr/kg Kudret narı meyve ekstresi (KN) gavaj ile 30 gün boyunca uygulandı. Serumda E2 ve 8-OHdG düzeyleri ile uterus, karaciğer ve böbrek dokusunda MDA, GSH, SOD, GST, CAT ve MPO düzeyleri ölçüldü. ESR-1 ve ESR-2 östrojen genleri ve NF-kB düzeyleri RT-PCR ile uterus dokusunda araştırıldı. Uterus, karaciğer ve böbrek dokusundaki yapısal değişiklikler HE boyaması ile ışık mikroskopunda incelendi. Bulgularımızda overektomize sıçanlara uygulanan KN serum E2 düzeyini arttırmış, 8-OHdG düzeyini azaltmıştır. Overektomide KN uygulaması ile ESR-1, ESR-2 ve NF-kB gen düzeyleri anlamlı olarak artmıştır. Karaciğer, böbrek ve uterus dokusunda overektomi sonucunda değişiklik gösteren oksidatif strese karşı KN uygulamasının antioksidan etki gösterdiği bulunmuştur. Histolojik bulgular ele alındığında özellikle uterus dokusunda overektomide KN uygulamasının nötrofil infiltrasyonunu azalttığı, hücre ve kollajen dağılımının normale döndüğü, düzgün yapıda epitel hücrelerinin arttığı tespit edilmiştir. *Momordica charantia* bitkisi fitoöstrojen ve antioksidan etkisi ile overektomili sıçanlarda hem gen düzeyinde hem de protein düzeyinde etki göstermiş olup menopoz döneminde kullanılabilir yeni ilaçların geliştirilmesinde katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: *Momordica charantia*, Overektomi, 17- β Östradiol, Östrojen reseptörleri, Oksidatif DNA Hasarı

2. SUMMARY

THE EFFECT of BITTER MELON (MOMORDICA CHARANTIA) on THE GENE LEVELS of ESTROGENE RECEPTORS ESR1 and ESR2 WITH on OXIDATIVE DNA DAMAGE

Changes arising in the period of menopause, cause the quality of life to reduce various diseases to appear. Main reason of these changes, is the decrease of 17- β estradiol (E2) hormone level in the circulation system and estrogen hormone taking its place. In recent years plants with high phytoestrogen content are recommended as therapeutically. In this study, we aimed at investigating the effect of Bitter Melon (BM) named as *Momordica charantia* on the gene levels of estrogen receptors such as ESR-1 and ESR-2, and on oxidative DNA damage, in experimental ovariectomized model. During the study, the ovariectomy model was composed by ligaturation method and 2g/kg of fruit extra gavage of Bitter Melon applied on the rats belonging to the species of *Wistar albino*, for 30 days. Inside the serum, E2 and 8-OHdG levels; MDA, GSH, SOD, GST, CAT and MPO levels in uterus, liver and kidney tissue, were measured. Estrogen genes ESR-1 and ESR-2 and NF-kB along with RT-PCR, were analyzed in uterus tissue. Structural changes in uterus, liver and kidney tissue, were examined on the light microscope by means of HE staining. In our findings, BM serum applied on ovariectomized rats has increases its E2 level, and decreased 8-OHdG level. In ovariectomy, ESR-1, ESR-2 and NF-kB gene levels were increased significantly by BM application. It was discovered that BM application had reacted with an antioxidant effect against the oxidative stress that showed an alteration in liver, kidney and uterus tissue as a result of the ovariectomy. When histological findings were taken into consideration, it was observed that; BM application had decreased its neutrophils infiltration in the ovariectomy especially in the uterus tissue, cell and collagen distribution had returned to normal, and epithelium cells had increased in the uniform structure. *Momordica charantia* plant displayed an effect on ovariectomized rats in both gene and protein level, by the effect of phytoestrogen and antioxidant; and it may contribute to the development of new medicine that can be used in the period of menopause.

Key words: *Momordica charantia*, Overectomy, 17- β Estradiol, Estrogen receptors, Oxidative DNA Damage

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Kudret narı kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasından *Momordica charantia* olarak isimlendirilen tek yıllık, ince, tırmanıcı ve yaprakları sarmaşık şeklinde büyüyen bir bitkidir (Kumar et al, 2010).

Kudret narı yüksek miktarlarda C vitamini içermektedir. Meyve ve yaprakları mineral ve vitamin deposu olan bitki özellikle demir, kalsiyum, fosfor ve B vitamini bakımından oldukça zengindir. Ayrıca β -karoten, potasyum, magnezyum, A vitamini ve çinko içermektedir. Olgun meyvenin tohum zarları ise iyi birer likopen kaynağıdır. Kudret narı tokoferol içeriği ile antioksidan özellik göstermektedir (Elibal, 2009).

Kudret narının meyve suyundan ve meyvesinden elde edilen enjekte edilebilir preparatlar, geleneksel olarak dünya çapında kan şekeri seviyesini düşürmek için kullanılmaktadır (Manabe, Takenaka, Nakasa and Okinaka, 2003). Bunun yanı sıra antimitojenik, antitümör, antiviral, antioksidan, antihepatotoksik, antiülserojenik (Kumar et al, 2010), antibakteriyal (Agrawal and Beohar, 2010), antidiyabetik, antigenotoksik, gebelikten koruyucu, ateş düşürücü, gaz giderici etkileri olduğu bilinir (Patel et al, 2010).

Momordica charantia meyve ekstresinin serbest radikalleri temizleme aktivitesinin olduğu, patofizyolojik değişikliklere neden olan süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı yararlı aktivitede kullanıldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Semiz ve Şen, 2007).

Kadın vücudunda, 17β -östradiol, östron ve östriol olmak üzere 3 farklı östrojen hormonu yer alır (Abbasoğlu Topa, 2010).

Östrojenler; uterus, vajina, yumurtalık, ovidukt ve meme dokusu gibi reproduktif dokularda etkilerini östrojen reseptörleri ile gösterirler (Katzenellenbogen, 1996). Östrojen reseptörü; ligand bağımlı transkripsiyon faktörlerinin süper ailesine ait olan bir nükleer hormon reseptörüdür (Thornton, 2002) ve 17β -östradiol hormonu ile aktive edilir (Wright et al, 2006). Östrojen

reseptörünün ER α ve ER β olmak üzere iki çeşidi vardır ve bunlar farklı genler tarafından şifrelenir (Wang et al, 2012).

Menopoz birçok bedensel ve ruhsal değişiklikleri beraberinde getiren bir dönemdir (Oksay, 1995); gastro-intestinal değişiklikler (Varma, Karadağ, Oğuzhanoglu, Özdel ve Kökten, 2006), vazomotor düzensizlikler (sıcak basması), dengesiz ruh hali (Kalarhoudi, Taebi, Sadat and Saberi, 2011), libido kaybı, (Jelinsky et al, 2008). Bunun yanı sıra osteoporoz gelişim riskinin artması (Deveci Görür, 2011), yumurtalık kanseri (Hoyer et al, 2009) ve ateroskleroz (Adam et al, 2008) menopoz sonrası dönemde görülen hastalıklara örnek olarak verilebilir.

Overektomi işlemi, dişileri zorunlu menopoz dönemine sokarak, ortaya çıkan fizyolojik ve patolojik değişimleri incelememizi sağlayan cerrahi bir modelleme yöntemidir.

Menopoz dönemindeki kadınlar son yıllarda Hormon Replasman Tedavisi (HRT) yerine daha güvenli bir yol olan bitkisel yaklaşımları tercih etmeye başlamışlardır. Bitkisel yaklaşımlarda, fitoöstrojen içeriği yüksek olan; Soya, karayılan otu, çuha çiçeği yağı, kızıl yonca, binbir delik otu gibi bitkiler kullanılır (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 2010).

Fitoöstrojenleri kimyasal yapılarına göre; İzoflavonlar, İzoflavanlar, Flavanonlar, Kalkonlar, Lignanlar, Kumestanlar, Makrolitler, Stilbenler ve Steroller olarak sınıflandırabiliriz. İzoflavonlar bitkilerde; aglikon, glikozit, malonil glikozit veya asetil glikozit yapı olarak dört temel şekilde bulunabilir (Büyüktuncer ve Başaran, 2005). Kudret narı meyvesi yapısında bulundurduğu flavon aglikonları sebebiyle fitoöstrojenik etki göstermektedir.

Kudret narı üzerine yapılan çalışmalar, içerdiği bileşenler sayesinde birçok hastalığın alternatif tedavisinde kullanıldığını açıkça göstermesine rağmen östrojen seviyesi üzerine bir etkisi olduğunu ya da olmadığını gösteren bir çalışma yoktur. Bizde bu çalışmayı, deneysel overektomize modelinde, Kudret narı meyve ekstresinin serum östradiol düzeyi, uterus dokusunda ESR-1, ESR-2 ve NFkB gen düzeyleri, serum oksidatif DNA hasarı ve karaciğer, böbrek, uterus dokularında antioksidan etkisi ile birlikte bu dokularda histolojik açıdan etkisi olup olmadığını araştırmak için tasarladık.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kudret Narı

4.1.1. Genel Özellikleri

Kudret Narı, kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasına ait olup, latince adı *Momordica charantia*'dır. Momordica latincece "ısırmak" anlamına gelir (yaprak kenarlarının dişli olmasından dolayı) (Süzen, 2009). Ayrıca, karela, balsam armudu, acı kavun gibi isimlerle de bilinir (Nerurkar et al, 2006).

Yaprakları basit, 4-12 santimetre boyunda, 5-7 loplu ve kenarları dişlidir. Genellikle sarı renkli olan çiçekler, erkek ve dişi olarak ayrı sapsar üzerinde yer alır. Meyve, ovoid-elipsoid şekilli, yüzeyi girintili, çıkıntılı ve pürüklü bir yapıya sahiptir. Etili, 3 parçalı meyveler düzensiz olarak geriye kıvrılır ve içinden kırmızı renkli çekirdekleri ortaya çıkar (Kumar et al, 2010).



Şekil 1. Kudret narı yaprak, çiçek ve meyvesi

([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Momordica_charantia_\(plant\).jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Momordica_charantia_(plant).jpg),21/04/2013;

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Momordica_charantia_006.JPG 21/04/2013)

Kudret Narı, tropikal bölgelerde yetişen bir meyvedir. Asya, Doğu Afrika, Amazonlar, Güney Amerika ve Karayipler'de yetiştiriciliği yapılır (Basch, Gabardi and Ulbricht 2003). Hem tedavi hem de gıda amaçlı tüketilir (Alternative Medicine,

2007). Ülkemizde ise en çok Yalova ve Bursa çevresinde yetiştirilir. Mayıs ayında ekilen tohumlar, Ağustos ayında olgunlaşmış meyveleri verir (Süzen, 2009).

İnsanlar normalde yeşil yapraklarını ve köklerini kaynatıp acı içeriği çay gibi içerler. Bazı insanlarda meyveyi köri gibi ya da et ile beraber pişirir. Öte yandan Kudret narını salata gibi, yağda kızartarak ya da bitkisel su şeklinde tüketen toplumlarda bulunur (Singh, Cumming, Manoharan, Kalasz and Adeghate, 2011).

4.1.2. Bileşenleri

Bitki içeriğine bakıldığında % 83,2 nem, %2,9 protein, % 1 yağ, %9,8 karbon, %1,7 fibril, %1,4 mineral maddeleri (kalsiyum, fosfor, demir, karoten, tiyamin, nikotinic asit, riboflavin, askorbik asit, bakır ve potasyum) içerdiği gözlenir (Patel et al 2010).

Kudret narı yüksek miktarlarda C vitamini içermektedir. Meyve ve yaprakları mineral ve vitamin deposu olan bitki özellikle demir, kalsiyum, fosfor ve B vitamini bakımından oldukça zengindir. Ayrıca β -karoten, potasyum, magnezyum, A vitamini ve çinko içermektedir. Olgun meyvenin tohum zarları ise iyi birer likopen kaynağıdır. Kudret narı tokoferol içeriği ile antioksidan özellik göstermektedir (Elibal, 2009).

Charantin, insülin benzeri peptid (p-peptid), cucurbitenoidler, momordicin ve olenealik asit hipoglisemik etkiden sorumlu bileşenleridir. Resin ve fenolik bileşikler ise yağı ve serbest asitleri düzenler (Kumar et al, 2010). Ayrıca Kudret narının, momordin, karatinoidler, flavinoidler ve polifenoller gibi glikozitleride içerdiği bilinir (Ray et al, 2010).

4.1.3. Bilinen Faydaları

Kudret narı yapraklarından hazırlanan ekstrelerin; *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenterae* ve *Streptomyces griseus* gibi mikroorganizmalara karşı, meyvesinden hazırlanan ekstrelerin, *Helicobakter pylori*'nin yapmış olduğu enfeksiyona karşı, çekirdeğinden hazırlanan ekstrenin ise *Culex*

quinquefasciatis' a karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (Tripathi and Chandra, 2009).

Meyve suyundan ve meyvesinden elde edilen enjekte edilebilir preparatlar, geleneksel olarak dünya çapında kan şekeri seviyesini düşürmek için kullanılmaktadır (Manabe, Takenaka, Nakasa and Okinaka, 2003).

Yine meyvesinden elde edilen ekstreler, bu bitkinin serbest radikalleri temizleme aktivitesinin olduğunu, patofizyolojik değişikliklere neden olan süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı yararlı aktivitede kullanıldığını açıkça göstermiştir (Semiz ve Şen, 2007).

Kudret narının antimitojenik, antitümör, antiviral, antioksidan, antihepatotoksik, antiülserojenik (Kumar et al, 2010), antibakteriyel (Agrawal and Beohar, 2010), antidiyabetik, antijenotoksik, gebelikten koruyucu, ateş düşürücü, gaz giderici etkileri olduğu bilinir. Ayrıca romatoid artrit, gut hastalığı, bağırsak, cüzzam, sarılık (Patel et al, 2010), anemi, sıtma (Alam, Asad, Asdaq and Prasad, 2009), hipertansiyon, düşük kolesterol, gibi hastalıkların alternatif tedavilerinde kullanılan önemli bir bitkidir. Vücudun detoksifikasyonu, beyindeki hormonların belirli bir dengede kalması, bağışıklığın geliştirilmesi, lüteinleştirici hormonun artışı, farklı tümörlerin önlenmesi bu bitkinin bildirilen diğer yararlarıdır (Singh et al, 2011). Kudret narının farklı ülkelerdeki kullanım amacı ise tablo 1 de verilmiştir.

Tablo 1. Kudret narının ülkelerdeki kullanım amacı (Kumar and Bhowmik, 2010)

Brezilya	Kolit, yanıklar, kabızlık, dermatoz, diyabet, ishal, egzema, ateş, grip, basur, hepatit, kurdeşen, kaşıntı, cinsel iktidarsızlık, lepra, lösemi, karaciğer enfeksiyonları, malarya, menstrual sorunlar, ağrı, romatizma, vajinit
Çin	Göğüs kanseri, diyabet, ateş, cinsel iktidarsızlık, böbrek problemleri, ağız kokusu, renal yetmezlik
Küba	Anemi, kolit, diyabet, şeker, hiperglisemi, barsak parazitleri, böbrek taşı, karaciğer problemleri, menstrual problemler,
Haiti	Anemi, kabızlık, dermatoz, göz enfeksiyonları, ateş, karaciğer hastalıkları, deri problemleri, burun iltihabı, iştah arttırıcı, insektisit

Tablo 1. Kudret narının ülkelerdeki kullanım amacı (devamı) (Kumar and Bhowmik, 2010)

Hindistan	Kürtaj, doğum kontrol, kabızlık, diyabet, şeker, egzema, ateş, gut hastalığı, basur, hiperglisemi, barsak parazitleri, kıskançlık, böbrek taşı, lepra, pnömoni, sedef hastalığı, romatizma, vajinal akıntı
Meksika	Barsak fonksiyonu, yanıklar, diyabet, dizanteri, cinsel iktidarsızlık, yaralar, solucanlar ve uyuz
Malaya	Abdominal ağrı, astım, yanıklar, çölyak hastalığı, dermatoz, ishal, baş ağrısı, parazitler, solucanlar
Nikaragua	Ağrı, anemi, doğum kontrolü, soğuk algınlığı, hipertansiyon, infeksiyonlar, akciğer hastalıkları, malarya, deri problemleri
Panama	Soğuk algınlığı, diyabet, ateş, grip, safra kesesi hastalıkları, kurdeşen, hipertansiyon, kaşıntı, malarya, menstrual problemler
Peru	Kabızlık, çürük, diyabet, ishal, ateş, hepatit, inflamasyon, barsak parazitleri, akciğer problemleri, malarya, cüzzam

4.1.4. Etki Mekanizması

Hayvan modellerinde yapılan araştırmalar Kudret narı ekstresinin glukoz kullanımını karaciğer tarafından arttırdığını, glukoneojenezi ise iki enzimi (*glukoz-6-fosfataz* ve *fruktoz 1,6 bifosfataz*) inhibe ederek azalttığını ortaya koymuştur. Ayrıca Kudret narı ekstresi, glukozun hücre içine alımını geliştirir, insülin salınmasını destekler ve diyabetik sıçanlarda insülin üreten pankreastaki B hücrelerinin sayısını arttırdığı bilinir.

Kudret narı ekstresi geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahiptir, çeşitli virüslerden, bakterilerden, parazitlerden ve mantarlardan kaynaklanan infeksiyonlara karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Tüm organizmalar için önleme mekanizması belirlenemesede viral enfeksiyonlarda Kudret narı bileşenleri virüslerin hücre duvarından nüfuz etmesini engeller.

Kanser hastalarında Kudret narı ekstresinin bağışıklık cevabı, interlökin-7 hücrelerinin bağırsaktan salınımını inhibe ederek, lenfosit sayısını azaltarak,

yardımcı T hücrelerinin ve doğal öldürücü hücrelerin popülasyonlarını artırarak düzenlediği belirtilmiştir (Alternative Medicine, 2007).

Ayrıca Kudret narı meyve ekstresinin, kanser hücrelerinde kaspaz aktivitesini arttırarak apoptozu indüklediği ve hücre büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra hücre döngüsünde regülatör olarak görev yapan siklin B1 ve siklin D1 proteinlerinin ekspresyonlarını önemli derecede azaltarak bozulan hücre döngüsünü düzene sokar ve G2/M fazını bloke eder (Nerurkar and Ray, 2010).

4.1.5. Yan Etkileri

Kudret narı meyvesinin oral alımının güvenli olduğu Asya kültüründe uzun süreli meyve kullanımıyla gösterilmiştir. Kudret narı ekstresini deri altı enjeksiyonu da güvenli olmasına karşın, damardan enjeksiyonu toksiktir ve tavsiye edilmez (Alternative medicine, 2007). Buna karşın bitkinin meyvelerinde bulunan bazı bileşiklerin kadın ve erkeklerde infertiliteyi arttırdığı bulunmuştur. Ayrıca etkili bileşikler anne sütü ile bebeğe geçebildiği için bitkinin emzirenler tarafından kullanılması sakıncalıdır. Bitki, uterus kasılmalarını arttırdığından düşüğe sebep olabilir bu nedenle hamileler tarafından kesinlikle kullanılmamalıdır (Aslan ve Orhan, 2010). Yapılan diğer çalışmalarda ise hipoglisemik koma ve çocuklarda kasılma, hayvanlarda *gama glutamil transferaz* ve *alkalen fosfataz* seviyelerinde yükselme ve baş ağrısına yol açtığı bildirilmiştir (Singh et al, 2011).

4.1.6. Yapılan Çalışmalar

Li et al (2009), yaptıkları bir çalışmada, KN tohumundan izole edilen RIP (ribozom inaktive edici protein) ve PEG (Poli etilen glikol) ile kimyasal olarak modifiye edilen RIP-PEG konjugatının, apoptotik yolak aracılığı ile güçlü bir anti tümör aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir.

Teoh, Latiff and Das (2010), yaptıkları çalışmada, tedavi edilmeyen diyabetik sıçanlarda inflamatuvar hücreler tarafından ortaya çıkan dejenere glomerular infiltrat ve bazal membran kalınlaşması gösterilmiş. KN meyve ekstresi ile tedavi edilen grupta ise; normal glomerulus, bazal membran ve kapiller inflamatuvar hücre yokluğu ile

hiyalin ve mukopolisakkarid birleşmesinde azalma gösterilmiştir. Ayrıca doku nekrozunda da azalma olduğu ortaya konmuştur.

Manabe et al (2003), tarafından yapılan, kudret narının bağışıklık düzenleyici etkisini araştıran bir çalışmada; Caco-2 hücreleri tarafından salgılanan IL-7 üretiminin Kudret narı ile kültüre edilen grupta kontrol grubuna oranla azaldığı, TGF- β üretiminin ise arttığı. THP-1 hücrelerinden salgılanan IL-12'nin üretimine KN meyvesinin herhangi bir etkisi olmadığı ancak IL-10 üretimini arttırdığı gözlenmiştir. Kısacası yapılan invitro çalışma ile KN sindiriminin intestinal bağışıklığın down regulasyonunu harekete geçirdiği bildirilmiştir.

Sundaram, Reddy and Singh, (2009), tarafından yapılan, KN meyvesinin şeker hastalığı üzerine etkisini araştıran bir çalışmada. Streptozotosin ile diyabet haline getirilen sıçanlara uygulanan kudret narının, yükselen SGOT, SGPT aktivitesini ve üre konsantrasyonunu düşürücü, azalan serum total protein ve albumin miktarını ise arttırıcı etki gösterdiği bildirilmiştir.

Kavitha, Babu and Rao, (2011), tarafından yapılan, kudret narı meyve ekstresinin stres koşullarında beyin üzerine olan etkisini araştıran bir çalışmada; Akut ve kronik stres altındaki sıçanların, KN ile tedavi sonucu; artan beyin monoamin düzeylerinin (5-Hidroksi Triptamin, Norepinefrin, Epinefrin ve Dopamin) azaldığı. Yükselen plazma kortikosteron miktarının düştüğü ve beyin dokusunda artan lipid peroksidasyonunun azaldığı bildirilmiştir.

Uche-Nwachi and McEven, (2010), tarafından yapılan, KN meyvesinin hamile sıçanlar üzerindeki teratojenik etkisini araştıran bir çalışmada: KN ile tedavi sonucu doğan yavrularda anomalilerin ortaya çıktığı ve beyin, karaciğer, böbrek, akciğer, dalak gibi organların ağırlıkları azalırken, kalp ağırlığının arttığı ayrıca en çok üretken organların bu durumdan etkilendiği bildirilmiştir.

Nerurkar et al. (2006), HIV enfeksiyonlu karaciğer hücrelerinde (HepG2), yüksek aktiviteli antiretroviral terapi (HAART) çeşitlerinden olan Proteaz inhibitörünü (PI) içeren tedavi sonucu hücrede oluşan yan etkileri indirmek için KN meyve ekstresini kullanmışlar. PI ile tedavi sırasında hücrede artan total kolesterol, trigliserid ve apolipoprotein B' nin KN uygulamasından sonra azaldığını gözlemlemişlerdir.

Nerurkar, Kung and Nerurkar, (2010), tarafından yapılan diğer çalışmada: KN meyve ekstresinin insan adipoz dokusunda; lipogenezi inhibe etme potansiyeline sahip olduğunu ve lipoliz aktivitesini arttırdığını gözlemlemişler. Böylece, KN meyvesinin insanlarda, adipogenezi azaltmada alternatif veya tamamlayıcı tedavi olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Nerurkar et al (2011), tarafından yapılan başka bir çalışmada: yağlı beslenme ile ilişkili olarak ortaya çıkan; kan beyin bariyerindeki hasarın kudret narı meyve ekstresi ile tedavi sonucu iyileştiği. Beyinde artan oksidatif stres, glial hücre aktivasyonu ve Nk-KB1, IL-16, IL-22 gibi nöroinflamatuvar belirteçlerin kudret narı ile tedavi sonrası normale döndüğü. Ayrıca plazmada bulunan antioksidan enzimlerin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin KN ile tedavi sonrası normal seviyelerine geri döndüğü bildirilmiştir.

Uebanso et al (2007), KN ekstrelerinin, oral sükröz kullanımı sonrası yarattığı etkiyi gözlemek için yaptıkları araştırmada: Su ve metanol ile hazırlanan ekstrelerin, sükröz alımı sonrası ortaya çıkan tokluk hiperglisemisini baskıladığını ve sıçanların intestinal mukozasında sükröz aktivitesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada KN ekstrelerinin oral kullanımının maltaz aktivitesini de inhibe ettiği bulunmuştur.

Ching, Yeung, Tse, Sit and Li, (2011), yaptıkları çalışmada: hamile sıçanlara uygulanan fruktoz diyetine bağlı olarak ortaya çıkan ve yavru döllere aktarılan lipid metabolizmasındaki anormalliklerin ve antioksidan savunma sistemindeki bozuklukların, KN meyve ekstresi tedavisi ile düzelebileceğini bildirmişlerdir.

Tripathi and Chandra, (2009), diyabet modeli oluşturulan sıçanların kudret narı meyve ekstresi ile tedavi sonrası kan glukoz seviyesini ve kalp dokularında oksidatif stres parametrelerini incelemişler. KN ile tedavi edilen diyabet grubunda artan kan glukoz seviyesinin düştüğü, kalp dokusunda ise yükselen lipid peroksidasyon düzeyinin azaldığı buna karşın azalan GSH düzeyi, SOD, CAT ve GST aktivitelerinin ise arttığı bildirilmiştir.

Semiz, ve Şen, (2007), tarafından yapılan bir araştırmada KN meyve ekstresinin rat modellerinde CCl_4 ile indüklenen toksik etkiye karşı kemoprotektif aktiviteye sahip olduğu ve yine bu çalışmada sıçanlarda KN meyve ekstresi ile

yapılan tedavinin karaciğer dokusunda SOD, CAT, GSH-Px ve GST enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı gözlenmiştir.

Ray et al (2010), yaptıkları bir çalışmada KN meyve ekstresi ile tedavi edilen grupta göğüs kanseri hücrelerinin (MCF-7, MDA-MB-231), % 80 oranında öldüğü gözlemlenmiştir. KN ile tedavi sonucu, kanser hücrelerinde PARP (poli ADP-riboz polimeraz)' ın serbest kalması sonucu ortaya çıkan kaspaz aktivasyonun gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Apoptotik sinyal proteinlerinin sayısı KN ile tedaviyi takiben modüle olmuştur. Survivin, XIAP, ve klaspin tedavi sonrası MCF-7, MDA-MB-231 hücrelerin de önemli derecede azalmış. Diğer yandan meyve ekstresinin proapoptotik gen olan Katalaz'ı iki hücrede de up regüle ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca KN ile tedavinin MCF-7 hücrelerinin normal hücre döngüsünün ilerleyişini düzenlediği önerilir.

Singh et al (2011), tarafından yapılan bir çalışmada KN meyvesinin oral yolla alımı pankreas bezinden insülin salınımına yol açtığı gösterilmiştir. Tedavi edilmeyen grup ile karşılaştırıldığında B hücrelerinin sayısının yükseldiği gözlemlenmiştir. Fizyolojik deneyler ile KN ekstresinin pankreas bezinde insülin salınımını teşvik ettiği ve karaciğerde glukozun alınmasını sağladığı ayrıca gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, KN sulu ve alkollü meyve ekstrelerinin *fruktoz-1,6 bifosfataz* ve *glukoz-6 fosfataz* enzimlerinin aktivitelerini inhibe edebildiği ve aynı zamanda *glukoz-6 fosfataz dehidrogenaz*' ın aktivitesini de teşvik ettiği bildirilmiştir. Yine bu çalışmada şeker hastalarında ortaya çıkan ve nöropati hastalığı içinde kudret narı ile araştırmalar yapılmıştır. Tedavi edilen gruptaki myelinize sinirli alanlar, tedavi edilmeyen gruptan önemli derecede daha büyük olarak gözlenmiştir. Bu da KN meyvesinin yalnızca kandaki şeker seviyesini düşürmede etkili olmadığını ve periferal sinir yapısını da düzelttiğini göstermiştir.

Agrawal and Beohar, (2010), yaptıkları çalışmada, KN meyve ekstresi ile tedavi edilen grup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hayvanların ömürlerinin uzadığı ve tümör boyutunun önemli derecede azaldığı gözlenmiştir.

Patel et al (2010), tarafından yapılan çalışmada; sulu ve etanollü KN meyve ekstrelerinin asetik asit ile indüklenen ağrıyı azalttığı ve maya tarafından tetiklenen ateşi düşürdüğü gözlenmiştir.

Alam et al (2009), yaptıkları çalışmada: Pilor ligasyonu, asetik asit, etanol, stres, ve indometazin ile gastrik ülser modeli geliştirilen sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin: ülser belirtileri olan total asiditeyi, serbest asitleri ve pepsin içeriğini azaltırken gastrik mukozal içeriği arttırdığını bildirmişlerdir.

Sathishsekar and Subramanian (2005), yaptıkları çalışmada: STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanların pankreas dokusunda artan CAT, SOD, GSH-Px aktivitelerinin ve plazma glukoz, LPO, alfa tokoferol düzeylerinin KN tohum ekstresi ile tedavi sonrası azaldığını bildirmişlerdir.

Thenmozhi and Subramanian (2011), yaptıkları çalışmada: Amonyum klorür ile indüklenmiş hiperammonemik sıçanlarda artan plazma üre, serum ALT, AST, ALP düzeylerinin ve plazma, karaciğer ve beyin dokusunda artan lipid peroksidasyon düzeyinin KN meyve ekstresi ile tedavi sonrası azaldığı. Karaciğer ve beyin dokusunda azalan SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinin ve GSH düzeyinin ise KN ile tedavi sonrası artış gösterdiği bildirmişlerdir.

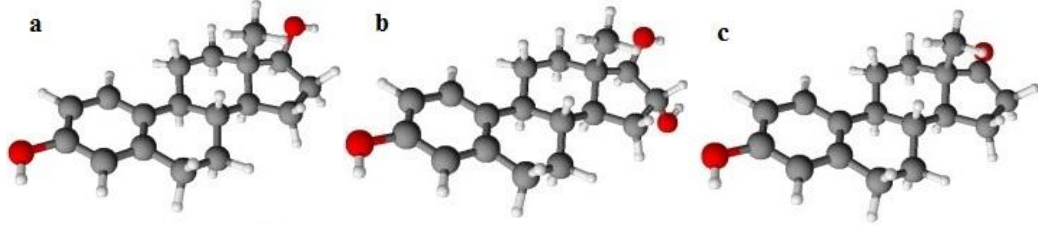
Raza, Ahmed, John and Sharma, (2000), yaptıkları bir çalışmada: STZ ile diyabet modeli oluşturulan sıçanların KN meyve suyu ile tedavi sonrası artan kan glukoz seviyesinin azaldığı, Karaciğer ve böbrek dokusunda artan MDA düzeyinin düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca diyabetik sıçanların karaciğer ve beyin dokusunda azalan GSH düzeyinin KN meyve suyu ile tedavi sonrası arttığı, böbrek ve testis dokusunda ise herhangi bir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Diyabetik sıçanların karaciğer ve böbrek dokusunda azalan GST aktivitesinin ise KN ile tedavi sonrası dahada fazla azaldığı bunun yanı sıra, beyin dokusunda artan GST aktivitesinin KN ile tedavi sonrası önemli derecede düştüğü gözlenmiştir.

4.2. Östrojen Hormonu

4.2.1. Genel Özellikleri

Östrojenler, 18 karbonlu steroid hormonlardır (Bıçakçı, 2007) ve bu hormonlar hem erkek hem de kadınlarda bulunmakla birlikte üreme yaşındaki kadınlarda düzeyleri oldukça yüksektir (Sundarrajan, Liao, Roy and Ng, 1999).

Kadın vücudunda, 17β -östradiol, östron ve östriol olmak üzere 3 farklı östrojen hormonu yer alır. 17β -östradiol en yoğun bulunan hormon olup östrondan 12 kat, östriolden 80 kat daha fazla aktiviteye sahiptir. 17β -östradiol etkisini hedef hücredeki östrojen reseptörlerine bağlanarak göstermektedir. Hedef hücredeki östrojen reseptörünün miktarı ve çeşidi 17β -östradiol'ün etkisini belirlemede önemli bir ölçüdür (Abbasoğlu Topa, 2010).



Şekil 2. Östrojen hormonlarının 3 boyutlu yapıları: a: 17β -östradiol b: Östriol c: Östron (Wang, Liu, Clegg, Portincasa and Wang, 2009)

Embriyonik ve fetal gelişimde önemli bir role sahip olan östrojen hormonu, kadınların sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişimi, üreme döngüsü, fertilitte ve gebeliğin devamlılığı üzerine etkileri vardır (Sundarrajan, Liao, Roy and Ng, 1999). Bunun yanı sıra endometrial hücre büyümesinde ve farklılaşmasında düzenleyici rolü olduğu bilinir (Maruyama et al, 1999). Ayrıca östrojenler, hem kadınlarda hem de erkeklerde merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem ve bağışıklık sisteminde önemli biyolojik etkiye sahiptir (Heldring et al, 2007).

Bu hormonlar genel olarak protein, rRNA, tRNA, mRNA ve DNA sentez hızını artırarak hücrelerin sayı ve büyüklüklerini artırır. Östrojenle uyarı altında vajen epiteli proliferasyona uğrar ve farklılaşır; uterus endometriyumu proliferer olur ve bezlerde hipertrofi ve boyca uzama görülür; myometriyum kendisinden doğan düzenli bir motilite geliştirir ve meme kanalları proliferasyona uğrar.

Östradiolün kemik ve kıkırdaklar üzerine anabolik etkileri de bulunmakta olup bu yolla büyümeyi teşvik etmektedir. Ayrıca östrojenler, tipik olarak çevresel kan damarlarını etkileyerek vazodilatasyon ve ısı kaybına neden olur (Harper, 2003). Kısacası östrojenler, neredeyse insan vücudundaki bütün hücre ve dokularda rol oynamaktadır. Östrojen seviyelerinin azaldığı menopoz döneminde veya gonadektomi sonrasında bu rollerin çoğu gözlenmiştir.



Şekil 3. Östrojen hormonlarının insan vücudundaki rolü (Wend, Wend and Krum, 2012)

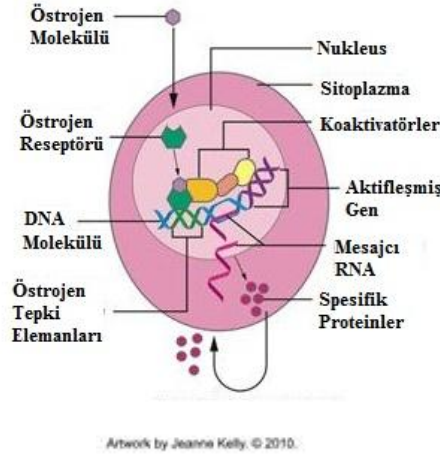
Östrojenler, gebelik dönemi dışında, yumurtalıktaki foliküllerin teka interna ve granüloza hücrelerinden, ovulasyondan sonra korpus luteumdan ve gebelik döneminde ise, plesentadan salınır. Ayrıca testislerin leydig hücrelerinden de salındığı bilinir. Bunlara ek olarak başta yağ doku olmak üzere karaciğer, böbrek, akciğer, deri, beyin, çizgili kaslar ve adrenal korteksten çok az miktarda salınmaktadır (Tamsler, 2006).

4.2.2. Östrojenin Etki Mekanizması

Östrojenler; uterus, vajina, yumurtalık, ovidukt ve meme dokusu gibi reproduktif dokularda etkilerini östrojen reseptörleri ile gösterirler (Katzenellenbogen, 1996).

Östrojen birkaç farklı mekanizma ile hücrel değişiklikleri indükler. Bu mekanizmaların merkezinde östrojen proteininin bağlanıp aktive ettiği Östrojen reseptörleri (ER) vardır. Östrojenin etkisini gösterdiği klasik mekanizmada, östrojen hücre içine diffüze olur ve nukleus üzerindeki ER' ye bağlanır. Bu nuklear östrojen-reseptör kompleksi, östrojenin tepki elemanlarına (ERE) aktivatör protein 1 ile birlikte protein-protein etkileşimi ile direkt veya indirekt olarak östrojen genleri üzerindeki promotör bölgelere bağlanır. Bunun sonucunda ise bazen hedef genin transkripsiyonu uyarılırken bazen de inhibe edilir ve ilgili protein konsantrasyonu hücrenin ihtiyacına göre düzenlenmiş olur (Dubey, Jackson, Keller, Imthurn and Rosselli, 2001, Deroo and Korach, 2006).

Östrojen Reseptörleri Gen Aktivasyonunu Tetikler



Şekil 4. Östrojen hormonunun etki mekanizması (<http://www.cancer.gov/cancertopics/understandingcancer/estrogenreceptors/AllPages>, 21/04/2013)

Östrojen reseptörü; ligand bağımlı transkripsiyon faktörlerinin süper ailesine ait olan bir nükleer hormon reseptörüdür (Thornton, 2002) ve 17 β -östradiol hormonu ile aktive edilir (Wright et al, 2006). Östrojen reseptörünün ER α ve ER β olmak üzere iki çeşidi vardır ve bunlar farklı genler tarafından şifrelenir (Wang et al, 2012).

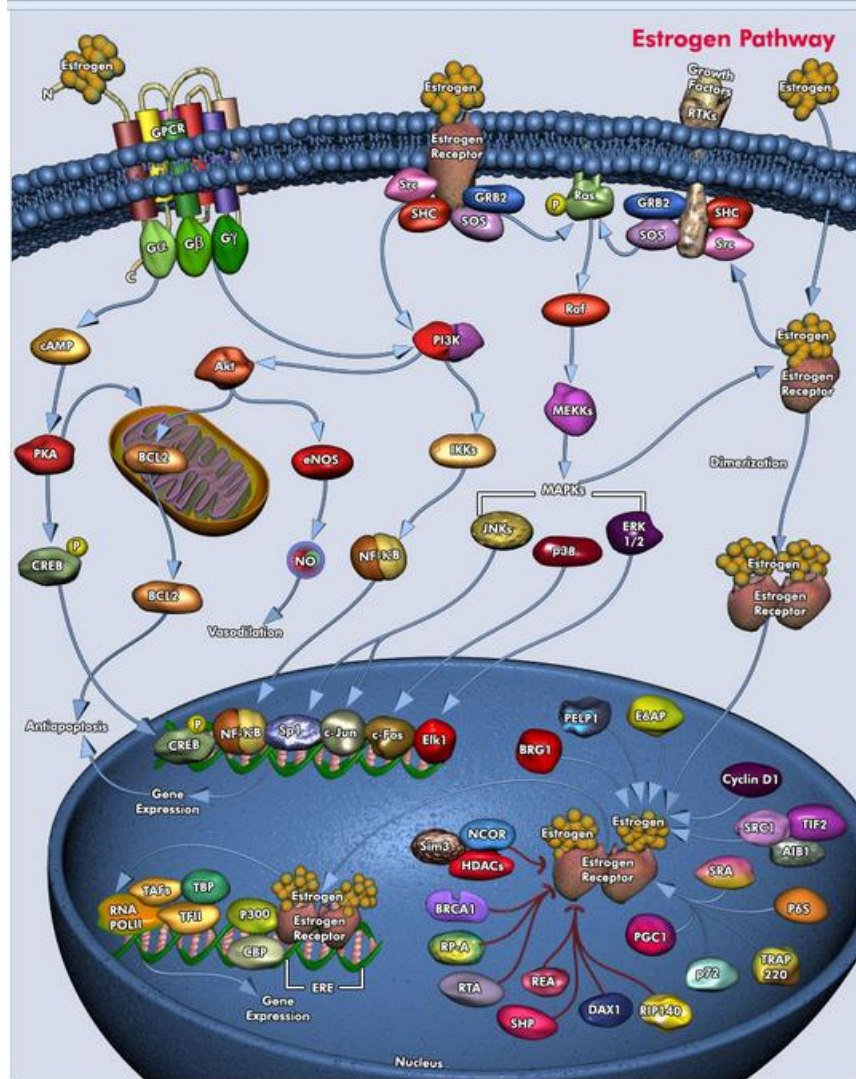
ER α geni 6. kromozom üzerinde (6q25) lokalize, 8 ekzon, 7 intron bölgeye ayrılmış ve 140 kilobazlık bir uzunluğa sahiptir. ER β geni 14. kromozom üzerinde (14q23-24.1) lokalize, 8 ekzonluk bölgeye ayrılmış ve 40 kilobazlık bir uzunluğa sahiptir (Gennari et al, 2005).

Östrojen reseptörleri birkaç fonksiyonel domain tarafından benzer yapısal karakterleri paylaşırlar. 2 reseptör içinde; östrojen bağımsız N terminal uçta ve östrojen bağımlı C terminal uçta yer alan fonksiyonel domainler (AF1 ve AF2) transkripsiyonel aktiviteye katkıda bulunurlar. DNA bağlama domaini 2 reseptör içinde merkezde lokalize olmuştur ve 3 amino asitlik bir zincir dışında aynı yapıya sahiptir. Ligand bağlama domaini ER α ve ER β arasında %58 homoloji gösterir. Buna rağmen ER β ' ya ait AF1 domaini ER α ile yalnızca %28 homolojiye sahiptir (Cheng et al, 2012).



Şekil 5. İnsan östrojen reseptörü α ve β ' nin fonksiyonel domainleri (Charitidi, Meltser, Tahera and Canlon, 2009)

ER α karaciğer, uterus, vajina, kemik dokusu, hipofiz bölgesi ve meme dokusunda bulunurken prostat bezleri, testisler, overler ve bazı beyin bölümleri ER β 'nin bulunduğu vücut kısımlarıdır (Lund, 2005).



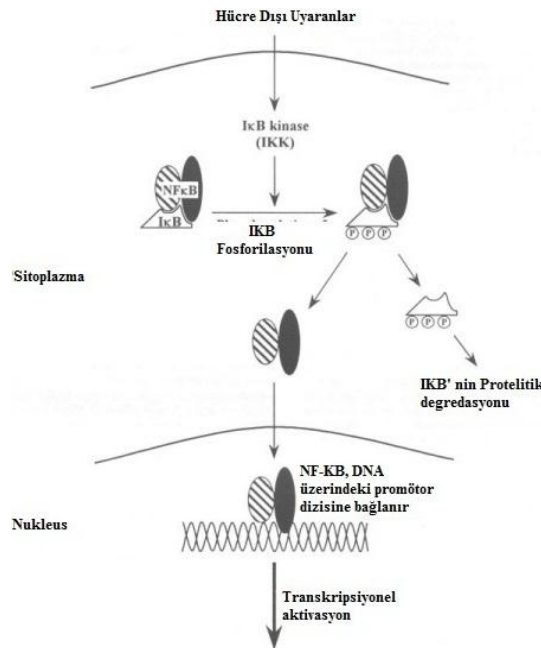
Şekil 6. Östrojen reseptörleri ilişkili sinyal yolağı (www.qiagen.com 26/04/2013)

4.2.3. Nükleer Faktör Kappa B (NF-kB)

Nükleer Faktör Kappa B NF-kB ilk kez 1986 yılında keşfedilmiş (Baldwin, 2001), transkripsiyon faktörleri ailesinin bir üyesidir. Bağışıklık ve inflamasyon gibi biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde görev alır. NF-kB; p50 (NF-kB1), p52 (NF-kB2), p65 (relA), c-rel and relB proteinlerinden oluşmaktadır (Alles et all, 2010).

NF-kB inflamasyon, hücre büyümesi ve farklılaşması ve hücre yüzey reseptörleri gibi birçok genin anlatımını düzenleyerek apoptozisin inhibe edilmesinde ya da arttırılmasında rol oynar. Böylece hücrenin sağ kalımında doğrudan etkili olduğu bilinir.

Normalde NF-kB heterodimer şekliyle (p65-p50 ya da p65-p52) sitoplazmada Kappa B inhibitörüne (IKB) bağlı olarak bulunur (Richmond, 2002). İyonize radyasyon, tümör nekrozis faktör alfa, interlökin-1 gibi çeşitli uyarılar hücreye geldiğinde IKB kinaz kompleksi uyarılır ve IKB inhibitör proteinlerinin fosforilasyonu ve proteozomal bozulmasıyla NF-kB nükleer translokasyon için aktive olur. Daha sonra aktive olan NF-kB, DNA üzerindeki promotörüne bağlanarak hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır (Zhaou, Castori, Eppenger and Benz, 2005).



Şekil 7. NF-kB aktivasyon yolağı (Lentsch and Ward, 1999)

4.2.4. Östrojen Reseptörü (ER) ve Nükleer Faktör Kappa B (NF-kB) arasındaki ilişki

Östrojen reseptörlerinin NF-KB yolağını baskılaması ya da arttırması hücre tipine ve içeriğine bağlıdır. HeLa, Hep-G2 ve MCF-7 hücre hatlarında NF-kB' nin transkripsiyonel aktivitesini baskılamasına rağmen, endotel hücrelerinde, kardiyositlerde ve T hücrelerinde NF-kB' nin transkripsiyonel aktivitesini arttırır (Kou et all, 2011).

Östrojen reseptörleri: NF-kB' nin DNA' ya bağlanmasını önlemek, NF-kB ile baskılayıcı bir kompleks oluşturmak, ko-aktivatörler için rekabete girmek, ya da NF-kB'nin nükleer translokasyonunu önlemek gibi farklı mekanizmalarla NF-kB' nin transkripsiyonel aktivitesini baskırlar (Frasor et all, 2009).

Yapılan bir çalışmada; Tempromandibular eklem inflamasyonu bulunan sıçanlara uygulanan östradiol, etkisini göstermek için NF-kB yolağını kullanmıştır. Bu durum bize östrojen reseptörleri ile NF-kB yolağı arasındaki pozitif ilişkiyi gösterir. Çeşitli hücre tiplerinde östradiol, NF-kB yolağını baskırlarken, tempromandibular eklem inflamasyonu bulunan sinovyal sıvı hücrelerinde NF-kB yolağını arttırdığı gözlenlemiştir (Kou et all, 2011).

4.3. Menopoz

Genel olarak adet kanamasının sona ermesi olarak tanımlanan menopoz biyolojik faktörlerin olduğu kadar psikolojik, sosyal ve kültürel faktörleri ile birlikte değerlendirilmesi gereken bir süreçtir (Kıyak Çağlayan, 2004). Diğer bir ifade ile kadın yaşamının bir parçası olarak, üretken ve üretken olmayan faz arasındaki geçiş dönemi şeklinde tanımlanabilir (Aidelsburger, Schauer, Grabein and Wasem 2012).

Menopozdan hemen önceki döneme premenopoz, sonrasına ise postmenopoz denilmektedir. Ancak hem premenopoz hem de postmenopoz dönemini içerisine alan klimakterik terimi de çok kullanılmaktadır (Saraçoğlu, 1998). Klimakterik dönemde görülen semptomlardan ötürü kadınlar tıbbi yardıma ihtiyaç duyarlar. Bu semptomlar ise menopoz döneminde azalan ovaryan fonksiyonlarından kaynaklanır (Ortmann and Lattrich, 2012).

4.3.1. Hormonal Değişiklikler

Menopozal geçişte hormon üretimi ve metabolizmasındaki değişiklikler dereceli olarak meydana gelir. Ovaryumlar yaklaşık 40 yıl boyunca periyodik östrojen ve progesteron üretiminin ardından östrojen üretimini azaltırlar ve sonuç itibari ile tüm periyodik aktiviteleri sona ermiş olur.

Menopoz geçiş esnasında kadınlarda ovulasyon daha seyrek hale gelir ve progesteron üretimi azalır. Menopoz esnasında hormon seviyeleri, üretim yolları ve rolleri değişir. Bu değişimden en çok etkilenen hormonlar, overler tarafından üretilen Östrojen, Progesteron ve Androjenlerdir.

4.3.1.1. Östrojen

Menopoz sonrası over tarafından üretilen östrojen miktarlarının önemli oranda düşmesine karşın, bütün kadınlar yaşamları boyunca dolaşım sistemlerinde ölçülebilir düzeyde östrodiol ve östron hormonlarına sahip olmaya devam ederler. Premenopozal dönemde dolaşımında en fazla bulunan östrojen, östradioldür. Buna karşın menopoz sonrasında dolaşımında en yüksek düzeyde bulunan östrojen ise yağ dokusunda androstenodiondan üretilen östrondur. CYP19 geninden salınan ve *Sitokrom P450 aromataz* adı verilen enzim, on dokuz karbonlu steroidleri (androstenedion, testosteron ve 16-alfahidroksiandrostenedion) östrojenlere çevirir ve menopoz döneminde kana östrojen salınımını sağlar. Ayrıca bu enzim menopozda cilt ve yağ dokusundan eksprese edilir (Sezgin, 2011).

4.3.1.2. Progesteron

Menopozdan sonra progesteron üretimi kesilir. Progesteron reproduktif dönemde endometriumu fazla östrojenin etkilerinden koruyan bir hormondur. Menopoz öncesi ve menopoz sonrası dönemde yüksek östrojen seviyeleri endometriumdaki karşılanmamış stimülasyona yol açar. Bu da hem premenopozal hem de postmenopozal dönemde görülen artmış endometrial hiperplazi ve kanser riskini açıklar (Bahar, 2009).

4.3.1.3. Androjenler

Postmenopoz döneminde testosteron düzeyleri de azalır, ancak bu azalış, östrojen hormonundaki azalışa eşdeğer değildir. Premenopozda, dolaşımdaki testosteron kaynakları; overler (% 25), adrenal bez (%25), ve androstenedionun ekstraglanduler dönüşümü (%50)' dür. Postmenopozdaki overler, premenopozdakinden daha büyük oranda testosteron yapar ve dolaşımdaki yoğunlukların yaklaşık % 50'sini oluşturur (Çelik Durmaz, 2005).

4.3.2. Diğer Değişiklikler

Menopoz birçok bedensel ve ruhsal değişiklikleri beraberinde getiren bir dönemdir (Oksay, 1995); gastro-intestinal değişiklikler (kabızlık, spazm, distansiyon, dispepsi) (Varma, Karadağ, Oğuzhanoglu, Özdel ve Kökten, 2006), vazomotor düzensizlikler (sıcak basması), dengesiz ruh hali (Kalarhoudi, Taebi, Sadat and Saberi, 2011), libido kaybı, serum lipid düzeyinin değişmesi (Jelinsky et al, 2008). Bunun yanı sıra vajinal atrofi, yorgunluk, insomnia, düzensiz kalp atışları, unutkanlık (Lee, Kang, Kim, Park and Song, 2011), osteoporoz gelişim riskinin artması (Deveci Görür, 2011), yumurtalık kanseri (Hoyer ve ark, 2009) ve ateroskleroz (Adam et al, 2008) menopoz sonrası dönemde görülen hastalıklara örnek olarak verilebilir. Ayrıca menopoz sonrası kadınlar tip-2 diyabet ve metabolik hastalıklar açısından büyük risk altındadır. Bunun sebebi iskelet ve yağ doku gibi hedef dokuların insülin hassasiyetinin azalmasıdır (Rogers, Witczak, Hirshman, Goodyear and Greenberg, 2009).

4.3.3. Hormon Replasman Tedavisi

Hormon Replasman Tedavisi (HRT) menopoz dönemindeki kadınlara önerilen yaygın tedavi yöntemlerinden biridir (Glazier and Bowman, 2001). HRT menopoz döneminde gelişen alzheimer, osteoporoz, vazomotor semptomlar, kardiyovasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın tedavisinde iyileştirici etkiye sahiptir.

Sentetik östrojen HRT için menopoz dönemindeki kadınlar tarafından yaygın olarak kullanılan mevcut en etkili ajandır. Buna rağmen yapılan birkaç çalışma geleneksel HRT' nin menopozla bağlantılı hastalıkların risklerini ortadan kaldıramadığını göstermiştir (Chang et al, 2011). Bu yüzden ki kadınlar daha güvenli bir yol olan komplementer tedaviyi geleneksel HRT yerine denemeye eğilim göstermişlerdir. Komplementer tedavi kendi içinde bitkisel ve diğer komplementer müdahale yöntemleri olarak ikiye ayrılır.

Bitkisel yaklaşımlarda, fitoöstrojen içeriği yüksek olan; Soya, karayılan otu, çuha çiçeği yağı, kızıl yonca, binbir delik otu gibi bitkiler kullanılırken. Akupunktur, refleksoloji, manyetizma diğer komplementer müdahale yöntemlerine örnek verilebilir (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, 2010).

4.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres; serbest radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar (Demirtaş ve Üntan 2011, Roch et al, 2011). Bu durum, artmış serbest radikal üretimine ya da bu radikallere karşı gerçekleşen savunma sisteminde azalmaya bağlı olarak gözlenir (Kıyıcı ve Yücel 2005).

Oksidatif stres, DNA ve hücre lipidlerine zarar verir, protein sentezini inhibe eder ve ATP tüketimine neden olur. Böylece normal hücre faaliyetlerini inhibe etmiş olur (Abbas and Elsamnoudy, 2011).

Yapılan çalışmalar oksidatif stresin çeşitli dokularda farklı hastalıkların patolojisinde rol aldığını göstermektedir.

4.4.1. Serbest Radikaller

Atom veya moleküllerde yer alan elektronlar, orbital adı verilen çekirdeğin etrafındaki bölgelerde hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en fazla iki elektron yer alır. Atom veya moleküller dış orbitallerinde bir yada

daha fazla ortaklanmamış (eşleşmemiş) elektron bulunduruyorsa “serbest radikal (SR)” olarak adlandırılır. Bu tip moleküller, yapılarında bulunan ortaklanmamış elektronlar sayesinde oldukça reaktif bir hal alırlar. En basit serbest radikal bir elektron ve bir protondan oluşan hidrojen atomudur. Serbest radikallerde eşleşmemiş elektron, atom veya molekülün üst kısmına konulan bir nokta ile belirtilir.

Biyolojik sistemlerde bilinen en önemli radikaller, serbest oksijen radikalleri (SOR) olmakla beraber; Karbon, Azot, Kükürt türevi olan radikaller ve inorganik moleküllerde vardır (İşbilir, 2009).

Serbest Radikallerin Kaynakları:

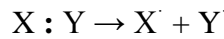
İntraselüler Kaynaklar: 1.) Tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler gibi küçük moleküllerin oksidasyonu 2.) Enzimler ve proteinler 3.) Mitokondriyal elektron transport zinciri 4.) Endoplazmik retikulum ve nükleer membran transport sistemi

Biyolojik Kaynaklar 1.) Diyet faktörleri 2.) Çevresel faktörler (hava kirliliği, pestisitler, sigara dumanı) 3.) İlaçlar, ksenobiyotikler 4.) Zararlı ışınlar (X ışınları, ultraviyole) (Kayış, 2010)

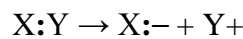
Ayrıca vücuda giren ağır metaller elektron transport sistemini inhibe ederek SOR ürünlerini artırırlar. Böylece elektronlar doğrudan oksijene transfer olup SOR ürünlerine dönüşürler (Yalın ve ark, 2006).

Serbest radikallerin üretimi ve fizyolojik savunmaya karşı etkileri, pek çok hastalığın gelişmesinde büyük rol oynar (Bokov, Ko and Richardson 2009). Yapılan araştırmalar serbest radikallerin 3 farklı şekilde oluştuklarını ortaya koymuştur:

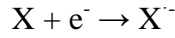
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi.



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi. Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron atomların birinde kalır. Böylece serbest radikaller değil, iyonlar meydana gelir.

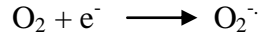


3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi (Altan, Dinçel ve Koca, 2006)



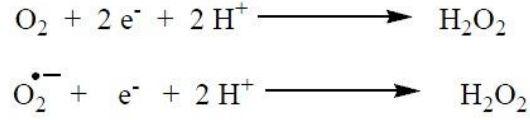
4.4.1.1. O_2^{-} (Süperoksit) Radikali

Moleküler oksijenin (O_2) bir elektron transferi sonucu indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^{-} radikali oluşur. *İn vivo*; adrenalin, flavin nükleotidleri, tiyol içeren bileşikler, glukoz ile demir ve bakır gibi geçiş metallerinin oksijene etkisiyle meydana gelmektedir. Mitokondrilerdeki ETZ, karaciğerde sitokrom P450, adrenal medullada hormon sentezi, damar endotelinde nitrik oksitlerin elimine edilmesinde, fagositozda, hücre büyümesi ve farklılaşmasında meydana gelmektedir (Çaylak, 2011).



4.4.1.2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)

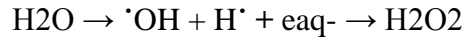
Peroksit, doğal oksijen molekülünün başka bir molekülden iki elektron alması sonucu oluşur. Peroksit molekülü iki H molekülü ile birleşirse Hidrojen Peroksit (H_2O_2) oluşur. H_2O_2 spontan olarak üretilebildiği gibi, süperoksit radikalinin Süperoksid dismutaz enzimi ile dismutasyonu sonucu da üretilebilir. H_2O_2 aslında radikal değildir. Ancak üretildiği bölgede kalan süperoksidin aksine membranları geçebilen, sitozole diffüze olma potansiyeline sahip ve uzun ömürlü bir oksidan olarak bilinmektedir. Bu nedenle süperoksidin ulaşamadığı membranla korunan yapılara kolaylıkla ulaşabilir. Burada süperoksid ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici radikal olan hidroksil radikalini oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir. Ayrıca hidrojen peroksit, serbest Fe^{+2} ile reaksiyona girerse demir okside olurken hidroksil radikali oluşur. Bu da doku hipoksisi ve endotel hasarına yol açabilen vazodilatasyon kaybına neden olur. Bu reaktif oksijen türü de bakterilere karşı lokosit defansının diğer bir bileşenidir.



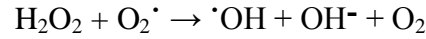
(Memişoğulları, 2005)

4.4.1.3. Hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)

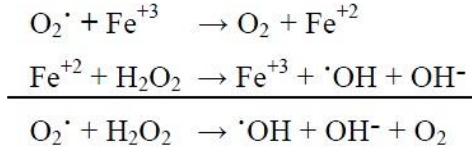
Suyun yüksek enerji ile iyonizasyonu sonucu Hidroksil radikali meydana gelir.



Hidrojen peroksit ise süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu tepkimeye Haber-Weiss tepkimesi denir ve tepkime katalizörsüz ortamda oldukça yavaşken, demirin katalizörlüğünde çok hızlıdır.



Katalizörlü tepkimede demir önce ferrik formdan (Fe^{+3}) süperoksit ile ferröz forma (Fe^{+2}) indirgenir. Ferröz form Fenton tepkimesi ile ferrik forma tekrar yükseltgenirken $\cdot\text{OH}$ ve OH^- üretilir (Antmen, 2005).

4.4.1.4. Nitrik Oksit (NO)

NO, gaz yapısında olan ve radikal özellik taşıyan bir moleküldür (Uncugil, 2004). Havadaki NO kısa sürede O_2 ile oksitlenerek nitrojen dioksite dönüşür. Nitrojen dioksit dokular için oldukça zararlı bir bileşiktir. NO' in yük taşımaması ve çiftlenmemiş elektron barındırması, hücreden hücreye geçişini daha kolay hale getirmiştir. Diğer serbest radikallerin aksine NO, düşük konsantrasyonda hücre

içerisinde çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak aşırı ve kontrolsüz NO sentezi zararlı olmaktadır (Türköz ve Özerol, 1997).

Endojen NO oluşturan tek kaynak Nitrik Oksit sentaz (NOS) enzimleridir. NOS enziminin; nöronal (nNOS), endotelyal (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere üç formu vardır. eNOS ve nNOS enzimleri tarafından üretilen çok düşük derişimdeki NO sinir sistemi ve düz kaslarda hücre içi ve hücreler arası haberci molekül olarak kullanılır (Kılınç ve Kılınç 2002).

NO; nörotransmisyon, kan basıncı regülasyonu, savunma mekanizmaları, düz kas gevşemesi ve immun regülasyon gibi çeşitli fizyolojik olaylarda rol olan önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülüdür (Aladağ, Türköz ve Özerol, 2000).

Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Süperoksit ile NO arasındaki tepkime ile oluşan peroksinitrit, hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahip olup radikalik tepkimeleri başlatmaya ilave olarak biyomoleküllerin nitrasyonuna neden olur. Fizyolojik derişimde üretilen NO, esas olarak oksihemoglobin tarafından nitrata oksitlenerek aktivitesi sonlandırılır. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, NO' i ortamdan temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Aerobik ortamda NO stabil değildir, derişiminin artması ile oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki derişimi ile kendi ömrü arasında ters bir orantı vardır (Kılınç ve Kılınç, 2002).

SR'in yüksek konsantrasyonları karbonhidratlar, lipidler, nükleik asitler ve proteinlerin hücrel hasarlanmasında önemli rol oynarlar (Koçar Çelik, Kahraman ve Maralcan, 2010).

4.4.1.5. Lipid Peroksidasyonu

Lipidler SR'e en hassas molekülüdür. Hücre membranlarında bulunan yağ asitleri ve kolesterolün doymamış bağları SR ile kolayca reaksiyona girebilir. Çoklu doymamış yağ asitlerinin SOR' lerine maruz kalması lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır.

Lipid peroksidasyonunun ilk aşamasında yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan bir elektron içeren H atomu çıkarılması ile lipid radikali (L[•]) oluşur. Lipid

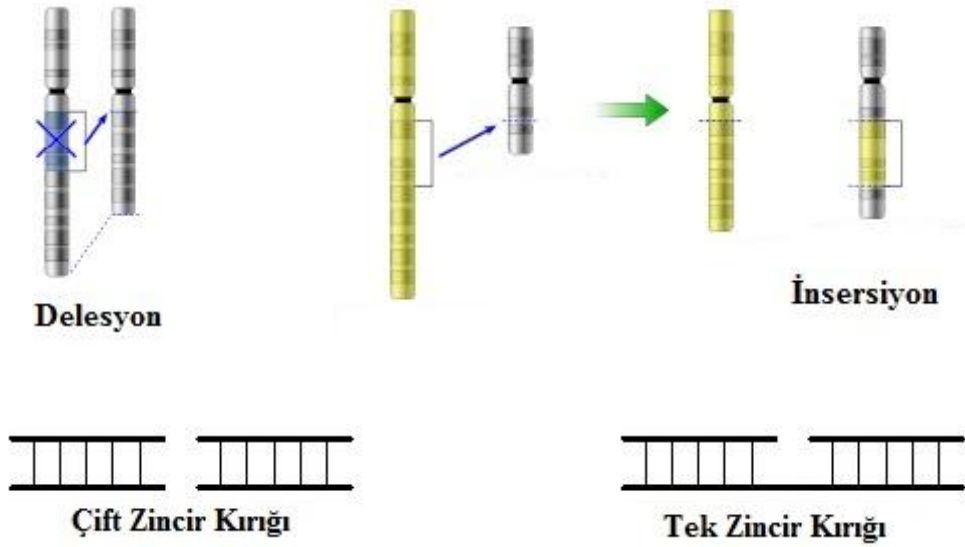
radikali de oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksit radikalini (LOO[·]) oluşturur. Lipid peroksit radikali de diğ er doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girer. Böylece zincirleme bir reaksiyon başlamış olur. Ayrıca lipid peroksitler ortamdaki H atomları ile de reaksiyona girerek lipid hidroperoksitleri (LOOH) oluştururlar. Lipid peroksitler daha sonra MDA ve 4-hidroksi nonenal gibi yıkım ürünlerine dönüşürler. Bu yıkım ürünleri de DNA ya da proteinler ile reaksiyona girebilir ve mutajeniktirler (Tüfekçi, 2010).

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda MDA meydana gelir. Oluş an MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir ve bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve karsinojeniktir (Kayış, 2010).

4.4.1.6. Oksidatif DNA Hasarı

DNA hasarı, DNA'da gözlenen bazı modifikasyonlar sonucu kodlayıcı özelliklerin değişmesi yada transkripsiyon ve replikasyon gibi süreçler sonucu ortaya çıkabilir. Ayrıca ultraviyole ışınlar, iyonize radyasyon ve kimyasal ajanlar gibi çevresel etmenler sonucu da DNA hasarı oluşabilir (Blasiak, Glowacki, Kauppinen and Kaarniranta, 2013).

DNA hasarları birçok farklı formda meydana gelebilir: apuridik ve apirimidik bölgeler (abazik bölgeler), tek ve çift zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağ oluşması, insersiyon ve delesyonlar örnek olarak verilebilir (Martin, 2008).



Şekil 8. DNA hasarının bilinen formları (van Gent, Hoeijmakers and Kanaar, 2001; <http://en.wikipedia.org/wiki/Mutation> 21/04/2013)

HücreSEL metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikaller gibi endojen ajanlar da DNA hasarına neden olmaktadır. DNA’da oksidatif hasarın oluşumu iki hipotez ile açıklanmıştır.

Birinci hipotez “Fenton Kimyası” olarak bilinir; OH[•] radikalleri DNA’ya saldırarak hasar oluşturur. O₂⁻ ve H₂O₂ ise doğrudan DNA’da hasar yapmaz. Ancak OH[•] radikalinin DNA üzerinde etkili olabilmesi için DNA’da veya çok yakınında oluşması gerekmektedir. Reaktivitesi çok yüksek olan OH[•] radikalinin hücre içinde diffüze olarak nukleusa geçme olasılığı az olmakla birlikte membranı kolayca geçebilen H₂O₂’in nukleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyon girerek (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) hidroksil radikallerini oluşturur.

İkinci hipotez ise “Nukleaz aktivasyonu” olarak bilinir; oksidatif stres, sitozolde bulunan Ca²⁺ iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nukleusdaki Ca²⁺ bağımlı endonukleazları aktive eder ve DNA’nın fragmentasyonuna neden olmaktadır (Halliwell and Aruoma, 1991).

Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgelerin oluşması sonucu hasara yol açtığı bilinmektedir (Williams and Jeffrey, 2000). Serbest Radikaller DNA'da 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına neden olur. Bu hasara uğrayan bazlar arasında **8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG)** oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirteçidir (Cooke, Evans, Dizdaroğlu and Lunec, 2003).

4.4.1.7. Proteinlerin Oksidasyonu

Serbest Oksijen Radikallerinin, proteinler ile amino asit içeriklerine bağlı olarak reaksiyona girdikleri bildirilmiştir (Nordberg and Arner, 2001). Doymamış bağ ve sülfür içeren; triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenme potansiyeline sahiptir (Davies, 2005). Proteinlerin oksidasyonu sonucunda; protein-protein çapraz bağlarının oluşumu ve polipeptid fragmentasyonu meydana gelir (Gülbahar, 2007).

4.4.1.8. Karbonhidratların Oksidatif Hasarı

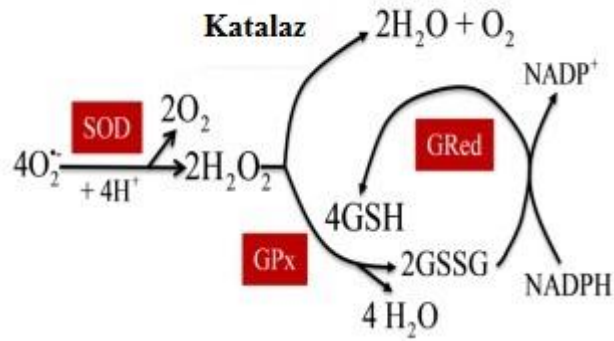
Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, süperoksit ve hidrojen peroksiti meydana getirirler (Tekkeş, 2006). Ayrıca hidroksil radikalleri, gelişigüzel olarak karbonhidratların yapısında bulunan karbon atomlarından bir hidrojen alırlar ve karbon merkezli bir serbest radikal meydana getirirler. Bu durum Hiyalüronik asit gibi insan vücudundaki önemli moleküllerin yapısında bulunan zincirlerin kopmasına neden olur ve peroksil radikalleri gibi ara ürünler oluşur. İnflamasyon sırasında sinovyal sıvı etrafında biriken ve aktive olan nötrofiller sayesinde fazla miktarda serbest radikal üretimi gerçekleşir. Bu olay sonucunda ise sinovyal sıvı önemli derecede azalır (Thomas, 1999).

4.4.2. Antioksidanlar

Memeli hücreleri, Serbest Oksijen Radikallerinin neden olduğu hasardan korunmak için enzimatik ve enzimatik olmayan bir seri antioksidan sistem geliştirmişlerdir (Chiumiento and Bruschi 2009) ve bu antioksidan sistemler insan hayatında ideal olan sağlık ve huzurun sağlanması için kritik öneme sahiptir (Pervicial, 1996).

Enzimatik antioksidan sistemi; **Süperoksid Dismutaz (SOD)** (Vecchio and Lanza, 2009) **Katalaz (CAT)** (Khan, Tania, Zhang and Chen, 2010), **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)** (Ratnam, Ankola, Bhardwaj, Sahana and Kumar, 2006), **Glutasyon Redüktaz (GSH-R)** (Khan, 2009) ve **Glutasyon-S-Transferaz (GST)** (Ranganna et al, 2007) enzimlerinden oluşur.

Glutasyon (GSH) (Abegg, Alabarse, Schüller and Benfato, 2012), **C Vitamini (Askorbik Asit)** (Kalt, Forney, Martin and Prior, 1999), **E Vitamini (α -tokoferol)** (Han et al, 2011), **β -Karoten** (Cerezo, Zuffiiga, Bastida and Requena, 2012), **Likopen** (Riccioni et al, 2007), ise enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemini oluşturur.



Şekil 9. Antioksidan enzim sistemi (Kunwar and Priyadarsini, 2011)

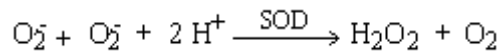
4.4.2.1. Süper Oksid Dismutaz (SOD)

SOD, süperoksit anyonunun (O_2^-), Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve Oksijen'e (O_2) dönüşümünü katalize ederek serbest radikallerin zararlı etkisine karşı birincil savunma görevini gerçekleştiren bir metalloenzimdir (Mates, Gomez and Castro, 1999, Assaday, Farahnak, Golestani and Eshargian, 2011). Yapısında bulundurduğu metal iyonuna bağlı olarak memelilerde bilinen 3 izoformu mevcuttur; Bakır-Çinko içeren SOD (CuZn-SOD), Mangan içeren SOD (Mn-SOD) ve ekstraselüler SOD (EC-SOD) (Dobashi et al, 2012).

Mn-SOD prokaryotlarda ve mitokondri matriksinde bulunur. Birbirinin aynı iki alt birimden oluşan ve her alt birimde bir Mn içeren dismutazlardır (Atoum, Fattah, Nimer, Rahman and Abdeldayem 2012).

CuZn-SOD' un aktif bölgesinde bakır ve çinko yer alır. Sitoplâzma ve mitokondri iç zarında bulunur. Ayrıca insan vücudunda en geniş dağılıma sahip olan dismutaz enzimidir (Ataya, Fouad, Olayan and Malik 2012).

EC-SOD enziminin de aktif bölgesinde bakır ve çinko yer alır ancak CuZn-SOD'un aksine ekstraselüler alanda görev yapar. Epitel hücrelerinde ve fibroblastlarda sentezlenen bu enzim heparan sülfatlara bağlanarak hücre yüzeyinden eksprese edilir (Çaylak, 2011).

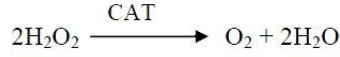


4.4.2.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, 4 protein alt üniteden oluşan, çeşitli aerobik canlılarda ve memelilerin karaciğer, böbrek ve eritrositlerinde bulunan bir antioksidan enzimidir (Nakamura, Watanabe, Tanimoto and Ikeda, 1998). Genellikle peroksizomlarda lokalize olan bu enzim (Smith, Payne and Wyard, 1984), hücrelerde ortaya çıkan Hidrojen Peroksit (H_2O_2) radikalinin zararlı etkisine karşı antioksidan savunma mekanizmasını oluşturmakla görevlidir (Zhao, Zhang, Strong, Grotta and Aronowski, 2006).

H₂O₂' nin zararlı etkisine karşı, CAT enzimi iki farklı reaksiyonu katalize eder;

1. Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalize eder (Yoshimoto, Sakamoto, Yoshimoto, Kuboi and Nakao, 2007).



2. Farklı substratların, hidrojen peroksitin çift redüksiyonu ile detoksifikasyonunu sağlar.



(Kobayashi et al, 2005)

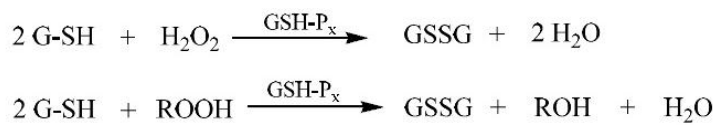
Ayrıca Katalaz, tekstil ve gıda endüstrisinde, kirli suların temizlenmesinde, kontakt lens solüsyonlarında, kozmetik ve hidrojen peroksit miktarını ölçmek için farmasötik formülasyonlarda kullanılır (Cengiz, Çavaş ve Yurdakoç, 2012).

4.4.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz 4 alt üniteden oluşan ve her alt ünitesinde selenosistein rezidüsü taşıyan bir antioksidan enzimdir (Mugesh and Singh 2000).

Lipid hidroperoksitlerini ve düşük konsantrasyonlardaki H₂O₂' i substrat olarak kullanır (Drevet, 2006). Böylece hücre membranında ve diğer hücre bileşenlerinde oluşacak oksidan hasara karşı koruyucu etki yapar (Mugesh, Panda, Singh, Punekar and Butcher 2001).

GSH-Px, kofaktör olarak Glutasyon (GSH)' u kullanır ve reaksiyon sonucunda Okside Glutasyon (GSSG)' un oluşmasını sağlar (Bhabak and Mugesh, 2010).

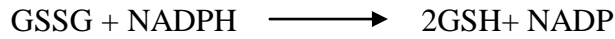


İnsan vücudundaki en önemli antioksidan savunma sistemlerinden biri olan GSH-Px, karaciğerde en yüksek aktiviteye sahiptir (Pektaş, 2009).

4.4.2.4. Glutatyon Redüktaz (GSH-R)

Glutatyon redüktaz, Disülfid Oksidoredüktaz ailesine ait bir flavo enzimdir (Kapoor and Banyal, 2009).

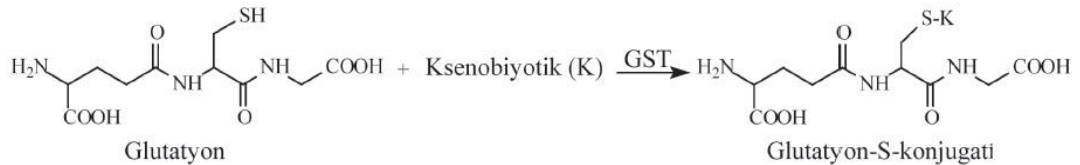
GSH-Px enziminin hidroperoksitler ile girdiği reaksiyon sonucu ortaya çıkan Okside Glutatyon (GSSG)' nun, Nikotinamid Adenin dinükleotid Fosfat (NADPH) varlığında tekrar redükte Glutatyon (GSH)' a dönüşümünü katalize ederek antioksidan savunma sisteminde görev alır (Heyob, Rogers and Welty, 2008, Demir, Erat ve Şakiroğlu, 2004, Ulusu, Erat, Çiftçi, Şakiroğlu ve Bakan, 2005). NADPH' ın birincil kaynağı Pentoz Fosfat yoludur (Sup, Kim and Yoon, 2012).



Glutatyon Redüktaz, hücre içi yüksek GSH/GSSG oranını koruyarak, oksidatif strese karşı hücre savunmasında önemli bir rol oynar (Jansch, Korakli, Vogel and Ganzle, 2007).

4.4.2.5. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

GST, ksenobiyotiklerin GSH ile konjugasyonunu sağlayarak, bu bileşiklerin genellikle daha kolay atılabilen ve daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalize eden Faz-II detoksifikasyon enzimi olarak bilinir (Trevisan da Rocha et al, 2011).



Şekil 10. Glutatyonun ksenobiyotiklere GST katalizli reaksiyonu

GST, çok substratlı bir enzim olma özelliği taşır. Katekolaminler, prostaglandinler ve lipid peroksidasyon ürünleri endojen substratlar olarak

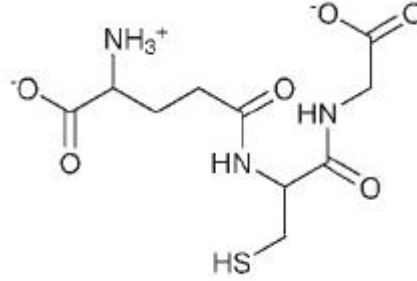
sıralanabilir. Eksojen substratlar ise Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, α,β -Doymamış aldehytler ve Kemoterapötik bileşikler şeklinde bilinir (Tozkoparan ve Aytaç, 2007).

Ayrıca GST, besinlerle birlikte alınan toksik maddelerin eliminasyonunu sağlamakla birlikte prostoglandinlerin izomerizasyonu, hem, bilirubin, safra tuzları ve yağ asitleri gibi nonsubstrat ligandları GSH ile bağlayarak taşınması görevini de üstlenmektedir (Arı ve Dere, 2002).

Bu enzim doğada bakteriler, maya, küf, yumuşakçalar, kabuklular, solucanlar, kurbağalar, böcekler, bitkiler, balıklar, kuşlar ve memelilerde bulunur. İnsan vücudunda ise bütün dokularda bulunduğu bilinmektedir (Ekinci, 2006).

Organizmadaki enzimatik savunma sistemlerine ek olarak, endojen olarak oluşan veya gıdalarla alınan antioksidan özelliği olan moleküller de vardır. Bu antioksidanlar SOR'lerini doğrudan nötralize edebilirler.

4.4.2.6. Glutatyon (GSH)



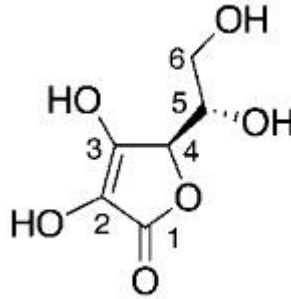
Şekil 11. Glutatyonun kimyasal yapısı (Petzold and Sadler, 2008)

Glutatyon, yapısında glutamat, sistein ve glisin amino asitlerini içeren tripeptid yapısında hücre içi tiyol antioksidandır (Ehrlich et al, 2007).

GSH, non-enzimatik olarak ajanların ortadan kaldırılmasında ve hücreyi oksidan hasara karşı korumada anahtar rol oynamakla birlikte (Baeze, Tresquerres, Ariznavarreta and Fuente, 2010), apoptozda sinyal iletimi ve gen ekspresyonunda görev alır (Fiser et al, 2011). Ayrıca, hücre içi ilaç metabolizmasında özellikle detoksifikasyon ve ilaç direncinin oluşmasında büyük rol oynar (Petzold and Sadler, 2008).

GSH genellikle karaciğerde de novo olarak sentezlenir. Yapısında içerdiği düşük molekül ağırlıklı tiyol grupları sayesinde hızlıca okside edilebilme ve tekrar rejenere olma özelliğine sahiptir (Jefferies et al, 2003). Bunun yanı sıra GSH'ın yapısındaki *g*-glutamil zinciri glutamat ve sistein rezidülerinin arasında yer alırken tiyol grupları serbest haldedir. Kimyasal yapısının bu şekilde olması GSH'ın hücre içerisinde birçok fizyolojik fonksiyona sahip olmasını açıklar (Sastre, Pallardo and Vina, 2005).

4.4.2.7. C Vitamini (Askorbat)



Şekil 12. C Vitamininin kimyasal yapısı (Takebayashi et al, 2008)

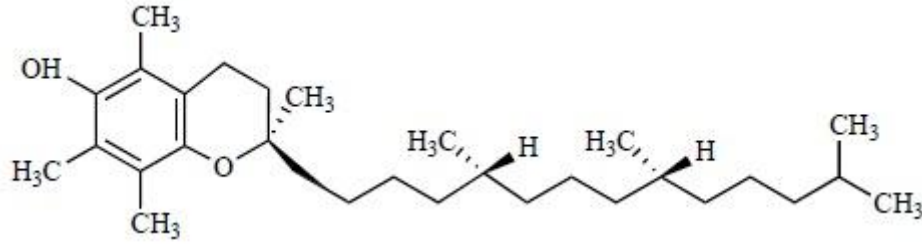
Askorbat suda çözünen, SOR' lerini nötralize eden ve oksidatif stresi azaltan bir antioksidan vitamindir (Rietjens et al, 2002, Gendy, Aly, Mahmoud, Kenawy and Sebae, 2010). Hayvanların çoğu ve bitkiler askorbik asit sentezleyebildikleri halde primatlar, *L-gulonolakton oksidaz* enziminin eksikliği sebebi ile bu vitamini sentezleyemezler ve besinle almak zorundadırlar (Belin, Kaya, Burtey and Fontes, 2010).

Askorbat'ın yapısında bulunan iki komşu hidroksil grubu ve karbonil grubu bu molekülü eşsiz bir elektron ve hidrojen alıcısı haline getirmiştir. Bu nedenle C vitamini birçok enzimatik reaksiyonda kofaktör olarak görev yapar (Farbstein, Blickstein and Levy, 2010).

C vitamini hücresel sıvıda özellikle sigara dumanına bağlı ortaya çıkan serbest radikal oluşumuna karşı rol oynar (Talaulikar and Manyonda, 2011). Ayrıca immün cevabın geliştirilmesi, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser oluşumu gibi

birçok fizyolojik olayda yararlı ve tedavi edici etki gösterme özelliğine sahiptir (Kim, Lee, Lee, and Lee, 2002, Farbstein et al 2010).

4.4.2.8. E Vitamini (α -tokoferol)



Şekil 13. E vitaminin kimyasal yapısı (Cook-Mills and McCary, 2010)

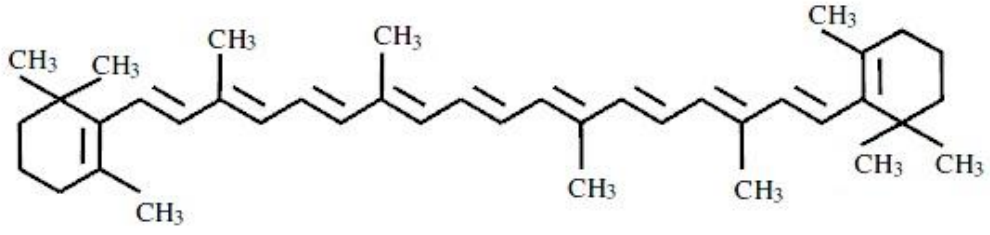
E vitamini yağda çözünen (Shekelle et al, 2003), peroksil radikallerinin temizlenmesi ve zincir reaksiyonların sonlandırılmasında görev alan antioksidan bir moleküldür (Traber and Atkinson, 2007).

Tokoferoller biyolojik membranların önemli bileşenlerindedir ve membran stabilizasyonunu sağlamada görev alırlar (Doğru Pekiner, 2003, Lin et al, 2003). Bunun yanı sıra E vitamininin, kanserin indüksiyonu ve ilerlemesinde koruyucu etki göstererek, antikarsinojenik potansiyele sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Johnson, Meacham and Kruskall, 2003). Ayrıca E vitamini, LDL kolesterolün oksidasyonunu inhibe ederek ateroskleroza karşı koruyucu etki gösterir (Papap, 2008).

E vitamini eksikliği ise sinir sistemi (Martin, 2003) ve gözleri etkiler. Ayrıca anemi hastalığına da yol açabilir.

Bitkisel yağlar, salata sosları ve margarinler, yeşil yapraklı sebzeler, fındık ve zenginleştirilmiş tahıllar E vitamini içeriği yüksek olan besinlerdir (Hillan, 2006).

4.4.2.9. β -Karoten



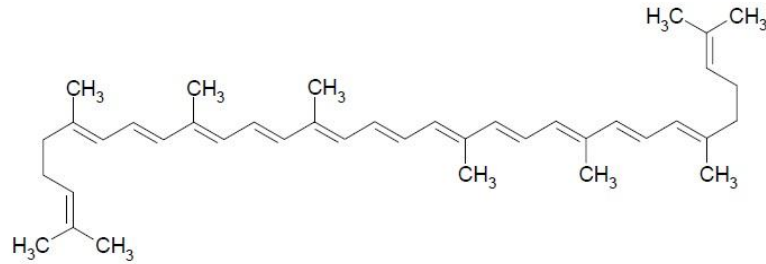
Şekil 14. β -Karoten' in kimyasal yapısı (Kaya, 2007)

β -Karoten, A vitamininin öncü maddesi olup ticari açıdan önemli ve yaygın olarak kullanılan bir karatenoiddir (Dauçan, Sani, Abdullah, Muhamad and Top, 2011).

β -Karoten, kuvvetli bir antioksidan molekül olarak bilinir (Dutra-de-Oliviera, Favaro, Leonardo, Jordao and Vannucchi, 1998). Singlet oksijenin etkisinin bastırılması, lipid peroksidasyonunun azaltılması (Hathcock, 2004), immün cevabın geliştirilmesi bu molekülün görevleri arasındadır (Dauçan, et al, 2011). Ayrıca yapılan çalışmalarda β -Karoten uygulamasının alkolik karaciğer tedavisinde iyileştirici etki gösterdiğini ortaya konmuştur (Peng, Chen, Chen, Yang and Yang, 2010).

Yapraklı yeşil sebzeler, havuç, patates, palmiye yağı, olgun kabak, bal kabağı ve mango β -Karoten açısından zengin gıdalardır (Lin et al, 2009).

4.4.2.10. Likopen



Şekil 15. Likopen'in kimyasal yapısı

Likopen, başlıca kaynağı domates olan karatenoid ailesine ait antioksidan bir moleküldür. Karpuz, pembe greyfurt, papaya ve kayısı likopence zengin diğer besinlerdir (Vandevijvere et al, 2012, Olempska-Beer, 2006).

Likopence zengin gıdaların tüketilmesi, serum lipid peroksidasyon ve LDL oksidasyon düzeyini azaltarak kardiyovasküler hastalıkların görülme riskini düşürür. Likopen, hem kanser hemde normal hücrelerde DNA hasarına karşı koruyucu etki gösterir ve yapılan çalışmalar, anti-inflamatuvar ve anti-mutajenik etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (Garrido et al, 2012). Bunun yanı sıra likopen, kan-beyin bariyerini geçebilen bir moleküldür ve sinir hücrelerinde doğrudan oksidatif stresi azaltıcı etki gösterdiği bilinir (Fujita et al, 2012). Ayrıca bu molekülün içerdiği antioksidan bileşikler sayesinde, prostat kanseri (Rao, Guns and Rao, 2003), pankreas kanseri, ateroskleroz ve koroner arter hastalıklarının gelişimine karşı koruyucu etkisi vardır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ise, Likopen'in, singlet oksijenin etkisini azaltmada E vitamini, β -karoten ve α -tokoferolden daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu nedenle likopen, SOR ile bağlantılı patofizyolojik hasarlara karşı uygulanan yeni bir tedavi stratejisi haline gelmiştir (Yue et al, 2012).

5. MATERYAL-METOD

Tablo 2. Kullanılan kimyasal maddeler

17- β Östradiol (E2)	Sigma (E8875)
1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB)	FLUKA (İsveç)
2X PCR Master Mix Solution i-Taq	Santa Cruz (Amerika)
Agaroz	Santa Cruz (Amerika)
cDNA Synthesis Kit	Thermo Scientific
Dipotasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄)	MERCK (Almanya)
DNTB (5,5'-ditiyobis- (2-nitrobenzoic) asit)	FLUKA (Avusturya)
EDTA (Etilendiamin Tetra Asetik asit- disodyum tuzu)	Sigma (ABD)
Etanol	SIGMA ALDRICH (Almanya)
Formaldehit	SIGMA ALDRICH (Almanya)
Glutasyon (GSH)	SIGMA (ABD)
HETAB (Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid)	FLUKA (İsveç)
Hidro klorik asit (HCl)	MERCK (Almanya)
Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	SIGMA ALDRICH (Almanya)
Ketasol	Richter Pharma (Avusturya)
Largaktil	Eczacıbaşı (Türkiye)
Metofosforik asit	CARLO ERBA (İtalya)
NaOH	MERCK (Almanya)
n-bütanol	Merck (Almanya)
O dianisin	SIGMA ALDRICH (Almanya)
o-dianisidin-2 HCl	SIGMA ALDRICH (Almanya)
Oksidatif DNA Hasarı Elisa Kit	Cell Biolabs
Parafin	MERCK (Almanya)
Potasyum Fosfat (KH ₂ PO ₄)	SIGMA (ABD)
Rat Estrogen (E2) Elisa Kit	Eastbiopharm

Tablo 2. Kullanılan kimyasal maddeler (devam)

Riboflavin	SIGMA ALDRICH (Almanya)
RNA Mini Kit	Pure Link
SOD (120 IU/ml) stok standardı	SIGMA (ABD)
Sodyum azid	SIGMA ALDRICH (Almanya)
Sodyum fosfat (NaH ₂ PO ₄)	MERCK (Almanya)
Sodyum Klorür (NaCl)	LACHEMA (Çek Cumhuriyeti)
Sodyum Sitrat	MERCK (Almanya)
TBA (Tiyobarbitürik asit)	MERCK (Almanya)
TCA (Trikloroasetik asit)	MERCK (Almanya)

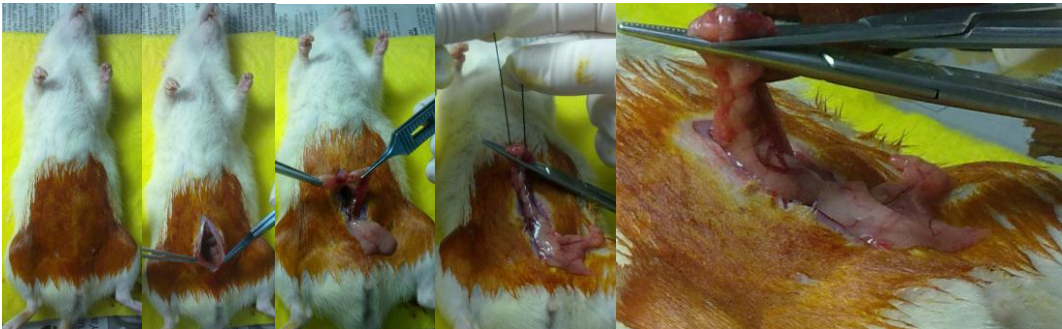
Tablo 3. Kullanılan araç ve gereçler

Derin Dondurucu -20 0C	BOSCH (Almanya)
Derin dondurucu -80 0C	Metler Toledo MP 220 (İtalya)
Ependorflar	Isolab, (Almanya)
Elisa Okuyucusu	Multiskan EX Thermo
Elektronik terazi	Sartorius, (Almanya)
Etüv	Binder (Almanya)
Magnetik çalkalayıcı	IKA MS2 (Almanya)
Manyetik karıştırıcı	Ika-Werk (Almanya)
Otomatik ve yarı otomatik pipetler	Gilson
PH Metre	Metler Toledo
PCR Cihazı	Thermo Thermal Cyclers
Santrifüj	Hettich Universal
Spektrofotometre	Thermo Helios UVG (İngiltere)
Sıcak su banyosu	Memmert (Almanya)
Tüp Rotatör	Stuart Scientific (İngiltere)
Vakum tüpler	Venolact (Belçika)
Vorteks	IKA MS2 (Almanya)

5.1. Overektomi İşlemi ve Hayvan Gruplarının Oluşturulması

Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinde yetiştirilen yaklaşık 200-250 gr ağırlığında, gebeliği bulunmayan 32 adet Wistar Albino Sıçan çalışmada kullanıldı. Sıçanlar çalışma boyunca oda ısısında, % 60 nemli ortamda, 12 saatlik aydınlık/karanlık koşullarda, 4'erli kafeslerde muhafaza edilerek ad libitum olarak beslendiler.

Overektomi işlemi yapılan sıçanlara, 40mg/kg ketamin hidroklorid (Ketasol*, Richter Pharma, Avusturya) AG ve 10 mg/kg xylazine hidroklorid (Rompun* Bayer, İstanbul, Türkiye) intramusküler olarak uygulandı ve hayvanlar genel anesteziye alınıp dorso ventral olarak diseksiyon tahtasına sabitlendiler. Baticon ile temizlenen abdominal bölgenin merkez kısmında orta hatta makasla 0.5-1 cm çapında deri insizyonu açıldı. Bir makas insizyon yerinden deri altına sokularak bağ dokusu ayrıldı, sonra kas tabakası kesildi ve periton boşluğuna ulaşıldı. Ovaryum, insizyon bölgesinden ucu küt bir pens yardımıyla kendisini çevreleyen yağ tabakasıyla birlikte dikkatlice çekildi. Dışarıya alınan ovaryumlar, uterus tüpü ile birleştiği yerin hemen altından ligatüre edilerek makas yardımıyla bütünüyle kesildi ve uterus tekrar eski yerine yerleştirildi (Şekil 5.1). İşlem bittikten sonra kas tabakası ve deri 4.0 ipek iplik ile dikildi ve yara kenarlarına baticon sürüldü. Bu işlem bilateral olarak gerçekleştirildi ve hayvanlar iyileşme süresince (15-25 gün), 4'erli kafeslerde tutuldu ve haftada bir ağırlık ve yara kontrolleri gerçekleştirildi. Kontrol grubuna ait sıçanlara ise, ovaryum, insizyon bölgesinden ucu küt bir pens yardımıyla kendisini çevreleyen yağ tabakasıyla birlikte dikkatlice çekildi ve uterus tekrar eski yerine yerleştirildi



Şekil 16. Ligatürasyon tekniği ile overektomi işlemi

Çalışma sırasında sıçanlar 4 gruba ayrıldı

1- Kontrol grubu: Bu gruptaki sıçanlara cerrahi işlemi uygulandı fakat overler çıkartılmadı. Gavaj ile serum fizyolojik verilerek normal yem ve musluk suyu ile beslendi.

2- Overektomize grup (OV): Bu gruptaki sıçanlara overektomi işlemi uygulandı. Gavaj ile serum fizyolojik verilerek normal yem ve musluk suyu ile beslendi.

3- Overektomize + Meyve Ekstresi grubu (OV+KN): Bu gruptaki sıçanlara overektomi işlemi uygulandı. Her gün aynı saatte 2g/kg lık Kudret narı meyve ekstresi gavaj ile verildi. Sıçanlar normal yem ve musluk suyu ile beslendi.

4- Overektomize + Östradiol Grubu (OV+EST): Bu gruptaki sıçanlara overektomi işlemi uygulandı. Her gün aynı saatte 40µg östradiol içeren 500µl zeytinyağı intraperitoneal olarak enjekte edildi. Sıçanlar normal yem ve musluk suyu ile beslendi.

5.2. Kudret Narı Meyve Ekstresi ve Östrodiol Uygulaması

Kudret narı meyvesi Sakarya' nın Geyve ilçesindeki bahçemizde yetiştirildi, Ağustos-Ekim ayları arasında toplandı ve bu meyveler -20 °C'de saklandı. Daha sonra meyvenin iç kısmındaki kırmızı pulp kısımlarının 500 gramı 500 ml ultrapür su ile karıştırılıp blenderdan geçirildi. 1 gece buzdolabında bekletildikten sonra kalın gözenekleri olan elek yardımıyla süzülüp alikatlara ayrıldı. Kudret narı grubundaki hayvanlara overektomi işlemi takiben 23 gün sonra kg başına 2 gr gelecek şekilde 30 gün boyunca gavaj yardımı ile yedirildi.

Östradiol, ticari olarak satın alındı. 10 mg' ı ilk önce 2 ml etanolde çözüldü ve zeytinyağı ile 120 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu stoktan östradiol grubundaki her hayvana 30 gün boyunca kg başına 250 µg gelecek şekilde intraperitoneal olarak enjekte edildi.

5.3. Kudret Narı Meyve İçeriğinde Bazı Temel Bileşenlerin Analizi

Numuneye ait ekstre serum fizyolojik ile 2 saat boyunca +4C° de buzdolabında maserasyona tabi tutuldu. Paralel yapılan 3 maserasyon işleminden sonra maseratlar süzülerek birleştirildi. Derin dondurucuda donduruldu. Liyofilizatör de çözücüsü uzaklaştırılarak kuru toz hale getirildi (Ciulei, 1982).

Karotenoidlerin Tanımlanması:

Ekstre üzerine kloroformda hazırlanmış doymuş antimon triklorit çözeltisinden 2-3 damla ilave edildi. Pigmentler önce mavi sonra kırmızı renk verir. Derişik sülfürük asit ilavesiyle karotenoidler derin mavi – mavimsi yeşil renk verir.

İndirgen Bileşiklerin (Karbonhidrat Türevleri) Tanımlanması:

Ekstre 2 ml %50 MeOH ile çözümlenerek tüpe aktarıldı. Üzerine Fehling A ve Fehling B reaktiflerinden 0,5'er ml eklendi. Su banyosunda ısıtıldı. Kıremit kırmızısı renkte çökelti oluşması indirgen bileşiklerin varlığını gösterir.

Flavon Aglikonların Tanımlanması

Ekstre 1-2 ml 50 lik MeOH ile çözüldü. Magnezyum metali ve 4-5 damla derişik HCl ilave edildi. Flavon aglikonlarının varlığında turuncu – kırmızı renk oluşur.

Steroller ve Triterpenlerin Tanımlanması

Ekstre 0,5 ml asetik anhidrit ile çözüldü. 0.5 ml kloroform ilave edildi. Tüpe aktarıldı. 1-2 ml derişik sülfürük asit ilave edildiğinde iki sıvının temas noktasında kahverengi kırmızı, mor halka oluşması, üstteki kısmın yeşil-mor renk alması bu grup maddelerin varlığını gösterir. (Lieberman – Burchard reaksiyonu)

Alkaloitlerin Tanımlanması

Ekstre 1 ml %2lik HCl ile çözüldü. İki ayrı tüpe 0,5 ml olarak bölündü. Tüplerden birine Mayer Reaktifi, diğerine Bertrand reaktifi damlatıldı. Sarımsı beyaz renkli çökelti alkaloit varlığını gösterir.

Antrasen Aglikonları

Ekstre üzerine 1 ml %25 lik NH_3 veya %10 luk NaOH ilave edilerek çalkalandı. Kırmızı renk oluşması antrasen aglikonlarının varlığını gösterir.

Kumarinler

Ekstre su ile çözüldü. İki ayrı tüpe bölündü. Tüplerden birine 0,5 ml %10 luk NH_3 çözeltisi ilave edildi. Diğer tüp referans olarak kullanıldı. UV ışık altındaki yoğun floresan özellik kumarinlerin varlığını gösterir.

Polyuronitlerin (Pektinler, Musilaj, Zamk) Tanımlanması

Ekstre 2 ml su ile çözüldü. Bir tüpe 10 ml kadar aseton konuldu. Ekstre aseton üzerine damla damla ilave edildiğinde iri tanecikli çökeltinin oluşması ekstrede polyuronitlerin (pektinler, musilaj, zamk) varlığını gösterir.

Saponinlerin Tanımlanması

Ekstre 2 ml suda çözüldü. Tüp içerisinde yaklaşık 15 dakika çalkalama ile 1 cm kalınlığında kalıcı köpük tabakası oluşması saponin varlığını gösterir. Ayrıca Lieberman – Burchard reaksiyonu ile saponinlerin varlığı gösterilir.

Tanenlerin Tanımlanması

Ekstre 2 ml %50 MeOH ile çözüldü. 2-3 damla FeCl_3 (demir klorür çözeltisi) eklendi. Siyah-mavi renk oluşması gallik tanen, yeşil-siyah renk oluşması kateşik tanen varlığını gösterir.

5.4. Östrojen Düzeyi Ölçümü

Östrojen (E2) düzeyi, Rat Estrogen Elisa Kit (CK-E90448, Eastbiopharm) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak ölçüldü.

Kit Prensibi

Kit çifte antikor sistemini kullanarak ELISA yöntemi ile örneklerdeki E2 düzeyini ölçer. Monoklonal antikorlar örnekler üzerine eklenir ve inkübe edilir. Daha sonra biotin ve streptavidin-HRP ile kombine edilmiş sekonder antikorlar eklenir ve inkübasyonun ardından yıkama gerçekleştirilir ve bağlanmamış enzimler uzaklaştırılır. Bu işlemi takiben Kromojen A ve B solüsyonları eklenir ve renk maviye dönüşür. Stop solüsyonunun ilave edilmesi ile final rengi sarıya dönüşür.

Kit İçeriği

1. Standart solüsyonu (192 ng/L)
2. Standart dilüsyon tamponu
3. 96 kuyucuklu Mikroplaka
4. Str-HRP konjugatlı antikor
5. 30x Yıkama Tamponu
6. Biotin-E2 Antikoru
7. Kromojen A solüsyonu
8. Kromojen B Solüsyonu
9. Stop Solüsyonu

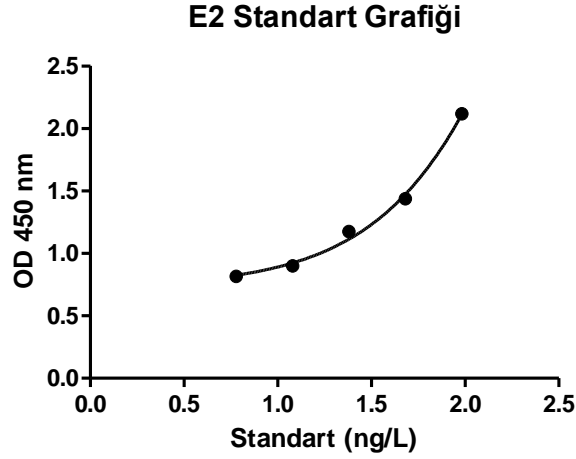
Kit Prosedürü

- 1- Kit içeriğine uygun olarak seri dilüsyon tekniği ile standart solüsyon tüpleri hazırlandı

Tablo 4. Standart solüsyonların dilüsyon içeriği

96 ng/L	5 nolu Standart	120 µl Orijinal standart + 120 µl Standart dilüsyon tamponu
48 ng/L	4 nolu Standart	120 µl 5 nolu Standart + 120 µl Standart dilüsyon tamponu
24 ng/L	3 nolu Standart	120 µl 4 nolu Standart + 120 µl Standart dilüsyon tamponu
12 ng/L	2 nolu Standart	120 µl 3 nolu Standart + 120 µl Standart dilüsyon tamponu
6 ng/L	1 nolu Standart	120 µl 2 nolu Standart + 120 µl Standart dilüsyon tamponu

- 2- Kör kuyucuğuna yalnızca Kromojen Ave B solüsyonları eklendi. Standart kuyucuklarına 1-5 numaralı standart solüsyonlarından sırası ile 50 µl ilave edildi. Üzerlerine ile 50 µl Streptavidin-HRP konjugatı ilave edildi. Test kuyucuklarına 40 µl serum daha sonra 10 µl E2 antikoru ve 50 µl Streptavidin-HRP yüklendi ve tüm kuyucuklar yavaşça çalkalandıktan sonra 1 saat 37°C' sıcaklıkta inkübe edildi.
- 3- Distile su ile 30 kez dilüe edilmiş yıkama tamponu ile dikkatlice kuyucuklar yıkanır.
- 4- 50 µl Kromojen A solüsyonu yüklendi. Daha sonra 50 µl Kromojen B solüsyonu mikropalakalara yüklendi. Yavaşça çalkaladıktan sonra 10 dk 37°C' sıcaklıkta karanlık bir ortamda inkübe edildi.
- 5- 50 µl stop solüsyonu her mikropalakaya yüklendi (mavi renk aniden sarıya döndü).
- 6- 450 nm'de absorbanslar spektrofotometre yardımı ile okundu.
- 7- Örneklerin absorbans değerleri, aşağıdaki standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı.



Şekil 17. E2 Standart Grafiği

5.5. Oksidatif DNA Hasarı Ölçümü

Oksidatif DNA Hasarı, Oxi Select Oxidative DNA Damage Elisa Kit (STA-320, Cell Biolabs) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak ölçüldü.

Kit Prensibi

Oksidatif DNA hasarı ELİSA kiti, 8-OHdG'nin kantitatif ölçümü için kullanılır. Örnekler ve standartlar ilk olarak 8-OHdG/BSA konjugatı kaplı elisa plate'lerine yüklenir. Kısa bir inkübasyondan sonra anti-8-OH-dG monoklonal antikorları eklenir. Bu işlemi takiben HRP konjugatlı sekonder antikorlar ilave edilir. Örneklerin içerdikleri 8-OHdG miktarları standart çözeltiler ile karşılaştırılarak hesaplanır.

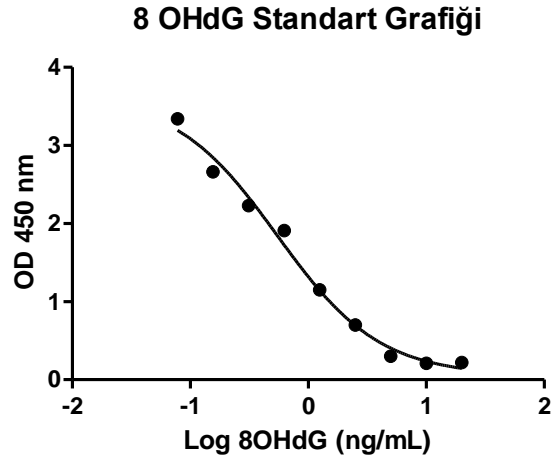
Kit içeriği

- 1- 96 kuyucuklu protein kaplı mikro plaka
- 2- Anti-8-OHdG antikor
- 3- HRP konjugatlı Sekonder antikor
- 4- Ölçüm dilüsyon tamponu
- 5- 10X yıkama tamponu

- 6- Substrat solüsyonu
- 7- Stop Solüsyonu
- 8- 8-OHdG Standart solüsyonu

Kit Prosedürü

- 1- 8-OHdG konjugatı 1µg/ml olacak şekilde PBS tamponu içerisinde sulandırıldı. Her bir mikrolakaya 100 µl konjugat eklenerek 24 saat 4 derecede inkübe edildi.
- 2- 8-OHdG konjugatı kaplı plakalara 200 µl ölçüm dilüsyon tamponu konuldu ve 1 saat oda sıcaklığında inkübasyon yapıldı.
- 3- Ölçüm dilüsyon tamponu döküldü. 1/10 oranında seyreltilen serumlar mikrolakalara ilave edildi ve 10 dakika oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
- 4- Her mikrolakaya 1/500 oranında ölçüm dilüsyon tamponu ile seyreltilmiş Anti-8-OHdG antikorundan 50 µl ilave edildi ve 1 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
- 5- Mikrolakalar boşaltıldıktan sonra, 3 defa 250 µl yıkama tamponu eklenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- 6- Her mikrolakaya 1/1000 oranında ölçüm dilüsyon tamponu ile seyreltilmiş HRP konjugatlı sekonder antikordan 100 µl eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
- 7- Mikrolakalar boşaltıldıktan sonra, 3 defa 250 µl yıkama tamponu eklenerek yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- 8- Oda sıcaklığında bekletilen substrat solüsyonundan her mikrolakaya 100 µl ilave edildi ve 15 dk oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda inkübe edildi.
- 9- Renk değişimi görüldükten sonra mikrolakalara 100 µl stop solüsyonu eklendi.
- 10- Mikrolakalar'ın absorbans değerleri 450 nm'de spektrofotometre kullanılarak okundu.
- 11- Örneklerdeki 8-OHdG miktarı aşağıdaki standart grafiğinden yararlanılarak hesaplandı.



Şekil 18. 8-OHdG Standart Grafiği

5.6. Lipid Peroksidasyon Tayini

Lipid peroksidasyonu (LPO) ürünü malondialdehid (MDA) ile tiyobarbütirik asit (TBA) arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembemsi rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilir (Beuge JA, Aust SD, 1978).

Gerekli Çözeltiler

- **TBA çözeltisi (0,047 M):** 500 mg TBA ile 1 M'lık NaOH ile karıştırılır. Üzerine 69 ml distile su ilave edilir.
- **NaOH (1M):** 4 gram NaOH tartılır biraz distile suda çözülür, hacmi 100 ml' ye distile su ile tamamlanır
- **Triklorasetik asit (TCA) çözeltisi (1.22 M 0.6 HCl deki):** 20 ml TCA (% 100 g TCA) ile 5 ml HCl (%37 g'lık d=1.19 g/dl lik HCl karıştırılır ve hacmi distile su ile 100 ml' ye tamamlanır.
- **n-butanol:** Orijinal şişesinden kullanılır.

Tablo 5. MDA ölçümünde kullanılacak prosedür

	Numune	Kör
Doku Homojenatı	0.25	-
Distile Su	-	0.25
TCA	1.25	1.25
Vorteksle karıştırılır ve 15 dk bekletilir.		
TBA	0.75	0.75
Vorteks ile karıştırılır ve 30 dk kaynar su banyosunda inkübe edilir		
n-butanol	2 ml	2 ml

İlave edilir. Vortekslenir ve 10 dk 3000 rpm'de santrifüj edilir. Butanol fazı alınarak 532 nm'de köre karşı absorbanlar kaydedilir. MDA için hesaplanmış ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ($1.56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılarak sonuç hesaplanır.

5.7. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Gerekli çözeltiler

- **50 mM K₂HPO₄ (pH: 6):** 8.709 g K₂HPO₄ tartılır biraz distile su ile çözülür, pH 6 olacak şekilde ayarlanıp hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır.
- **%0.5'lik HETAB (Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid):** 0.5 g HETAB, 50 mM K₂HPO₄ ile çözüldü. pH 6'ya ayarlandı ve hacmi 50 mM K₂HPO₄ ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **o-dianisidin-2 HCl:** 100 mg o-Dianizidin-2HCl distile suda çözülerek hacmi 5 ml'ye distile su ile tamamlanır.
- **% 2 lik Sodyum azid:** 2 g sodyum azid tartılır biraz distile su ile çözüldükten sonra hacmi distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **20 mM H₂O₂ (Hidrojen Peroksit):** 0.057 ml hidrojen peroksit alınır hacim distile su ile 50 ml'ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı

3 ml doku homojenatları 41400 g' de 4°C' lik sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edilir. Üst faz atılır, çökeltiyeye 3 ml % 0.5' lik HETAB eklenir. Homojenize edilir. 3 kez dondurulur, çözündürülür, sonike edilir. 41400 g' de 4°C' lik sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edilir. 0.3 ml üst faz ile çalışılır. Kör ve numune olmak üzere 2 deney tüpü alınır. Bu aşamadan sonraki işlemler 37 °C' lik su banyosunda yapılır.

Tablo 6. MPO ölçümünde uygulanacak prosedür

	Kör	Numune
50 mM K₂HPO₄	2.9 ml	2.9 ml
20 mM H₂O₂	0.2 ml	0.2 ml
o-dianisin-2 HCl	0.2 ml	0.2 ml
50 mM K₂HPO₄	0.3 ml	--
Üst faz	--	0.3 ml
3 dakika beklenir		
0.2 ml %2 lik Sodyum azid ile renk reaksiyonu durdurulur. 37°C lik su banyosundan alınır, karıştırılır, oda sıcaklığında bekletilir. 3000 devir/dakikada 10 dakika santrifüj edilir. Üst faz alınarak oluşan rengin absorbanansı spektrofotometrede 460 nm de okunur.		

Hesaplama

MPO için hesaplanmış ekstinksiyon katsayısı $42M^{-1}cm^{-1}$ kullanılarak sonuçlar U/mg protein dk cinsinden hesaplanır (Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C, 1990).

5.8. Glutasyon Tayini

Elman ayıracı, 5-5' ditiyobis 1-2 nitro benzoik asid (DTNB) ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan renkli spektrofotometrik olarak değerlendirilir.

Gerekli Çözeltiler

- **Sodyum Sitrat Çözeltisi (% g):** 1 g Sodyum Sitrat tartılır, biraz distile su ile çözülerek hacmi distile su ile 100 ml' ye tamamlanır.
- **Elman Ayıracı: (%40 mg DTNB):** 40 mg DTNB (5-5 ditiyobis 1-2 nitrobenzoik asit) tartılır, biraz sodyum sitrat çözeltisinde (%1 g) çözülür. Hacmi %1g'lık Sodyum Sitrat çözeltisi ile 100 ml' ye tamamlanır.
- **Proteinsizleştirme çözeltisi:** 1.67g Metafosforik Asit, 0,2 g etilen diamin tetra asetik asit sodyum tuzu (EDTA-Na), 30 g Sodyum Klorür ayrı ayrı biraz distile suda çözülür. Hepsi birleştirilir ve hacmi 100 ml' ye distile su ile tamamlanır.
- **Disodyum Fosfat çözeltisi (0.3 M):** 4.26 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ veya (5.34 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) biraz distile suda çözülür ve hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı

Bir deney tüpüne 0.2 ml doku homojenatı konur. Vorteks ile karıştırılır. Üzerine 0.3 ml proteinsizleştirme çözeltisinden ilave edilir. Vorteksle karıştırılır. 5 dk oda sıcaklığında bekletilir. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir. Çökelti atılır. Süpernatant alınır. İki tane deney tübü alınır. Numune ve kör olarak işaretlenerek aşağıdaki gibi çalışılır.

Tablo 7. GSH ölçümünde uygulanacak prosedür

	Numune	Kör
Distile su	-	0.2 ml
Süpernatant	0.2 ml	-
Na_2HPO_4	0.8 ml	0.8 ml
Elman Ayıracı	0.1 ml	0.1 ml

Tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 5 dk bekletilir. Köre karşı 412 nm'de absorbans kaydedilir. Sonuçlar ekstinksiyon katsayısı ($13600/ m^{-1} cm^{-1}$) kullanılarak hesaplanır (Beutler E, Duron O, Kelly BM, 1963).

5.9. Glutasyon-S Transferaz Aktivitesi Tayini

Glutasyon-S Transferaz (GST) aktivitesi tayini, GSH ve 1-kloro2,4-dinitro-benzenin (CDNB) konjugasyonu ile oluşan ürünün, 340 nm'deki absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanır.

Gerekli çözeltiler

- **Sodyum Fosfat Tamponu: (0.2 M, pH=6,5):** 0.534 gram $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ve 2.3 gram KH_2PO_4 ayrı ayrı biraz distile suda çözülür ve birbirine karıştırılır ve hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlanır (hacim 100 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 6.5'e ayarlanır) ($2^{\circ}C$ ' de saklanır).
- **Glutasyon (GSH) (60 mM):** 1.84 gram glutasyon biraz distile suda çözülür ve hacmi 100 ml' ye tamamlanır (taze hazırlanır).
- **1-klor-2,4-dinitro-benzen (CDNB) (60mM):** Absolü etanolde taze hazırlanır. 1.22 gram CDNB tartılır ve biraz etanolde çözülür. Sonra hacmi 100 ml'ye tamamlanır (taze hazırlanır).

Deneyin Yapılışı

% 10 gramlık doku homojenatı 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edildikten sonra 1/10 oranında Serum Fizyolojik ile seyreltme yapılarak Numune ve kör tüplerine aşağıdaki prosedüre uygun şekilde gerekli çözeltiler eklenerek çalışılır.

Tablo 8. GST ölçümünde uygulanacak prosedür

	Numune	Kör
Süpernatant	0,5 ml	-
SF veya Distile Su	-	0,5 ml
Fosfat Tamponu	1,5 ml	1,5 ml

Tablo 8. GST ölçümünde uygulanacak prosedür (devamı)

GSH Çözeltisi	0,05 ml	0,05 ml
CDNB Çözeltisi	0,05 ml	0,05 ml
Distile Su	0,9 ml	0,9 ml
Toplam Hacim	3 ml	3 ml

Tüpler vortex ile karıştırılır. 3 dakika süre (0., 1., 2., 3. dakikalarda) ile karışımın 340 nm'de (25°C) absorbanları izlenir ve kaydedilir. GSH ve CDNB'nin konjugasyonu sonucu oluşan ürün için saptanmış olan ekstinksiyon katsayısı $9,6 \text{ nM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ kullanılarak (U/mg protein dak) olarak hesaplanır (Habig,1974).

5.10. Katalaz Aktivitesi Tayini

Prensip: Katalaz (CAT) enzimi; H_2O_2 ' nin H_2O ' ya dönüşüm reaksiyonunu katalize eder. Bu dönüşüm 240 nm'de absorbanın azalması ile takip edilebilir. 1 dakikada absorbanstaki azalma katalaz aktivitesi ile ilgilidir.

Gerekli Çözeltiler

- **Fosfat Tamponu (50mM, pH= 7.0):** a.) 6.81 g KH_2PO_4 ve b.) 8.90 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözüldükten sonra hacimleri ayrı ayrı distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Kullanılacağı vakit a' dan 1 hacim b'den 1,5 hacim alınarak karıştırılır (pH=7.0 olmalı) (2°C'de saklanır) (fosfat tamponu bakteriyal kontaminasyon olmadığı sürece stabildir, kullanılabilir)
- **H_2O_2 çözeltisi (30 mM) + Fosfat tamponu:** Yoğunluğu $d= 1.11 \text{ g/ml}$ olan % 30 g lık H_2O_2 çözeltisinden 0.31 ml alınır ve 50 mM'lık fosfat tamponu (pH=7.0) ile 100 ml'ye seyreltilir (taze hazırlanır).

- **Doku homojenatı:** Doku serum fizyolojik ile homojenize edilir. Gerekirse doku serum fizyolojik ile seyreltilebilir. Ön denemelerle dokunun ne kadar seyreltileceği önceden tespit edilmelidir.

Deneyin Yapılışı

%10 gramlık doku homojenatı 10 dk 4000 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır ve gerekirse serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır, süpernatant dilue edildikten sonra 5-10 dakika içinde mutlaka çalışılmalıdır.

Numune ve kör olarak işaretlenmiş 2 ayrı deney tüpü alınır. Aşağıdaki gibi çalışılır:

Tablo 9. CAT ölçümünde uygulanacak prosedür

	Numune	Kör
Fosfat Tamponu	-	0.4 ml
Süpernatant	0.8 ml	0.8 ml
H₂O₂ çözeltisi + fosfat tamponu	0.4 ml	-

İlave edilir ve karıştırılır. 1 dk sonra 240 nm de absorbanları okunarak kaydedilir. Sonuçlar bu deney için ekstinksiyon katsayısı 0.004 (0.00391) mM⁻¹/mm⁻¹ dır. CAT aktivitesi (U/mg protein dak) cinsinden hesaplanır (Aebi H, 1974).

5.11. Superoksid Dismutaz Aktivitesi Tayini

Prensip

Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesi riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisinin foto-oksidasyon hızını arttırma yeteneği olarak ölçülür. Riboflavinin floresans ışığı etkisiyle oluşturduğu süperoksit radikali, ortamdaki SOD' un etkisiyle hidrojen peroksite dönüşür. H₂O₂ ise o-dianisin ile reaksiyona girerek renkli ürün

oluşturur. SOD aktivitesi ne kadar çok ise renkli ürün oluşumu o kadar fazla olur. Oluşan renkli ürünün absorbansı 460 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilir

Gerekli Çözeltiler

Fosfat Tamponu (50mM, pH=7.8): 0,136 gr KH₂PO₄ ve 0.697 gr K₂HPO₄ tartılıp ayrı ayrı biraz distile suda çözülür, birleştirilir ve hacmi distile su ile 100 ml' ye tamamlanır (hacim 100 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.8'e ayarlanır) (2°C' da saklanır).

Fosfat Tamponu + 0.1 M'lık Na-EDTA: 0.037 gram Na-EDTA tartılır biraz 50 mM lık fosfat tamponunda çözülür ve hacmi 50mM lık fosfat tamponu ile 100 ml'ye tamamlanır

Potasyum Fosfat tamponu (10 mM pH= 7.5): 0.041 gr KH₂PO₄ ve 0.122 gr K₂HPO₄ tartılıp ayrı ayrı distile suda çözülür birleştirilir ve hacmi 100 ml ye tamamlanır hacim 100 ml'ye tamamlanmadan önce pH kontrol edilir, pH 7.5'a ayarlanır) (2°C' da saklanır).

Riboflavin (0.2 mM): 7.5 mg riboflavin 100 ml potasyum fosfat tamponunda (10 mM pH= 7.5) çözülür.

O dianisin: 19 mg o-dianisin 10 ml distile suda çözülür.

SOD (120 IU/ml) stok standardı (Sigma S-2515-3000 U): Liofilize standardı 120 IU/ml olacak şekilde soğuk distile su ile çözülür. Daha sonra bu stok standartdan uygun hacimler alınarak deney ortamında 3, 6, 9, 12 ünite SOD olması sağlanır.

Deneyin Yapılışı

% 10 gramlık doku homojenatı 10 dk 400 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant alınır tam veya 1/10 oranında serum fizyolojik ile seyreltilerek çalışılır. Numune, standart ve kör olmak üzere 3 deney tüpü alınır (Mylorie AA , Collins H , Umbles C , Kyle J, 1986).

Tablo 10. SOD ölçümünde uygulanacak prosedür

	Numune	Standart 3U	Standart 6 U	Standart 9 U	Standart 12 U	Kör
Fosfat Tamponu (pH 7.8)	2.6 ml	2.6 ml	2.6 ml	2.6 ml	2.6 ml	2.6 ml
o-dianisin	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml
Distile su	--	0.075 ml	0.05 ml	0.025 ml	--	0.1 ml
Stok standart (120 U/ml)	--	0.025 ml	0.05 ml	0.075 ml	0.1 ml	--
Dilue standart	0.1 ml	--	--	--	--	--
Her tüpe 30 sn ara ile 0.2 ml riboflavin konur, karıştırılır. 460 nm'de abs okunur						
Sonra tüpler oda sıcaklığında 20 W Floresans lamba bulunan kutu içinde 8 dk inkübe edilir. 460 nm'de absorbans okunur						

5.12. ESR1, ESR2 ve NF-kB Gen Düzeylerinin Ölçümü

Uterus Dokusundan RNA İzolasyonu

Uterus dokusundan RNA izolasyonu, RNA Mini Kit (Pure Link 12183020) kullanılarak yapıldı.

Bu kit bitki ve hayvan hücreleri, doku, kan, bakteri, maya gibi örneklerden güvenilir ve hızlı bir şekilde yüksek kalitede total RNA izolasyonu yapılmasını sağlar.

Kit içeriği

20 ml Lizis tamponu, 10 ml Yıkama tamponu-1, 4 ml yıkama tamponu-2, 3 ml RNaz-Free Su, 10 adet Spin Kartuşu, 10 adet Toplama tüpü, 10 adet Kurtarma tüpünden oluşmaktadır.

Deney Prosedürü

Liziz ve Homojenizasyon

1. Örnekler RNaz free tüplere alındı ve 2000 g'de 5 dk 4 °C'da santrifüj edildi.
2. Pellet atıldı ve üzerine 0,3 ml 2-merkaptetanollü Lizis tamponu eklendi ve vorteks ile karışması sağlandı.
3. Lizatlar RNaz free tüplere alındı ve 45 sn homojenizatörde homojenize edildi daha sonra homojenatlar 2600 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Sonra süpernatantlar RNaz free tüplere alındı.

Bağlanma, Yıkama ve Elüsyon

1. Homojenatların üzerine 1 hacim %70 lik etanol eklendi ve vorteksle karışması sağlandı
2. Her örnekten 700µl alındı ve toplama tüplerini içeren spin kartuşlara eklendi.
3. 12000 g'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj edildi ve toplama tüpleri yenileri ile değiştirildi.
4. 3. ve 4. adımlar tekrarlandı
5. Spin kartuşlara 700 µl yıkama tamponu-1 eklendi.
6. 12.000 g'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj edildi toplama tüpleri yenileri ile değiştirildi.
7. 500 µl etanollü yıkama tamponu-2 eklendi
8. 12.000 g'de 15 sn oda sıcaklığında santrifüj edildi.
9. 7. ve 8. adımlar tekrarlandı
10. Spin kartuşlar 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi ve toplama tüpleri çıkartılarak spin kartuşlar kurtarma tüpleri içine kondu.
11. 50 µl RNaz free su spin kartuşlara eklendi
12. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
13. 12.000 g'de 2 dk oda sıcaklığında santrifüj edildi ve RNA'lar membrandan kurtarma tüplerine aktarıldı.
14. Elde edilen RNA stokları -80°C a kaldırıldı.

cDNA sentezi

Saklanan mRNA örneklerinde önce Nanodrop kullanılarak total RNA miktarları tayin edildi. Thermo Scientific Strand cDNA Synthesis Kit (K1621) ile prosedüre uygun olarak cDNA elde edildi.

Tablo 11. cDNA sentez kiti içeriği

Total RNA	0.1-5 µg
OligodT primer	1 µl
Random heksamer primer	1 µl
Nükleaz içermeyen tüpler içerisine konulan örnekler üzerine primerler eklenerek 65 °C de 5 dakika inkübasyon yapılarak hemen buz üzerine konuldu. Daha sonra tüp içerisine aşağıda belirtilen miktarlarda bileşikler eklenerek reaksiyon başlatıldı.	
5X Reaksiyon Tamponu	4 µl
RiboLock™ RNazInhibitor (20 u/µl)	1 µl
10 mMdNTP	2 µl
M-MuLVReverseTranskriptaz (20 u/ µl)	2 µl
Toplam hacim	20 µl
PCR reaksiyonu için 5 dakika 25 ⁰ C, 60 dakika 42 ⁰ C, 5 dakika 70 ⁰ C olmak üzere ayarlandı. Bitiminde hemen buza konularak cDNA örnekleri -80 ⁰ C de saklandı. cDNA örneklerinin bir kısmı 1:10 dilüe edilerek PCR için hazırlandı.	

PCR koşulları

Polimeraz zincir reaksiyonu için 2X PCR Master Mix Solution (i-Taq 25027) kiti kullanıldı ve kit prosedürüne uygun olarak deney yapıldı

PCR Master mix içeriği

Tablo 12. PCR Master mix içeriği

i-Taq DNA polimeraz (5U/μl)	2.5 U
dNTPs	2.5 mM
PCR Reaksiyon Tamponu	1 x
Jel yükleme tamponu	1 x

Deney Prosedürü

Doku homojenatlarından elde edilen cDNA'lar 1/10 oranında seyreltildi. Daha sonra her tüpe aşağıdaki tabloya uygun olarak soğuk zinciri bozmadan pipetleme yapıldı.

Tablo 13. PCR tp içeriği

2x PCR Master mix solusyonu	10 μ l
1/10 dilüe cDNA	2 μ l
Forward Primer (10pmol/ μl)	1 μ l
Reverse Primer (10pmol/ μl)	1 μ l
Distile su	6 μ l
Toplam Hacim:	20 μl

Tüpler vorteks ile karıştırıldıktan sonra PCR cihazına yerleştirildi ve primerler için uygun sıcaklık için optimizasyon çalışmaları yapıldı. Optimize edildikten sonra aşağıdaki şekilde döngülerin gerçekleşmesi için PCR cihazı ayarlandı.

Tablo 14. PCR siklus bilgileri

ESR1-1 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
35 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	55 °C	10 sn
	Uzama	70 °C	25 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	
ESR1-2 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
34 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	51 °C	10 sn
	Uzama	70 °C	25 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	
ESR2-1 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
35 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	58 °C	10 sn
	Uzama	70 °C	25 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	
ESR2-2 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
33 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	55 °C	10 sn
	Uzama	68 °C	25 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	

Tablo 14. PCR siklus bilgileri (devamı)

NF-kB-1 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
34 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	51 °C	10 sn
	Uzama	67 °C	23 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	
NF-kB-2 için siklus	Sıcaklık	Süre	
Başlangıç denatürasyonu	94°C	2 dak	
32 döngü	Denatürasyon	94 °C	20 sn
	Bağlanma	53 °C	10 sn
	Uzama	68 °C	23 sn
Son uzama	72 °C	2 dk	

Tablo15. Gen düzeyleri için seçilen primerler

Gen	Seçilen primerler	Ürün
ESR1-1	F: 5' GCGCCACTCGATCATTCGA 3'	238 bp
	R: 5' TCCCTTGGATCTGGTGCAA 3'	
ESR1-2	F: 5'GGCCCAGCTCCTCCTCATCC 3'	230 bp
	R: 5 'AGGTTTGTAAGGAATGTGCT 3'	
ESR2-1	F: 5' GGCCAACTTCTGGGCACCT 3'	200 bp
	R: 5' AGTGAGCATCCCTCTTTGCG 3'	

Tablo15. Gen düzeyleri için seçilen primerler (devamı)

ESR2-2	F: 5' AGCCTGTTGGACCAAGTCC 3'	170 bp
	R: 5' CAGCACTCTTCATCTGCGC 3'	
NF-kB-1	F: 5' GGATGAAGAACCAAAGAA 3'	170 bp
	R: 5' AGACTCTGAGTCACTGTCGC 3'	
NF-kB-2	F: 5' GAAAGGAGTCCAGTGATTC 3'	125 bp
	R: 5' GGCAAGTGTTTTGGGAGCC 3'	
B-aktin	F: 5' ATGAAGATCCTGACCGAGCGTG 3'	250 bp
	R: 5' CTTGCTGATCCACATCTGCTGG 3'	

Agaroz Jel Elektorforezi

% 1.5 lik agaroz jel TBE tamponu içerisinde hazırlandı. 5X TBE tamponu içerisinde: 54 gr TRIS-base, 27,5 gr borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) 1L distile suda çözüldü. 1.5 gr agaroz, TBE tamponu ile 100 ml'ye tamamlandı ve kaynatılarak erimesi sağlandı. Tamamen homojen olması sağlanıp hafifçe karıştırılarak içerisinde 5 µl Etidyum Bromür eklendi. Yatay elektroforez tankına hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde jel döküldü. Kuyucukların oluşmasını sağlayan taraklar takıldı ve donmaya bırakıldı. PCR'dan elde edilen ürünlerden 15 µl örnek alınarak agaroz jel üzerindeki kuyucuklara yükleme yapıldı. 5 µl standart ilk kuyucuğa yüklendi. Jel üzeri tampon tamamlanarak 90 V'da 70 dk boyunca yürütüldü. Daha sonra UV ışık altında görüntüleme sistemi kullanılarak bantların görüntüsü elde edildi. B-aktin referans gen olarak kullanıldı.

5.13. Histolojik İnceleme

Karaciğer, böbrek ve uterus doksundan alınan parçalar ilk olarak fiksasyon amacı ile %10'luk formaldehit içine kondu. Sonra sırası ile Dehidratasyon, Şeffaflaştırma, Bloklama (Gömme), Kesit Alma, Boyama ve Kapatma işlemlerine tabi tutularak mikroskop incelemesine başlandı.

Dehidratasyon

Saf su 1 gece, %70 alkol 30 dk , %90 alkol 30 dk, %96 alkol 30 dk, %100 alkol 2×30 dk

Şeffaflaştırma

Toluene 2× 30 dk

Parafine Gömme

Sıvı parafin 1 gece (etüvde) , Katı parafin 1 saat

Kesit Alma

Parafin bloklar halindeki doku parçalarından mikrotom yardımı ile 5 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Boyama

Toluen 90 dakika, %100 alkol 1 dk, %90 alkol 1 dk, %70 alkol 1 dk

Distile su 2 dk

Hematoksilen 2 dk

Akan çeşme suyu 2 dk

Eozin 1 dk

% 70 alkol 1 dk, % 90 alkol 1 dk, % 95 alkol 1 dk, %100 alkol 2×10 dk, Toluen 2×30 dk

Kapatma

Boyama işlemi tamamlanan preparatların üzerine bir damla Entellan damlatılarak lamel ile kapatılır.

6. BULGULAR

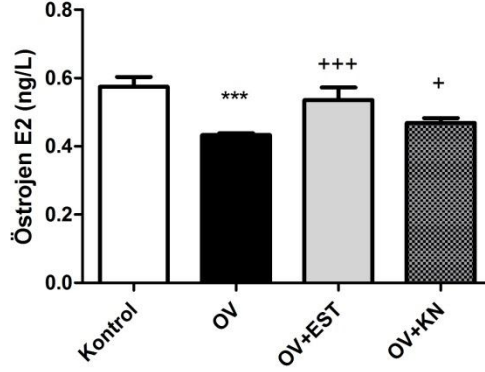
6.1. Kudret Narı içerisinde bulunan bazı temel bileşenler

Serum fizyolojikte çözülmüş olan meyve ekstresinde yapılan deneyler sonucunda aşağıdaki maddelerden pozitif veya negatif sonuçlar bulunmuştur.

Tablo16. Kudret narı meyve içeriği

Pozitif sonuç verenler	Negatif sonuç verenler
Karotenoidler	Steroller ve triterpenler
Flavon aglikonlar	Alkaloitler
Karbonhidrat türevleri	Antrasen aglikonları
	Kumarinler
	Polyuronitler
	Saponinler
	Tanenler

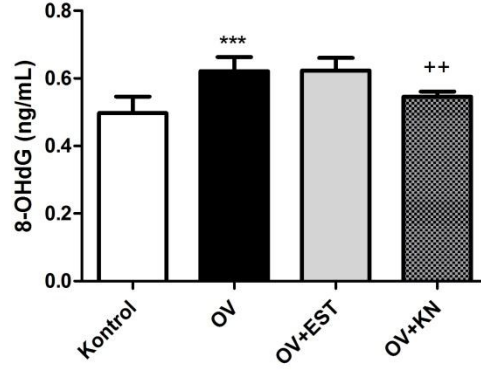
6.2. Serum Östrojen Düzeyleri



Şekil 19. Serum östrojen seviyeleri (*** $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$, +++ $p < 0.001$ Overektomi grubuna göre)

Serum östrojen düzeyleri overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azalmıştır. Overektomize sıçanlara EST ve kudret narı (KN) meyve ekstresinin uygulanması ile serum östrojen düzeylerinin overektomi grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir.

6.3. Serum Oksidatif DNA hasarı düzeyleri

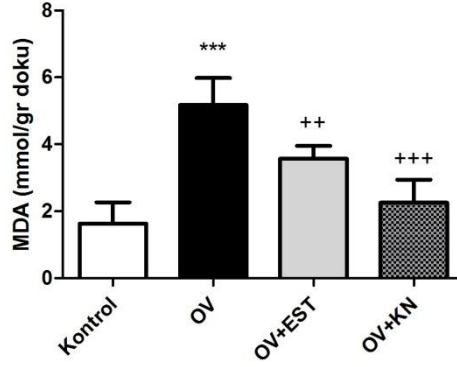


Şekil 20. Serum Oksidatif DNA hasarı düzeyleri (** $p < 0.001$ Kontrol grubuna göre, ** $p < 0.01$ Overektomi grubuna göre)

Serum oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG overektomi grubunda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresi uygulaması ile 8-OHdG düzeyinin overektomi grubuna göre azaldığı görülmektedir. EST uygulanan sıçanlarda overektomi grubuna göre anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

6.4. Kudret Narı'nın Karaciğer Üzerindeki Etkileri

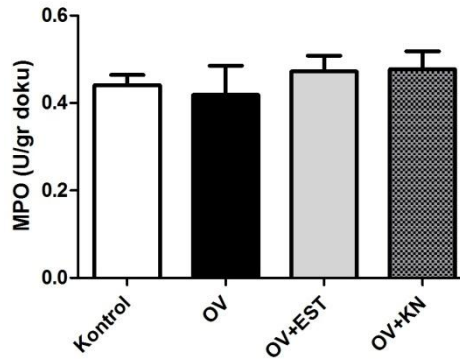
6.4.1. Karaciğer MDA seviyeleri



Şekil 21. Karaciğer MDA seviyesi (***p<0.001 Kontrol grubuna göre, **p<0.01, +++p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Karaciğer dokusunda overektomi sonucu MDA seviyesi kontrol grubuna göre artmıştır. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin ve EST uygulmasının overektomi grubuna göre MDA seviyesini azalttığı gözlemlenmiştir.

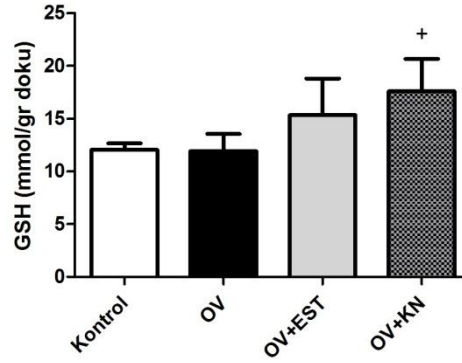
6.4.2. Karaciğer MPO seviyeleri



Şekil 22. Karaciğer MPO seviyesi

Karaciğer dokusunda overektomi sonucu ve overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstrelerinin MPO seviyesi üzerine herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

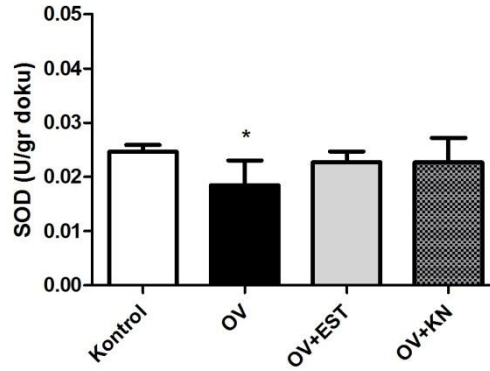
6.4.3. Karaciğer GSH seviyeleri



Şekil 23. Karaciğer GSH seviyesi ($^+p<0.05$ Overektomi grubuna göre)

Overektomi grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karaciğer GSH düzeylerinde anlamlı değişikliğe rastlanmamıştır. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin, karaciğer GSH miktarını overektomi grubuna göre anlamlı derecede arttırdığı gözlenmiştir. EST grubunda artış görülmesine rağmen bu anlamlı bulunamamıştır.

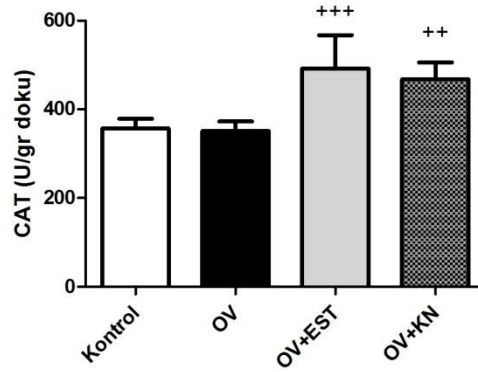
6.4.4. Karaciğer SOD aktivite seviyeleri



Şekil 24. Karaciğer SOD seviyesi ($^*p<0.05$ Kontrol grubuna göre)

Karaciğer SOD aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. Overektomi grubuna göre EST ve KN uygulaması ile arttığı görülmesine rağmen bu anlamlı bulunamamıştır.

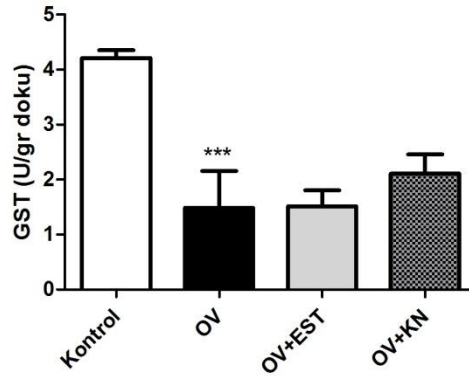
6.4.5. Karaciğer Katalaz aktivite seviyeleri



Şekil 25. Karaciğer CAT seviyesi (** p<0.01 *** p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Karaciğer CAT aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. EST ve KN meyve ekstralarının uygulanmasının overektomi grubuna göre CAT aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir.

6.4.6. Karaciğer GST aktivite seviyeleri

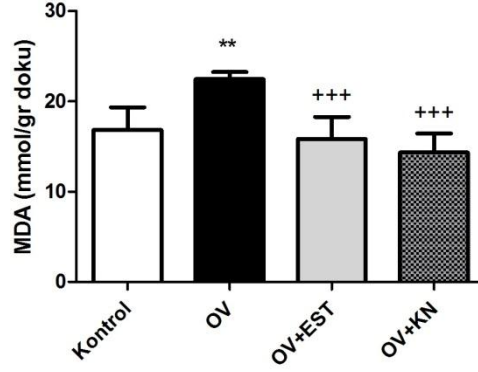


Şekil 26. Karaciğer GST seviyesi (*** p<0.001 Kontrol grubuna göre)

Karaciğer GST aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı bulunmuştur. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstralarının overektomi grubuna göre GST aktivitesi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

6.5. Kudret Narı'nın Böbrek Üzerindeki Etkileri

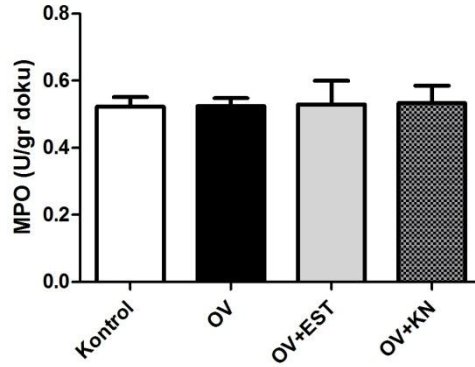
6.5.1. Böbrek MDA seviyeleri



Şekil 27. Böbrek MDA seviyesi (**p<0.01 Kontrol grubuna göre, ***p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Böbrek MDA seviyesinin overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında arttığı gözlenmiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin ve EST uygulamasının overektomi grubuna göre böbrek MDA seviyesini anlamlı derecede azalttığı gözlenmiştir.

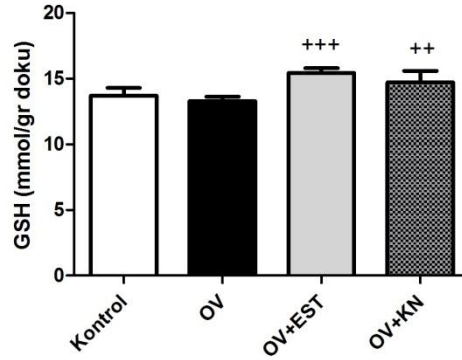
6.5.2. Böbrek MPO seviyeleri



Şekil 28. Böbrek MPO seviyesi

Böbrek MPO düzeylerinde overektomi sonucu ve overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin herhangi bir etkisi olmadığı gözlenmiştir.

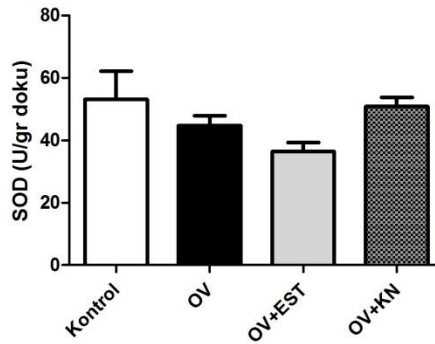
6.5.3. Böbrek GSH seviyeleri



Şekil 29. Böbrek GSH seviyesi ($^{++}p<0.01$, $^{+++}p<0.001$ Overektomi grubuna göre)

Böbrek GSH düzeyinin overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı bulunmuştur. Overektomize sıçanlara KN meyve ekstresinin ve EST uygulanmasının böbrek GSH düzeylerini overektomi grubuna göre arttırdığı gözlenmiştir.

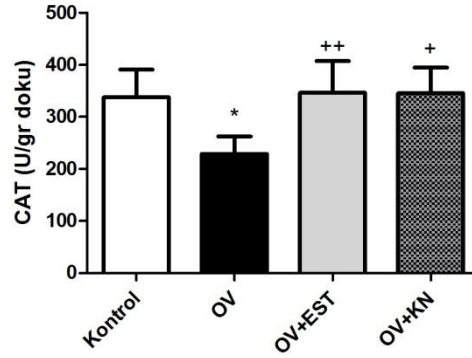
6.5.4. Böbrek SOD aktivite seviyeleri



Şekil 30. Böbrek SOD seviyesi

Böbrek SOD aktivitesinin, overektomi sonucunda azaldığı fakat bunun anlamlı olmadığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresi ve EST uygulamasının overektomi grubuna göre değişiklikleri anlamlı bulunamamıştır.

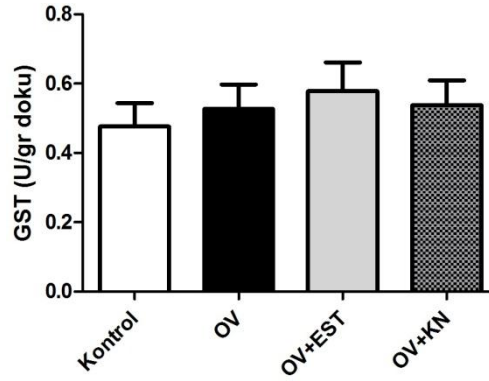
6.5.5. Böbrek Katalaz aktivite seviyeleri



Şekil 31. Böbrek CAT seviyesi (* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ Overektomi grubuna göre)

Böbrek CAT aktivitesinin, overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin böbrek CAT aktivitesini overektomi grubuna göre arttırdığı gözlenmiştir.

6.5.6. Böbrek GST aktivite seviyeleri

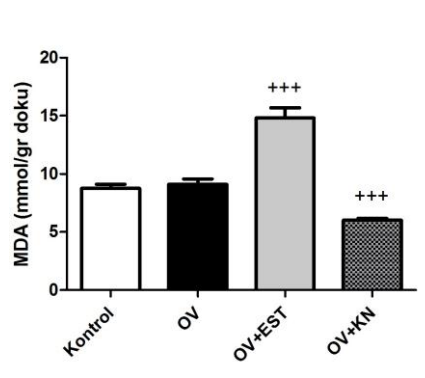


Şekil 32. Böbrek GST seviyesi

Böbrek dokusunda GST aktivitesinin, overektomi sonucunda ve overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin GST aktivitesi üzerine etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

6.6. Kudret Narı'nın Uterus Üzerindeki Etkileri

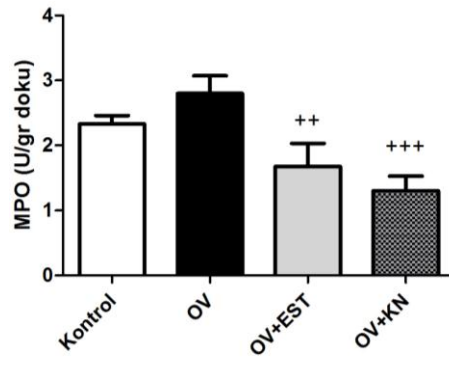
6.6.1. Uterus MDA seviyeleri



Şekil 33. Uterus MDA seviyesi (***p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus MDA seviyeleri overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin overektomi grubuna göre uterus dokusundaki MDA seviyesini azalttığı, EST uygulmasının ise MDA düzeyini arttırdığı gözlenmiştir.

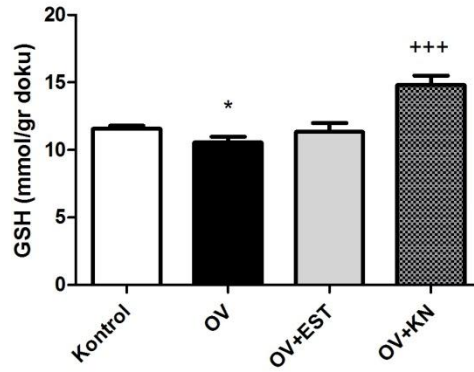
6.6.2. Uterus MPO seviyeleri



Şekil 34. Uterus MPO seviyesi (**p<0.01, ***p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus MPO seviyesinin overektomi grubunda kontrol grubuna göre arttığı gözlenmiş fakat anlamlı bulunamamıştır. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin ve EST'nin uterus MPO seviyesini overektomi grubuna göre anlamlı derecede azalttığı gözlenmiştir.

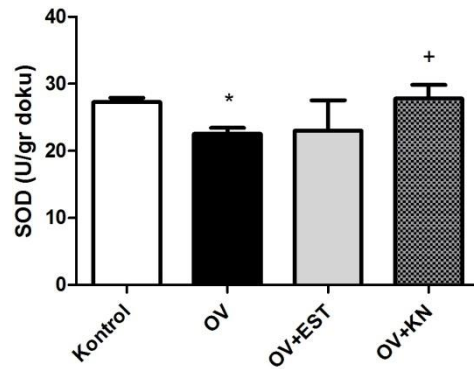
6.6.3. Uterus GSH seviyeleri



Şekil 35. Uterus GSH seviyesi (* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre, +++ $p < 0.001$ Overektomi grubuna göre)

Uterus GSH düzeyinin overektomi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin ise azalan GSH düzeyini arttırdığı gözlenmiş, EST uygulanan grupta anlamlı değişikliğe rastlanamamıştır.

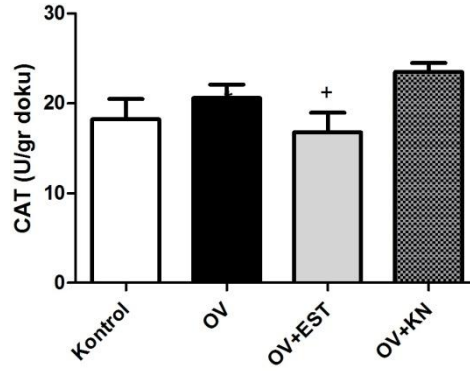
6.6.4. Uterus SOD aktivite seviyeleri



Şekil 36. Uterus SOD seviyesi (* $p < 0.05$ Kontrol grubuna göre, + $p < 0.05$ Overektomi grubuna göre)

Uterus SOD aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan KN meyve ekstresinin ise azalan SOD aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir. EST uygulamasının anlamlı değişikliğe neden olmadığı bulunmuştur.

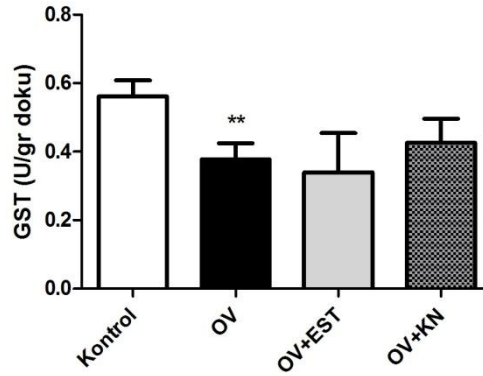
6.6.5. Uterus CAT aktivite seviyeleri



Şekil 37. Uterus CAT seviyesi ($^{\dagger}p<0.05$ Overektomi grubuna göre)

Uterus CAT aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST' nin uterus CAT aktivitesini overektomi grubuna göre azalttığı, KN meyve ekstresinin ise anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı gözlenmiştir.

6.6.6. Uterus GST aktivite seviyeleri

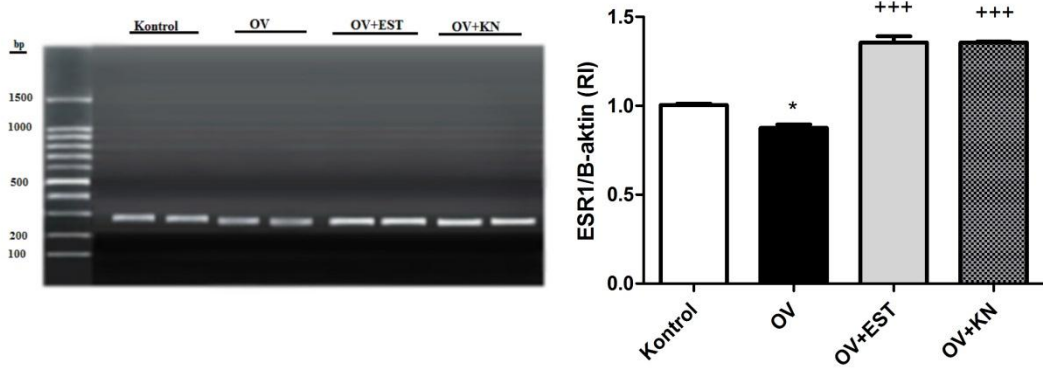


Şekil 38. Uterus GST seviyesi (** $p<0.01$ Kontrol grubuna göre)

Uterus GST aktivitesinin overektomi grubunda kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus CAT aktivitesi üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir.

6.7. Kudret Narı'nın Uterus Östrojen Reseptör Geni ESR1 Üzerindeki Etkisi

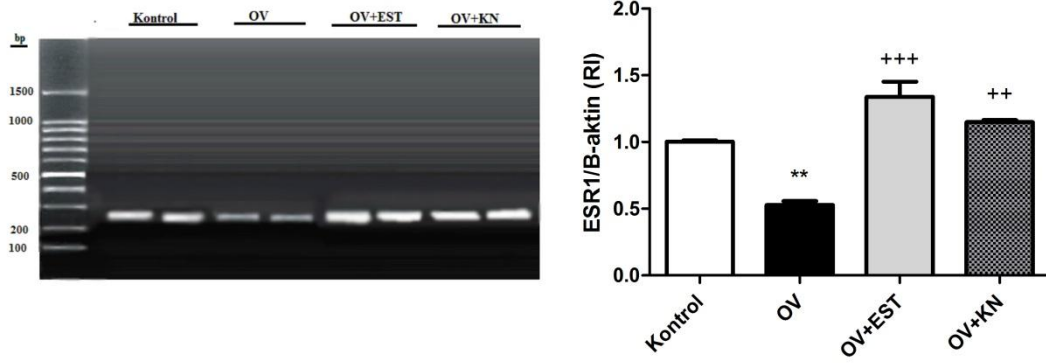
6.7.1. ESR1 geni için ESR1-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları



Şekil 39. ESR1-1 primeri kullanılarak ESR1 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi (* p<0.05 Kontrol grubuna göre +++p<0.001Overektomi grubuna göre)

Uterus dokusunda ESR1-1 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan ESR1 gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus ESR1 gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa neden olmuştur.

6.7.2. ESR1 geni için ESR1-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları

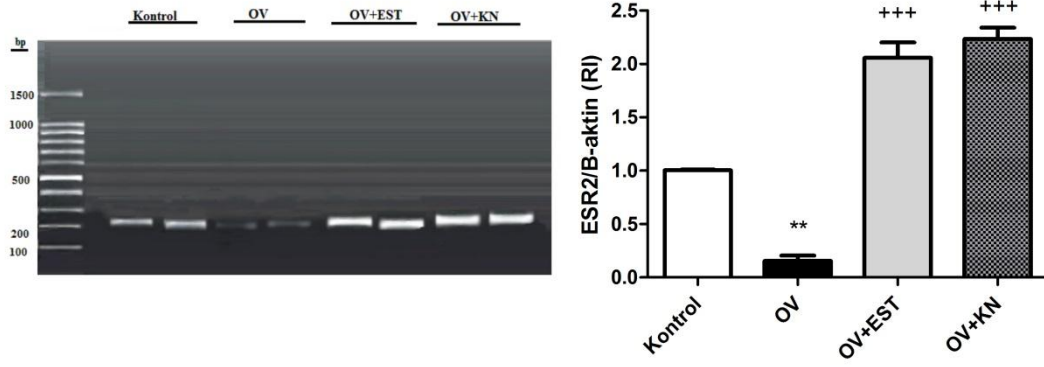


Şekil 40. ESR1-2 primeri kullanılarak ESR1 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi (** p<0.01 Kontrol grubuna göre, ++p<0.01, +++p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus dokusunda ESR1-2 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan ESR1 gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus ESR1 gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa neden olmuştur.

6.8. Kudret Narı'nın Uterus Östrojen Reseptör Geni ESR2 Üzerindeki Etkisi

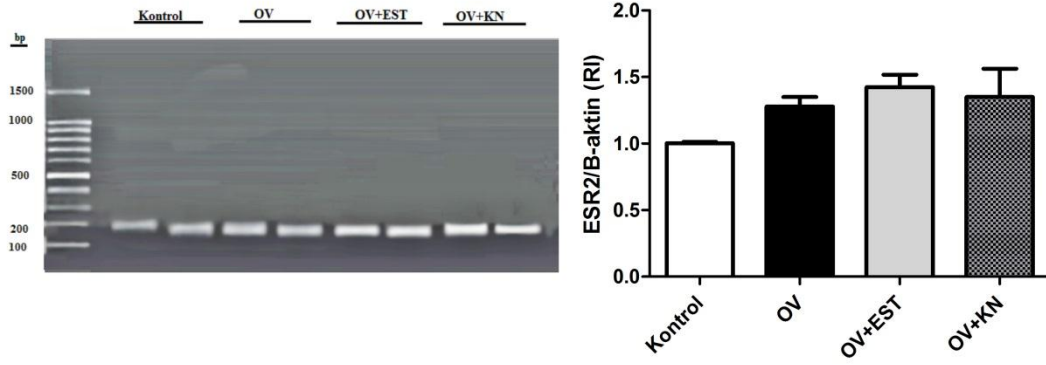
6.8.1. ESR2 geni için ESR2-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları



Şekil 41. ESR2-1 primeri kullanılarak ESR2 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi (** p<0.01 Kontrol grubuna göre +++p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus dokusunda ESR2-1 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan ESR2 gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı azalma görülmüştür. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus ESR2 gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa neden olmuştur.

6.8.2. ESR2 geni için ESR2-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları

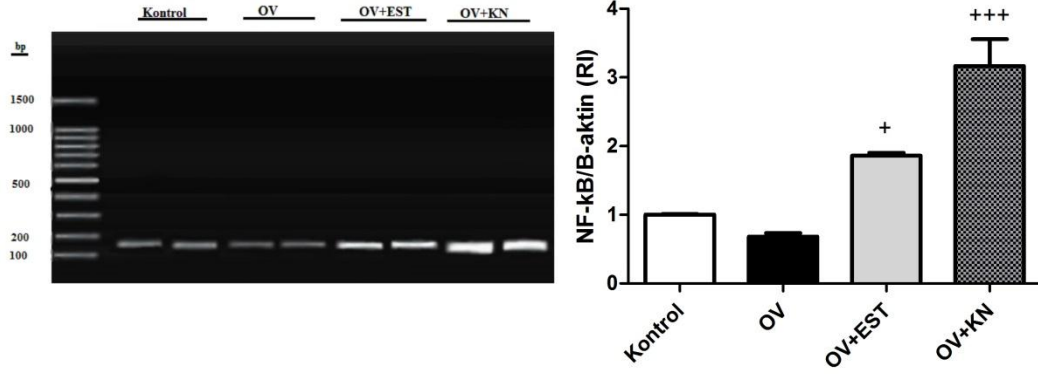


Şekil 42. ESR2-2 primeri kullanılarak ESR2 gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi

Uterus dokusunda ESR2-2 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan ESR2 gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre artış görülmüş fakat anlamlı bulunamamıştır. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus ESR2 gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır.

6.9. Kudret Narı'nın Uterus NF-kB Üzerindeki Etkisi

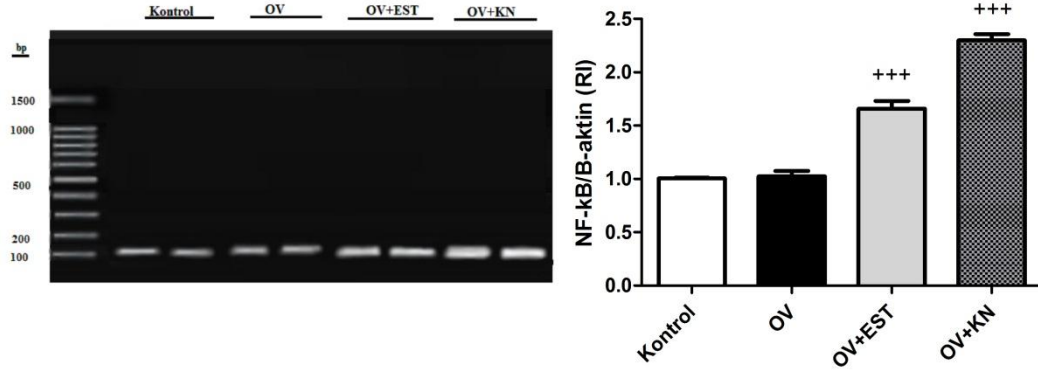
6.9.1. NF-kB geni için NF-kB-1 primeri ile yapılan PCR sonuçları



Şekil 43. NF-kB-1 primeri kullanılarak NF-kB gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi (⁺p<0.05, ⁺⁺⁺p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus dokusunda NF-kB-1 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan NF-kB gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus NF-kB gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa neden olmuştur. Bu artışın en fazla kudret narı ekstresi ile olduğu görülmüştür.

6.9.1. NF-kB geni için NF-kB-2 primeri ile yapılan PCR sonuçları



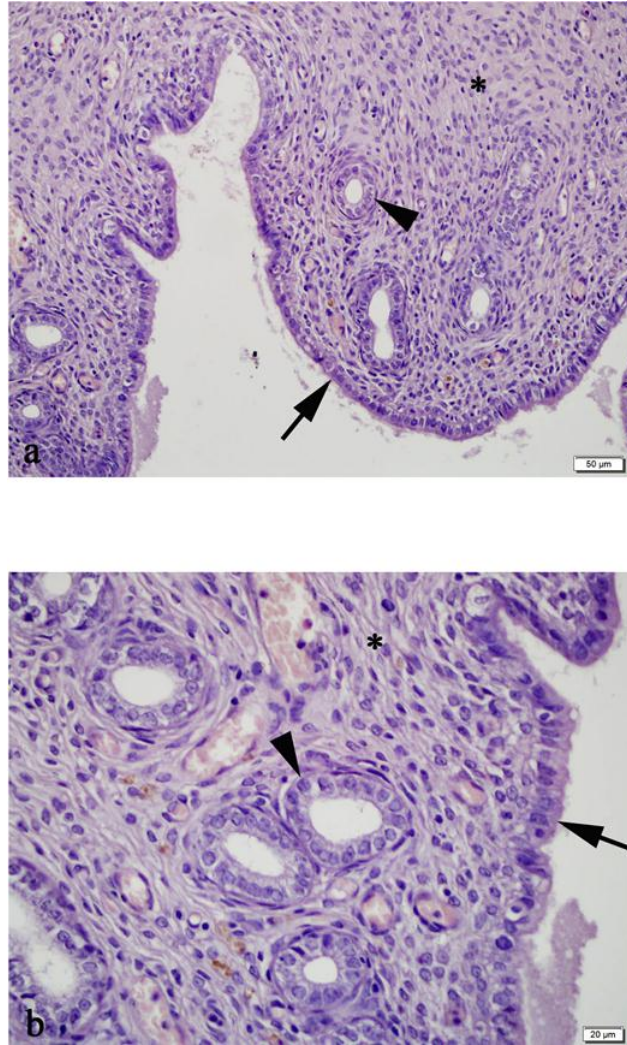
Şekil 44. NF-kB-2 primeri kullanılarak NF-kB gen bölgesinin agaroz jel görüntüsü ve düzeyi (+++p<0.001 Overektomi grubuna göre)

Uterus dokusunda NF-kB-2 primeri kullanılarak PCR ile çoğaltılan NF-kB gen bölgesinin % 1.5 lik agaroz jeldeki görüntüsü görülmektedir. Bantların yoğunluğunun analizi sonucu overektomi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan EST ve KN meyve ekstresinin ise uterus NF-kB gen düzeyleri overektomi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir artışa neden olmuştur.

6.10. Histolojik Bulgular

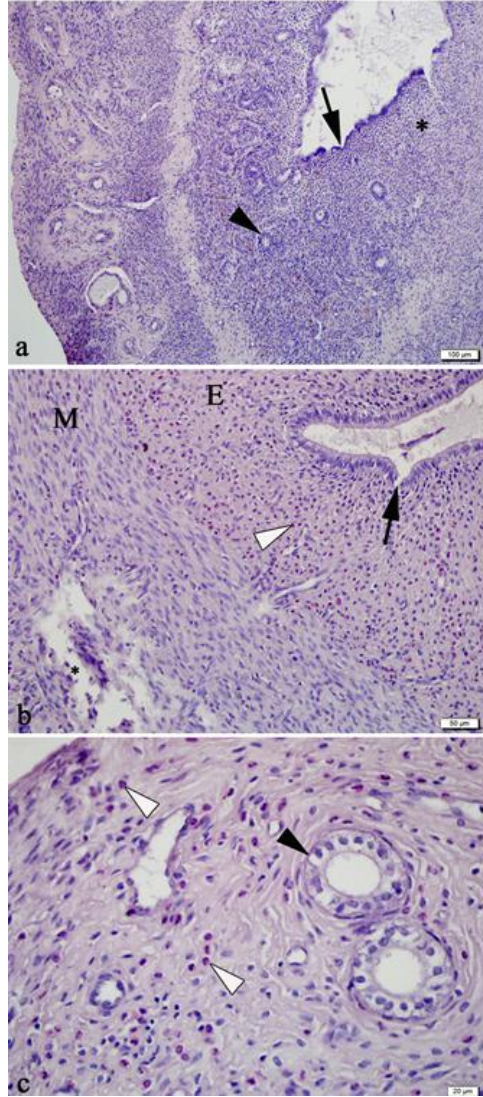
6.10.1. Uterus Dokusunda Histolojik Bulgular

Kontrol grubu hayvanlardan alınan uterus dokularının mikrografları Şekil 45.'te görülmektedir. Uterus dokusu normal hücre ve kollajen dağılımına sahip, sağlam epitel tabakasının olduğu bulunmuştur.



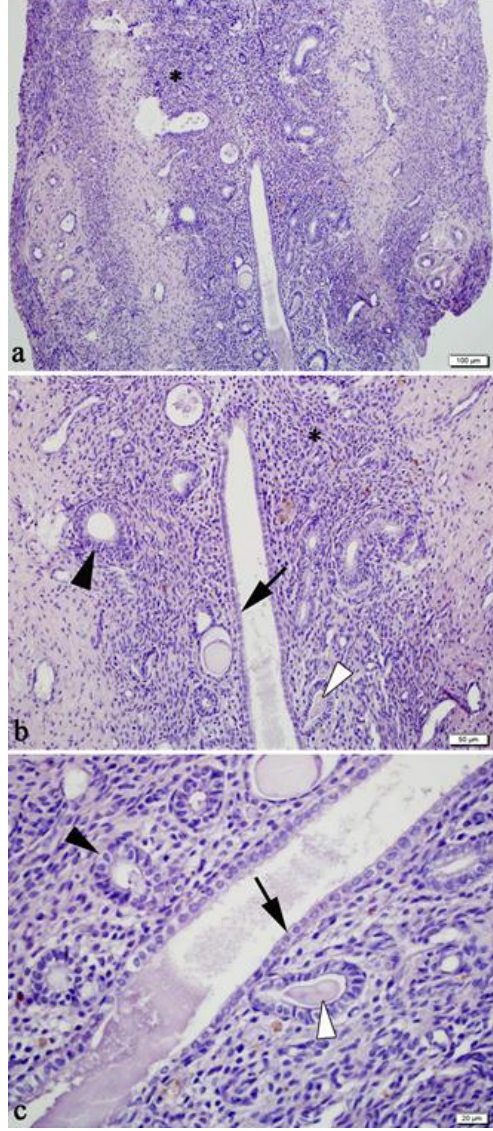
Şekil 45. Uterus kontrol grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzgün yapıda yüzey epitel. Ok başı: Normal yapıdaki epitele sahip uterus bezi. Asteriks: Hücre ve kollajen dağılımı normal olan endometriyal stroma. Hematoksilen-Eozin boyası, x200 büyütme (a) ve x400 büyütme (b).

Overektomize hayvanlardan alınan uterus dokusunun Şekil 46.'da mikrografları görülmektedir. Uterusda epitel hücrelerine sitoplazma kaybına bağlı olarak düzensizlik ile beraber hücre infiltrasyonunun meydana geldiği tespit edilmiştir.



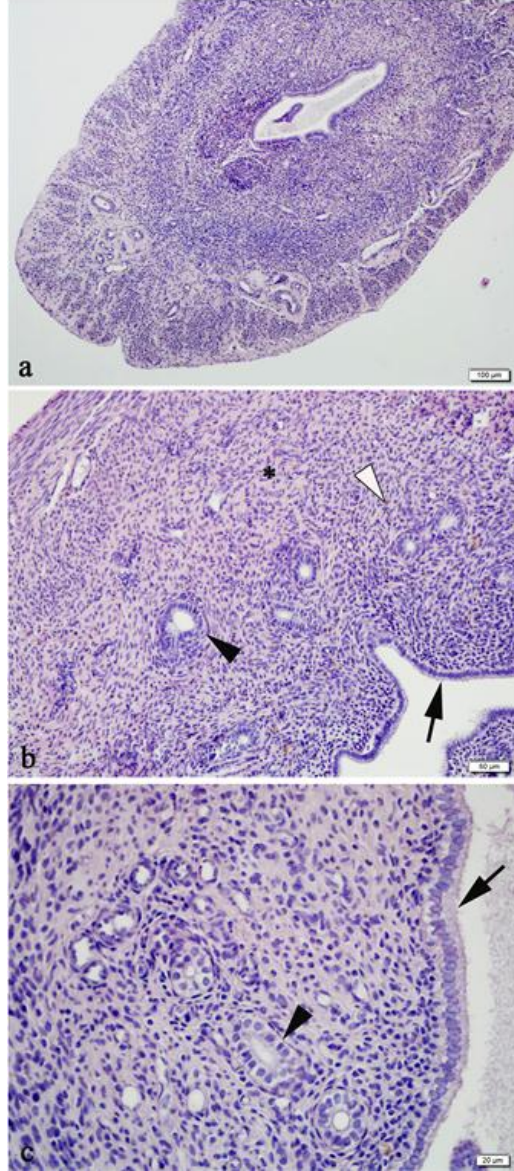
Şekil 46. Uterus OV grubu histolojik görüntüsü: Ok: Uterus yüzey epitelinde düzensizlik. Siyah ok başı: Sitoplazma kaybına uğramış epitel hücrelerine sahip uterus bezleri. Asteriks: Çok sayıda içeren endometriyal stroma. Beyaz ok başı: Endometriyal stromada polimorf nüveli hücre infiltrasyonu. E: Endometriyum. M: Miyometriyum. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

Östradiol uygulanmış gruptan alınan histolojik kesitler Şekil 47. görülmektedir. Genel olarak hasarlı epitel yüzey ve endometriyal stroma görülmüştür. Ovariectomi grubuna kıyasla daha düzgün yapıda epitel hücrelerine ve daha az hücre infiltrasyonuna rastlanmıştır.



Şekil 47. Uterus OV+EST grubu histolojik görüntüsü: Ok: yüksekliği azalmış hücrelere sahip yüzey epiteli. Siyah ok başı: düzgün yapıda epitel hücrelerine sahip uterus bez yapısı. Beyaz ok başı: Hiyalin kast içeren uterus bez yapısı. Asteriks: Polimorf nüveli hücrelere sahip endometriyal stroma. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

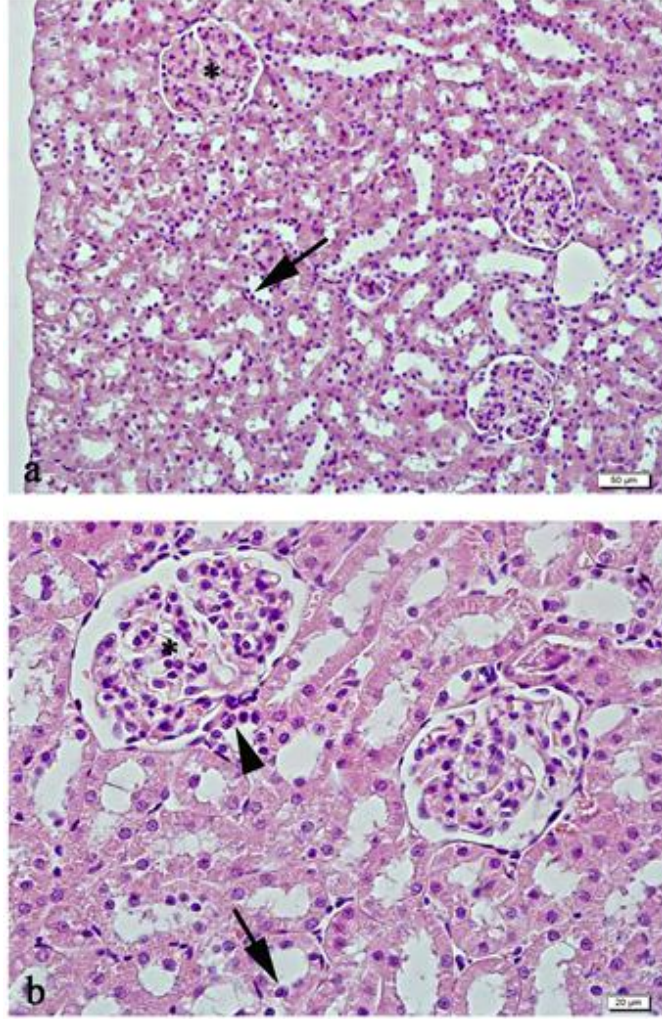
Overektomi yapılmış KN uygulanmış gruptan alınan uterus dokuları Şekil 48.'de görülmektedir. Overektomi grubuna kıyasla daha düzenli yüzey epiteli ve kontrole daha yakın görünümde düzgün hücrelere sahip uterus bezleri mevcuttur. Ayrıca overektomi grubuna kıyasla oldukça az miktarda nötrofil infiltrasyonu görülmektedir.



Şekil 48. Uterus OV+KN grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzenli yüzey epiteli. Siyah ok başı: Düzgün hücrelere sahip uterus bezleri. Asteriks: Düzenli yapıda görülen endometriyal stroma. Beyaz ok başı: Az miktarda nötrofil infiltrasyonu. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

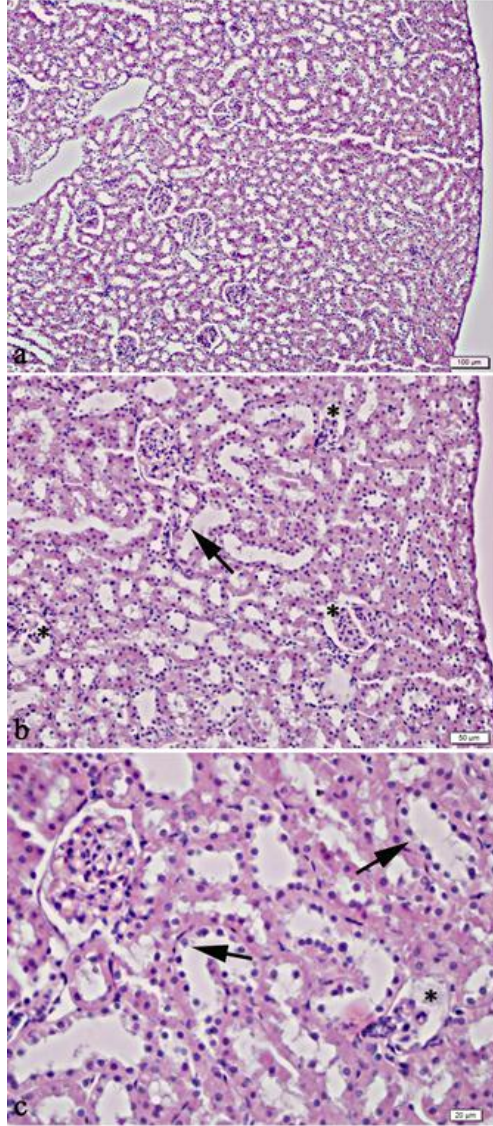
6.10.2. Böbrek Dokusunda Histolojik Bulgular

Kontrol grubu hayvanlardan alınan böbrek dokularının mikrografları Şekil 49'da görülmektedir. Böbrek tübülleri düzgün epitel yapıda olup glomerul yapısı normal morfolojide bulunmuştur.



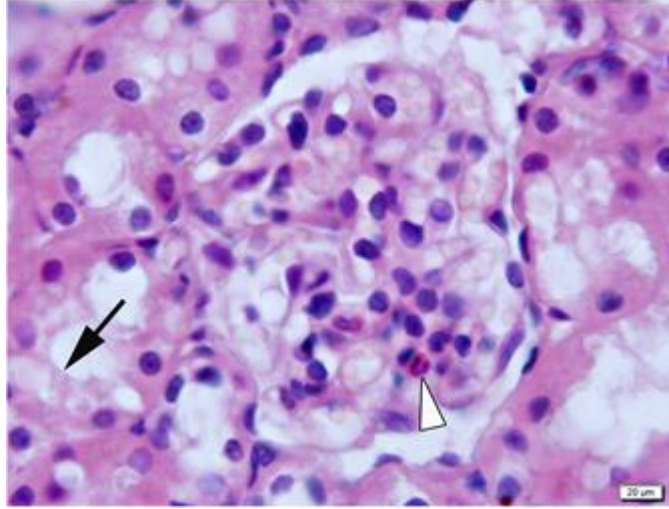
Şekil 49. Böbrek kontrol grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzgün yapıda epitele sahip böbrek tübülleri. Ok başı: Normal yapıda gözlenen maküla densa. Asteriks: Normal morfolojideki glomerul yapısı. Hematoksilen-Eozin boyası, x200 büyütme (a) ve x400 büyütme (b).

Overektomize hayvanlardan alınan böbrek dokuları Şekil 50’de görülmektedir. OV grubu sıçanlarda böbrek tübül epitellerinde düzensizlikler ve genişlemeler saptanmış, Bowman boşluğunda genişlemeyle birlikte dejenerasyon gözlenmiştir.



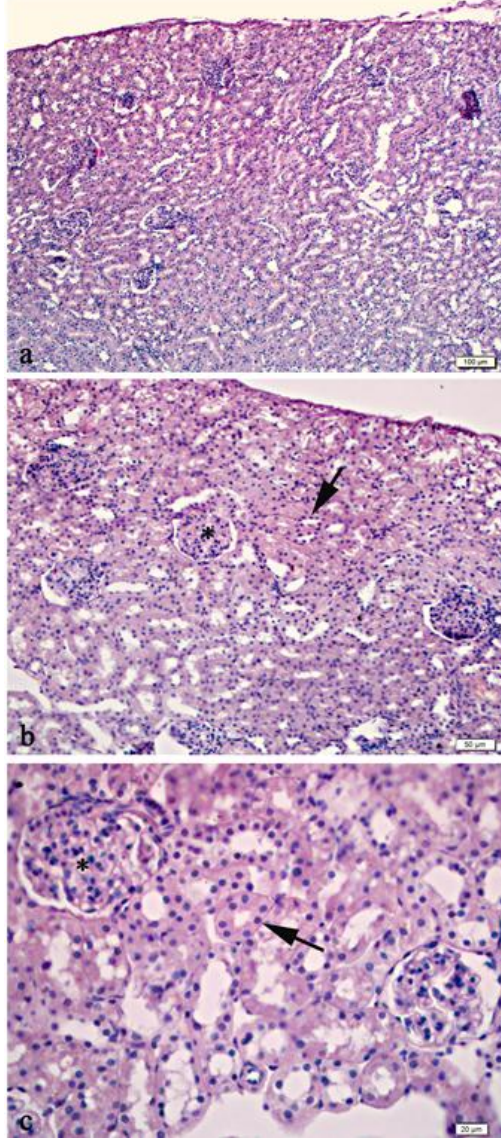
Şekil 50. Böbrek OV grubu histolojik görüntüsü: Ok: Böbrek tübül epitellerinde düzensizlik ve genişlemeler. Asteriks: Genişlemiş Bowman boşluğuna sahip dejenere yapıdaki glomerul. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

Overektomize hayvanlardan alınan böbrek dokusunda büyütülmüş görüntü Şekil 51’de yer almaktadır. Şekil detaylı incelendiği zaman sitoplazmanın bozuk bir yapıya sahip olduğu, distal tübüllerde yapının değiştiği görülmektedir. Aynı zamanda glomerul içinde nötrofil infiltrasyonunada rastlanmıştır.



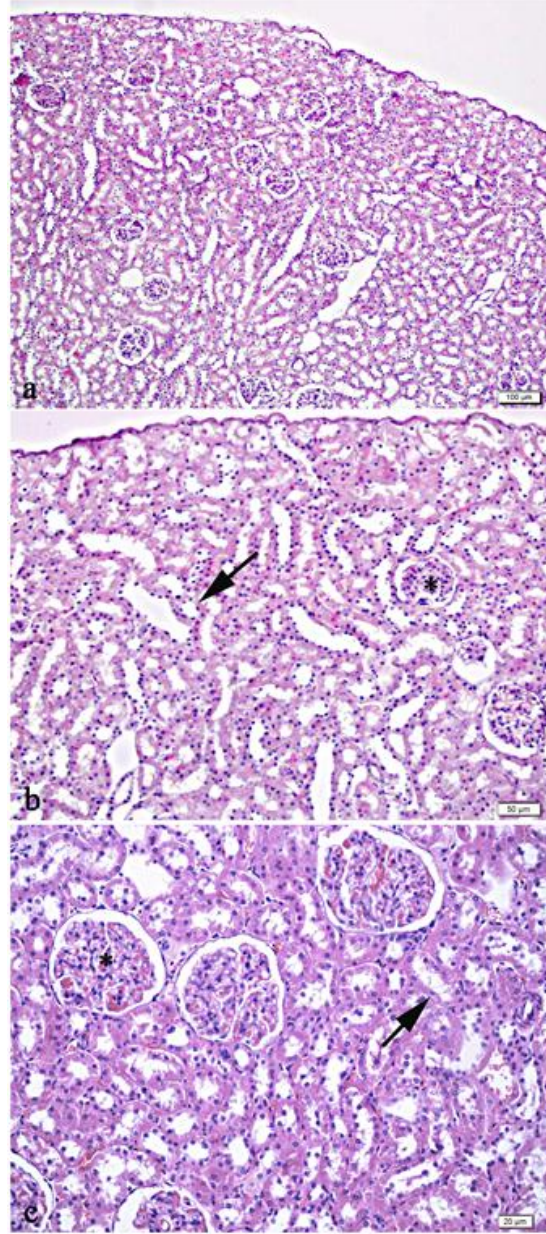
Şekil 51. Böbrek OV grubu histolojik görüntüsü-2: Ok: Bozuk sitoplazmaya sahip distal tübül. Beyaz ok başı: Glomerul yapısı içinde gözlenen nötrofil infiltrasyonu. Hematoksilen-Eozin boyası, x1000 büyütme.

Östradiol uygulanmış gruptan alınan histolojik kesitler Şekil 52’de görülmektedir. Ovariectomi grubuna kıyasla daha düzgün yapıda epitel hücrelerine sahip olan böbrek tübüllerine rastlanmıştır. Glomerüller kontrol grubuna daha yakın morfolojik yapıdadır.



Şekil 52. Böbrek OV+EST grubu histolojik görüntüsü: Östradiol uygulanmış gruptan alınan histolojik kesitler görülmektedir. Ok: Düzgün yapıda epitel hücrelerine sahip olan böbrek tübülleri. Asteriks: Glomeruller. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

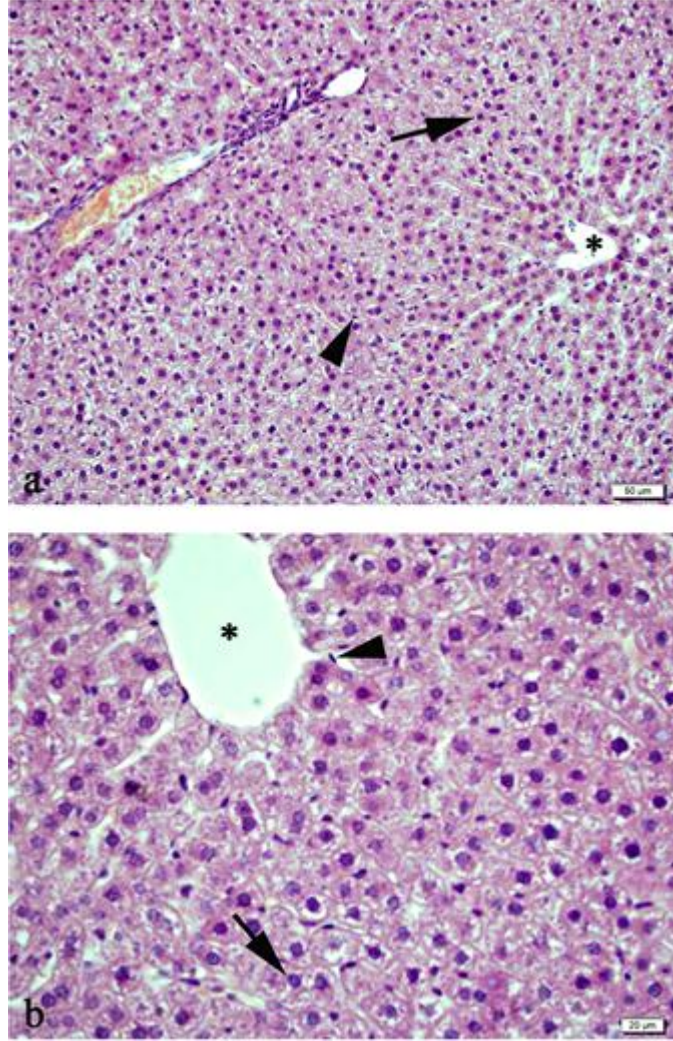
Kudret narı uygulanmış gruptan alınan böbrek dokularının mikrografları Şekil 53'te görülmektedir. Böbrek tübüllerindeki epitel hücrelerinin düzgün yapıda olduğu belirlenmiştir. Ovariectomi grubuna kıyasla daha düzenli yapıda morfoloji gösteren glomerul yapısına rastlanmıştır.



Şekil 53. Böbrek OV+KN grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzgün yapıda epitel hücrelerine sahip böbrek tübülleri. Asteriks: Düzenli yapıda morfoloji gösteren glomerul yapısı. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

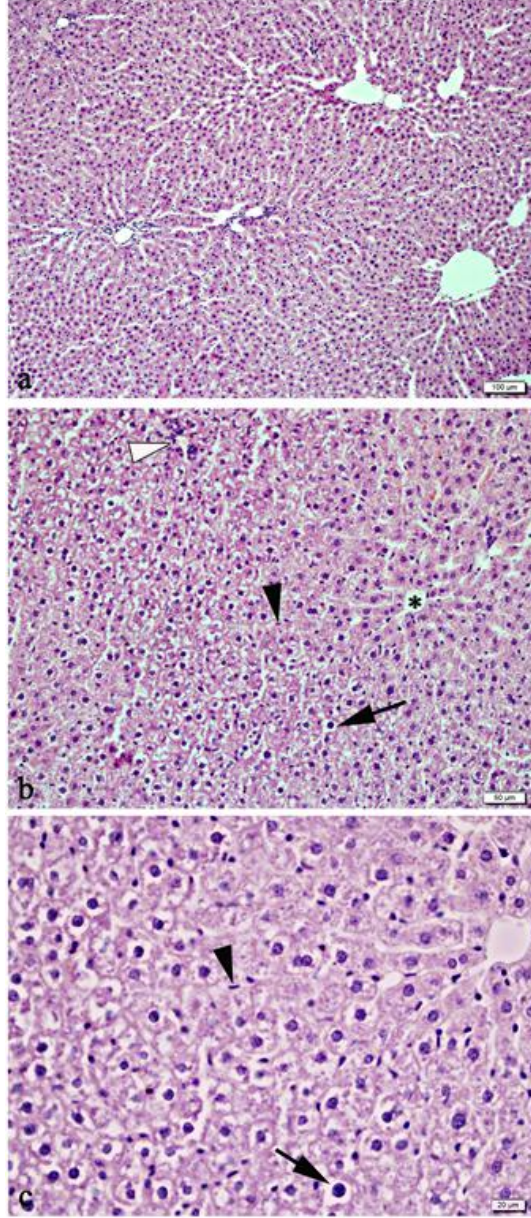
6.10.3. Karaciğer Dokusunda Histolojik Bulgular

Kontrol grubu hayvanlardan alınan karaciğer dokularının mikrografları Şekil 54'te görülmektedir. Hepatositlerin düzgün yapıda sitoplazmaya sahip olduğu, Kupffer hücreleri ve santral venin normal yapıda olduğu tespit edilmiştir.



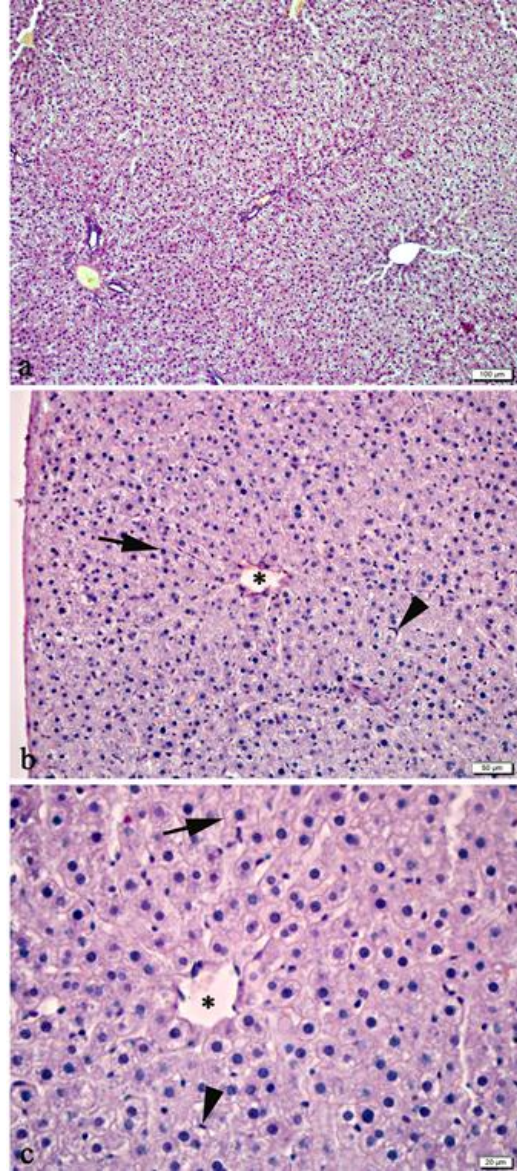
Şekil 54. Karaciğer kontrol grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzgün yapıda sitoplazmaya sahip olan hepatositler. Ok başı: Normal yapı ve sayıda gözlenen Kupffer hücreleri. Asteriks: Düzgün yapıdaki santral ven. Hematoksilen-Eozin boyası, x200 büyütme (a) ve x400 büyütme (b).

Overektomize hayvanlardan alınan karaciğer dokuları Şekil 55'te görülmektedir. Hepatositlerde sitoplazma kaybı gözlenmiş, kontrol grubuna göre sayıca artmış Kupffer hücreleri yer almaktadır.



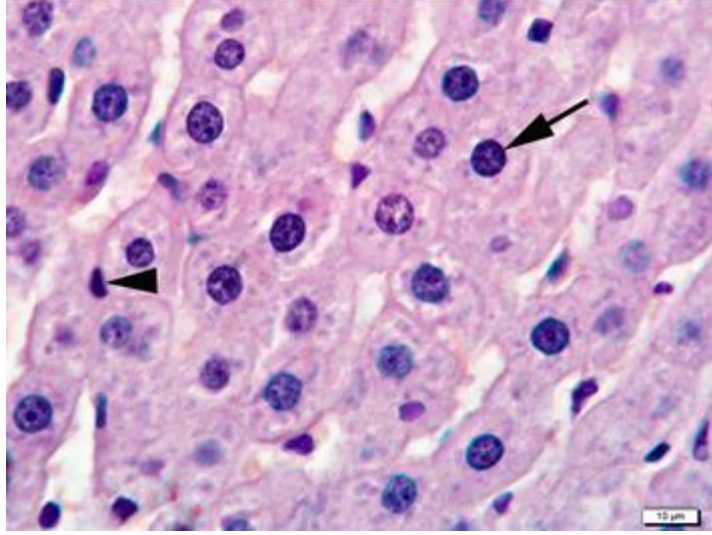
Şekil 55. Karaciğer OV grubu histolojik görüntüsü: Ok: Sitoplazma kaybı gözlenen hepatositler. Ok başı: Sayıca artmış olan Kupffer hücreleri. Asteriks: Santral ven. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

Östradiol uygulanmış gruptan alınan karaciğer dokularının histolojik kesitleri Şekil 56'da görülmektedir. Hepatositlerin düzenli sitoplazmaya sahip olduğu, Kupffer hücreleri ve santral ven yapısının kontrol grubuna yakın olduğu gözlenmiştir.



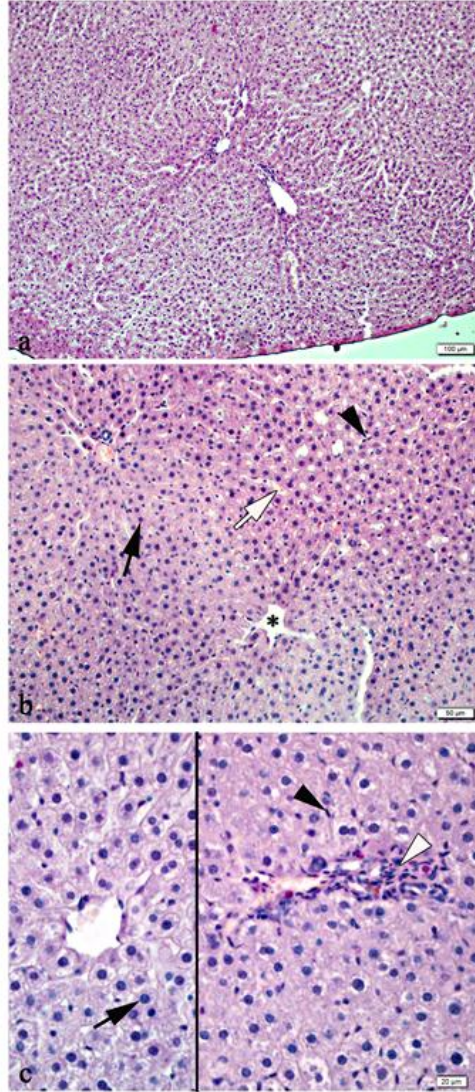
Şekil 56. Karaciğer OV+EST grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzenli sitoplazmaya sahip hepatositler. Ok başı: Kupffer hücreleri. Asteriks: Santral ven. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

Östradiol uygulanmış gruptan alınan karaciğer dokusunun büyütülmüş mikrografi Şekil 57’de görülmektedir. Hepatositlerin düzgün yapıda olduğu ve kupffer hücrelerinin yapısal olarak normal olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 57. Karaciğer OV+EST grubu histolojik görüntüsü-2: Ok: Düzgün yapıda gözlenen hepatosit. Ok başı: Kupffer hücresi. Hematoksilen-Eozin boyası, x1000 büyütme

Kudret narı uygulanmış gruptan alınan karaciğer dokuları Şekil 58’de görülmektedir. KN grubu OV grubu ile kıyaslandığında hepatosit hücrelerinin düzgün yapıda sitoplazmaya sahip olduğu görülmektedir. KN grubu Östradiol uygulanan grup ile kıyaslandığında ise KN grubunda fazla sayıda Kupffer hücreleri gözlenmiştir. Aynı zamanda KN grubunda portal alanda fibrozis oluşumunda rastlanmıştır.



Şekil 58. Karaciğer OV+KN grubu histolojik görüntüsü: Ok: Düzgün yapıda sitoplazmaya sahip olan hepatosit hücreleri. Ok başı: Fazla sayıda gözlenen Kupffer hücreleri. Beyaz ok başı: Portal alanda gözlenen fibrozis oluşumu. Asteriks: Santral ven. Hematoksilen-Eozin boyası, a: x100 büyütme, b: x200 büyütme, c: x400 büyütme.

7. TARTIŞMA

Menopoz, over folikül fonksiyonlarının ve E2 üretiminin aniden durmasından dolayı menstruasyon döngüsünün kalıcı olarak kesilmesi ile ortaya çıkar. Menopoz bayanlarda yaş ile birlikte ortaya çıksa da E2'nin azalması ciddi endokronolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olur (Rodriguez et al, 2012).

Menopoz döneminde östrojen seviyesinin azalması ile birlikte kadınların vücudunda oksidatif dengesizlik oluşmaya başlar ve serbest oksijen radikallerinin artması ile osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar ve merkezi sinir sistemi rahatsızlıklarının görülme riski de artar (Osmanova et al, 2011). Son yıllarda çalışmalar menopoz döneminde gözlenen şikâyetlerin ortadan kalkması için antioksidan ajanlar üzerine yoğunlaşmıştır (Kankofer et al, 2007).

Menopoz sonrası overden salgılanan hormonların azalması pek çok patofizyolojik reaksiyon ile bağlantılıdır. Plazma total kolesterol, trigiliserid ve LDL seviyesinin artması ve HDL seviyesinin azalması ile ortaya çıkan dislipidemi postmenopoz döneminde görülen bir rahatsızlıktır. Ateroskleroz, menopoz sonrası kadınlarda, erkeklere ve menopoz öncesi kadınlara oranla daha sık görülen bir hastalıktır. Bunun sebebi ise, östrojen üretiminin azalmasına bağlı olarak HDL ve LDL metabolizmasının bozulmasıdır. Ayrıca menopoz döneminde kilo alımı artar ve abdominal obezite gelişir (Trevisan da Rocha et al, 2011).

Billateral overektomi, menopoz döneminde gözlenen değişimleri araştırmada geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu metod, dişi sıçanların kısa sürede over hormonlarından yoksun kalmasını sağlar. Buna ek olarak overektomize sıçanlarda, osteoporoz semptomları, kardiyovasküler bozukluklar, uterus atrofisi, yükselen vücut sıcaklığı, A, C, E ve D vitaminlerinin azalması, gibi riskler ortaya çıkar (Behr, Schnorr and Moreira, 2010). Ayrıca overektomi, antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyonu arasındaki dengeyi etkiler. Yapılan çalışmalar karaciğer ve beyin mitokondrisinde, overektomi sonrası lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını ve GSH seviyesinin azaldığını ortaya koymuştur. Böylece sex hormonlarının, oksidan hasara karşı koruyucu rolü olduğu söylenebilir (Yalın ve ark, 2006). Biz

çalışmamızda menopoz dönemindeki değişiklikleri izlemek için overektomi yapılmış sıçanlar ile çalıştık. Fitoöstrojen tedavisinin etkisini görmeyi amaçladık.

Östrojenler steroid hormon ailesine aittir ve östron, östriol ve 17-B östradiol (E2) olmak üzere üç çeşittir. E2 bunların arasında en bol bulunanı ve biyolojik olarak aktif olanıdır (Bokov et al, 2009).

Östrojenler üretken dokularda büyüme ve farklılaşmada görev almakla beraber kemik, karaciğer, kardiyovasküler sistem ve beyinde etki gösterirler (Osmanova et al, 2011). Östrus siklusunda ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesinde rol oynarlar. Bunun yanı sıra, nöroprotektif, kan basıncını düşürücü, öğrenme ve hafızayı arttırıcı, plazma insülin ve glukoz düzeyini azaltıcı ve antioksidan savunma sistemini teşvik edici özellikleri vardır (Bokov et al, 2009).

Çalışmamızda overektomi sonrasında serumda östrojen düzeylerinin azaldığını ve overektomize sıçanlara EST ve KN uygulaması ile östrojen düzeylerinin arttığını gözlemledik. KN yapısında bulunan isoflavonidlerden flavon anglikon tarafından bu etkinin olduğunu düşünmekteyiz. Yapılan çalışmalar isoflavonoidlerin fitoöstrojenik oldukları ve özellikle post menopozal dönemde kullanımının yararlı olabileceğini bildirmişlerdir (Barnes S, 2004). Xu, Duncan, Merz and Kurzer, (1998), tarafından postmenopozal dönemde göğüs kanseri olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada isoflavonların östrojen metabolizması üzerinde etkili olduğunu ayrıca genotoksik metabolitlerin azattığını bildirmişlerdir. Ayrıca izoflavon açısından zengin bir bitki olan *Cicer arietinum L*'nin overektomili sıçanlar üzerine yapılan bir çalışmada östrojen eksikliğine bağlı olarak gelişen osteoporozda fitoöstrojen kullanımının serum östrojen düzeylerini arttırdığını ve postmenopozal osteoporozda kullanılabileceği vurgulanmıştır (Ma et al, 2012).

Kadınlar menopoz dönemine girdikleri zaman östrojen seviyesi düşer. Östrojen kaybı ile birlikte menopoz dönemindeki kadınlarda çeşitli fizyolojik değişiklikler ortaya çıkar (Osmanova et al, 2011).

Rodriguez ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada; postmenapoz dönemi ile premenapoz dönemini karşılaştırılmış ve oksidatif stresin postmenapoz döneminde yükseldiği, buna bağlı olarak da bazı semptomların ortaya çıktığı bulunmuştur. Cladera, Liado, Gianotti and Proenza, (2012), yaptıkları çalışmada: Overektomi

sonucu artan vücut ağırlığının E2 ile tedavi sonucu azaldığı ve yine overektomi sonucu azalan ER α düzeyinin E2 ile tedavi sonrası daha da azaldığını gözlemlenmiştir.

Östrojenler (temelde E2); SOD, GSH-Px, CAT gibi antioksidan enzimlerin aktivasyonunu artırır ve düşük dansiteli lipoproteinlerin oksidasyonunu düşürme potansiyeline sahiptir. E2'nin kimyasal bileşimi (A pozisyonundaki fenolik halka) serbest radikallerin ortadan kaldırılmasına ve oksidan hasarın önlenmesine sebep olur (Rodriguez, Flores, Rosales, Munoz and Nunez 2012). Ayrıca östrojen ve türevleri, kan ve karaciğer de lipid peroksidasyonunu inhibe edici etkiye sahiptir. Bunun yanı sıra radikal temizleyici ve hepatositlerde oksidatif stres tarafından indüklenen apoptozisi inhibe edici etkiye sahiptirler (Kireev et al, 2010).

Behr ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada: overektomi sonrası sıçanlarda vücut ağırlığının arttığı, uterusun ağırlığının ise azaldığı. Plazma trigliserid seviyesinin düştüğü, total kolestrol seviyesinin yükseldiği. Plazma CAT ve GSH-Px aktivitesinin arttığı, buna karşın plazma reaktif anioksidan potansiyelinin ve total antioksidan reaktivitesinin azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca protein oksidasyonuna bağlı hasarın arttığı gözlenmiştir. Overektomize sıçanlara uygulanan A vitaminin, protein oksidasyonuna bağlı hasarı azalttığı, antioksidan savunmayı arttırdığı gözlenmiştir.

Biz çalışmamızda uterus, karaciğer ve böbrek dokusunda bazı oksidatif stres parametrelerini inceledik.

Kudret narı uygulanan sıçanlarda antioksidan kapasitenin arttığını ve oksidatif stres parametreleri üzerinde etkili olduğunu bulduk. Yapılan çalışmalar Kudret narının çeşitli hücre hatları ve deneysel hayvan modellerinde uygulamasının antioksidan özelliği olduğunu bildirmektedir (Mahomoodally, Subratt, Gurib-Faki and Choudhary, 2012, Pişkin ve ark, 2012, Saha and Ghosh, 2012).

Hormonal aktivitedeki değişikliklerin oksidatif stres üzerindeki önemi büyüktür. Sirkulasyonda östrojen ve progesteron düzeylerindeki değişiklikler nedeniyle bazı fizyolojik ve patolojik olaylar gelişebilir. Bu hormonların oksidatif stres üzerindeki etkisi sonucu ateroskleroz, obezite, hipertansiyon, karsinogenez ve alzheimer gibi hastalıklar meydana gelir (Schwartz and Pashko, 2004). Östrojen kadınlar için oksidatif strese karşı güçlü bir antioksidan olarak bilinir. Bazı

araştırcılar progesteron ve östrojenin birlikte antioksidan özellik gösterdiğini savunurken diğerleri tek başına östrojenin daha etkili olduğunu vurgularlar (Moorthy, Sharma, Basir and Baquer, 2005, Wassmann, Wassmann and Nickenig, 2005). Bunun yanı sıra luteal periyotda artan MDA düzeylerinin östrojen ile ilişkisinin olduğu belirtilmektedir (Akande and Akinyinka 2005).

Çalışmamızda uterus dokusunda MDA ve MPO düzeylerinin kudret narı uygulaması ile azaldığı, antioksidan savunmada önemli olan GSH ve SOD düzeylerinde anlamlı artışa neden olduğunu gözlemledik. Gomez-Zubeldia, Hinchado, Arbues, Nogales and Millan, (2001), sıçanların uterus dokuları ile yaptıkları çalışmada plazma östrojen düzeyleri ile uterus MDA düzeyleri arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Aynı ekibin daha sonraki yaptıkları çalışmada ise overektomili sıçanlarda östrojen tedavisi uyguladıklarında uterus MDA düzeylerinin azaldığını bildirmişlerdir (Gomez-Zubeldia, Corrale, Arbues, Nogales and Millan, 2002; Turgut ve ark, 2013). overektomize sıçanlarda östrojen tedavisinin serum oksidatif stres parametrelerine etkisi incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada serum GSH düzeylerinin arttığını fakat CAT, SOD ve GPx değerlerinde anlamlı değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Bokov ve ark.(2009), yaptıkları çalışmada; overektomize farelere uygulanan E2'nin, azalan uterus ağırlığını arttırdığı ve artan oksidatif hasarı baskıladığı gözlemlenmiştir. Ayrıca uygulanan E2'nin farelerde hayatta kalmayı desteklediği bulunmuştur.

Çalışmamızda karaciğer dokusunda overektomi grubunda MDA düzeylerinin arttığını ve östrojen tedavisi ile bunun azaldığını belirledik. Ayrıca KN uygulaması ile antioksidan kapasitede önemli olan GSH ve CAT düzeylerinde anlamlı artışlar bulduk. Böbrek dokusuna baktığımızda MDA ve GSH düzeyleri açısından karaciğerdeki durumla benzer olduğunu gördük. Literatürde yapılan çalışmalara overektomize sıçanlarda bizim çalışmalarımızla benzer bulgular içerdiği görülmektedir. Kudret narının fitoöstrojen olarak kullanıldığında overektomide artan oksidatif stresi bizim çalışmamızda engellediği bulunmuştur.

Abbas and Elsamanoudy, (2011), yaptıkları çalışmada; Overektomi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; overektomi grubundaki sıçanların karaciğer ve beyin dokusunda MDA düzeyinin arttığı, buna karşın GSH düzeyinin ve GSH-Px,

CAT, SOD enzimlerinin aktivitelerinde azalma olduğu gözlenmiştir. Ayrıca overektomize sıçanlara uygulanan E2 ve E2+ Vit E'nin MDA düzeyini azalttığı buna karşın GSH düzeyini, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir.

Baeza ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada; Overektomize sıçanlara uygulanan ticari E2'nin ve fitoöstrojenlerin karaciğer, böbrek ve kalp dokusunda GSH düzeyini arttırdığı, GSSG/GSH düzeyini azalttığı ve yine aynı dokularda MDA seviyesini de azalttığını gözlemlemişlerdir.

Trevisan da Rocha ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada: Overektomi sonrası, total vücut ağırlığının, abdominal yağ birikiminin, karaciğerde total kolesterol ve Non-HDL kolesterol seviyesinin arttığını. Ayrıca CAT aktivitesinin ve GSH seviyesinin azaldığını saptamışlardır. Yine bu çalışmada overektomize sıçanlara uygulanan Difenil diselenid (PhSe)₂ maddesinin ise vücut ağırlığını ve abdominal yağ birikimini azalttığı. Karaciğerde askorbik asit, GSH düzeyi, CAT ve GST enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı gözlenmiştir.

Kankofer ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada, overektomi sonrası karaciğer dokusunda GSH-Px ve SOD enzim aktivitelerinin azaldığını, Lipid Peroksidasyonu'nun ise arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca total antioksidan konsantrasyonunun ise değişken bir grafik izlediğini saptamışlardır.

Osmanova ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada, overektomize sıçanlara uygulanan Raloksifen maddesinin tüm beyin dokusunda artan MDA düzeyini azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca overektomi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında öğrenme düzeyinin kontrol grubunda daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Yalın ve ark. (2006), yaptıkları bir çalışmada: Overektomi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında; overektomize sıçanlarda, SOD aktivitesinin karaciğer ve böbrek dokusunda azaldığı, MDA seviyesinin yükseldiği, CAT aktivitesinin ise yalnızca karaciğer dokusunda azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, Overektomize sıçanlara uygulanan Kadmiyum maddesinin ise karaciğer ve böbrek dokusunda, SOD ve CAT aktivitesini düşürdüğü, MDA düzeyini arttırdığı bulunmuştur.

Yalın, Çömelekoğlu, Bağış, Berköz ve Eroğlu, (2010), yaptıkları başka bir çalışmada: Overektomi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında; Karaciğer MDA düzeyinin ve SOD aktivitesinin overektomi grubunda önemli derecede yüksek

olduğu buna karşın CAT aktivitesinin dűşűk olduğu gözlenmiştir. Ayrıca overektomize sıçanlara uygulanan Risedronat maddesinin Lipid peroksidasyon düzeyini azalttığı, CAT aktivitesini arttırdığı, SOD aktivitesine ise etki etmediği, buna karşın uygulanan Alindronat maddesinin Lipid Peroksidasyon düzeyini, SOD ve CAT aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir.

Baxi, Singh, Vachhrajani and Ramachandran, (2012), yaptıkları çalışmada: Overektomize sıçanların karaciğer, böbrek ve kas dokularında lipid peroksidasyon düzeylerinin arttığı ve maksimum azalmanın Melatonin+E2 kombinasyonunda gerçekteştiği. Bunun yanı sıra overektomize sıçanların aynı dokularında GSH ve Askorbik Asit düzeyi önemli ölçűde azalırken, Melatonin ve E2 uygulaması sonrası bu antioksidan molekűllerin arttığı. Ayrıca GSH Px, CAT, SOD enzim aktivitelerinin yine bu üç dokuda yapılan incelemeler sonucu azaldığı, Melatonin ve Melatonin+E2 kompleksi uygulanan gruplarda ise enzim aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir.

Kireev ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada: Nitrik oksit metabolitlerinin overektomi sonrası arttığı, uygulanan E2'nin ise azaltıcı etki gösterdiği gözlenmiştir. Yine bu çalışmada overektomize sıçanların karaciğer dokusundaki TNF α , IL-1 β ve IL-6 gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin overektomi ve yaşlanma ile birlikte arttığı, IL-10 gibi anti-inflamatuvar sitokinlerin azaldığı gözlenmiş. Overektomize sıçanlara uygulanan östradiol, fitoöstrojen ve büyüme hormonunun; TNF α , IL-1 β ve IL-6 düzeyini önemli derecede azalttığı, IL-10 seviyesini arttırdığı saptanmıştır.

Tang, Liu, Tian and Zhang, (2010), yaptıkları çalışmada, Serumdaki Total antioksidan kapasitenin overektomi grubunda kontrol grubundan daha az, MDA seviyesinin ise daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra DNA Hasarının (% Comet), overektomi grubunda kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Overektomize sıçanlara uygulanan puerarin ve E2'nin serumdaki TAC seviyesini arttırdığı, DNA hasarını azalttığı. MDA seviyesini ise yalnızca Puerarin uygulamasının dűřürdüđu gözlenmiştir.

Östrojen reseptörleri bir çok dokuda hücre membranında veya nükleus membranı üzerinde lokalize olmuştur. Özellikle ESR1 ve ESR2 farklı kromozom bölgelerinde bulunsalarda DNA'ya bağlanma bölgeleri benzer homoloji göstermektedir. ESR1 uterus, kemik, göğüs, karaciğer, böbrek, adipoz doku, prostat,

överler de ekspre olurken ESR2 kolon, testis, kemik iliği, akciğer, mesane ve overlerde ekspre olmaktadır (Couse and Korach, 1999; Toran-Allerand, 2005). Son yapılan çalışmalar östrojen reseptörleri ve östrojenin, kemik yıkımı, kardiyoprotektif hastalıklar, alzheimer, parkinson gibi hastalıklarla ilişkisinin olduğunu bildirmektedir (Frenkel, 2010). Ayrıca östrojenin nöroprotektif etkisi olmakla birlikte özellikle ESR1 reseptörüne bağlı sinyal yolağının bununla ilişkisi bulunmuştur (Cui, Shen and Li, 2013). Kudret narının östrojen reseptörleri üzerindeki etkisini incelediğimizde ESR1 ve ESR2 gen düzeylerinde artışa neden olduğu görülmektedir. Oksidatif stresin östrojen reseptör genlerinin yapısı ve ekspresyonunda değişiklikler yapabildiği bildirilmektedir (Sastre-Serra et al, 2013).

Östrojenler A halkalarında içerdikleri hidroksil grubu sayesinde güçlü antioksidan etki gösterirler. Böylece elektronlar için etkili bir alıcı ve radikalleri ortadan kaldıracı bir özelliğe sahip oldukları bilinir (Kankofer, Radzki, Bienko and Albera, 2007). Nabha ve ark. (2005), MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında hidrojen peroksit, diamid ve menadion gibi çeşitli uyarıcılar ile oksidatif stres oluşturarak östrojen reseptörleri ER1 ve ER2 gen ekspresyonunu incelemiştir. Yaptıkları çalışmada oksidatif stresin ESR1 ve ESR2 genlerini baskıladığını bildirmişler ve bunun nedeninin oksidatif stresin kinaz bağımlı sinyal yolağı üzerinde etkili olmasına bağlamışlardır. Büyüme faktörlü sinyal yolağında reaktif oksijen türleri protein tirozin fosfatazları inhibe eder bununla birlikte Src, Jun amino termal kinaz, protein kinaz C vemitogen aktive protein kinazları aktifleştirir. Bu kinaz yolağının aktivasyonu endokrin rezistansta östrojen sinyal yolağı ilede ilişkilidir (Levin, 2003). MAPK aktivasyonunun östrojen reseptörlerini baskıladığı ve indüklenebilir östrojen gen transkripsiyonunu bloke ettiği bildirilmiştir (Oh et al, 2001). Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, östrojenler reseptörlerine bağlanarak MAP kinaz kaskadını ve NF-kB sinyal yolağını aktive ederler böylece antioksidan genlerin up-regulasyonunu sağlayarak ROS ürünlerini temizlerler (Strehlow et al, 2003). NF-kB immün cevapta, kanserde, hücre regülasyonunda ve anti-apoptotik proteinlerin sentezinde önemli bir regülatördür.

Östrojenin NF-kB sinyal yolağını harekete geçirdiği ve östrojen reseptörleri ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Yde, Emdal, Guerra and Lykkesfeldt, 2012, Chattopadhyay et al, 2012). Çalışmamızda NF-kB gen

ekspresyonunun overektomi ile azaldığını östrojen kullanımı ile arttığını bulduk. D. Xing ve ark. (2012), meme kanseri hücrelerinde östrojen kullanımının NF-kB sinyal yolağını harekete geçirdiği ve ESR2 reseptörü ile ilişkisinin olduğunu göstermişlerdir. Aynı zamanda 17 β -estradiol'ün overektomili sıçanlarda NF-kB yolağını aktive ettiğide bildirilmiştir (Kou et al, 2011). Fitoöstrojenler ile yapılan bu konudaki çalışmalara baktığımızda bir isoflavon olan Geinstein'in MCF-7 meme kanseri hücre hattında NF-kB yolağını harekete geçirdiğini ve Mn-SOD ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur (Borrás et al, 2006). Diğer taraftan kolon kanseri hücre hattında isoflavonların NF-kB aktivasyonunu sağladığı ERK-1/2 ve AKT sinyal yolağı üzerinden östrojen reseptörleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Bielecki, Roberts, Mehta and Raju, 2011).

Kudret narı bitkisinde yaptığımız çalışmalarda negatif sonuç veren madde gruplarının bitkide bulunmadığı anlamına gelmemektedir. Kullanılan çözücünün (serum fizyolojik) polaritesinden dolayı sadece bu çözücüde çözünebilen maddeler maserata geçebilmiş ve analizler sonucunda bu grup maddeler pozitif sonuç vermiştir. Diğer çözücülerle (kloroform, metanol, petrol eteri, butanol vb.) yapılacak olan ekstraksiyondan sonra çözücüler ekstreden tamamen uzaklaştırılarak bu ekstrelerde hangi grup maddelerin bulunduğu tespit edilebilir.

Sonuç olarak kudret narı bitkisi overektomize sıçanlarda fitoöstrojenik etkisinin yanı sıra antioksidan olarakta etki göstermiş olup, post menopoz döneminde kullanılması için geliştirilecek olan yeni ilaçlar için bu çalışma ışık tutacaktır.

8. KAYNAKLAR

1. Abbas AM, Elsamanoudy AZ, (2011). Effects of 17 β -estradiol and antioxidant administration on oxidative stress and insulin resistance in ovariectomized rats. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology*. 89: 497-504
2. Abboşlu Topa EG, (2010). Fitoöstrojenlerin Uterus Endometriumuna Olan Etkileri, Yüksek Lisans Tezi G.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, (Danışman: Prof Dr. C. Özoğul).
3. Abegg MA, Alabarse GVP, Schüller AK, Benfato MS, (2012). Glutathione levels in and antioxidant capacity of *Candida sp.* Cells exposed to oxidative stress caused by hydrogen peroxide. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 45(5): 620-626
4. Adam SK, Soleiman AN, Umar NA, Mokhtar N, Mohamed N, Jaarin K, (2008). Effects of repeatedly heated palm oil on serum lipid profile, lipid peroxidation and homocysteine levels in a post-menopausal rat model. *Kudret nariGill Journal of Medicine*, 11(2): 145-151
5. Aebi H, (1974), Catalase invitro. *In: Methods of enzymatic Analysis*, 2nd Edition, vol.2, Bergmeyer HU (Ed), FL., 121-126
6. Agrawal RC, Beohar T, (2010). Chemopreventive and anticarcinogenic effects of *Momordica charantia* extract. *Asian Pasifik, Journal of Cancer Prevention*, 11: 371-374
7. Aidelsburger P, Schauer S, Grabein K, Wasem J, (2012). Alternative methods for the treatment of post-menopausal troubles. *GMS Health Technol Assess*, 8
8. Akande AA, Akinyinka AO, (2005). Serum malondialdehyde levels during menstrual cycle. *African Journal of Biotechnology*. 4(11): 1297-1299
9. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH, (2000). Nitrik Oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. *Türkiye Klinikleri Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 20: 107-111
10. Alam S, Asad M, Asdaq SMB, Prasad VS, (2009). Antiulcer activity of methanolic extract of *Momordica charantia* L. in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 123: 464-469
11. Alles N, Soysa NS, Hayashi J, Khan M, Shimoda A, Shimokawa H, Ritzeler O, Akiyoshi K, Aoki K, Ohya K, (2010). Suppression of NF-KB increases bone

- formation and ameliorates osteopenia in ovariectomized mice. *Endocrinology*. 151(10): 4626-4634
12. Altan N, Dinçel AS, Koca C, (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31(2): 51-56
 13. Alternatives to HRT for the Management of Symptoms of the Menopause. (2010). *Royal College of Obstetricians and Gynaecologists*, 6(2)
 14. Antmen ŞE, (2005). Beta Talasemide Oksidatif Stres, Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, (Prof Dr. L. Kayrın).
 15. Arı F, Dere E, (2002). Benzen'in karaciğer Glutatyon S-transferaz enzim aktivitesine in vitro etkisi. *Fen Bilimleri Dergisi*, 24(1): 76-81
 16. Aslan M, Orhon M, (2010). Diyabet tedavisinde kullanılan bitkisel ürünler ve gıda destekleri, *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 23-24: 27-30
 17. Assaday M, Farahnak A, Golestani A, Esharghian MR, (2011). Superoxide Dismutase (SOD) enzyme activity assay in *Fasciola* spp. parasites and liver tissue extract. *Iranian Journal of Parasitology*, 6(4): 17-22
 18. Ataya FS, Fouad D, Al-Olayan E, Malik A, (2012). Molecular cloning, characterization and predicted structure of a putative Copper-Zinc SOD from the camel, *Camelus dromedarius*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 879-900
 19. Atoum, M, Abdel-Fattah M, Nimer N, Abdel-Rahman S, Abdelhayem SA, (2012). Association of alanine-valine manganese Superoxide Dismutase gene polymorphism and microheterogeneity manganese Superoxide Dismutase activity in breast cancer and benign breast tissue. *Journal of Breast Cancer*, 15(2): 157-161
 20. Baeza I, Fdez-Tresguerres J, Ariznavarreta C, De la Fuente M, (2010). Effects of growth hormone, melatonin, oestrogens and phytoestrogens on the oxidized glutathione (GSSG)/ reduced glutathione (GSH) ratio and lipid peroxidation in aged ovariectomized rats. *Biotechnology*, 11: 687-701
 21. Bahar Ş, (2009). Cerrahi olarak menopoza giren kadınlarda Serum Kemik Turnover Belirteçlerinin Akut Değişiklikleri ve Kemik Mineral Dansitesi ile Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, S.B. İst. Eğt ve Araş Hast Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul, (Danışman: Doç Dr. A.B. Boran).
 22. Baldwin AS, (2001). The transcription factor NF-KB and human disease. *The Journal of Clinical Investigation*. 107(1): 1-6
 23. Barnes S, (2004). Soy isoflavones--phytoestrogens and what else?. *The Journal of Nutrition*. 134(5): 1225-1228

24. Basch E, Gabardi S, Ulbricht C, (2003). Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 60: 356-359
25. Baxi DB, Singh PK, Vachhrajani and A.V. Ramachandran AV, (2012). Melatonin supplementation in rat ameliorates ovariectomy-induced oxidative stres. *The Journal of the International Menopause Society*, 1-10
26. Behr GA, Schnorr CE, Moreira JCF, (2010). Increased blood oxidative stres in experimental menopause rat model: The effects of vitamin A low-dose supplementation upon antioxidant status in billateral ovariectomized rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 26: 235-249
27. Belin S, Kaya F, Burtey S, Fontes M, (2010). Ascorbic acid and gene expression: Another example of regulation of gene expression by small molecules?. *Current Genomics*, 11: 52-57
28. Beuge JA, Aust SD, (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52:302–311
29. Beutler E, Duron O, Kelly BM, (1963), Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 61: 882–88
30. Bhabak KP, Muges G, (2010). Functional mimics of glutathione peroxidase: Bioinspired synthetic antioxidants. *Accounts of Chemical Research*, 43(11): 1408-1419
31. Bıçakçı T, (2007). Östrojen Replasman (ERT) ve Hormon Replasman Tedavisi (HRT) alan Post-Menopozal Kadınlarda Serum svcam, sE-Selektin, Leptin Düzeylerinin ve Oksidatif Stres Parametreleri ile İlişkisi, Uzmanlık Tezi A.M. Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilimdalı, Aydın, (Danışman: Prof Dr. Ç. Yenisey).
32. Bielecki A, Roberts J, Mehta R, Raju J, (2011). Estrogen receptor- β mediates the inhibition of DLD-1 human colon adenocarcinoma cells by soy isoflavones. *Journal of Nutrition and Cancer.* 63(1): 139-150
33. Blasiak J, Glowacki S, Kauppinen A, Kaarniranta K, (2013). Mitochondrial and nuclear DNA damage and repair in age-related macular degeneration. *International Journal of Molecular Sciences.* 14: 2996-3010
34. Bokov AF, Ko D, Richardson A, (2009). The effect of gonadectomy and estradiol on sensitivity to oxidative stres. *National Institutes of Health*, 34(1-2): 43-58
35. Borrás C, Gambini J, Gómez-Cabrera MC, Sastre J, Pallardó FV, Mann GE, Viña J. (2006). Genistein, a soy isoflavone, up-regulates expression of antioxidant genes:

- involvement of estrogen receptors, ERK1/2, and NFkappaB. *The FASEB Journal*. 20(12): 1476-1481
36. Büyüktuncer Z, Başaran AA, (2005). Fitoöstrojenler ve sağlıklı yaşamdaki önemleri. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 25(2): 79-94
37. Cengiz S, Çavaş L, Yurdakoç K, (2012). Bentonite and sepiolite as supporting media: Immobilization of catalase. *Applied Clay Science* 65-66: 114-120
38. Cerezo J, Zuniga J, Bastida A, Requena A, (2012). Antioxidant properties of β -carotene isomers and their role in photosystems: Insights from ab initio simulations. *The Journal of Physical Chemistry*, 116: 3498-3506
39. Chang CC, Kuan TC, Hsieh YY, Ho YJ, Sun YL, Lin CS, (2011). Effects of Diosgenin on myometrial matrix metalloproteinase-2 and -9 activity and expression in Ovariectomized rats. *International Journal of Biological Sciences*, 7(6): 837-847
40. Charitidi K, Meltser I, Tahera Y, Canlon B, (2009). Functional responses of estrogen receptors in the male and female auditory system. *Hearing Research*. 252: 71-78
41. Chattopadhyay M, Kodela R, Nath N, Barsegian A, Boring D, Kashfi K, (2012). Hydrogen sulfide-releasing aspirin suppresses NF- κ B signaling in estrogen receptor negative breast cancer cells in vitro and in vivo. *Biochemical Pharmacology*. 83(6) :723-32
42. Cheng L, Li J, Han Y, Lin J, Niu C, Zhou Z, Yuan B, Huang K, Li J, Jiang K, Zhang H, Ding L, Xu X, Qinong Y, (2012). PES1 promotes breast cancer by differentially regulating ER α and ER β . *The Journal of Clinical Investigation* 122(8): 2857-2870
43. Ching HHR, Yeung OYL, Tse IMY, Sit WH, Li ETS, (2011). Supplementation of bitter melon to rats fed a high-fructose diet during gestation and lactation ameliorates fructose-induced dyslipidemia and hepatic oxidative stress in male offspring. *The Journal of Nutrition*, 1664-1672
44. Chiumiento L, Bruschi F, (2009). Enzymatic antioxidant systems in helminth parasites. *The Journal Parasitology Research*, 105: 593-603
45. Ciulei I, (1982). Practical Manuals on the Industrial Utilization of Medicinal and Aromatic Plants Methodology for Analysis of Vegetable Drugs. Faculty of Pharmacy, Bucarest.
46. Cladera-Amengual E, Liado I, Gianotti M, Proenza AM, (2012). Retroperitoneal white adipose tissue mitochondrial function and adipoectin expression in response to ovariectomy and 17- β -estradiol replacement. *Stereoids*, 77: 659-665
47. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroğlu M, Lunec J, (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, disease, *The FASEB Journal*, 17: 1195-1214

48. Cook-Mills JM, McCray CA, (2010). Isoforms of Vitamin E Differentially Regulate Inflammation. *Endocrin, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*. 10(4): 348-366
49. Couse, J.F. and Korach, K.S, (1999), Estrogen receptor null mice: whatm have we learned and where will they lead us? *Endocrine Reviews*. 20, 358–417
50. Cui J, Shen Y, Li R, (2013). Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: from periphery to brain. *Trends in Molecular Medicine*. 19(3): 197-209
51. Çaylak, E, (2011). Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1): 73-83
52. Çelik Durmaz C, (2005). Cerrahi Menopozdaki Hastalarda Kullanılan Çeşitli Östrojen Formlarının İnsülin Sensitivitesi Üzerine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğt ve Araş Hast, I. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul, (Danışman: Doç Dr. O. Ünal).
53. Dauqan E, Sani HA, Abdullah A, Muhamad H, Top AGD, (2011). Vitamin E beta carotene composition in four different vegetable oils. *American Journal of Applied of Sciences* 8(5): 407-412
54. Davies MJ, (2005). The oxidartive environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta*, 93-109
55. Demir H, Erat M, Şakiroğlu H, (2006). İn vitro effects of some antibiotics on Glutathione Reductase obtained from chicken liver. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 30: 513-519
56. Demirtaş A, Üntan İ, (2011). Seminal sıvı ve spermde oksidatif stres ve antioksidanlar. *Türk Üroloji Seminerleri*, 2: 24-30
57. Deroo BJ, Korach KS, (2006). Estrogen receptors and human disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(3): 561-570
58. Deveci Görür ŞD, (2011). Postmenopozal Osteoporozlu Hastalarda Sost Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ (Danışman: Doç Dr. H. Yüce).
59. Dikmen N, Özgüven T (Ed), (2004). Harper Biyokimya. 25th ed. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, İstanbul.
60. Dobashi Y, Yoshimura H, Atarashi E, Takahashi K, Tohei A, Amao H, (2012). Upregulation of Superoide Dismutase activity in the intestinal tract mucosa of germ-free mice. *The Journal of Veterinary Medical Science*,

61. Doğru Pekiner B, (2003). E vitamininin antioksidan rolü. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*, 32(4): 243-267
62. Drevet JR, (2006). The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: A complex story. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 250: 70-79
63. Dubey RK, Jackson EK, Keller PJ, Imthurn B, Rosselli M, (2001). Estradiol metabolites inhibit endothelium synthesis by an estrogen receptor-independent mechanism. *Journal of American Heart Association*, 37: 640-644
64. Dutra-de-Oliveira JE, Favaro RMD, Leonardo IR, Jordao AA, Vanucchi H, (1998). Absorbtion by humans of β -carotene from fortified soybean oil added to tice: Effect of heat treatment. *Journal of the American College of Nutrition*, 17(4): 361-365
65. Ehrlich K, Viirlaid S, Mahlapuu R, Saar K, Kullisaar T, Zilmer M, Langel Ü, Soomets U, (2007). Design synthesis and properties of novel powerfull antioxidants, glutathione analogues. *Free Radical Research*, 41(7): 779-787
66. Ekinci M, (2006). Bronşiyal Astımlı Çocuklarda Glutatyon-S-Transferaz Gen Polimorfizminin Bir Risk Faktörü Olarak Belirlenmesi, Uzmanlık Tezi, Haseki Eğ. ve Araş. Hast. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul, (Danışman: Prof Dr. M. Eevli).
67. Elibal, B, (2009). Kanola Yağından Kudret Narı Yağ Asitleri (Kİna) ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi ve Reaksiyon Koşullarının Optimizasyonu, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Prof Dr. A. Aksoy).
68. Farbstein D, Kozak-Blickstein A, Levry AP, (2010). Antioxidant vitamins and their use in preventing cardiovascular disease. *Molecules*, 15: 8098-8110
69. Fiser B, Szori M, Jojart B, Izsak R, Csizmadia IG, Viskolcz B, (2011). Antioxidant potential of glutathione: A theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry*, 115: 11269–11277
70. Frasor J, Weaver A, Pradhan M et al. (2009). Positive cross-talk between estrogen receptor and NF-KB in breast cancer. *American Association for Cancer Research*. 69(23): 8918-8925
71. Frenkel B, Hong A, Banival S.K, Coetze G.A, Ohhlsson C, Khalid O, Gabet Y, (2010), Regulation of adult bone turnover by sex steroids. *Journal of Cellular Physiology* 224, 305–310
72. Fujita K, Yoshimoto N, Kato T, Imada H, Matsumoto G, Inakuma T, Nagata Y, Miyachi E, (2012). Lycopene inhibits ischemia/reperfusion-induced neuronal apoptosis in gerbil hippocampal tissue. *Springer*

73. Garrido M, Gonzalez-Flores D, Marchena AM, Prior E, Garcia-Parra J, Barriga C, Moratinos BR, (2012). A lycopene-enriched virgin olive oil enhances antioxidant status in humans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*,
74. Gendy-El KS, Aly NM, Mahmoud FH, Kenawy A, El-Sebae AKH, (2010). The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Technology*, 48: 215-221
75. Gennari L, Merlotti D, Paola VD, Calabro A, Becherini, Martini G, Nuti R, (2005). Estrogen receptor gene polymorphisms and the genetics of Osteoporosis: A HuGE review. *American Journal of Epidemiology* 161: 307-320
76. Glaizer GM, Bowman MA, (2011). A review of the Evidence for the use of phytoestrogens as a replacement for traditional estrogen replacement therapy. *Arch Intern Medicine*, 161: 1161-1172
77. Gomez-Zubeldia MA, Corrales S, Arbues J, Nogales AG, Millan JC, (2002). Influence of estradiol and gestagens on oxidative stress in the rat uterus. *Journal of Gynecologic Oncology*. 86: 250–258
78. Gomez-Zubeldia MA, Hinchado G, Arbues JJ, Nogales AG, Millan JC, (2001). Influence of estradiol on oxidative stress in the castrated rat uterus. *Journal of Gynecologic Oncology*. 80(2): 227–232
79. Gülbahar Ö, (2007). Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi, *Turkish Journal of Geriatrics*, 10(1): 43-48
80. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB, (1974), Glutathione s-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 249: 394-401
81. Halliwell B, Aruoma O, (1991). DNA damage by oxygen-derived species its mechanism and measurement in mammalian systems. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 281: 9-19
82. Han RM, Li DD, Chen CH, Liang R, Tian YX, Zhang JP, Skibsted LH, (2011). Phenol acidity and ease of oxidation in isoflavonoid/ β -carotene antioxidant synergism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 10367-10372
83. Hathcock JN, (2004). Beta-carotene. *From Vitamin and Mineral Safety*,
84. Heldring N, Pike A, Andersson S, Matthews J, Cheng G, Hartman J, Tujague M, Strom A, Treuter E, Gustafsson J, (2007). Estrogen Receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiological Reviews*. 87: 905-931

85. Heyob KM, Rogers LK, Welty SE, (2008). Glutathione reductase targeted to type II cells does not protect mice from hyperoxic lung injury. *American Journal Of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 39: 683-688
86. Hillan J, (2006). Facts about vitamin E. *Institute of Food and Agricultural Sciences Extension*.
87. Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C, (1990), Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *Journal of Pharmacological Methods*. 24: 285–295
88. Hoyer PB, Davis JR, Bedrnicek JB, Marion SL, Barton JK Brewer MA, (2009). Ovarian neoplasm development by 7,12-dimethylbenz[a] anthracene (DMBA) in a chemically-induced rat model of ovarian failure. *National Institutes of Health*, 112(3): 610-615
89. İşbilir S, (2008). Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi, Doktora Tezi T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne (Danışman: Doç Dr. A. Sağiroğlu).
90. Jansch A, Korakli M, Vogel FR, Ganzle MG, (2007). Glutathione reductase from *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM20451: Contribution to oxygen tolerance and thiol Exchange reactions in wheat sourdoughs. *Applied and Environmental Microbiology*, 4469-4476.
91. Jefferies H, Coster J, Khalil A, Bot J, Kudret nariCauley RD, Hall JC, (2003). Glutathione. *ANZ Journal of Surgery*, 73: 517-522
92. Jelinsky SA, Choe SE, Crabtree JS, Cotreau MM, Wilson E, Saraf K, Dorner AJ, Brown EL, Peano BJ, Zhang X, Winneker CR, Harris HA, (2008). Molecular analysis of the vaginal response to estrogens in the ovariectomized rat and postmenopausal woman. *BKUDRET NARI Medical Genomics*, 1(27)
93. Johnson LJ, Meacham SL, Kruskall LJ, (2003). The antioxidant-vitamin C, vitamin E, selenium and caratenoids. *Journal of Agromedicine*, 9(1): 65-82
94. Kahn KH, (2009). The effect of regular intake of *Terminalia chebula* on oxidative stres in mice originated from *Salmonella typhimurium*. *EurAsian Journal of Biosciences*, 3: 113-121
95. Kalarhoudi MA, Taebi M, Sadat Z, Saberi F, (2011). Assesment of quality of life in menopausal periods: A population study in Kashan, Iran. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 13(11): 811-817

96. Kalt W, Forney CF, Martin A, Prior RL, (1999). Antioxidant capacity vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11): 4638-4644
97. Kankofer M, Radzki RP, Benko M, Albera E, (2007). Anti-oxidative/oxidative status of rat liver after ovariectomy. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 54: 225-229
98. Kapoor G, Banyal HS, (2009). Glutathione reductase and thioredoxin reductase: Novel antioxidant enzymes from *Plasmodium berghei*. *The Korean Journal of Parasitology*, 47(4): 421-424
99. Katzenellenbogen BS, (1996). Estrogen receptors: Bioactivities and interactions with cell signalling pathways. *Biology of Reproduction* 54: 287-293
100. Kavitha N, Babu SM, Rao ME, (2011). Influence of *Momordica charantia* on oxidative stress-induced perturbations in brain monoamines and plasma corticosterone in albino rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(4): 424-428
101. Kaya İ, (2007), Mastisitli İneklerde Kan Vitamin A,E, β -Karoten Düzeylerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi K.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars (Danışman: Yard Doç. Dr. A. Güven)
102. Kayış T, (2010). Diazon' un Subletal Konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae* L.' nin Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, (Danışman: Prof Dr. İ. Emre).
103. Khan MA, Tania M, Zhang DZ, Chen HC, (2010). Antioxidant enzymes and cancer. *Chinese Journal of Cancer Research*, 22(2): 87-92
104. Kılınç K, Kılınç A, (2002). Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 33(2): 110-118
105. Kıyak Çağlayan E, (2004). Hormon Replasman Tedavisinin Perimenopoz ve Postmenopozal Kadınlarda Psikolojik Semptomlara Etkisi. Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğt ve Araş Hast, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul (Danışman: Op Dr. G Köse).
- Kıyıcı A, Yücel D, (2005). Antiepiletik ilaç kullanımı ve oksidatif stres. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 5(2): 57-62
106. Kim, DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY, (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717
107. Kireev RA, Treguerres ACF, Garcia C, Borrás C, Ariznavarreta C, Vara E, Vina J, Tresguerres JAF, (2010). Hormonal regulation of pro-inflammatory and lipid

- peroxidation process in liver of old ovariectomized female rat. *Biotechnology*, 11: 229-243
108. Kobayashi M, Sugiyama H, Wang DH, Toda N, Maeshima Y, Yamasaki Y, Masuoka N, Yamada M, Kira S, Makino H, (2005). Catalase deficiency renders remnant kidneys more susceptible to oxidant tissue injury and renal fibrosis in mice. *Kidney International* 68: 1018-1031
109. Koçar Çelik S, Kahraman A, Maralcan G, (2010). Osteoartritin patogenezinde rolü olan oksidatif stres ve inflamasyon üzerine hyalüronik asidin etkisi. *The Medical Journal of Kocatepe*, 11: 1-7
110. Kou XX, Wu YW, Ding Y, Hao T, Bi BY, Gan YH, Ma X, (2011). 17- β Estradiol aggravates temporomandibular joint inflammation through the NF-KB pathway in ovariectomized rats. *Arthritis & Rheumatism*. 63(7): 1888-1897
111. Kumar DS, Sharathnath KV, Yogeswaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P, Banji D, (2010). A medicinal potency of *Momordica charantia*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1(2): 95-100
112. Kumar KPS, Bhowmik D, (2010). Traditional medicinal uses and therapeutic benefits of *Momordica charantia* Linn. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 4(3): 23-28
113. Kunwar A, Priyadarsini KI, (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*. 1(2): 53-60
114. Lee JO, Kang SG, Kim SH, Park SJ, Song SW, (2011). The relationship between menopausal symptoms and heart rate variability in middle aged women. *Korean Journal of Family Medicine*, 32: 299-305
115. Lentsch AB, Ward PA, (1999). Understanding the pathogenesis of inflammation using rodent models: Identification of a transcription factor (NFkB) necessary for development of inflammatory injury. *Ilar Journal*. 40(4): 151-156
116. Levin ER, (2003). Bidirectional signaling between the estrogen receptor and the epidermal growth factor receptor. *Molecular Endocrinology*. 17(3) :309-317
117. Li M, Chen Y, Liu Z, Shen F, Bian X, Meng Y, (2009). Anti-tumor activity and immunological modification of ribosome-inactivating protein (RIP) from *Momordica charantia* by covalent attachment of polyethylene glycol. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 41(9): 792-799
118. Lin JY, Selim MA, Shera CR, Grichnik JM, Ornar MM, Monteiro-Riviere NA, Pinnell SR, (2003). UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *Journal of the American Academy of Dermatology*,

119. Lin WT, Huang CC, Lin TJ, Chen JR, Shiej MJ, Peng HC, Yang SC, Huang CY, (2009). Effects of β -carotene on antioxidant status in rats with chronic alcohol consumption. *Cell Biochemistry and Function* 27: 344-350
120. Lund JDD, (2005). The Estrogen Receptor. Bachelor's Thesis University of Aarhus, Department of Chemistry, Denmark
121. Ma HR, Wang J, Qi HX, Gao YH, Pang LJ, Yang Y, Wang ZH, Duan MJ, Chen H, Cao X, Aisa HA, (2013). Assessment of the estrogenic activities of chickpea (*Cicer arietinum* L) sprout isoflavone extract in ovariectomized rats. *Acta Pharmacologica Sinica*. 34(3): 380-386
122. Mahomoodally FM, Subratty AH, Gurib-Fakim A, Choudhary MI, (2012). Antioxidant, antiglycation and cytotoxicity evaluation of selected medicinal plants of the Mascarene Islands. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12: 165
123. Manabe M, Takenaka R, Nakasa T, Okinaka O (2003). Induction of anti-inflammatory responses by dietary *Momordica charantia* L. (Bitter Gourd). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67(12): 2512-2517
124. Martin A, (2003). Antioxidant vitamins E and C and risk of Alzheimer's disease. *International Life Sciences Institute*, 69-73
125. Martin LJ, (2008). DNA damage and repair: Revelance to mechanisms of neurodegeneration. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 67(5): 377-387
126. Maruyama T, Sachi Y, Furuke K, Kitaoka Y, Kanzaki H, Yoshimura Y, Yudo J, (1999). Induction of Thioredoxin, a redox-active protein by ovarian steroid hormones during growth and differentiation of endometrial stromal cells in vitro. *Endocrinology*, 140: 365-372
127. Mates JM, Perez-Gomez C, De Castro IN, (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8): 595-603
128. Memişoğulları R, (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidan etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, 3: 30-39
129. Mercan U, (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 15(1-2): 91-96
130. *Momordica charantia* (Bitter Melon). (2007). *Alternative Medicine Review*, 12(4): 360-362
131. Moorthy K, Sharma D, Basir SF, Baquer NZ, (2005). Administration of estradiol and progesterone modulate the activities of antioxidant enzyme and

- aminotransferases in naturally menopausal rats. *Experimental Gerontology*. 40(4): 295–302
132. Mylorie AA , Collins H , Umbles C , Kyle J, (1986), Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicology and Applied Pharmacology* 82: 512-520
133. Mueller L, Boehm V, (2011). Antioxidant activity of β -carotene compounds in different in vitro assays. *Molecules*, 16: 1055-1069
134. Mugesh G, Panda A, Singh HB, Puneekar NS, Butcher RJ, (2001). Glutathione peroxidase-like antioxidant activity of diaryl diselenides: A mechanistic study. *Journal of the American Chemical Society*, 123: 839-850
135. Mugesh G, Singh HB, (2000). Synthetic organoselenium compounds as antioxidants: Glutathione peroxidase activity. *The Royal Society of Chemistry*, 29: 347-357
136. Nabha SM, Glaros S, Hong M, Lykkesfeldt AE, Schiff R, Osborne K, Reddy KB, (2005). Upregulation of PKC-delta contributes to antiestrogen resistance in mammary tumor cells. *Oncogene*. 24(19): 3166-3176
137. Nakamura K, Watanabe M, Sawai-Tanimoto S, Ikeda T, (1998). A low catalase activity in dog erythrocytes is due to a very low content of catalase protein despite having a normal specific activity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 30: 823-831
138. Nerurkar P, Ray RB, (2010). Bitter Melon: Antagonist to cancer. *Pharmaceutical Research*, 27: 1049-1053
139. Nerurkar VP, Johns LM, Buesa LM, Kipyakwai G, Volper E, Sato R, Shah P, Feher D, Williams PG, Nerurkar VR, (2011). *Momordica charantia* (bitter melon) attenuates high-fat diet-associated oxidative stress and neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 8(64)
140. Nerurkar VP, Lee KY, Linden HE, Lim S, Pearson L, Frank J, Nerurkar VR, (2006). Lipid lowering effects of *Momordica charantia* (Bitter Melon) in HIV-1-protease inhibitor-treated human hepatoma cells, HepG2. *British Journal of Pharmacology*, 148: 1156-1164
141. Nerurkar VP, Lee YK, Nerurkar VR, (2010). *Momordica charantia* (Bitter Melon) inhibits primary human adipocyte differentiation by modulating adipogenic genes. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 10(34)

142. Nordberg J, Arner ESJ, (2001). Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine*, 31(11): 1287-1312
143. Oh AS, Lorant LA, Holloway JN, Miller DL, Kern FG, El-Ashry D, (2001). Hyperactivation of MAPK induces loss of ER{alpha} expression in breast cancer cells. *Molecular Endocrinology*. 15: 1344-1359
144. Oksay Ü, (1995). Kadınların Menopoz Dönemindeki Sağlık Sorunlarına İlişkin Bilgilerin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, (Danışman: Doç Dr. H. Karanisoğlu).
145. Olempska-Bier Z, (2006). Lycopene (Synthetic) chemical and technical assessment (CTA).
146. Ortman O, Lattrich C, (2012). The treatment of climacteric symptoms. *Deutsches Arzteblatt International*, 109(17): 316-324
147. Osmanova S, Sezer E, Turan V, Zeybek B, Terek MC, Kamit L, (2011). The effects of raloxifene treatment on oxidative status in brain tissue and learning process of ovariectomized rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 9(4): 295-300
148. Papas M, (2008). Vitamin E: New perspective. *Douglas Laboratories*,
149. Patel R, Mahobia N, Upwar N, Waseem N, Talaviya H, Patel Z, (2010). Analgesic and antipyretic activities of *Momordica charantia* Linn. fruits. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1(4): 415–418
150. Pektaş İ, (2009). Bitki Gelişim Düzenleyicilerin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, Yüksek lisans Tezi, B.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir, (Danışman: Doç Dr. S. Doğan).
151. Peng HC, Chen JR, Chen YL, Yang SC, Yang SS, (2010). β -carotene exhibits antioxidant anti-apoptotic properties to prevent ethanol-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Phytotherapy Research*, 24: 183-189
152. Pervicial M, (1996). Antioxidants, *Clinical Nutrition Insights* 10(98)
153. Petzold H, Sadler PJ, (2008). Oxidation induced by the antioxidant glutathione (GSH). *Chemical Communications*, 37: 4369-4508
154. Pişkin A, Altunkaynak BZ, Tümentemur G, Kaplan S, Yazıcı OB, Hökelek M, (2012). The beneficial effects of *Momordica charantia* (bitter gourd) on wound healing of rabbit skin. *Journal of Dermatological Treatment*.
155. Ranganna K, Mathew OP, Yatsu FM, Yousefipour Z, Hayes BE, Milton SG, (2007). Involvement of glutathione/glutathione S-transferase antioxidant system in

- butyrate-inhibited vascular smooth muscle cell proliferation. *FEBS Journal*, 274: 5962-5978
156. Rao LG, Guns E, Rao AV, (2003). Lycopene: Its role in human health and disease. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 25-30
157. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahanna DK, Kumar MNVR, (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release*, 113: 189-207
158. Ray RB, Raychoudhuri A, Steele R, et al (2010). Bitter Melon (*Momordica charantia*) extract inhibits breast cancer cell proliferation by modulating cell cycle regulatory genes and promotes apoptosis. *American Association for Cancer Research*, 1925-1931
159. Raza H, Ahmed I, John A, Sharma AK, (2000). Modulation of xenobiotic metabolism and oxidative stress in chronic streptozotocin-induced diabetic rats fed with *Momordica charantia* fruit extract. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 14(3): 131-139
160. Riccioni G, Bucciarelli T, Mancini D, Ilio CD, Vecchia RD, D'Orazio N, (2007). Plasma lycopene and antioxidant vitamins in asthma: The plava study. *Journal of Asthma*, 44: 429-432
161. Richmond A, (2002). NF-KB Chemokine gene transcription and tumor growth. *Nature Reviews Immunology*. 2(9): 644-674
162. Rietjens IMCM, Boersma MG, de Haan L, Spenkelink B, Awad HM, Cnubben NHP, van Zenden JJ, van der Woude H, Alink GM, Koeman JH, (2002). The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11: 321-333
163. Rodriguez MAS, Flores MZ, Rosales AA, Munoz EC, Nanez VMM, (2012). Menopause as risk factor for oxidative stress. *The Journal of the American Menopause Society*, 19(3): 361-367
164. Rogers NH, Witczak CA, Hirshman MF, Goodyear LJ, Greenberg AS, (2010) Estradiol stimulates Akt, AMPK and TBC1D1/4, but not glucose uptake in rat muscles. *National Institutes of Health*, 382(4): 646-650
165. Saha SS, Ghosh M, (2012). Antioxidant and anti-inflammatory effect of conjugated linolenic acid isomers against streptozotocin-induced diabetes. *British Journal of Nutrition*. 108(6): 974-983
166. Saraçoğlu, F, (1998). Menopoz ve hormon replasman tedavisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 1(2): 76-88

167. Sastre J, Pallardo FV, Vina J, (2005). Glutathione. *The Handbook of Environmental Chemistry*, 2(0): 91-108
168. Sastre-Serra J, Nadal-Serrano M, Pons DG, Valle A, Garau I, García-Bonafé M, Oliver J, Roca P (2013). The oxidative stress in breast tumors of postmenopausal women is ER α /ER β ratio dependent. *Journal of Free Radicals in Biology and Medicine*. 14; 61C: 11-17
169. Sathishsekar D, Subramanian S, (2005). Beneficial effects of *Momordica charantia* seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 28(6): 978-983
170. Schwartz AG, Pashko LL, (2004). Dehydroepiandrosterone, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and longevity. *Ageing Research Reviews*. 3(2): 171–187
171. Semiz A, Şen A, (2007). Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica charantia* L. (bitter melon) fruit extract. *African Journal of Biotechnology*, 6(3): 273-277
172. Seriner R, (2010). Katalaz Enziminin Hıyardan (*Cucumis sativus*) Saflaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, (Danışman: Doç Dr. R. Bilgin).
173. Sezgin B, (2011). Menopozal Hastalarda Vücut Kompozisyon Karakteristiklerinin Biyoelektriksel İmpedans Yöntemi ile Araştırılması, Uzmanlık Tezi, H.Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı., Şanlıurfa (Danışman: Doç Dr. H. Camuzcuoğlu).
174. Shekelle P, Morton SC, (2003). Effect of supplemental antioxidants vitamin C, vitamin E, and coenzyme Q10 for the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Evidence Report/Technology Assessment*, 83
175. Singh J, Cumming E, Manoharan G, Kalasz H, Adeghate E, (2011) Medicinal chemistry of the anti-diabetic effects of *Momordica charantia*: Active constituents and modes of actions. *The Open Medicinal Chemistry Journal*, 5: 70-77
176. Smith DLW, Payne LN Wyard SJ, (1984). Catalase depression in malignant liver from chickens with myeloblastosis and Marek's disease. *British Journal of Cancer*, 50: 399-405
177. Strehlow K, Rotten S, Wassmann S, Adam O, Grohe C, Laufs K, Bohm M, Nickenig G, (2003). Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Journal of the American Heart Association*. 93: 170–177

178. Sundaram EN, Reddy PU, Singh KP, (2009). Effect of alcoholic of Indian medicinal the altered enzymatic activities of diabetic rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 71(5): 594-598
179. Sundarrajan C, Liao WX, Roy AC, Ng SC, (1999). Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. *Molecular Human Reproduction* 5(9): 797-802
180. Sup K, Kim YS, yoon HS, (2012). Glutathione reductase from *Oryza sativa* increases acquired tolerance to abiotic stresses in a genetically modified *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(11): 1557-1567
181. Süzen HF, (2009). Mısır Yağı ile Kudret Narı Yağ Asitleri Karışımının Asidolizi ile Yapılandırılmış Yağ Üretimi ve Optimizasyonu, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Danışman (Prof Dr. A. Aksoy).
182. Takebayashi J, Yagi Y, Ishii R, Abe S, Yamada K, Tai, (2008). Antioxidant Properties of 2-O- β -D-Glucoopyramosyl-L-ascorbic acid. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 72(6): 1558-1563
183. Talaulikar VS, Manyonda IT, (2011). Vitamin C as an antioxidant supplement in women's health:a myth in need of urgent burial. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 157: 10-13
184. Tamser M, (2007). Ovariectomize ve Diabetik Ratlarda E Vitamini ve 17- β Estradiolün Lipt Peroksidasyon Seviyesi ile Hematolojik ve Plazma Lipit Değerleri Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Doç Dr. M. Çay).
185. Tang XL, Liu XJ, Tian Q, Zhang W, (2012). Dynamic oxidative stres and DNA damage induced by oestrogen deficiency and protective effects of puerarin and 17 β -oestradiol in ovariectomized rats. *Basic & Clinic Pharmacology & Toxicology*, 111: 87-91
186. Tekkeş Y, (2006). Streptozotosin İle Diabet Oluşturulmuş Farelerde Aspirin ve E Vitaminin Dokularda Lipid Peroksidasyonu ve Antioksidan Sisteme Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, K. S. İ. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, (Danışman: Yard Doç Dr. N. Kurtul).
187. Teoh SL, Latiff AA, Das S, (2010). Histological changes in the kidneys of experimental diabetic rats fed with *Momordica charantia* (bitter gourd) extract. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 51(1): 91-95

188. Thenmozhi AJ, Subramanian P, (2011). Antioxidant poteintial of *Momordica charantia* in ammonium chloride-induced hyperammonemic rats. *Evidence-Based Complementary and AlternativeMedicine*. 1-7
189. Thomas JA, (1999). Oxidative stres including glutathione, a peptide for cellular defense against oxidative stress. Iowa State University, Suppl 404,
190. Thornton MJ, (2002). The biological action of estrogens on skin. *Experimental Dermatology*, 11: 487-502
191. Toran-Allerand, C.D. (2005), Estrogen and the brain: beyond ERalpha, ER-beta, and 17beta-estradiol. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1052, 136–144
192. Tozkoparan B, Aytaç SP, (2007). Kanser kemoterapisinde terapötik hedef olarak glutatyon S-transferazlar. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27(2): 139-164
193. Traber MG, Atkinson J, (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology & Medicine*, 43: 4-15
194. Trevisan de Rocha J, Pinton S, Mazzanti A, Mazzanti CM, Beckemann DV, Nogueira CW, Zeni G, (2011). Effects of diphenyl diselenide on lipid profile and hepatic oxidative stres parameters in ovariectomized female rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63: 663-669
195. Tripathi UN, Chandra D, (2009). The plant extract of *Momordica charantia* and *Trigonella foenum graecum* have antioxidant ant anti-hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5): 290-296
196. Turgut O, Ay AA, Turgut H, Ay A, Kafkas S, Dost T, (2013). Effects of melatonin and dexpanthenol on antioxidant parameters when combined with estrogen treatment in ovariectomized rats. *Age*
197. Tüfekçi A, (2010). Ratlarda Pentilentetrazol İle Oluşturulan Epileptik Nöbet Modelinde Pregabalinin Beyin Korteksinde Oksidatif Stres Üzerine Etkileri, Uzmanlık Tezi, S.D.Ü. Tıp Fakültesi, Isparta, (Danışman: Doç Dr. HR. Koyuncuoğlu).
198. Türköz Y, Özerol E, (1997). Nitrik Oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(4): 453-461
199. Uche-Nwachi EO, McEven C, (2010) Teratogenic effect of the water extract of Bitter Gourd , (*Momordica charantia*) on the Sprague Dawley rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7(1): 24-33

200. Uebanso T, Arai H, Taketani Y, Fukaya M, Yamamoto H, Mizuno A, Uryu K, Hada T, Takeda E, (2007). Extracts of *Momordica charantia* suppress postprandial hyperglycemia in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 53: 482-488
201. Ulusu G, Erat M, Çiftçi M, Şakiroğlu H, Bakan E, (2005). Purification and characterization of glutathione reductase from sheep liver. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 29: 1109-1117
202. Uncugil F, Ögüş E, Erbay AR, Düzoylum A, Yücel D, (2004). Kardiyomiyopatilerde nitrik oksit metabolitleri ve kardiyak troponin I. *Türk Biyokimya Dergisi*, 29(2): 199-203
203. Van Gent DC, Hoeijmakers HJ, Kanaar R, (2001). Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nature Reviews*. 2: 196-206
204. Vandevijvere S, Cucu T, Vinx C, Huvaere K, Huybrechts I, Loco JV, (2012). Dietary intake of lycopene by the Belgian adult population. *Public Health Nutrition*, 1-8
205. Varma GF, Karadağ F, Oğuzhanoglu NK, Özdel O, Kökten S, (2006). Menopoz: Klimakterik belirtiler ve cinsel doyum arasındaki ilişki. *New Symposium Journal*, 44(4): 182-188
206. Vecchio G, Lanza V, (2009). Synthesis of superoxide dismutase (SOD) enzyme mimetics. *Journal of Chemical Education*, 86(12): 1419-142
207. Wang HH, Liu M, Clegg DJ, Portincasa P, Wang DQH, (2009). New insights into the molecular mechanisms underlying effects of estrogen on cholesterol gallstone formation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1791: 1037–1047
208. Wang MJ, Hou X, Adeosun S, Hill R, Henry S, Paul I, Irwin RW, Ou XM, Bigler S, Stockmeier C, Brinton RD, Gomez-Sanchez E, (2012). A dominant negative ER β Splice variant determines the effectiveness of early or late estrogen therapy after ovariectomy in rats. *Plus One*, 7(3)
209. Wassmann K, Wassmann S, Nickenig G, (2005). Progesterone antagonizes the vasoprotective effect of estrogen on antioxidant enzyme expression and function. *Journal of the American Heart Association*. 97: 1046–1054
210. Wend K, Wend P, Krum SA, (2012). Tissue-specific effects of loss of estrogen during menopause and aging. *Frontiers in Endocrinology* 3:19
211. Williams GM, Jeffrey AM, (2000). Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32: 283-292
212. Wright-Dalman K, Cavailles V, Fuqua SA, Jordan VC, Katzenellenbogen JA, Korach KS, Maggi A, Muramatsu M, Parker MG, Gustafsson JA, (2006).

- International union of Pharmacology. LXIV. estrogen receptors. *Pharmacological Reviews* 58: 773-781
213. Xing D, Oparil S, Yu H, Gong K, Feng W, Black J, Chen YF, Nozell S, (2012). Estrogen modulates NF κ B signaling by enhancing I κ B α levels and blocking p65 binding at the promoters of inflammatory genes via estrogen receptor- β . *Plos One*. 7(6): 1-12
214. Xu X, Duncan AM, Merz BE, Kurzer MS, (1998). Effects of soy isoflavones on estrogen and phytoestrogen metabolism in premenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prevention*. 7(12): 1101-1108
215. Yalin S, Çömelekoğlu Ü, Bağış S, Berköz M, Eroğlu P, (2010). Effects of alendronate and risedronate therapy on hepatic antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in ovariectomized rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 40(4): 613-618
216. Yalin S, Çömelekoğlu Ü, Bağış S, Şahin Ö, Ögenler O, Hatungil R, (2006). Acute effect single-dose cadmium treatment on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in ovariectomized rats. *Exotoxicology and Environmental Safety*, 65: 14-144
217. Yde CW, Emdal KB, Guerra B, Lykkesfeldt AE, (2012). NF κ B signaling is important for growth of antiestrogen resistant breast cancer cells. *Breast Cancer Research Treatment*. 135(1): 67-78
218. Yoshimoto M, Sakamoto H, Yoshimoto , Kuboi R, Nakao K, (2007). Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology*, 41: 849-858
219. Yue R, Hu H, Yiu KH, Luo T, Zhou Z, Xu Lei, Zhang S, Li K, Yu Z, (2012). Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing mitochondrial dysfunction in primary neonatal Mouse cardiomyocytes. *Plus One*, 7(11): 1-10
220. Zhao X, Zhang Y, Strong R, Grotta JC, Aronowski J, (2006). 15d-prostaglandin J₂ activates peroxisome proliferator-activated receptor- γ , promotes expression of catalase, and reduces inflammation behavioral dysfunction, and neuronal loss after intracerebral hemorrhage in rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 26: 811-820
221. Zhou Y, Eppenberger-Castori S, Benz CC, (2005). The NF κ B pathway and endocrine-resistant breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*. 12: 37-46