

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİŞİ SIÇANLARDA AROMATAZ İNHİBİTÖRÜ LETRAZOL'ÜN  
MONOAMİNERJİK NÖROTRANSMİTTERLER, NCAM DÜZEYLERİ VE  
KOGNİTİF FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. MEHMET AYDIN**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. BAYRAM YILMAZ**

**ELAZIĞ-2007**



*Eşim Suzan AYDIN*

*ve ocuklarım...*

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime bilgi ve tecrübeleri ile büyük katkıda bulunan, tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof.Dr.Bayram YILMAZ'a ve Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr.Haluk KELEŞTİMUR'a şükranlarımı sunarım. Tez çalışmam süresince yardımlarını gördüğüm Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof.Dr.Gıyasettin BAYDAŞ, Doç.Dr.Ahmet AYAR, ve Doç.Dr.Selim KUTLU'ya; Araştırma Görevlileri Dr.Sema TULAY KÖZ, Dr.Fatih EROL, Dr.Ergül ALÇİN, Dr.Uğur ESEN, Dr.Fatih DİNÇ, Dr.Selçuk ŞİMŞEK ve Dr.Reşit SEVİMLİ'ye; yüksek lisans öğrencileri Zafer ŞAHİN, Gökçen ÖZDEMİR ve Özgür BULMUŞ'a; Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Yrd.Doç.Dr.Oğuz ÖZÇELİK, Dr.Mete ÖZCAN, doktora öğrencisi İhsan SERHATLIOĞLU'na, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Görevlisi Sayın Yrd.Doç.Dr.Mehmet TUZCU'ya, KTÜ Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Yrd.Doç.Dr.Sinan CANPOLAT'a, Süleyman SANDAL ve Abdullah YAŞAR'a, Western Blot çalışmalarında yardım ve tecrübesini esirgemeyen Sayın Viktor S. NEDZVETSKİİ'ye (Dnepropetrovsk National University, Faculty of Biology, Department of Biophysics and Biochemistry, Dnepropetrovsk, Ukrayna), ELISA deneyleri boyunca laboratuarda yardımlarını gördüğüm Sayın Uzman Dr. Salih KUK'a teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

1.	ÖZET .....	1
2.	ABSTRACT .....	3
3.	GİRİŞ .....	5
3.1.	Aromataz Enzimi .....	5
3.1.1.	Genel Karakteristik Özellikleri .....	5
3.1.2.	Beyinde Aromataz .....	8
3.1.3.	Nöron Koruyucu Özellikleri .....	9
3.1.4.	Beyinde Aromataz İçin Substratın Kaynağı .....	10
3.2.	Östrojenler .....	11
3.2.1.	Genel Özellikleri .....	11
3.2.2.	Östrojenin Nöron Koruyucu Etkileri .....	11
3.2.3.	Östrojenin Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkileri .....	15
3.2.4.	Östrojenin Beyinde Etki Mekanizmaları .....	20
3.2.5.	Östrojen ve Nörotransmitterler .....	24
3.3.	Kognitif (Bilişsel) Fonksiyonlar; Öğrenme ve Bellek .....	26
3.4.	Hücre Adezyon Molekülleri .....	30
3.4.1.	NCAM Yapısı ve Özellikleri .....	31
3.4.2.	NCAM'in Öğrenme ve Hafızanın Şekillenmesindeki Rolü .....	33
3.4.3.	Sinaptik Plastisite ve PSA-NCAM'in Rolü .....	34
3.4.4.	NCAM ve LTP .....	37
3.5.	Aromataz Enzim İnhibitörleri .....	38
3.5.1.	Letrazol (CGS 20267) .....	42
3.5.1.a.	Farmakokinetiği .....	42

3.5.1.b.	Letrazolün Etkinliği .....	42
3.5.1.c.	Letrazolün Anti-tümör Etkileri.....	43
3.5.1.d.	Letrazolün Seçiciliği .....	45
3.5.1.e.	Diğer Etkiler .....	46
3.6.	Amaç .....	48
4.	<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	49
4.1.	Deney Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri .....	49
4.2.	Kimyasal maddeler.....	50
4.3.	Deney Dizaynı .....	50
4.3.1.	Birinci Deney Düzenegi.....	50
4.3.2.	İkinci Deney Düzenegi .....	50
4.4.	Sıçanlarda Vajinal Smear Değerlendirilmesi.....	51
4.5.	Ovarektomi .....	52
4.6.	Morris'in Su Tankı Testi.....	52
4.7.	Western Blot Yöntemiyle NCAM Analizi .....	54
4.7.1.	Örneklerin Hazırlanması.....	54
4.7.2.	Örneklerin SDS-PAGE ile Analizi .....	54
4.7.3.	Örneklerin Western Blot ile Analizi .....	56
4.7.3.a.	Blotlama; Jeldeki Proteinlerin Nitroselüoz Membrana Aktarımı .....	56
4.7.3.b.	Bloklama; Spesifik Olmayan Reaksiyonları Engellemek İçin Nitroselüoz Membranda Protein Bağlanmamış Bölgelerin İlgisiz Proteinlerle Kaplanması .....	56
4.7.3.c.	Özgül Antikorlarla Tepkime .....	56
4.7.3.d.	Bantların Görüntülenmesi .....	57

4.8.	Monoamin Tayini.....	57
4.8.1.	Monoamin Tayini İçin Beyin Dokularının Ekstraksiyonu .....	57
4.8.2.	Monoamin Analiz İşlemleri .....	58
4.8.3.	Noradrenalin, Dopamin ve Metabolitlerin Tayini.....	58
4.9.	Serum Hormon Konsantrasyonlarının Ölçülmesi.....	61
4.9.1.	Serum Elde Edilmesi.....	61
4.9.2.	Serum 17 $\beta$ -E <sub>2</sub> Konsantrasyonunun Ölçülmesi.....	61
4.9.3.	Serum DHEA Konsantrasyonunun Ölçülmesi.....	62
4.10.	İstatistiksel Değerlendirme .....	63
5.	BULGULAR .....	64
5.1.	Ağırlık Ölçümleri .....	64
5.1.1.	Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimi .....	64
5.1.1.a.	Birinci Deney Düzenegi .....	64
5.1.1.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	64
5.1.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	64
5.1.2.	Yüzde Uterus Ağırlıkları.....	65
5.1.2.a.	Birinci Deney Düzenegi .....	65
5.1.2.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	65
5.1.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	65
5.1.2.	Yüzde Over Ağırlıkları .....	65
5.2.	Öğrenme Deneyleri Bulgular .....	68
5.2.1.	MWM Testinde Gizli Platform Bulma Süre.....	68
5.2.1.a.	Birinci Deney Düzenegi .....	68
5.2.1.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	68
5.2.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	68

5.2.2.	Prob Testi Bulguları.....	69
5.2.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	69
5.2.2.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	69
5.2.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	69
5.3.	NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	72
5.3.1.	Hipokampus NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	72
5.3.1.1.	Hipokampus NCAM 180 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	72
5.3.1.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	72
5.3.1.1.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	72
5.3.1.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	72
5.3.1.2.	Hipokampus NCAM 140 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	72
5.3.1.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	72
5.3.1.2.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	73
5.3.1.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması.....	73
5.3.1.3.	Hipokampus NCAM 120 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	73
5.3.2.	Korteks NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	73
5.3.2.1.	Korteks NCAM 180 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	73
5.3.2.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	73
5.3.2.1.b.	İkinci Deney Düzenegi.....	73



5.3.2.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	73
5.3.2.2.	Korteks NCAM 140 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	74
5.3.2.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	74
5.3.2.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	74
5.3.2.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	74
5.3.2.3.	Korteks NCAM 120 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri.....	74
5.4.	Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri .....	79
5.4.1.	Hipokampus Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri .....	79
5.4.1.1.	Hipokampus Noradrenalin Değerleri .....	79
5.4.1.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	79
5.4.1.1.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	79
5.4.1.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	79
5.4.1.2.	Hipokampus DHPG Değerleri .....	80
5.4.1.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	80
5.4.1.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	80
5.4.1.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	80
5.4.1.3.	Hipokampus Dopamin Değerleri .....	80
5.4.1.3.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	80
5.4.1.3.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	80
5.4.1.3.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	81
5.4.1.4.	Hipokampus DOPAC Değerleri.....	81
5.4.1.4.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	81
5.4.1.4.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	81

5.4.1.4.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	81
5.4.2.	Korteks Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri .....	85
5.4.2.1.	Korteks Noradrenalin Değerleri .....	85
5.4.2.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	85
5.4.2.1.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	85
5.4.2.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	85
5.4.2.2.	Korteks DHPG Değerleri .....	85
5.4.2.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	85
5.4.2.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	85
5.4.2.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	86
5.4.2.3.	Korteks Dopamin Değerleri .....	86
5.4.2.3.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	86
5.4.2.3.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	86
5.4.2.3.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	86
5.4.2.4.	Korteks DOPAC Değerleri .....	87
5.4.2.4.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	87
5.4.2.4.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	87
5.4.2.4.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	87
5.4.3.	Hipotalamus Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri .....	91
5.4.3.1.	Hipotalamus Noradrenalin Değerleri .....	91
5.4.3.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	91
5.4.3.1.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	91
5.4.3.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	91
5.4.3.2.	Hipotalamus DHPG Değerleri .....	91
5.4.3.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	91

5.4.3.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	91
5.4.3.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	92
5.4.3.3.	Hipotalamus Dopamin Değerleri .....	92
5.4.3.3.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	92
5.4.3.3.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	92
5.4.3.3.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	92
5.4.3.4.	Hipotalamus DOPAC Değerleri .....	93
5.4.3.4.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	93
5.4.3.4.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	93
5.4.3.4.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	93
5.4.4.	Striatum Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri .....	97
5.4.4.1.	Striatum Noradrenalin Değerleri.....	97
5.4.4.1.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	97
5.4.4.1.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	97
5.4.4.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	97
5.4.4.2.	Striatum DHPG Değerleri.....	97
5.4.4.2.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	97
5.4.4.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	97
5.4.4.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	97
5.4.4.3.	Striatum Dopamin Değerleri.....	98
5.4.4.3.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	98
5.4.4.3.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	98
5.4.4.3.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	98
5.4.4.4.	Striatum DOPAC Değerleri.....	98
5.4.4.4.a.	Birinci Deney Düzenegi.....	98

5.4.4.4.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	98
5.4.4.4.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	99
5.5.	Serum Hormon Seviyeleri .....	103
5.5.1.	Serum DHEA Değerleri .....	103
5.5.1.a.	Birinci Deney Düzenegi .....	103
5.5.1.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	103
5.5.1.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	103
5.5.2.	Serum 17β-E <sub>2</sub> Düzeyleri .....	103
5.5.2.a.	Birinci Deney Düzenegi .....	103
5.5.2.b.	İkinci Deney Düzenegi .....	103
5.5.2.c.	İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması .....	104
6.	TARTIŞMA .....	107
6.1.	Ağırlıklar .....	107
6.2.	Öğrenme Performansı .....	107
6.3.	NCAM .....	111
6.4.	Monoaminler .....	117
6.5.	Monoaminler ile Öğrenme Performansı Arasındaki İlişki .....	120
7.	KAYNAKLAR .....	127
8.	ÖZGEÇMİŞ .....	190

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1. Aromataz inhibitörlerinin sınıflandırılması .....</b>	<b>39</b>
<b>Tablo 2. Sıçan yeminin bileşimi ve kalori değeri .....</b>	<b>49</b>
<b>Tablo 3. Tüm grupların vücut ağırlık değişimi, uterus ağırlıkları ve intak grubun over ağırlıkları yüzde olarak değerleri .....</b>	<b>66</b>
<b>Tablo 4. Beş günlük öğrenme sürecinde sıçanların platform bulma süreleri (sn) ve prob testinde hedef kadranda kalma yüzdeleri .....</b>	<b>70</b>
<b>Tablo 5. Western blot ile ölçülebilen tüm NCAM polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları.....</b>	<b>75</b>
<b>Tablo 6. Hipokampus monoamin konsantrasyonları .....</b>	<b>82</b>
<b>Tablo 7. Korteks monoamin düzeyleri.....</b>	<b>88</b>
<b>Tablo 8. Hipotalamus monoamin düzeyleri .....</b>	<b>94</b>
<b>Tablo 9. Striatum katekolamin değerleri.....</b>	<b>100</b>
<b>Tablo 10. Serum DHEA ve 17<math>\beta</math>-E<sub>2</sub> düzeyleri .....</b>	<b>105</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Aromataz enzim kompleksinin şematik çizimi .....	7
Şekil 2. Merkezi sinir sisteminde östrojenlerin sentez basamakları .....	13
Şekil 3. Östrojen tipleri ve birbirlerine dönüşümleri .....	14
Şekil 4. Östrojenin beyinde koruyucu etkilerinin mekanizmaları .....	22
Şekil 5. NCAM moleküllerinin yapısı.....	32
Şekil 6. Aromataz inhibitörlerinin yapısı.....	41
Şekil 7. Deney sonunda başlangıç ağırlıklarına göre vücut ağırlık değişimlerinin yüzelik gösterimi.....	66
Şekil 8. Uterus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına yüzde olarak oranı .....	67
Şekil 9. İntak gruplarda over ağırlıklarının vücut yüzdesine oranı.....	67
Şekil 10. Tüm gruplardaki sıçanlarda uzaysal öğrenmenin kazanımının Morris water maze testi ile ölçülmesi.....	71
Şekil 11. Öğrenmenin kazanımı süresince platformun kaldığı hedef kadranda platform alındıktan sonra sıçanların bir dakika içinde geçirdikleri sürenin yüzde değerleri .....	71
Şekil 12. Western blot ile hipokampus NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları.....	75
Şekil 13. Western blot ile hipokampus NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları.....	76
Şekil 14. Western blot ile hipokampus NCAM 120 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları.....	76
Şekil 15. Western blot ile korteks NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları.....	77

<b>Şekil 16. Western blot ile korteks NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının</b>	
<b>    densitometrik analiz sonuçları.....</b>	<b>77</b>
<b>Şekil 17. Western blot ile korteks NCAM 120 kDa polipeptit bandlarının</b>	
<b>    densitometrik analiz sonuçları.....</b>	<b>78</b>
<b>Şekil 18. Hipokampus noradrenalin seviyeleri .....</b>	<b>83</b>
<b>Şekil 19. Hipokampus DHPG seviyeleri.....</b>	<b>83</b>
<b>Şekil 20. Hipokampus dopamin seviyeleri .....</b>	<b>84</b>
<b>Şekil 21. Hipokampus DOPAC seviyeleri .....</b>	<b>84</b>
<b>Şekil 22. Korteks noradrenalin konsantrasyonu .....</b>	<b>89</b>
<b>Şekil 23. Korteks DHPG seviyeleri.....</b>	<b>89</b>
<b>Şekil 24. Korteks Dopamin konsantrasyonu.....</b>	<b>90</b>
<b>Şekil 25. Korteks DOPAC konsantrasyonu .....</b>	<b>90</b>
<b>Şekil 26. Hipotalamus noradrenalin konsantrasyonu .....</b>	<b>95</b>
<b>Şekil 27. Hipotalamus DHPG konsantrasyonu.....</b>	<b>95</b>
<b>Şekil 28. Hipotalamus dopamin konsantrasyonu .....</b>	<b>96</b>
<b>Şekil 29. Hipotalamus DOPAC konsantrasyonu .....</b>	<b>96</b>
<b>Şekil 30. Striatum noradrenalin konsantrasyonu.....</b>	<b>101</b>
<b>Şekil 31. Striatum DHPG konsantrasyonu .....</b>	<b>101</b>
<b>Şekil 32. Striatum dopamin konsantrasyonu.....</b>	<b>102</b>
<b>Şekil 33. Striatum DOPAC konsantrasyonu.....</b>	<b>102</b>
<b>Şekil 34. Serum DHEA konsantrasyonu .....</b>	<b>106</b>
<b>Şekil 35. Serum 17β-E<sub>2</sub> konsantrasyonu .....</b>	<b>106</b>

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>17<math>\beta</math>-E<sub>2</sub></b>	<b>: 17<math>\beta</math>-östradiol</b>
<b>17<math>\beta</math>-HSD</b>	<b>: 17<math>\beta</math>-hidroksisteroid dehidrojenaz</b>
<b>3<math>\beta</math>-HSD</b>	<b>: 3<math>\beta</math>-hidroksisteroid dehidrojenaz</b>
<b>ACTH</b>	<b>: Adrenokortikotrop hormonun</b>
<b>AH</b>	<b>: Alzheimer hastalığı</b>
<b>ArKO</b>	<b>: Aramotaz knockout</b>
<b>BERKO</b>	<b>: Beta östrojen reseptör knockout</b>
<b>CAM</b>	<b>: Hücre adezyon molekülleri</b>
<b>cAMP</b>	<b>: Siklik adenozin monofosfat</b>
<b>COMT</b>	<b>: Katekol-o-metil transferaz</b>
<b>CREB</b>	<b>: cAMP cevap element bağlayıcı protein</b>
<b>DHEA</b>	<b>: Dehidroepiandrosteron</b>
<b>DHEAS</b>	<b>: Dehidroepiandrosteron sülfat</b>
<b>DAB</b>	<b>: Diaminobenzidin</b>
<b>DHBA</b>	<b>: Dihidroksi benzilamin</b>
<b>DHPG</b>	<b>: Dihidroksifenil glikol</b>
<b>DOPAC</b>	<b>: Dihidroksifenilasetik asit</b>
<b>E<sub>1</sub></b>	<b>: Östron</b>
<b>E<sub>2</sub></b>	<b>: Östradiol</b>
<b>E<sub>3</sub></b>	<b>: Östriol</b>
<b>ER-<math>\alpha</math></b>	<b>: Östrojen reseptör alfa</b>
<b>ER-<math>\beta</math></b>	<b>: Östrojen reseptör beta</b>
<b>FSH</b>	<b>: Folikül stümülan (uyarıcı) hormon</b>



**HPLC-ECD** : Elektrokimyasal deteksiyonlu-yüksek performanslı sıvı kromatografisi

**GnRH** : Gonadotropin salgılatıcı hormon

**GPCR** : G-prot bağlayan reseptör

**Ig** : İmmüoglobülin

**ICV** : İntraserebroventriküler

**IGF-1** : İnsülin benzeri büyüme faktör-1

**LH** : Luteinizan hormon

**LTD** : Uzun dönem depresyon

**LTP** : Uzun dönemli potansiasyon

**MAPK** : Mitojen aktive edici protein kinaz

**MSS** : Merkezi sinir sistemi

**MWM** : Morris water maze testi (Morris su tankı testi)

**NADPH** : Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

**NCAM** : Nöral hücre adezyon molekülleri

**OVX** : Ovaryektomi

**P450arom** : Sitokrom P450 aromataz

**PFK** : Prefrontal korteks

**PSA** : Polisialik asit

**RAM** : Radyal kollu labirent

## 1. ÖZET:

Östrojenin özellikle uzaysal hafıza başta olmak üzere öğrenme ve hafızayı etkilemektedir. Östrojen sentezleyen aromataz enzimi nöronlarda ve astrositlerde bulunmaktadır. Letrazol bu enzimi geri dönüşümlü ve güçlü bir şekilde inhibe etmektedir. Bu çalışma, letrazolün uzaysal öğrenme ve hafıza performansları, çeşitli beyin bölgelerinde nöral hücre adezyon molekülleri (NCAM) ve katekolaminerjik nörotransmitter düzeyleri üzerine etkilerinin ve bunların birbirleriyle ilişkilerinin araştırılması amacıyla yapıldı.

İntakt modelde, düzenli siklus gösteren toplam 32 adet yetişkin Sprague-Dawley sıçan dört gruba ayrıldı (n=8). Kontrol grubuna sadece serum fizyolojik verildi. İkinci ve üçüncü gruplara günlük oral gavaj ile sırasıyla 0.2 ve 1 mg/kg dozlarında letrazol altı hafta uygulandı. Letrazol (1mg/kg) uygulanan diğer bir grup uygulamadan sonra iki hafta iyileşmeye bırakıldı (iyileşme grubu). Ovaryektomize (Ovx) modelde ise, 32 adet sıçan iki taraflı ovaryektomize edildikten sonra dört gruba ayrıldı. Birinci gruba sadece serum fizyolojik verildi. İkinci gruba letrazol (1mg/kg) altı hafta uygulandı. Ovx sıçanların üçüncü grubuna letrazol (1mg/kg) ile günlük östradiol (E<sub>2</sub>, 10µg/sıçan) ve son gruba ise 1mg/kg letrazol ile birlikte 10µg/sıçan dozunda E<sub>2</sub> gün aşırı uygulandı. Uygulamalar sonunda tüm hayvanlar Morris su tankı uzaysal öğrenme testlerine tabi tutuldular. Sonra hayvanlar dekapite edildiler ve hızla beyinleri çıkarılıp bölgelere ayrıldı. Katekolaminlerin konsantrasyonu HPLC-ECD ile belirlendi. NCAM 120, 140 ve 180 izoformları Western blot ile ve serum E<sub>2</sub> seviyeleri ise ELIZA yöntemi ile ölçüldü.

Uterus ağırlıkları letrazol tarafından doz bağımlı olarak azaldığı (p<0.01); iyileşme grubunda ise bu parametrelerin kontrol değerlerine bir miktar yaklaştığı gözlemlendi (p<0.05). Serum E<sub>2</sub> seviyeleri de benzer seyir gösterdi (p<0.01). Letrazol

uygulanan sıçanların uzaysal öğrenme performansında istatistiksel fark bulunamadı. Buna rağmen prob testinde yüksek doz letrazol uygulanan intakt sıçanlar hedef kadranda kontrole göre daha fazla zaman geçirdiler ( $p<0.05$ ). Ovx hayvanlardan letrazol uygulananların kaçınma süreleri Ovx kontrol gruba göre anlamlı olarak azdı ( $p<0.001$ ); fakat prob testi performansları daha yüksekti ( $p<0.05$ ). Günlük  $E_2$  uygulanan hayvanların öğrenme performansları diğer tüm gruplar ile karşılaştırıldığında oldukça yetersizdi; ancak gün aşırı  $E_2$  tedavisinde ise öğrenme performansları günlük  $E_2$  uygulanan hayvanlardan daha iyiydi ( $p<0.05$ ). Letrazol intakt sıçanlarda hem hipokampusta hem de kortekste NCAM 180 ve 140 ekspresyonunu arttırdı (sırasıyla;  $p<0.01$  ve  $p<0.001$ ). Ovx hayvanların hepsinde korteks NCAM 180 intakt kontrolden daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Katekolaminerjik nörotransmitterlerin konsantrasyonları beyin bölgesine ve katekolaminin türüne göre değişiklik gösterdi.

Sonuç olarak; bu bulgular beyinde östrojen sentezinin inhibisyonunun uzaysal öğrenmeye faydalı olabileceğini göstermektedir. Katekolaminerjik nörotransmitterler ve NCAM ekspresyonunu gibi yapısal değişiklikler östrojen bağımlı kognitif fonksiyonlardaki değişikliklerin temelini oluşturuyor olabilir. Aynı zamanda bu çalışma Ovx hayvanlara östrojen uygulama yöntemi öğrenme performansını ve katekolamin seviyelerini etkileyebileceğini göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Aromataz, letrazol, östrojen, NCAM, noradrenalin, dopamin ve kognitif fonksiyonlar.

## **2. ABSTRACT:**

### **Effects of Aromatase Inhibitor Letrazole on Monoaminergic**

#### **Neurotransmitters, NCAM Levels and Cognitive Functions in Female Rats**

It is well-known that estrogen influences the learning and memory, especially spatial memory. Expression of aromatase which synthesizes estrogen has been demonstrated in neurons and astrocytes. However, letrazole strongly inhibits this enzyme in a reversible manner. In this study, we aimed to investigate effects of letrazole on spatial learning, memory performances, neural cell adhesion molecules (NCAM) in different brain regions and the catecholaminergic neurotransmitter levels and their relationship.

In intact model, 32 adult Sprague-Dawley rats with regular oestrous cycles were divided into four groups (n=8). Rats in control group received saline alone. Letrazole was administered to the animals in the second and third groups by daily oral gavage at 0.2 and 1 mg/kg doses, respectively, for six weeks. Another group of letrazole (1mg/kg)-treated rats were allowed to recover for two weeks. In the second model, 32 rats were divided into four groups after bilateral ovariectomy. The first group served as control and received saline alone. Letrazole (1 mg/kg) was administered to second group for six weeks. Ovariectomized (ovx) rats in the third group were administered letrazole (1 mg/kg) and daily estradiol (E<sub>2</sub>, 10 µg/rat). The rats in the last group were administered letrazole (1 mg/kg) and E<sub>2</sub>, (10 µg/rat) on alternate days. At the end, all rats were subjected to a spatial version of Morris water maze. Then, the animals were decapitated and the brains rapidly removed and separated into regions. Catecholamine concentrations were determined by HPLC-ECD. NCAM 180, 140 and 120 isoforms were detected by Western blotting. Levels of serum E<sub>2</sub> were determined by ELISA.

Uterine weights were significantly reduced by letrozole in a dose-dependent manner ( $p < 0.01$ ) which returned to control values following two weeks of recovery ( $p < 0.05$ ). Serum  $E_2$  levels followed a similar course ( $p < 0.01$ ). Although improvement in spatial learning performance of letrozole-treated rats was not statistically significant, high-dose letrozole-treated group remained significantly longer in the target quadrant compared to the control in probe trial performance test ( $p < 0.05$ ). Administration of letrozole to ovx animals significantly reduced the latency ( $p < 0.001$ ) and increased the probe trial performance compared to ovx controls ( $p < 0.05$ ). The learning performance was rather insufficient in rats treated with daily  $E_2$  compared to all of the others groups, but it was better with  $E_2$  on alternate days than treated with daily  $E_2$  animals ( $p < 0.05$ ). Letrozole increased expressions of NCAM 180 and NCAM 140 in both hippocampus and cortex of intact rats ( $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively). In the cortex samples of ovx animals, NCAM 180 was overall lower than the intact control values ( $p < 0.05$ ). Concentrations of catecholaminergic neurotransmitters differed according to the brain region and types of catecholaminergic neurotransmitters studied.

It appears that inhibition of estrogen synthesis in the brain may have beneficial effects on spatial memory. We suggest that structural changes such as NCAM expression and catecholaminergic neurotransmitters in the hippocampus and prefrontal cortex may be the neural basis for estrogen-dependent alterations in cognitive functions. Moreover, the method for estrogen administration to ovx rats may affect the learning performance and catecholamine levels.

**Keywords:** Aromatase, letrozole, estrogen, NCAM, noradrenaline, dopamine and cognitive functions.

### **3. GİRİŞ:**

#### **3.1. Aromataz Enzimi:**

##### **3.1.1. Genel Karakteristik Özellikleri:**

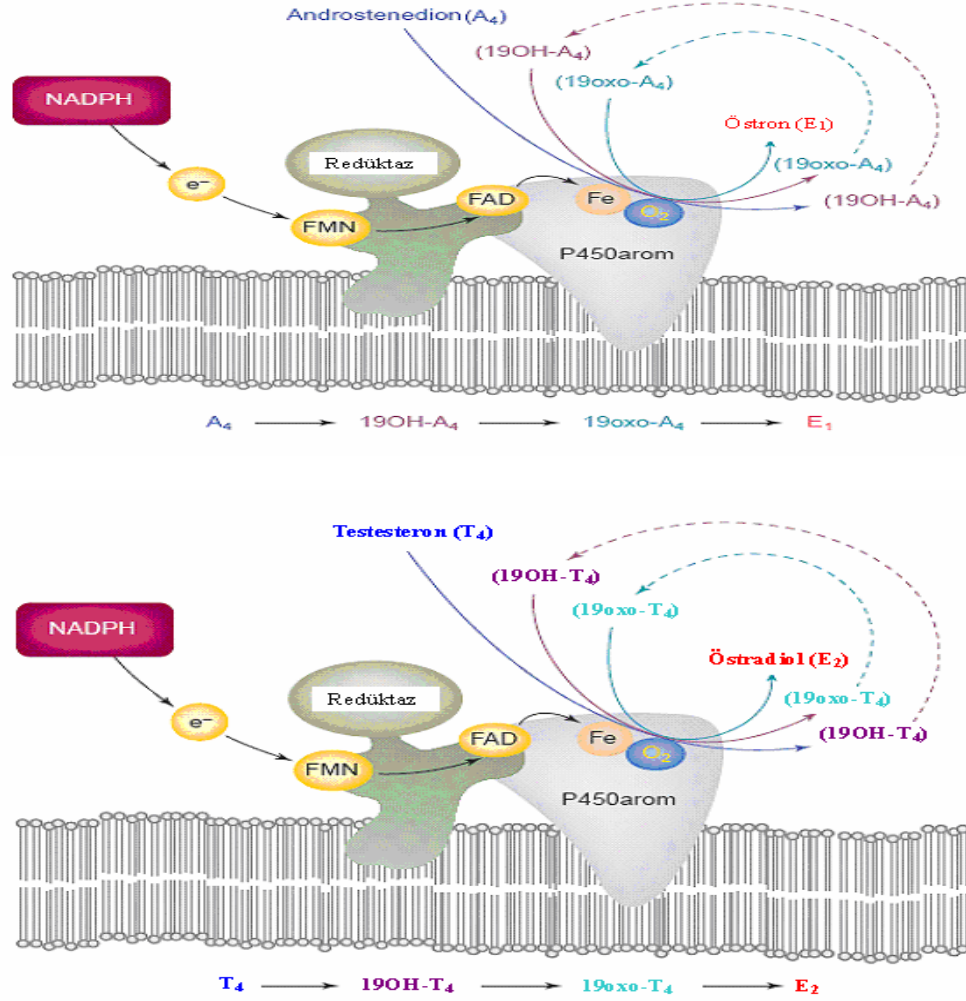
Aromataz, androstenedionu östrona ( $E_1$ ) ve testosteronu östradiole ( $E_2$ ) dönüştüren bir enzimdir. Aromataz enzimi, *cyp19* geninin ürünü olan sitokrom P450 (P450arom) ve vücutta her yerde bulunan, gıdaların oksidasyonuna yol açan nikotinamid adenin dinukleotid fosfatı (NADPH) redükte eden sitokrom P450 redüktaz adlı iki yapıdan meydana gelir (1,2). Sitokrom P450 elektron verici moleküllerden elektron taşınmasına bağlı reaksiyonlarla substratlardaki moleküllerle oksijeni birleştirir. Bir mol östrojen sentezi için elektronların üç çiftinin transferi ile birlikte üç mol oksijen ve üç mol redükte NADPH gereklidir. Reaksiyon ardarda iki hidroksilasyonla steroid substratını önce C19 metil grup (19-hidroksilaz aktivitesi) ile 19-hidroksiye ve devamında 19-oxo-ara ürüne çevirir. Üçüncü ve tartışmalı (3) bir oksitatif reaksiyonla açılı olan C19 metil grubunu bölerek (19-demetilaz ve ya desmolaz aktivitesi) steroidin aromatazasyonunu ve östrojen formunu meydana getirir (Şekil 1).

Aromataz, gebeliğin 16. haftasından sonra her iki cinsiyette de prenatal periyotta gösterilmiştir (4). Bu enzim doğumdan sonra azalmaya başlar ve puberteden sonra iyice azalır. P450arom ekspresyonunun düzenlenmesi beyinde ve gonadlarda farklıdır. Over ve testiste luteinizan hormon (LH) ve folikül stümülan (uyarıcı) hormon (FSH) siklik adenozin monofosfatı (cAMP) arttırarak P450arom ekspresyonunu indüklerken beyinde yüksek cAMP seviyeleri aromataz aktivitesinde azalmaya neden olur. Bunun sebebi muhtemelen androjenlerin etkilerini gen ekspresyonu yolu ile gösterebilmesidir (5). İnsanlarda gonad ve beyin yanı sıra sınırsız trofoblastlarda, yağ stromal hücrelerinde, kemikte osteoblastlarda, deride

fibroblastlarda, damarların belli bölgelerinde ve fetal karaciğer gibi diğer fetal dokularda da P450arom sentezlendiği gösterilmiştir (6,7).

Aromatazin fizyolojik olarak en önemli ve en yaygın substratı androstenedion ve testosterondur. Bununla birlikte bazı gebe primatlarda adrenal dehidroepiandrosteron sülfatdan (DHEAS) karaciğer hidroksilasyonu ile meydana getirilen 16-OH-androstenedion plasental östradiol sentezinde substrat olarak kullanılmaktadır (8). Yapılan çalışmalarda erkek ve dişi gonad hücrelerinde aromataz aktivitenin bulunduğu gösterilmiştir. Overlerde küçük foliküllerde preovülütör granüloza hücrelerinde P450arom ekspresyonu fazla bulunmuştur (9). Erkek gonadı testislerde puberteden önce aromataz aktivitesi sertoli hücrelerinde iken, aktivitenin yetişkin kemirgenlerde leyding hücrelerine kaydığı gösterilmiştir (10). Erkek germinal hücreleri sertoli ve leyding hücrelerinde aromataz sentezi erkek üreme yolunda östrojen kaynağı için önemli olabilir. İnsan ve kemirgenler gibi bazı türlerde korpus luteumda da P450aromun varlığı bildirilmiştir (11).

Aromataz enziminin yetersizliğinde her iki cinsiyette de önemli sağlık problemleri meydana gelir. Tamamen P450arom fonksiyonundan yoksun kadınlarda genital belirsizlik ve adölesan dönemde hipergonadotropik hipogonadizm görülür (12). Genetik olarak P450arom defektli erkeklerde ve erkek farelerde östrojenin erkek gelişiminde ve üremesinde de önemli olduğu bildirilmiştir (13). Benzer şekilde erkek aromataz knockout (ArKO) farelerde testiküler dejenerasyon bulunmuştur (13,14) ve erkeklerde osteopeni ile birlikte epifiz kapanmasında yetersizlikler ve anormal kemik gelişimi izlenmiştir (13,15).



**Şekil 1.** Aromataz enzim kompleksinin şematik çizimi. Mikrozomal zara sıkıca tutunan sitokrom P450 aromataz (P450arom), redüksiyona yardımcı nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve sitokrom P450 oksidoredüktazın (redüktaz) oluşturduğu aromataz enzimi. Redüktaza eklenen flavin gruplarından flavin adenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) gösterilmiştir. NADPH'dan indirgenme sayısına eşit miktarda elektron (e<sup>-</sup>) alınır. P450arom'un substrat bağlayan cebinde oksijen (O<sub>2</sub>) ve hemin düzenlediği demir (Fe) görülmektedir. C19 substrat olan androstenedion (A<sub>4</sub>) ve testesterondan (T<sub>4</sub>) 19OH- ve 19oxo- ara ürünler ve nihayetinde sırasıyla östron (E<sub>1</sub>) ve östradiol (E<sub>2</sub>) oluşması için üç oksidatif sıklusa ihtiyaç vardır (Kaynak 16'dan değiştirilerek alınmıştır).



### 3.1.2. Beyinde Aromataz:

Bu enzimin hem erkek hem de kadınlarda gonad, plesanta, yağ dokusu, deri ve karaciğerde eksprese olduğu bilinmektedir. Bu lokalizasyon alanlarına son zamanlarda beyin de eklenmiştir. Beyinde normal cinsiyet davranışları için östrojen biyosentezi ve bundan dolayı P450arom ekspresyonu gereklidir. Aromataz hipotalamus, preoptik area ve limbik sistem gibi üreme fonksiyonlarının kontrolünü sağlayan faklı beyin bölgelerinde mevcuttur (5,17,18). İmmünohistokimyasal çalışmalar enzimin nöronlarda mevcut olduğunu ancak glial hücrelerde bulunmadığını göstermiştir (17-22). Sıçan beyinde immünohistokimyasal olarak sadece nöronlarda aromataz aktivitesi olabileceği buna karşın tip 1 astrosit, oligodendrositler ve karışık glial hücrelerin bu aktiviteden yoksun oldukları belirlenmiştir (23). Erkek sıçanlarda amigdaloid bölgede ve medial bazal hipotalamik alanda yüksek seviyede aromataz aktivitesinin varlığı tespit edilmiştir (24). Spesifik olarak üreme ve davranışların düzenlendiği amigdalada, periventriküler preoptik nükleusta ve medial preoptik nükleusta yüksek aromataz aktivitesi gösterilirken süperkiazmatik nükleus, anterior hipotalamus, periventriküler anterior hipotalamus, arkuat nükleus, korteks ve çeşitli bölgelerde düşük aromataz aktivitesi bulunmuştur.

Aromataz beyinde, östrojen için dönüştürülme yoluyla nöronal farklılaşma, nöron plastisitesi, nöroendokrin fonksiyonlar ve seksüel davranışlar üzerine androjenlerin etkilerinin düzenlendiği yerlerde eksprese olur (24-27). Normal koşullarda memelilerin merkezi sinir sisteminde (MSS) sadece nöronlarda aromataz eksprese edilir (23,24,26,28). Bu nöronlar başlıca lateral septal bölge, striya terminalisin nükleus katmanında, amigdalada, birkaç hipotalamik nükleusta, mediyal preoptik areada, nükleus akkumbenste ve özellikle piriform lob olmak üzere çeşitli korteks bölgelerinde yerleşmişlerdir (29-32). Normal şartlar altında *in vivo* olarak

kemirgenlerin glial hücrelerinde aromataz immünreaktivitesi gösterilememiştir. Bununla beraber yenidoğan sıçanların beyin kortekslerinden izole edilen kemirgen astrositlerinin aromataz eksprese ettikleri bulunmuştur (33,34). Son çalışmalarda serum eksikliği gibi stresli şartlar altındaki astrositlerin kültürlerinde aromataz ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (35). Bunlara ilaveten sıçanların ve farelerin beyinlerinde nörotoksik ve mekanik lezyonların farklı formlarında reaktif gliada enzimin *de novo* ekspresyonu ve aromataz aktivitesi artmıştır (36,37). Aromataz eksprese eden gliaların hepsi olmasa da çoğu astrosit hücreleridir. Astrositlerin eksprese ettiği aromataz iki cinsiyetin de korteks, korpus kallozum, striatum, hipokampus, talamus ve hipotalamusu içeren beyin bölgelerinin hasarında gösterilmiştir (36,37).

### **3.1.3. Nöron Koruyucu Özellikleri:**

Nöronal hasarı takiben zebra balığı glialarında aromataz mRNA ve proteininde hızlı ve lokal bir şekilde upregülasyon olduğu belirlenmiştir (38). Hasarlanan beyin bölgelerinde aromatazın ekspresyonundaki artış lokal östrojen seviyelerinin artmasını ve nöronların korunmasını sağlıyor olabilir (36-38). Astrositlerin salgıladığı östrojen, hasarlanan nöronlar için besin kaynağı ve hasarlanan beyin dokusunun kompensatuvar cevabını içeriyor olabilir. Böylece astroglialar tarafından salgılanan östrojen sinaptik fonksiyonları etkileyebilir, nöronal iyileşmeye katkıda bulunabilir ve nöron ölümünü azaltabilir.

Aromatazdan yoksun farelerin hipokampusu nörodejenerasyon için daha hassastır (39). Sistemik aromataz inhibisyonu hipokampusda nörodejenerasyonu artırır. Osmotik minipompa ile aromataz inhibitörü olan fadrozol uygulanan intak erkek sıçanlarda aromatazın nöron koruyucu özellikte olduğu gözlemlenmiştir (39).

Hilar nörotoksisite yapan kainik asit uygulanan intak sıçanlarda hilar noronlar üzerine etki bulunamamışken kastre edilen sıçanların hiluslarında anlamlı nöron kaybı bulunmuştur (40). Tek başına kainik asit veya fadrazol uygulanan hayvanlarda hilar nöron sayısında değişiklik olmadığı ama ikisi birden verildiğinde tek tek verilmeleri ve çözücünün verildiği gruplara göre anlamlı bir nöron sayısında azalma olduğu saptanmıştır (39). Bu bulgular aromatazın ekzotoksisiteye karşı nöron koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir.

Kastre edilen hayvanlarda nörotoksinlere karşı hassasiyetin artması testiküler sekresyonun nöron koruyuculukta önemli olduğunu gösterir (39,40). Nörotoksinlerin overektomi yapılan hayvanlarda artması ve östrus siklusu süresince ovarian hormonların fluktasyonundan nörotoksinlerin etkilenmesi ovarian hormonların da dişilerde nöron koruyuculuğunda önemli olduğunu gösterir (40). Beyin hasarında her iki cinsiyette de aromataz ekspresyonunun artması (37) beyin aromatazın dişilerde de bazı nöron koruyucu ve ıslah edici etkilerinin olabileceğini göstermektedir.

#### **3.1.4. Beyinde Aromataz İçin Substratın Kaynağı:**

Beyin aromataz için substratın kaynağının nöronal doku olup olmadığı tam olarak anlaşılmış değildir. Pregnenolon MSS'de kolesterolden sentezlenir (41,42). *In vitro* gliyal hücreler pregnenolonu dehidroepiandrosterona (DHEA), onu da testesterona dönüştürebilirler (33). *In vivo* olarak beyin testesteron oluşturabilir (43,44) ve nöronal hasarda lokal beyin steroid yapımı artar (45,46). Fakat beyinde lokal formasyondaki testesteronun nöron koruyucu etki için yeterli olup olmadığı bilinmemektedir. Beyinde androjen prekürsörlerinin testesterona dönüştüğü tam olarak kanıtlanamamıştır.

### **3.2. Östrojenler:**

#### **3.2.1. Genel Özellikleri:**

Östrojenler, 18 karbonlu steroid hormonlardır; androjenlerden C-10'da metil grubunun bulunmaması ve A halkasının aromatik olmasıyla farklıdır. Östrojen sentezi için prekürsör, androstenedion ve testosterondur. Östrojenlerin sentezi başlıca overlerde, böbrek üstü bezlerinde, plasentada ve testislerde gerçekleşir ve FSH tarafından uyarılır. Sentezlenme aşamaları Şekil 2'de gösterilmiştir.

Kanda bulunan başlıca östrojenik hormon, östrojenlerin en önemli aktif şekli olan östradiol ( $E_2$ )'dir ve daha az aktif olan östron ( $E_1$ ) ile dengededir. Östrondan oluşan östriol ( $E_3$ ), gebelerin idrarında ve plasentada bulunan başlıca östrojendir ve etki gücü hepsinden daha zayıftır (Şekil 3). Kanda  $E_2$  androjenleri de taşıyan spesifik bir taşıyıcı proteine bağlanarak taşınır. Östrojenler idrarda sülfat veya glukuronat konjugeleri şeklinde atılırlar.

#### **3.2.2. Östrojenin Nöron Koruyucu Etkileri:**

Menapozdan sonra östrojen seviyelerinin azalması kognitif yeteneklerin kaybı, depresif semptomların artışı, nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesi ve diğer psikolojik bozukluklarla ilişkilendirilmiştir (47-52). Bazı araştırmacılar tarafından östrojenin yaşlılıktaki beyin fonksiyonlarının kaybını iyileştirebileceği iddia edilmiştir (53-56).

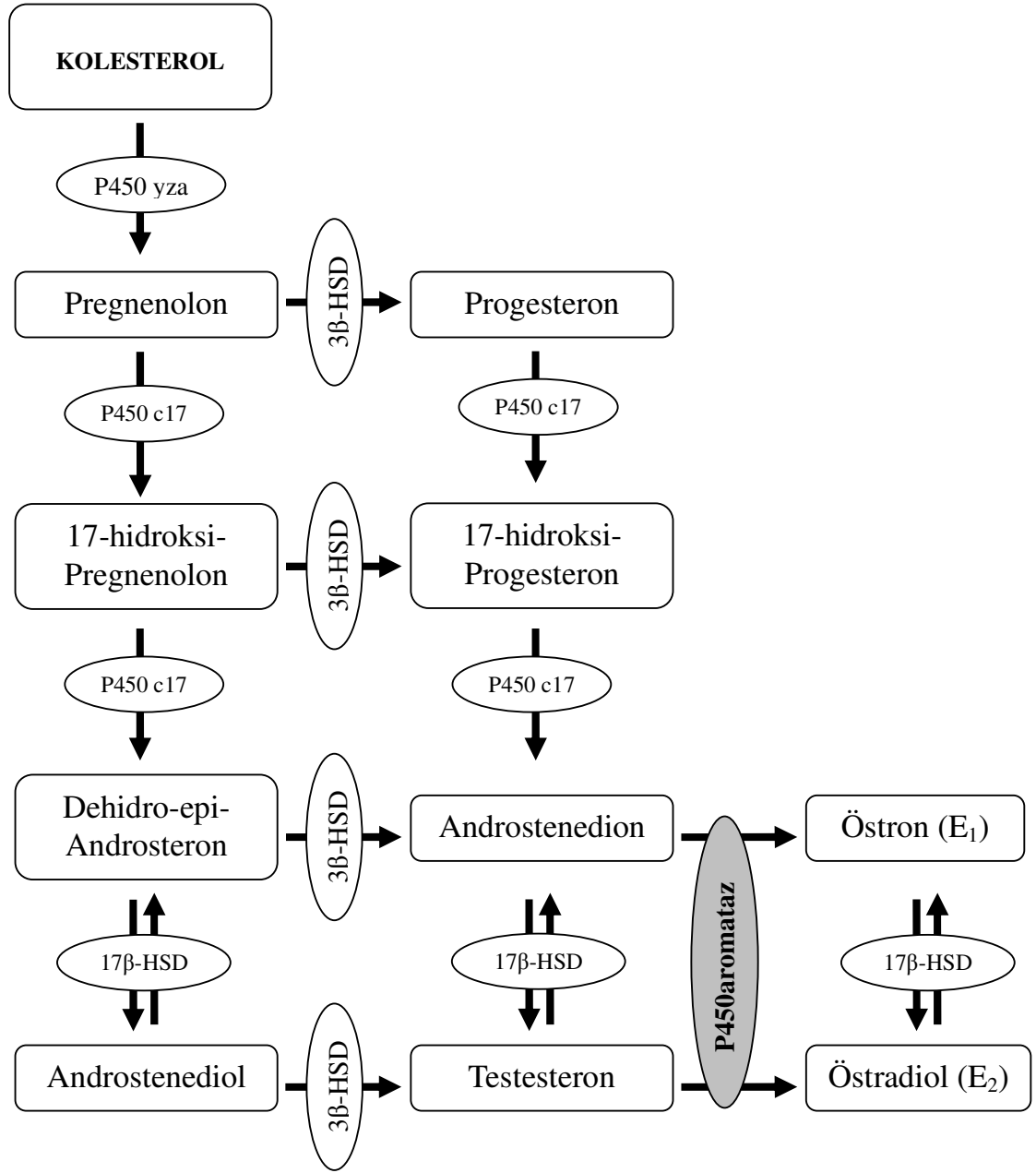
Östrojenin nöron koruyucu özelliklere sahip olduğu bir çok hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (57-61). Bu nöron koruyucu etkiler östrojenin pregnenolon, DHEA ve testosteron gibi prekürsörlerine de atfedilmektedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ovarektomize (OVX) sıçanlara östrojen uygulaması ovarektominin sebep olduğu değişiklikleri normale döndürdüğü, sinaptik yarığın

genişliğini azalttığı, postsinaptik yoğunluğun kalınlığını artırdığı, presinapsta sinaptik veziküllerin sayısını artırdığı ve bunları hem serebral korteksin Fr1 hemde hipokampal CA1 alanlarında meydana getirdiği gösterilmiştir (62). Başka bir çalışmada da hem akut hemde kronik E<sub>2</sub> uygulaması kainik asitin neden olduğu hipokampal CA1 alanlarındaki hücre ölümlerini azalttığı bulunmuştur (63).

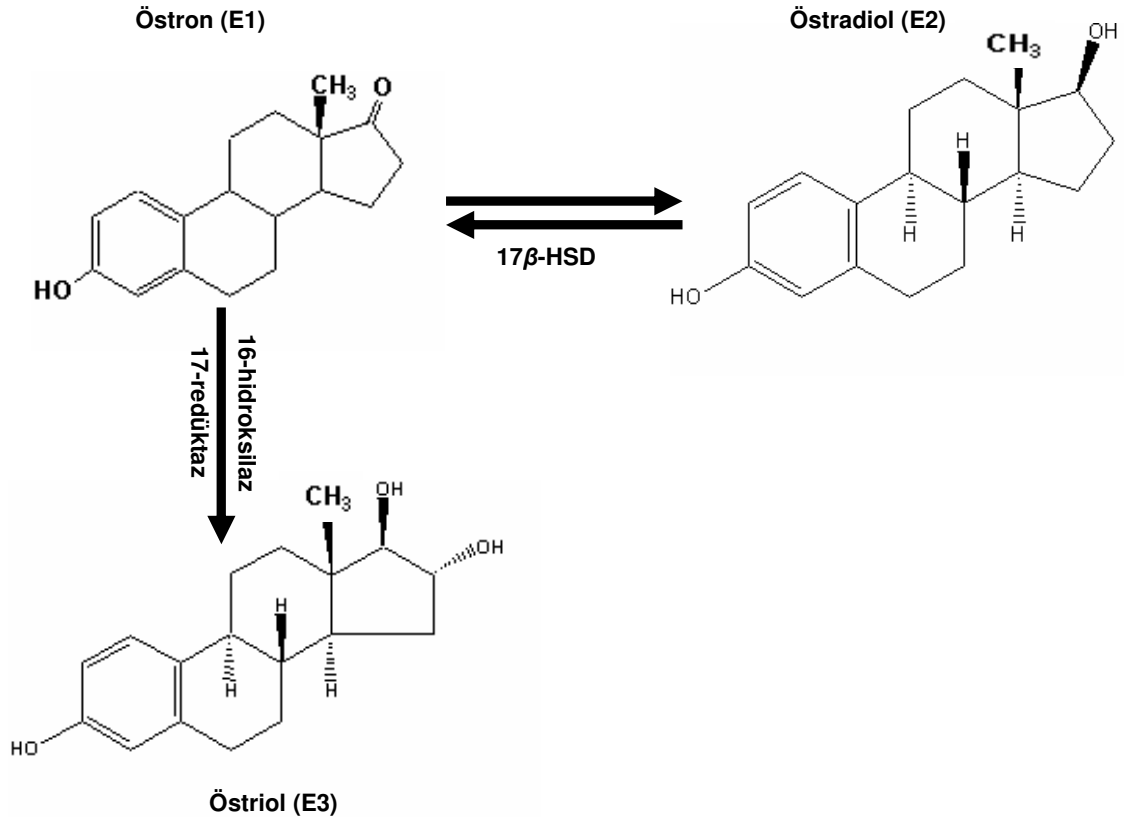
Birçok nöron lezyon modellerinde erkek hayvanların dişilerden daha hassas olduklarının bulunması, östrojenin nöron koruyucu olabileceği fikrini desteklemektedir. Örneğin dişi sıçanların erkeklere göre stroktan daha iyi çıkabilecekleri gösterilmiştir (64), yine benzer şekilde korteks lezyonlarından sonra uzaysal hafıza bozulması erkek sıçanlarda daha fazla meydana gelmiştir (65).

Östrojenin nöron koruyuculuğu *in vitro* çalışmalarla da ispatlanmıştır. Hücre kültürlerine 17β-östradiol (17β-E<sub>2</sub>) eklenmesi hücrelerin yaşam kabiliyetini, yaşam süresini ve primer kültürün farklılaşmasını amigdala nöronları (66), neokortikal nöronlar (67) veya hipokampal nöronlar (68) gibi farklı nöron popülasyonlarında artırdığı belirlenmiştir.

Östrojenin nöron koruyucu etkileri uygulama dozu ve süresiyle yakından ilişkilidir. Çünkü düşük doz östrojen nöron koruyucu olurken yüksek dozda uygulanması nörotoksik olabilmektedir. Kronik olmayan siklik östrojen uygulamaları yaşlı dişi kemirgenlerde hipokampal dentritik uzantuların yoğunluğunu artırır (69). Doğal siklik salınımı taklit eden siklik uygulamalar omurgalılarda dentritik uzantı sayısını tesir etmede daha etkin olabilirler (70). Farklı beyin bölgelerinin nöronlarının iskemiye karşı korunmasında da genel olarak düşük doz östrojen koruyucu etki sergilerken yüksek doz östrojen uygulaması ya faydasız ya da olumsuz etkiler göstermektedir (68,71,72). Yüksek seviyede östrojen bazı hipotalamik nöronlar için nörotoksik olabilmektedir (73,74).



**Şekil 2.** Merkezi sinir sisteminde östrojenlerin sentez basamakları; P450 yza; P450 yan zincir ayırıcı, 3 $\beta$ -HSD; 3 $\beta$  hidroksisteroid dehidrojenaz, p450 c17; 17 $\alpha$ -hidroksilaz/C17-20-ligaz, 17 $\beta$ -HSD; 17 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrojenaz, P450aromataz; aromataz enzimi (Kaynak 75'den değiştirilerek alınmıştır).



**Şekil 3.** Östrojen tipleri ve birbirlerine dönüşümleri (17β-HSD; 17β-hidroksisteroid dehidrojenaz).

Benzer şekilde östrojenin iskemiye karşı nöron koruyuculuğu da doz bağımlıdır. Gerbillerde 0.25 µg/günlük östrojen uygulaması iskemik hasarı azaltırken 1.25 µg uygulanması etkisiz hatta nöron ölümünü artırıcı olabildiği bulunmuştur (68). Sıçanlarda kronik düşük doz östrojen uygulanması ön beyin iskemisinde kortikal kan akımını faydalı etkilerken daha yüksek doz uygulanması faydaları ortadan kaldırır (71). Uzun süre 17β-E<sub>2</sub> 25 µg (plazma düzeyi 20 pg/ml) uygulanması ovariectomize sıçanlarda stroke hasarını azaltırken 100µg (plazma düzeyi 46 pg/ml) verilmesi ise azalma meydana getirmemiştir (72). Farklı olarak başka bir çalışmada hem düşük (10 pg/ml) hem de yüksek doz (100 pg/ml) plazma östrojen sıçan beyin korteksinde

iskemiden sonra nöron koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur (76). Başka bir çalışmada bu bulguların aksine hipokampal CA1 pramidal hücrelerindeki geçici iskemiye karşı gerbillerde yüksek doz östrojenin iyileştirici etkisi varken düşük doz östrojenin koruyucu etkisi olmadığı tespit edilmiştir (77). *İn vivo* nöron koruyucu etkiler için östrojenin optimal dozunu ayarlamak gerekmektedir. Bu nedenle farklı beyin dokularında optimal östrojen dozu farklı olabilmektedir.

### **3.2.3. Östrojenin Kognitif Fonksiyonlar Üzerine Etkileri:**

Menstrüal siklusun farklı evrelerinde kognitif fonksiyonların değişmesi kognitif fonksiyonlar için östrojenin optimal düzeyde olmasına bağlı olabileceğini göstermiştir. Örneğin; uzaysal öğrenme kabiliyeti östrojen seviyesinin yüksek düzeylerde olduğu siklusun ortasında düşük olduğu menstrüal evreden daha kötü olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (78). Ancak bu fazda sözel kabiliyet güçlenmiştir (79). Menapozun başlangıcına yakın hormon replasman tedavisi uygulanmış kadınlarda yaş bağımlı kognitif azalmada gecikmelerin bulunmasıyla (53,80-82) östrojenin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi daha ilgi çekici olmuştur. Dahası, doğal ve cerrahi operasyonu takiben oluşan menopozda hafızadaki azalmayı östrojenin düzelttiği rapor edilmiştir (83,84). Vaka kontrol (85) ve geriye dönüşümlü (53) yapılan çalışmalarda östrojenin postmenopozal kadınları kognitif fonksiyonların bozulmasından koruduğu ispatlanmıştır.

Östrojenin kognitif fonksiyonlar üzerine etkileri fonksiyonun çeşidine ve kullanılan metoda göre değişebilmektedir. Örneğin; bazı araştırmacılar östrojenin sözel hafıza ölçümü üzerine etkisini bulamamışken (86,87) diğer araştırmacılar artırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir (88-90). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada östrojen uygulanan hastaların sözel geri çağırım (frontal sistemin kontrol



ettiği bir fonksiyon) sırasında plasebo grubuna göre daha az hataları olduğu ve sözel geri çağırma görevleri süresince prefrontal korteks aktivasyonlarında da artış olduğu tesbit edilmiştir (91). Benzer şekilde östrojenin görsel hafıza üzerine etkilerinin arttırdığı (92,93) veya etkilemediği (88) bulunmuştur. Diğer kognitif fonksiyonlardan seçme reaksiyonu zamanını (89) artırıcı özelliği olduğu veya dikkat üzerine farklı etkisi olmadığı (94) bildirilmiştir. Başka bir çalışmada fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme testlerinden yararlanılarak östrojenin postmenopozal yaşlı kadınlarda dikkat görevi sırasında devamlılık performansı süresince beyin fonksiyonlarının etkinliğini kolaylaştırdığı ileri sürülmüştür (95).

Östrojen replasman tedavisinin başlama yaşı ve dozu kognitif fonksiyonlar üzerine olan etkilerinde değişiklik yapabilmektedir. Orta yaşlı perimenopozal kadınlarda östrojenin faydası sınırlı olabilir (96). Perimenopozal kadınların aksine genç kadınlarda yüksek doz östrojen seviyesi uzaysal hafızada bozulmayla ilişkilidir (97-99). Yapılan çalışmalarda Alzheimer hastalığı (AH) tanısı almadan önce (100,101) veya yaşlı postmenopozal kadınlarda (102-104) östrojenin hafıza üzerine etkisinin olmadığı şeklinde kanı oluşmuştur. Hormon replasman tedavisi eğer AH semptomları görüldükten veya menopozun başlangıcından birkaç yıl içerisinde uygulanmaya başlanmaz ise yararlı etkisi büyük oranda azalmakta veya hiç olmamaktadır (100,105). Benzer şekilde bazı kognitif sahalar için hormon replasman tedavisinin menopoza yakın dönemde erken başlanması daha faydalı iken geç menopozda başlanması zararlı olabilmektedir (106). Östrojen uygulamaya ovariectomiden hemen sonra başlanırsa işlek bellek için pozitif etki gösterir fakat geç başlamanın (hormon yoksunluğundan uzun zaman sonra) bellek üzerine yararlı etkisi yoktur (107). Postmenopozal yaşlı kadınlarda östrojenin öğrenmeyi kolaylaştırıcı etkisi yüksek plazma östrojen seviyesiyle doğru orantılıdır. Bu yüksek östrojen

seviyesi muhtemelen biyoyarılmasının azalması için (108) veya östrojen cevaplılığındaki bir azalmanın üstesinden gelmek için (109-113) gereklidir. Alternatif olarak belki de östrojen bu vakaları antioksidan etki gibi reseptörden bağımsız mekanizmalarla etkilemektedir (114). Sonuç olarak normal yaşlanma ve AH östrojen uygulanması beyin yaşlanmasına ve hafıza azalmasına karşı koruyucu etki veya yedek kapasite sağlar (115-119).

Östrojenin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi nörodejeneratif hastalıklar ile yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. AH insidansı kadınlarda büyük oranda ileri dekatlarda hızla artış göstermektedir (%68) (120). Östrojen uygulanması AH ve normal yaşlılarda hafıza kaybını ertelemekte (118) ve bu özelliği ile halk sağlığı açısından önemli bulunmaktadır. Yaşlı AH olmuş olan kadınlarda hormon replasman tedavisi AH semptomların hafifletmekte olduğu (82,121,122) ve kognitif fonksiyonlarının devam ettirilmesine de yardımcı olduğu bulunmuştur (123). Menopozun başlangıcına yakın hormon replasman tedavisi uygulanmış kadınlarda AH'nin ilerlemesinde gecikmelerin olduğu gösterilmiştir (119,122,124,125). Östrojen kullanımı ile AH arasında ters bir ilişki olduğu konusunda fikir birliğine varılmıştır (53,122,125). Şizofreni ile ilgili yapılan çalışmalarda cinsiyet arasında farklılıkların çok az olduğu (126) veya erkek hastalarda kognitif bozukluk kadınlardan daha fazla olduğu bulunmuştur (127).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda östrojenin çeşitli kognitif fonksiyonlar üzerine etki etmediği sonuçları çıkarılmıştır. Göreceli olarak yüksek doz östrojenin (20 hafta) kognitif fonksiyonlar, ruhsal durum ve yaşam kalitesi açısından anlamlı değişiklik yapmadığı gösterilmiştir (128). Kognitif fonksiyonları 60 yaşın üzerindeki normal kadınlara transdermal 50 µg/gün östradiol verilmiş ve görsel hafıza, yüz ve resim hatırlamada gecikme, kelime çağırma hız ve gecikme, uzaysal işlev gibi

kognitif testler yapılmış ve östrojenin bunları etkilemediği bulunmuştur (129). Avustralya'da yaşları 45-50 arasındaki kadınlarda yapılan çalışmada hormon replasman tedavisi almayan, önceden almış ve hali hazırda almaya devam eden kadınlarda sözel, görsel ve geri çağırmadaki gecikme, dikkat ve konsantrasyon ve sözel anlama yönünden genel hafıza performansları arasında fark bulunmamıştır (130). Yapılan anketler ve sonrasında hormon replasman tedavisi veya oral kontraseptif alan postmenopozal kadınlarda sözel öğrenme arasında ilişki bulunamadığı bildirilmiştir (131). Benzer şekilde premenopzal kadınlara östradiol-medroksiprogesteron verilmesi hafıza testlerinde değişiklik yapmadığı gözlenmiştir (132).

İlginç olarak, yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda östrojen kullanımının demans ihtimalini artırabileceği iddia edilmektedir (133,134).

Öğrenme kabiliyeti ve onun tekrar hatırlanmasında östrojenin rolü tam olarak anlaşılmış değildir. Östrojenin rolüyle ilgili kanıtlar klinik çalışmaların yanısıra deneysel çalışmalara da dayanmaktadır. Cinsiyet hormonları erkek ve dişiler arasında kognitif performans üzerine farklı rol oynarlar. Doğumdan ilk hafta sonra testesteron uygulanan erkek ve dişi sıçanlar yetişkin döneme geldiklerinde yapılan uzaysal öğrenme testinde kontrol gruplarında erkekler daha iyi performans göstermişken testesteron uygulanan gruplar arasında dişilerin daha iyi performans gösterdiği tespit edilmiştir (135). Hipokampal olmayan öğrenmede pro-östrus safhasındaki sıçanların performansı iyi iken hipokampal uzaysal öğrenme performansında ise östrus safhasındaki sıçanlar daha iyi performans gösterdiği bulunmuştur (136). Başka çalışmalarda ise bunun tersi olacak şekilde düşük doz östrojen, OVX farelerde uzaysal öğrenmeyi artırırken yüksek seviyelerde etki etmediği tespit edilmiştir (137).

İntrahipokampal estradiol enjeksiyonu hem erkek sıçanların hem de OVX dişilerin Morris water maze testi (MWM) kazanımını bozmuştur (138,139).

Yapılan çalışmalarda sudan kaçınma görevi üzerine genç kemirgenlerde östrojenin hafızayı geliştirici (137,140-144), azaltıcı (136,145-151) veya etki etmediğine yönelik (152,153) bulgular elde edilmiştir. Örneğin genç intak hayvanlarda plazma östrojen seviyesi artarken veya en yüksek değere yakınken MWM görevinde öğrenmede azalma vardır (136,147,149-151). Benzer şekilde artan östrojen seviyesi veya iki ovarian hormonun dalgalı seviyeleri ile öğrenmede bozulma arasında ilişki vardır (145,147,148). Beta östrojen reseptör knockout (BERKO) farelerde kontrol gruplarına göre hipokampusun düzenlediği korku durum modeli hafızasında gerileme ve CA1 alanlarında sinaptik bozulma tespit edilmiştir (154).

Östradiolun uzaysal öğrenmeyi geliştirmesi veya azaltması doza ve farklı östradiol reseptörlerinin etkilemesine bağlı olabilir. OVX MWM öğrenmeyi normal hayvanlarda azaltırken transgenic olarak ER- $\alpha$  olmayan hayvanlarda etkilemediği görülmüştür (155).

Kognitif fonksiyonlar ile östrojen arasındaki ilişkinin gösterilmesinde en çok kullanılan deneysel metodlardan birisi OVX yapılan hayvanlar ile kontrol gruplarının karşılaştırılmasıdır. Bu deneylerdeki bulgular birbirleriyle ters düşmektedir. Bazı araştırmacılar çalışmalarında ovarektominin uzaysal hafızayı artırıcı etkileri olduğunu göstermişlerdir (156). OVX sıçanlarda işlek bellek artmasına (157-159) rağmen referans hafıza performansında etki gösterilememiştir (159). Ovarektomi eksitator amino asit tipi olan N-metil-D-aspartatın (NMDA) non-kompatatif bir antagonisti olan dekstrometorfanın genç dişi sıçanlardaki uzaysal hafıza üzerine olan olumsuz etkilerini düzeltmekte ve östrojen uygulanması ise bozulmayı tekrardan eski

haline getirmektedir (160). Bu çalışmalardaki bulgulara zıt olarak ovarektomi sonucu hipokampal ve striatal hafıza sistemlere bağlı farklı iki tip hafıza sürecine (137) iki seçenekli su kaçınma testi gibi işlek hafıza ölçümleri üzerine (141) ve MWM testinde platform bulma süresine (62) olumsuz etkileri olduğu ve östrojen uygulamasının bu olumsuzlukları düzelttiği rapor edilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada OVX sıçanlara östrojen ile birlikte nörotoksik olan kainik asit verilmesi MWM testinde uzaysal performansta bozulmaya neden olduğu ama bu iki maddenin tek tek uygulamalarının ise uzaysal performansı etkilemediği gösterilmiştir (63). Erkek sıçanlarda intraserebroventriküler (ICV) streptozotosin uygulamasının sebep olduğu hafızada bozulmaları ve öğrenme yetersizliğini östradiol uygulaması kısmen telafi etmiştir (161).

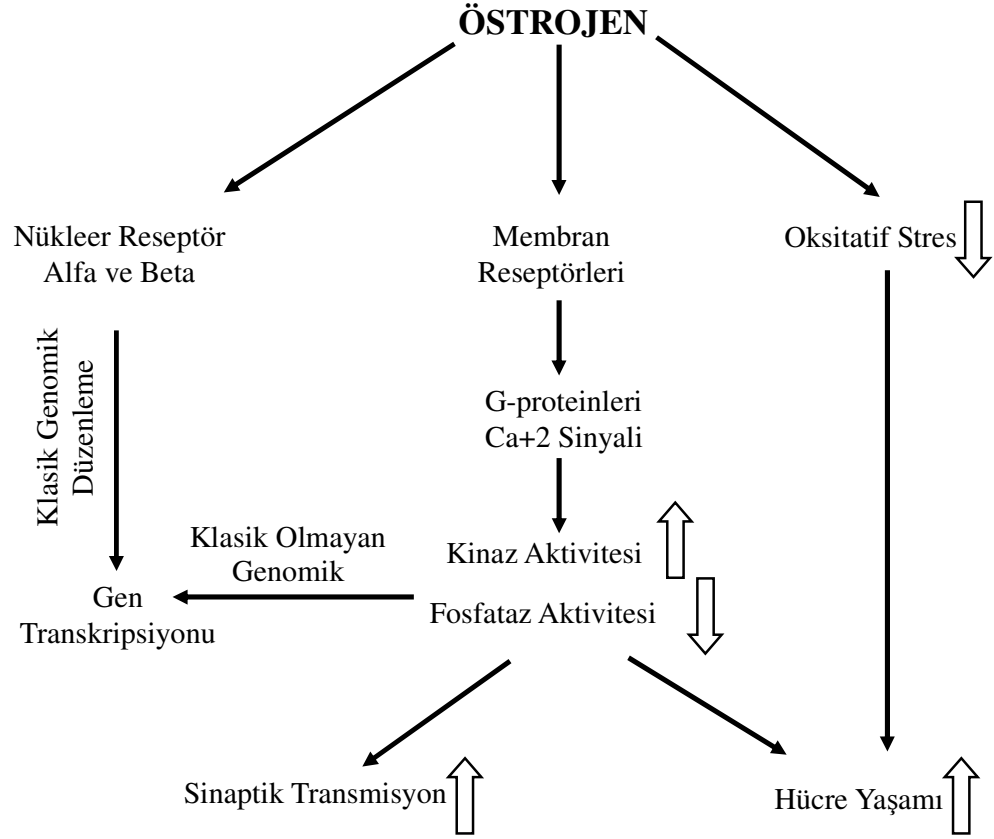
Primatlarda yapılan çalışmalarda, insanlarda olduğu gibi östrojen uygulaması ile genç maymunlarda kognitif bozukluk (162-164) orta yaşlı maymunlarda ise kognitif düzelme (165,166) olduğu tespit edilmiştir.

### **3.2.4. Östrojenin Beyinde Etki Mekanizmaları:**

Çeyrek yüzyıldan fazla süredir östrojenin beyin yapı ve fonksiyonlarını çok farklı yönlerde etkilediği bilinmektedir. Hayvanlarda amigdala, serebral korteks ve hipokampus gibi hafıza ve kognisyon üzerine etkili bir çok beyin bölgesinin östrojen reseptörü açısından zengin olduğu bulunmuştur (167). Hipokampusun hafıza fonksiyonları üzerine rollerinden dolayı çalışmalar buraya odaklanmıştır ve östrojen hipokampusun anatomisini, fizyolojisini ve biyokimyasını etkilediği kabul edilmiştir (168). Östrojenin ciddi nörotopik etkilerinin olması (59,169), asetil kolin için sentetik enzim olan kolin asetiltransferaz konsantrasyonunu artırması (170), hipokampus CA1 alanlarında dentritik uzantıların yoğunluğunu artırması ve östrojen reseptörleri alfa ve

betanın (ER- $\alpha$ , ER- $\beta$ ) hipokampus CA1 nöronlarının dentritlerinde bulunması (171,172) kadınlarda östrojenin kognitif fonksiyonları etkileyebileceğini akla getirmiştir.

Östrojenin beyindeki etkileri kısaca Şekil 4'de gösterilmiştir. Östrojen bu etkilerini beyinde bulunan farklı reseptörleri aracılığıyla yapmaktadır. En çok ER- $\alpha$  ve ER- $\beta$  olmak üzere birçok östrojen reseptör alttipi nöronal dokularda tanımlanmıştır (167,173-176). ER- $\alpha$  ve  $\beta$  aynı beyin bölgelerinde üst üste binmektedir (177). Genomik östrojen reseptörlerinin hafızada rolü açık değildir, bununla birlikte hafıza gelişimiyle ilgili denemelerden birkaç gün önce östrojen uygulanmasının hafıza gelişimini artırdığı bulunmuştur (143,165,178). Bu belirtilerin uzun süreli olması östrojenin genomik etkilerinin hafıza sürecini etkilediğini gösterir. Ek olarak ER- $\alpha$  knockout farelerde uygun hipokampal fonksiyonları gerektiren hafızada bozulmalar gösterilmiştir (148,179). Östrojenin beyindeki etkileri klasik genomik tanımlamaya ek olarak, birçok hızlı etki membran reseptörleri aracılığıyla da olmaktadır (60,180). ERKO farelerde östrojen uygulanması hafızayı kolaylaştırması (179) ve etkisiz alfa-östrojenin de hafızayı geliştirmesi (181) genomik olmayan yolla hafıza üzerine etki olabileceğini göstermektedir. Bu hızlı etkiler, protein ve  $Ca^{+2}$  düzenlenmesini ve fosfokinaz aktivitesinin artışı ile fosfataz aktivitesinin azalmasını içerir (Şekil 4) (182-187). Ek olarak östrojen adenil siklaz yolunu (188-191), fosfolipaz C (192) veya tirozin kinaz (193-195) ve G-prot bağlayan reseptör (GPCR) bağlı  $Ca^{+2}$  salınımı (182) etkileyebilir. Fosfataz aktivitesinde azalma (146,185) ve kinaz aktivitesindeki artış (196,197) sinaptik plastisite sinyal şelalesinde (cascade) değişikliklere neden olur. Gerçekte bu sinyal yollarının farmakolojik düzenlenmesi hafıza sağlamlaştırılmasını kolaylaştırır (198-201).



**Şekil 4.** Östrojenin beyinde koruyucu etkilerinin mekanizmaları (Kaynak 202'den değiştirilerek alınmıştır).

Beyindeki östrojen gen transkripsiyonunun devamını düzenler ve bu transkripsiyonal süreç reseptör aktivitesinin veya hormon yokluğunun uzun sürmesi durumunda bozulabilir. Genç hayvanlarda, yapıcı transkripsiyonel süreç beyin fonksiyonlarını korumak için yeterli olabilir (203). Ek olarak genç hayvanlar lokal östrojen sentezini içeren hormon kaybını kompanse edebilecek mekanizmalar olabilir (204). Yaşlanma ile östrojenin kaybı veya östrojen reseptörlerinde azalma yaşlılık süresince cevaplılıkta bir progresif azalmaya katkıda bulunabilir. Yaşlanma sürecinde hormon reseptör arasında etkileşimin bozulması mekanizması türler arasında değişiklikler gösterir. Örneğin, memelilerde hormon seviyesi azalması ile reseptör azalması arasında ilişki varken kemirgenlerde sabit östrojen seviyesi ile reseptör azalması arasında ilişki vardır (70).

Günümüzde östrojen reseptörünün nöron koruyuculuğu ile ilgili tartışmalar bulunmaktadır. Farklılıklar beyin bölgesi veya beyin çalışmalarının tipiyle alakalı olabilir. ER- $\beta$  aktivitesi östrojenin nöron koruyucu özellikleri ile alakalı olabilir çünkü; ER- $\beta$  mRNA (205) ve protein (206) ekspresyonu yaşlanma ile belirli beyin bölgelerinde azaldığı rapor edilmiştir. Yine ER- $\beta$ 'nın yerleşimi ve seviyesi nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili görünmektedir (207). Başka bir çalışmada da ER- $\beta$  reseptör agonistleri glutamat toksisitesi ve iskemiden dolayı oluşan hasarda nöronları koruduğu ispatlanmıştır (208,209). İlginç bir şekilde bu reseptör amiloid  $\beta$  prekürsörü ile ilişkili mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK) aktivitesini de etkileyebilir (210) ve cAMP cevap element bağlayıcı proteinin (CREB) fosforilasyonu için gerekli olabilir (211). Sonuç olarak ER- $\beta$  knockout farelerde  $\beta$  amiloid birikiminin kanıtları ve yaşın negatif sonucu ile ilişkili nöron koruyuculuğu ileri sürülür (212,213). Yaşlanmanın CREB gibi diğer transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ve ligand bağımsız transkripsiyonu üzerine derin etkisi var gibi görünmektedir (214).

Östrojen uygulaması NMDA reseptör ekspresyonunu ve fonksiyonunu hızlı bir şekilde artırır (214,215). Östrojen sentezinin yokluğu hipokampusta NMDA reseptör alt tipinde değişiklik yapmakta ama uzaysal öğrenme kabiliyetinde çok az değişiklik yapmaktadır. NMDA reseptör alt tipleri olan NR1, NR2A ve NR2B'nin aromataz knockout (ArKO) dişi farelerin hipokampusunda normal dişi farelere oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Fakat NR2C reseptör alt tipinde böyle bir fark izlenmemiştir. MWM testinde ise iki genotipde eşit öğrenme eğilimi gözlenmiştir (216).

Östrojen uzun dönemli potansiasyonun (LTP) indüksiyonunu kolaylaştırır (185,217,218) ve uzun dönem depresyonun (LTD) indüksiyonunu azaltmaktadır



(146,185,219). Dahası östrojen hızlı bir şekilde trofik (besleyici) faktör ve MAPK yolunu etkiler (191,197,220,221). Son zamanlarda yapılan çok sayıda araştırma hipokampusta östrojen etkileri için MAPK'nın aktivasyonuna ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (189,222-228). G-protein-MAPK sinyal yolundaki bozulma yaş bağımlı hafıza bozulması ile ilişkili olabilir (229-231). Böylece östrojenin hızlı etkileri  $Ca^{+2}$  bozulmuş düzenlenmesine karşı koyarak, G-protein sinyalinin nöronmodülatöre aracılığını desteklemekte ve besleyici faktörler sağlayarak beyin yaşlanmasını etkileyebilirler (202).

Benzer şekillerde östrojenin G-protein yoluyla hücre içi sinyalin aktivasyonu (190,232), CREB'in fosforilasyonu (233-237) ve hücre içi kalsiyum seviyelerinin değişimini (238,239) içeren nöron koruyucu etkiler detaylı olarak hala açıklanabilmiş değildir.

### **3.2.5. Östrojen ve Nörotransmitterler:**

Kolinerjik sistemdeki değişim cinsiyet farklılığına dayanan MWM öğrenmesinin temelini oluşturur. Kolinerjik blokör olan skopolamin uygulanması dişi farelerin erkeklerden daha duyarlı olduğu bulunmuştur (240). Östradiol kolinerjik sistemi etkileyerek uzaysal öğrenmeyi artırır çünkü östradiol MWM kazanımını dişi sıçanlarda artırır ve skopolamin tarafından bu artış engellenir (138). Ovx sıçanlara östrojen uygulaması sonucu kolinerjik sistemin ve kognitif performansın daha iyi olduğu gösterilmiştir (152). Hayvan çalışmalarında bazal ön beyinden hipokampus ve serebral kortekse uzantıları olan kolinerjik sistemin dişi sıçanlarda östrojen düzenlenmesinde asıl sorumlu olduğu gösterilmiştir (241). Kolin asetiltransferaz aktivitesindeki azalma kognitif fonksiyonlardaki azalmayla ilişkilidir (242). Östrojenin dişi sıçanların bazal ön beyin, hipokampus ve frontal korteksde kolin asetiltransferaz

enzimini artırdığı bulunmuştur (243) ama uzun süre östrojen uygulanması kolinerjik fonksiyonları azaltabilir (244,245). AH'li hastaların bazal ön beyinde kolinerjik nöronlar dejenere olurlar (246). Östrojen sıçan beyinde kolin asetil transferazı upregüle eder (247). Postmenopozal kadınlarda östrojen uygulaması antikolinerjik ilaçların dikkat ve hız bileşenini içeren görevlerdeki bozucu etkilerini hafifletir (248). Asetil kolin muskarinik reseptör antagonisti uygulanması östrojenin indüklediği MWM tesindeki artışı azaltmıştır bu etki hipokampusu uygulamada gözükmeyen kortekse yapılan uygulamada gösterilememiştir (249). Bu sonuçlar asetil kolinin hipokampusta lokalize muskarinik reseptörlerini etkileyerek östrojenin işlek hafıza üzerine olan pozitif etkilerini düzenlemekte olduğunu düşündürmektedir.

Östrojenler, aktif olmayan 2-hidroksiöstradiole dönüşebilirler; 2-hidroksiöstradiol de katekolaminlerin katekol-o-metil transferaz (COMT) ile metabolize edilmelerini kompetitif olarak inhibe eder ve gebelikte katekolaminlerin plazma düzeylerinin artışı ile kan basıncı artışına neden olabilir. Dopaminerjik sistemin düzenlenmesi östrojenin koruyucu etkileri arasındadır. Şizofren kadın hastalarda tedavide daha düşük doz nöroleptik ilaca ihtiyaç duyulur (250,251).

Santral noradrenerjik ve dopaminerjik nöronların östrojen reseptörü taşıdıkları gösterilmiştir (252,253). Bazı beyin bölgelerinde dopamin reseptör afinitesi kadınlarda erkeklerden daha azdır (254). Kronik olmayan siklik östrojen uygulaması substantia nigrada tirozin hidroksilaz salgılatan mRNA'yı artırır (255) ve yaşla birlikte aynı bölgede tirozin hidroksilaz transkripsiyonunu azaltır (256-259). Ayrıca, östrojenin triptofan azalmasının sebep olduğu sözel hafızadaki bozulmayı iyileştirdiği belirlenmiştir (260). Dopamin ve östrojen etkileşimiyle ilgili yapılan bir çalışmada Ovx sıçanlarda kronik östrojen replasmanının öğrenme cevabı üzerine etkilerini sadece D2 reseptörleri aracılığı ile olabileceği ileri sürülmüştür (261).

Östrojenin nöron koruyucu etkisinin bir kısmı nörotransmitterlerin düzenlenmesiyle olmaktadır. Örneğin; östrojen dopamin salınımını düzenleyerek nigrostriyal sistemi korur (262-264). Östrojenin nigrostriyal dopaminerjik sistemde nörotoksik etkiye karşı nöron koruyucu özelliği vardır ve Ovx farelerin striatumunda dopamin konsantrasyonunda azalmayı önler (265-269). Farelerde dopaminerjik nörotoksite cinsiyet farklılığı gösterir ve erkeklerde dişilere göre dopaminin daha fazla azalmasına neden olur (270,271).

### **3.3. Kognitif (Bilişsel) Fonksiyonlar; Öğrenme ve Bellek:**

Bilişsel fonksiyonlar, kişinin analiz yeteneği ve gelen bilgiyi davranışı ile koordineli bir şekilde kullanabilme kapasitesidir. Benzer şekilde kişinin çevreden gelen bilgiyi alarak özümleme ve yine çevreye karşı etkili olarak kullanabilme yeteneğidir ve oryantasyon, bellek fonksiyonları da dahil olmak üzere algılama, dikkat, yargılama, soyutlama, hesaplama, zeka ve gerçeği değerlendirme yetilerini kapsar (272).

Davranışını deneyimlere göre değiştirebilme yeteneği hayvanlara ve özellikle insana ait bir özelliktir. Öğrenme bunu gerçekleştirebilmek için deneyimlerden bilgi kazanabilme, bellek ise bu bilgiyi koruma ve depolamadır. Bu iki olay birbiri ile yakından ilişkilidir ve her ikisinin birlikte ele alınması gerekir (273).

Fizyolojik olarak bellek; eksplisit (net) ve implisit (gizli) olarak iki tipe ayrılabilir. Net bellek tanıma belleği veya deklaratif bellek olarak da adlandırılır. Burada bilinç eşleniktir ve hipokampus ile beyinin medial temporal loblarının diğer bölümlerinde depolamaya bağımlıdır. Olaylara ait (epizodik), sözcük, kural, dile ait (semantik) bellek olarak alt gruplara ayrılır. İmplicit bellek, bir kez kazanıldıktan sonra bilinçsiz ve kendiliğinden gerçekleşir hale geçen beceri ve alışkanlıkları kapsar.

Bu bellek, daha önce karşılaşılmış olan sözcük veya cisimlerin tanınmasını kolaylaştıran durumu da içerir. Bunun bir örneği, ilk birkaç harfin söylenilmesi sonucu bir kelimenin daha kolay hatırlanmasıdır. İmplicit belleğin diğer çeşitleri, asosiyatif olan ve olmayan formlara ayrılabilir. Asosiyatif olmayan öğrenmede organizma tek bir dürtü ile öğrenirken asosiyatif öğrenmede organizma bir dürtünün diğer dürtü ile olan ilişkisini öğrenir. Gizli bellek uyanıklığı içermez ve buna varlığı anlaşılmayan veya refleksif bellek de denir. Bunun depolanması her zaman hipokampusta işlenmeyi gerektirmez ve beceri, alışkanlık ve koşullu refleksleri kapsar.

Eksplisit bellek ile implicit belleğin çeşitli formları, saniyeler ile dakikalar boyu süren kısa süreli bellek ve belleğin yıllarca ve bazen yaşam boyu depolandığı uzun süreli bellek oluşumunu içerir.

Kısa süreli bellek sırasında anı kalıntıları travmalar ve çeşitli ilaçlarla bozulabilir, halbuki uzun süreli anı kalıntıları bozulmaya belirgin şekilde dirençlidir. Kısa süreli bir bellek tipi olan işlek bellek, kişi bir bilgiye dayanan girişim planlarken bilgiyi hazır tutan bellektir.

Uzun süreli hafıza, bilginin depolanma şekline bağlı olarak kapalı ve açık olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Kapalı hafıza tipik bir şekilde refleks olarak uygulanabilen motor ve algılama durumunda söz konusudur. Örnek olarak bireyin daha önce yazdığı bir kelimenin ilk harfini gördüğünde devamını hatırlaması verilebilir. Açık hafızada ise kişiler, yerler ve cisimlerin birbirleriyle olan bağlantılarının hatırlanması söz konusudur .

Açık hafızanın oluşumunda kodlama, konsolidasyon, depolama ve geri çağırma olmak üzere dört safha vardır. Kodlama, öğrenilen bilgi ile ilk kez karşılaşıldığında gösterilen öğrenme motivasyonu ve dikkat ile bağlantılı olarak bilginin

sınıflandırılmasıdır. Konsolidasyon, bilginin uzun süreli depolamaya uygun olacak şekilde değiştirilerek işlenmesidir ve genlerin ekspresyonunu ve yeni protein sentezini gerektirir. Depolama, belleğin zaman içinde saklanması mekanizmasını ve yerlerini içerir. Uzun süreli depolama kapasitesi sınırsız iken kısa süreli depolama kapasitesi çok sınırlıdır. Geri çağırma ise depolanan bilginin kullanılacağı zaman geri çağırılmasıdır .

Alışkanlık (habitüasyon), nöral bir uyarının defalarca yinlendiği basit bir öğrenme şeklidir. Bir uyarı ilk kez uygulandığında, o canlı için yeni olup bir tepkime uyandırır. Bu uyarı yinlenecek olursa, giderek daha az elektriksel cevap oluşturur. En sonunda denek uyarana alışır ve buna aldırış etmez. Duyarlanma (sensitizasyon) bir anlamda bunun tersi olan bir olaydır. Yinelenen uyarın, eğer hoş veya hoş olmayan bir başka uyarınla bir veya daha fazla birlikte verilirse daha büyük bir cevap meydana getirir. Uyarınların uyandırma değerinin benzeri yoğunlaşmasının insanda meydana geldiği bilinmektedir. Çeşitli tür gürültüler arasında uyuyan annenin bebeği ağlayınca hemen uyanması buna örnektir. Alışkanlık asosiyatif olmayan bir öğrenme örneğidir. Asosiyatif öğrenmenin klasik örneği koşullu reflektir. Koşullu bir refleks, önceden cevap oluşturmayan veya çok hafif bir cevap oluşturan bir dürtüye karşı, bu dürtünün, bu cevabı normal olarak uyandıran bir diğer dürtüyle tekrar tekrar eşleştirilmesiyle kazanılan bir refleks cevaptır.

Bellekte kilit öge, seçilmiş kavşak bağlantıların gücünde değişiklik olmasıdır. En basit olanlar hariç bütün bellek biçimlerinde, bu değişiklik protein sentezini ve genlerin etkinleştirilmesini içerir. Bu olay, kısa süreli bellekten uzun süreli belleğe geçiş sırasında görülür. Hayvanlarda, her eğitim oturumunu izleyen beş dakika içinde anestezi uygulanır, elektroşok verilir veya protein sentezini bloke eden ilaç, antikör veya oligonükleotidler kullanılırsa, uzun süreli öğrenilmiş cevapların kazanılması önlenir. Bu girişimler, eğitim oturumlarından dört saat sonra yapılırsa kazanım

üzerine herhangi bir etki görülmez. İnsanda bu olayların karşılığı, beyin sarsıntısı veya elektroşok tedavisinden hemen önce gerçekleşmiş olaylara ait belleğin yitimidir (retrograd amnezi). Bu amnezi, deney hayvanlarındakinden daha uzun dönemleri kapsarsa da uzak bellekler el değmemiş olarak kalır (274).

Hipokampus'un özellikle kısa süreli hafıza ile ilgili olduğu bilinmektedir (275). Kısa süreli hafıza, yeni bilgilerin depolanma kapasitesini ifade etmektedir. Bu nedenle mekanizma ne olursa olsun sağ ve sol hipokampus olmadan verbal veya sembolik uzun süreli anıların kalıcı olması mümkün değildir (276). Diğer yandan, sağ hipokampus görsel, sol hipokampus ise sözel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite göstermekte ve bu bölgelerin lezyonlarında da ilgili hafızalarda kayıplar gelişmektedir (273). Hipokampusu etkileyen lezyonu olan hastalarda kısa süreli hafızanın uzun süreli hafızaya dönüştürülmediği gözlenmiştir. Lezyonun sol hipokampusta olduğu durumlarda daha çok sözel hafıza etkilenirken, sağda olduğu durumlarda ise görsel hafıza etkilenmektedir (277).

Hipokampusun, kısa süreli belleğin uzun süreli belleğe çevrilmesine neden olan dürtüyü sağladığı ileri sürülmüştür. Yani bazı tip sinyalleri kalıcı deponun yer aldığı uzun süreli belleğin depo alanlarına taşır. Mekanizma ne olursa olsun, hipokampus olmadan, uzun süreli belleğin pekiştirilmesi mümkün olmamaktadır (278).

Sıçanlarda MWM testi özellikle hipokampal lezyonların etkilerine duyarlıdır (279). Uzaysal öğrenme hipokampal hasarın boyutuyla ilişkili olarak bozulmaktadır ve dorsal hipokampal lezyonlar ventral olanlardan daha fazla etkilediği rapor edilmiştir (280,281). Yapılan bir çalışmada ibotenik asitin indüklediği hipokampal lezyonlu sıçanlarda gerçekte gizli platform öğrenmesi bozduğu bildirilmiştir. Buna rağmen uzaysal olmayan ayırım normal bulunmuştur (282).

Hipokampus, MWM gizli platform bulma altındaki uzaysal öğrenmenin birincil yeridir (283). Pekiştirme ve depolamada olduğu gibi uzaysal bilginin alınması ve kazanılması için hipokampus gereklidir. Suda çözünebilir AMPA/kainat antagonisti kullanılarak geri dönüşümlü hipokampus inaktivasyonu ciddi bir şekilde sıçanlarda MWM testi performansını bozduğu bulunmuştur (284).

### **3.4. Hücre Adezyon Molekülleri (CAM):**

Hücre adezyon molekülleri, glikoprotein moleküllerinden oluşan yapılar olup birçok hücrenin yüzeyinden salınırlar ve hücrelerin birbirlerine, endotel hücrelerine veya ekstrasellüler matrikse bağlanmalarını sağlarlar (285). Adezyon molekülleri; ekstrasellüler matriksten hücreye bilgi akışı, doku/organ gelişimi ve hücre çoğalması, embriyogenez, kemotaksis ve kanser metastazı gibi bir çok olayda rol oynarlar.

Moleküler biyoloji çalışmalarında transmembran düzeyinde kadherin, integrin, selektin ve immünoglobülin (Ig) süper ailesine ait birçok hücre adezyon molekülü bulunmuştur (286). Aktive immünoglobülinler hücre içindeki iskelet sistemine bağlanan tek geçişli transmembran glikoproteinlerdir. Bazı çalışmalarda Ig familyasının hem sinaptogenez hem de sinaptik plastisiteye katıldığı bildirilmiştir (287,288). Ig süper ailesi üyeleri tarafından aracılık edilen hücre-hücre bağlantıları sadece nöronlar arasında değil aynı zamanda nöronlarla glialar arasında da bulunabilir. Nöronlarla glialar arasındaki bağlantılar ayrıca sinaptik düzenlemelere de katılabilirler (289,290).

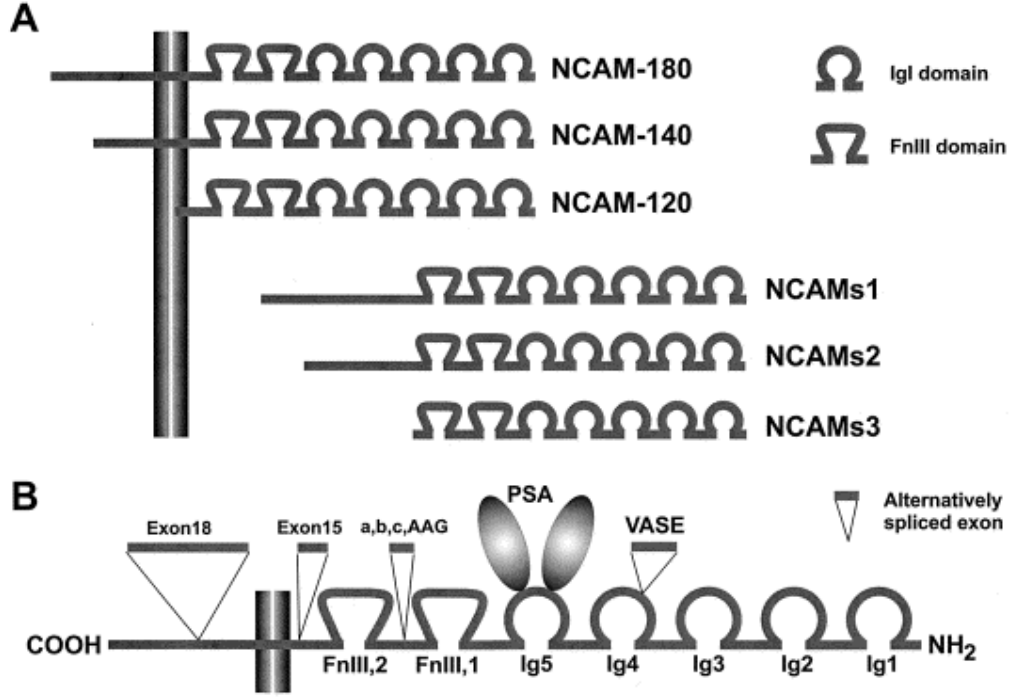
Hücre adezyon molekülleri hücre dışı matriks komponentleri sayesinde hücrelerle diğer hücrelerin arasındaki bağlantılara aracılık ederler ve böylelikle sinaptik plastisitedeki değişiklikleri etkilerler. Bunların yanısıra, CAM'lar hücre içi ve dışı sinyallere aracılık ederler. CAM'ların nöron gelişmesinin dahil olduğu ilk

etaptaki hücrel cevaplarda hücreler arası sinyal transdüksiyon akımını aktive ettiği gözlemlenmiştir (291). Bununla birlikte belirli CAM'ların ekspresyonları nöronal aktiviteyle etkilenebilir (292). CAM'ın gelişme esnasında nöronal bağlantıların formasyonunda görev aldığı ve son zamanlarda yapılan çalışmalarla nöronal CAM'ın sinaptik plastisiteye katıldığı öne sürülmüştür (293-295).

#### **3.4.1. NCAM Yapısı ve Özellikleri:**

NCAM hücre adezyon molekülleri içerisinde iyi bilinenlerdendir (296) ve Ig süper ailesi içinde incelenen protein yapılarıdır. NCAM'ın hücre-hücre ve hücre-matriks etkileşimleri ile nöron gelişmesini arttırmada düzenleyici olarak hareket eden yüzey glikoproteinleri olduğu bilinmektedir (297-300). NCAM molekülü N terminaline özgü beş adet C2 bölgesi içerir. NCAM yapılarının extrasellüler kısmına tutunmuş uçlarında ise iki adet fibronektin homolog bölgesi (Fn-III) ve beş adet Ig bölgesi (Ig-I) içermektedir (Şekil 5) (301). Beş Ig bölgesi de hafıza ve öğrenmede önemli roller üstlenen polisialik asit (PSA) içeren alanlara sahiptir. NCAM salınımı sinir sisteminin yanı sıra beyin omurilik sıvısı, amniyon sıvısı, plazma, kalp kası ve çizgili kas gibi yapılarda da bulunur. Mizaç bozukluğu, şizofrenli hastalarının kimyasal beyin tahribi sonrası beyin omurilik sıvısında NCAM yüksek seviyelerde bulunmuştur (302,303). Bu yüzden NCAM'ın beyin patolojisi ve plastisitesinde önemli bir rol oynadığı düşünülür (304). Bu moleküller ayrıca hücrel göç, aksonal gelişme, sinaptik plastisite ve çevresel aksonların rejenerasyonuna katılırlar (305-308). NCAM sadece merkezi sinir sisteminde yapısal organizasyona katılmaz aynı zamanda yetişkin beyinde sinaptik modifikasyonlara da katılır. Periferal sinirlerin çıkarılmasından sonra NCAM ekspresyonunun yükseldiği gözlemlenmiş ve bu da NCAM'ın rejenerasyona katkıda bulunabileceğini akla getirmiştir (309-311).





**Şekil 5.** NCAM moleküllerinin yapısı. (A) Üç major NCAM izotipinin genel yapıları ve hücre zarı ile ilişkisi. (B) NCAM izotiplerinin alternatif birleşmeler ile farklı adezyon molekülleri ve PSA ile olan bağlantısı (Kaynak 301'den alınmıştır).

Farklı bağlantılarla oluşmuş beyinde molekül ağırlıkları 120, 140, 180 kDa olan 3 ana NCAM izoformu bulunmuştur (301,312). Bunlardan NCAM-180 ve NCAM-140 formları hücre dışından hücre içine doğru COOH zincirleri ile uzanmış transmembran proteinleridir. Ancak NCAM-120 ise hücre membranına kadar uzanır ve glikosilfosfatidil inositol vasıtasıyla membrana tutunarak sitoplazmada ilerler (Şekil 5). Bu protein yapılar sinir sisteminde bol miktarda üretilirler (313). Aşırı NCAM ekspresyonu fonksiyonel değişiklik olmaksızın nöromusküler sinapsların yapı ve büyüklüğünde artışa neden olur (314). NCAM hücre membranına bağlandıktan sonra transmembran sinyalini ortaya çıkarır. Böylece NCAM'ler adezyon işlemini diğer hücrelere aracı olarak ve ekstrasellüler matrikste veya aktive intrasellüler sinyal yollarında görev alarak yaparlar (301,313).

Alternatif bağlantılarla plazma membranına moleküller farklı şekillerde tutunurlar (285). Alternatif uç uca bağlanma ile NCAM yapılarının değişik bölgelerine tutunan birkaç protein yapısı daha vardır. Bunlar Exon 15, Exon 18, a, b, c, AAG ve Ig bölgesine tutunan VASE ve PSA'dır (301). Özellikle olarak dördüncü Ig bölgesi 7. ve 8. eksonlar tarafından kodlanır, bu eksonların arasına da VASE denilen 30 bazlık ekson girebilir (Şekil 5). Sonuç olarak karmaşık yapılanmalar ve alternatif ekson kullanımı ile, transkriptin sonunda bilinen üç ana NCAM formu da beyinde oluşur (315).

### **3.4.2. NCAM'in Öğrenme ve Hafızanın Şekillenmesindeki Rolü:**

Farelerde hipokampal mossy fiber sistemde NCAM ve PSA salınımının ayrıntılı bir şekilde analiz eden son çalışmalarda, NCAM salınımı sadece nöronal düzenleme için önemli olmadığı, aynı zamanda göç (migrasyon) gibi yapısal değişiklikler, aksonal büyüme ve fasikülasyon ile plastisite aktivitesi içinde gerekli olduğu gösterilmiştir (285).

NCAM antikorlarının intraventriküler enjeksiyonu ile tavuklarda hafıza kaybına (amnezi) neden olması NCAM'in öğrenme üzerine katkılarının kanıtıdır (316). Başka bir çalışmada NCAM'dan yoksun bırakılan farelerde uzaysal öğrenme ve bulma yeteneğinin bozulduğu, MWM testlerinde öğrenmelerinde geri kalmalar olduğu tespit edilmiştir (317). Bununla beraber öğrenmedeki bu yetersizliğin neden kaynaklandığı bilinmemektedir. Bunun yanısıra PSA-NCAM'in enzimatik olarak ortadan kaldırılmasıyla sıçanlarda uzaysal öğrenme engellenmiştir (318). Yine deneysel olarak deniz yumuşakcıklarından *Aplysia californica*'lar üzerinde yapılan çalışmalarda *Aplysia* hücre adhezyon moleküllerinin düzeylerinin düşürülmesi ile yeni sinaptik bağlantıların öğrenmeyle ilişkili formasyonu olumsuz etkilediği gösterilmiştir (319). Genç ve yaşlı nöronların rejenerasyon ve çoğalma yeteneklerinin

ortaya çıkarılması yaşa bağlı gerilemelerin düzeltilmesinde ve nöron hasarı ile seyreden hastalıkların tedavisinde umut vaat etmektedir ve bu noktada NCAM moleküllerinin olumlu etkileri gündeme gelmektedir (320).

NCAM sadece gelişme esnasında MSS yapısal organizasyonuna katkıda bulunmaz, aynı zamanda beyindeki tahrip olmuş sinaptik modifikasyonlara da yardımcı olur. Bu özelliklerinden dolayı PSA-NCAM başta olmak üzere NCAM salınımının, öğrenmenin ve uzun dönem hafızanın oluşumunda etkin bir role sahip olduğu anlaşılmaktadır (321).

### **3.4.3. Sinaptik Plastisite ve PSA-NCAM'in Rolü:**

Sinir sisteminin gelişmesi nöronal döngüyü oluşturmak için yol gösteren sinaptik bağların yeniden oluşmasının devam ettirilmesiyle karakterize edilir. Yetişkinlerde sinaptik plastisite, öğrenme ve hafıza oluşumu gibi fizyolojik ve patolojik şartların tanımlanması ve nöronal döngünün tamamlanmasıyla anlaşılır (322). NCAM ve onun polisiale olmuş formu olan PSA-NCAM'in nöronal plastisite ve sinapslarda çok önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (323).

Çözünebilen NCAM tipleri beyinde, beyin omurilik sıvısında ve plazmada bulunur (301,324). NCAM hücre göçünü, nörit uzanımını ve fasikülasyonunu etkileyerek beyinde sinapsların oluşumunda rol oynayabilirler. Ayrıca NCAM'ın etkisinin bloke edildiği farelerde olfaktor bulbusun ve hipokampustaki mossy fiber sistemin gelişiminin geri kaldığı gösterilmiştir (301). Bu nedenle NCAM molekülleri beyin gelişmesi esnasında MSS yapısal organizasyonuna girerken, olgun beyinde ise sinapsların yeniden oluşum ve düzenlenmesine katılmaktadırlar. Bu moleküllerin sinaptik plastisite dışında hücre göçü, aksonal büyüme, periferik aksonların yenilenmesinde de görev aldıkları düşünülmektedir (285).

Nöronal plastisite öğrenme ve hafıza formasyonunda önemli görevler alır (315). Kortikal nöronların farklılaşması, iyileşmesi ve sinaptik plastisitede aktivite artışı için PSA-NCAM'ın güçlü bir şekilde salınımı oldukça önemlidir.

NCAM formları içinde sinaptik plastisitede rol alan en önemli molekül PSA-NCAM'dır (301,325). PSA, alfa-2-8-linked sialik asit artıklarının uzun homopolimerazıdır (285). NCAM izoformlarının %30'unu PSA oluşturmaktadır. Bu nedenle PSA-NCAM terimi sıklıkla kullanılmaktadır. PSA'nın buradaki rolü karşılıklı membranlar arasındaki adezyonların kolaylıkla yapılmasını sağlamaktır. Polisialize olmuş yapı NCAM'ın adhezif etkilerini artırır (285,326).

Sinaptik plastisite ve nöronal aktiviteye bağlı nörojenesis olayında önemli rol alan PSA-NCAM'ın, özellikle hipokampal formasyonda rol alan olfaktor sistem ve dentat girus gibi beyinin belli bölgelerinde düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir (327-330). Yaşa bağlı olarak ortaya çıkan hafıza bozuklukları hipokampal plastisitedeki azalma ile birliktedir. Merkezi sinir sisteminin oluşumunda NCAM'ın polisialize olmamış hali rol alırken, gelişimi sırasında PSA-NCAM bolca sentezlenir. Kemirgenlerde hipokampal formasyonda, yeni oluşan nöronların farklılaşma ve matürasyonunda da PSA-NCAM salınımının aktif rol aldığı gösterilmiştir (297,329). Dişli granül hücrelerinin polisializasyonu ise yaşla birlikte azalır. Ancak yaşla bağlantılı aktif azalmanın polisializasyondaki azalmayla direkt bir ilişkisi bulunmamaktadır (331,332).

Kafa travması sonrası fonksiyonel iyileşme ve tamirde, nöronal bağlantıların yapı ve fonksiyonel plastisitesinde de PSA-NCAM görev alır (333). PSA-NCAM'ın güçlü bir şekilde salınımı beyin yapılarında dokunun yeniden organizasyonunda ve plastisitede önemli roller üstlenir. NCAM polisializasyonunun artışı yetişkin sıçanlarda, hem pasif kaçınma cevabının öğrenilmesinden sonra ve hem de MWM

testinde uzaysal öğrenmeden sonra gösterilmiştir (334,335). Bu artış sıçanların dentat girusunun granül hücrelerinde tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada polisializasyondaki bu yükselme hipokampal oluşumda dişli granül hücrelerinin bulunduğu yerde ve öğrenmeye katılan kortiko-hipokampal yoldan şekillenebilen entorhinal korteksteki nöronlarda lokalize olmuşlardır (285,336). NCAM polisializasyonunun artışı aynı şekilde öğrenmeye katılan korti-kohipokampal yolda PSA-NCAM salınımında aktive etmektedir (334). Ancak bu formasyon için hipotalamo-pitüiter-adrenal aksın önemli olduğu ortaya konulmuştur (285).

Genellikle uzun dönem hafızanın oluşmasındaki yapısal değişikliklerin nöronal bağlantılarla oluştuğuna inanılmaktadır. Uzun dönem hafızanın oluşmasında ve öğrenmede NCAM'ın rolü giderek daha fazla sayıda araştırmaya konu olmaya başlamıştır (321). Öğrenme ve hafızanın oluşumunda temel mekanizma olan sinaptik plastisiteye NCAM moleküllerinin aracılık ettikleri artık bilinmektedir (321,337). Öğrenme sürecinde nöronal bağlantılarda yapısal değişikliklerin oluşması uzun dönem hafızanın yerleşmesini sağlar. Bu nöronal bağlantı ve yeniden organizasyon işleminde NCAM molekülleri çok önemli görevler üstlenir (338).

PSA-NCAM'ın artışı adhezyon hücrelerinde azalmaya ve nörit uyarılmasında artışa neden olmaktadır. Nörogenezin indüklenmesi ile hipokampal formasyon artmakta, öğrenme ve hafıza işlemleri de olumlu etkilenmektedir. Sonuçta polisialize olmuş NCAM, uzun dönem hafızanın (depo hafızanın) kurulması esnasında nöronal bağlantıların yapısal modellerinin yeniden oluşumuna katkıda bulunmuş olurlar (339). Ayrıca PSA-NCAM salınımı hızlı bir şekilde  $Ca^{+2}$  bağımlı nöronal aktiviteyi şekillendirebilmektedir (333,340). Tüm bu etkiler, başta PSA-NCAM olmak üzere NCAM salınımının, öğrenmenin ve uzun dönem hafızanın oluşumunda ne kadar gerekli olduğunu göstermektedir (321).

#### 3.4.4. NCAM ve LTP:

LTP ve LTD gibi mekanizmalar kortikal yeniden organizasyon haritalarının temelini oluşturduğu kabul edilmektedir. Bunların beyinde bilgi depolamanın hücrel temelinin oluşturduğuna inanılmaktadır (333). PSA-NCAM'ın presinaptik plastisiteye spesifik katkıları olduğu bilinmektedir (285).

Yetişkinlerde öğrenme ve hafızaya alma olaylarında rol oynayan nöronal plastisitenin NCAM molekülleri tarafından sağlandığı artık bilinmektedir (338,341). Sinaptik plastisitenin bir ifadesi olan hafızanın oluşumunda NCAM'ın rolünü anlamak için hipokampusta mossy fiber sinapsta LTP uyarısı kullanılır (285). LTP *in vivo* ve *in vitro* şartlarda hipokampal sinir liflerinin yüksek sıklıktaki uyarıları ile uyarılabilen sinaptik geçişlerdeki uzun süren bir yükselmedir. LTP öğrenme ile çoğu özellikleri paylaşır. Hafıza ve öğrenmede sinaptik değişiklikleri kontrol ettiği sanılan moleküler mekanizmaları anlamada ve tespit etmede artık yaygın olarak LTP ölçümü kullanılmaktadır (342).

Bir uygulamada *in vitro* şartlarda lokal NCAM antikolarının sıçanların hipokampal kesitlerindeki CA1 bölgelerine enjeksiyonu ile LTP'nin devamlılığını ve uyarısını engellediği gösterilmiştir (342).

Sinir sisteminin gelişimi sırasında oluşan sinaptik değişiklikler, sinaptik plastisitenin de kapasitesinde değişikliklere neden olur. Tanımlanan bu kapasite hatırlama ve öğrenme yeteneğinde önemli rol oynar. Erginlerde bu olay öğrenme ve hafıza oluşumu gibi fizyolojik ve patolojik şartların tanımlanması ve nöronal döngünün tamamlanması ile anlaşılır (319).

### 3.5. Aromataz Enzim İnhibitörleri:

Postmenopozal kadınlarda meme kanserlerinin üçte ikisi östrojen reseptör pozitifdir ve hastalığın doğası hormon bağımlıdır. Bu hastalarda östrojenin etkilerinden korunmak için iki ana yaklaşım vardır: *Birincisi*; selektif östrojen reseptör inhibitörleri, *ikincisi*; aromataz inhibitörleri tarafından östrojen sentezinin inhibisyonu. Son zamanlara kadar östrojen reseptör pozitif meme kanseri tedavisinde aromataz inhibitörleri ikinci çizgi (basamak) tedavide kullanılırken, tamoksifen birinci çizgi tedavide kullanımı tamamen yerleşmiş bir standart olarak biliniyordu. Fakat son zamanlarda yapılan klinik çalışmalar birinci basamak tedavide üçüncü kuşak aromataz inhibitörlerinden anastrozol ve letrozolun tamoksifenden daha fazla etkin olduğu bulundu. Aromataz enzim inhibitörleri overlerde ve periferel dokularda östrojen üretimini baskılar (343). Östrojene bağımlı olarak büyüme gösteren meme kanserli hastalarda aromataz inhibitörlerinin kullanılması östrojen seviyelerinin azalmasına bağlı olarak hastalığın seyrini düzeltmesi aromataz inhibitörlerinin önemini arttırmıştır (344).

Aromataz enzim inhibitörleri steroid (geri dönüşümsüz) ve steroid olmayan (geri dönüşümlü) olmak üzere iki grupta sınıflandırılırlar (345) (Tablo 1, Şekil 6):

1- *Tip I (Steroid) aromataz inhibitörleri*: Eksemestan ve formestan olup, enzimdeki substrat bağlanan protein yapıya kovalent olarak ve geri dönüşümsüz bağlanırlar. Bu nedenle dolaşımdan uzaklaşınca kadar kalıcı enzim inhibisyonu yaparlar (346).

2- *Tip II (Nonsteroid) aromataz inhibitörleri*: Aminoglutetimid, fadrazol, rogletimid, vorozol, letrozol ve anastrozol olup aromataz sitokrom p450'nin hem grubuna yarışmalı olarak geri dönüşümlü şekilde bağlanarak östrojen sentezini baskırlar (344). Bu intibitörler aromataz enzimine yüksek affinite gösterirler (347).

Aminoglutetimid klinikte ilk kullanılan aromataz inhibitörü olmasına ve iyi etkinlik göstermesine rağmen seçiciliğinin olmamasından ve kortikosteroid takviyesi gerektirdiğinden dolayı hastaların uyumu zorlaşır. Bu sıkıntılardan ötürü daha güçlü, daha iyi tolere edilen ve daha fazla aromataz seçici 3. kuşak aromataz inhibitörleri geliştirildi. Bunlar kompatatif olan ve steroid olmayan letrazol ve anastrozol ile geri dönüşümsüz steroid inhibitörü eksemestandır.

**Tablo 1.** Aromataz inhibitörlerinin sınıflandırılması.

	<b>TipI-Steroid (Geri Dönüşümsüz)</b>	<b>TipII-Steroid Olmayan (Geri Dönüşümlü)</b>
<b>I. Kuşak</b>	-----	Aminoglutetimid
<b>II. Kuşak</b>	Formestan	Rogletimid Fadrozol
<b>III. Kuşak</b>	Eksemestan	Vorozol <i>Letrazol</i> Anastrozol

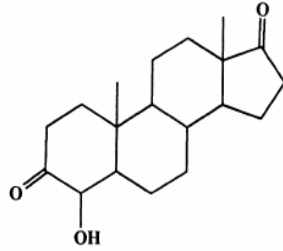
Östrojenler hormon bağımlı meme kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde önemli rol oynarlar (348). Bu nedenle son yıllarda giderek artan oranda hormon bağımlı meme kanseri olgularının tedavisinde aromataz inhibitörleri kullanılmaktadır (349). Üçüncü nesil aromataz inhibitörleri östrojen veya progesteron reseptör pozitif ileri evre meme kanserli postmenopozal kadınlarda ve cerrahi için uygun olmayan hormon reseptör pozitif invaziv meme kanserli hastalarda tamoksifene alternatif



olarak ilk basamak, ikinci basamak ve neoadjuvan (yeni yardımcı) tedavide etkinlikleri bildirilmiştir (344). Hormon reseptör pozitif meme kanserlerinde neoadjuvan tedavide faz III randomize (rastgele) denemelerde Letrazol'ün tamoksifenden daha fazla etkin olduğu gösterildi (350). Yapılan başka ileriye yönelik randomize çalışmalarda, letrazol ve anastrozol birinci aşama tedavi için tamoksifen ile karşılaştırıldı. Bu iki ajanın da sonucu düzeltmekte olduğu bulundu (351,352) ve FDA tarafından postmenopozal kadınlarda hormon reseptör pozitif ve metastatik meme kanserinde birinci aşama tedavi olarak kabul edildiler. Ayrıca, pozitif östrojen reseptörüne sahip endometriyum tümörlerinde de aromataz inhibitörleri sistemik olarak kullanılmaktadır (353). Cinsiyet hormonu bağımlı benign tümörler olan leomyomların tedavisinde kullanılabilmektedir (354,355). Aromataz inhibitörlerinin östrojen üretimini baskılamasından yola çıkılarak kısa dönem için ovulasyon indüksiyonu sağlanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (356). Bu ajanların folliküler fazda kullanımının ardından over ve ekstra ovaryan dokularda östrojen seviyesinde azalmaya bağlı olarak FSH üretimini arttırarak infertil hastalarda ovulasyon indüksiyonu sağladığı gösterilmiştir (357). Normal endometriumda östrojen üretilmez ve aromataz aktivitesi saptanmazken ekstra-uterin implantlarda yüksek oranda aromataz aktivitesine ve östrojen üretimine rastlanmıştır (358). Bu nedenle, son yıllarda yapılan çalışmalar aromataz inhibitörlerinin endometriozis tedavisinde etkinliğini göstermiştir (359,360). Önümüzdeki yıllarda aromataz enzim inhibitörlerinin tedavide daha geniş bir kullanım alanı bulabileceği düşünülmektedir.

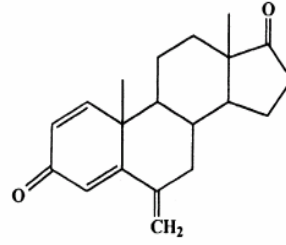
### Steroid aromataz inhibitörleri

İkinci kuşak



Formestan

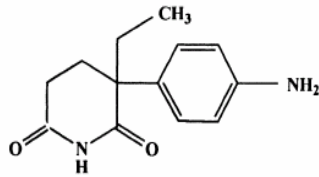
Üçüncü kuşak



Eksemestan

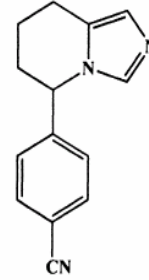
### Steroid olmayan aromataz inhibitörleri

Birinci kuşak



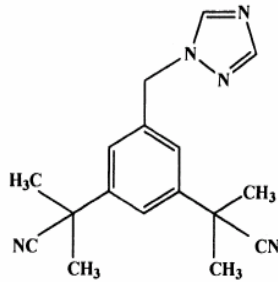
Aminoglutetimid

İkinci kuşak

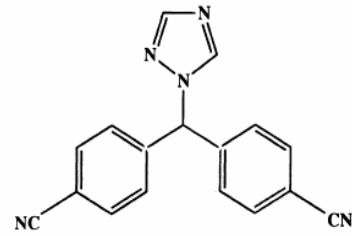


Fadrozol

Üçüncü kuşak



Anastrozol



Letrozol

Şekil 6. Aromataz inhibitörlerinin yapısı.

### **3.5.1. Letrazol (CGS 20267):**

#### **3.5.1.a. Farmakokinetiği:**

Sağlıklı kişilerde letrazol ağızdan alındıktan sonra hızlı bir şekilde ve tamamen emilir, geniş bir dağılım hacmine sahiptir (1.87 l/kg) ve orta derecede proteine bağlanır (%60) (361). Tek doz alımdan sonra plazma son yarılanımı sağlıklı kişilerde 42 saat (362,363) ve meme kanserli hastalarda ise 82 saattir (364). Meme kanserli hastalarda sağlıklı kişilerden daha yüksek eğri altı alanı vardır ve bu durum hastalardaki azalmış metabolik klirensten dolayı eliminasyon hızının azalmasından kaynaklanır (364). Daha genç olan sağlıklı bireyler (ortalama yaş 61) ile postmenopozal hasta kadınlar (ortalama yaş 71) arasında letrazolün farmakokinetiği açısından anlamlı farklılık yoktur (364).

Letrazolün majör eliminasyon yolu sitokrom P-450 izoenzimleri CYP3A4 ve CYP2A6 tarafından metabolize edilmektedir ve farmakolojik olarak aktif olmayan karbonil metabolitine çevrilir (362,365). Önceki klinik çalışmalarda yüksek tek doz (>10mg) veya günlük tekrarlayan 2.5 mg dozlardan sonra letrazolün farmakokinetiği linear olmadığı tespit edilmiştir. (366). Letrazolün farmakokinetiğindeki bu doğrusal olmama, bu aromataz inhibitörünün CYP2A6 yolu ile otoinhibisyona veya doygunluğa uğratmasına bağlanabilir (365). Letrazolün kararlı durum konsantrasyonuna 2-6 hafta günlük doz uygulamalarından sonra ulaşır. İlaç uygulamalarının devamında dokularda ilaç birikmesi meydana gelmemektedir (367).

#### **3.5.1.b. Letrazolün Etkinliği:**

Yapılan *in vitro* çalışmalarda letrazol insan plasentası, hamster over hücrelerinde (368,369), sıçan over mikrozomları (370), JEG-3 insan koryokarsinoma hücrelerinde, MCF-7Ca kanser hücrelerinde ve insan meme kanserinde (368,369,371-

373), güçlü bir şekilde aromatazı inhibe etmektedir. Tüm bu hücrel sistemlerde letrazolün anastrozolden 10-20 kat daha güçlü etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

Aromataz inhibitörlerinin etkinliğinin *in vivo* ölçüm metodu ise genç sıçanlarda androstenedionun uyardığı uterus hipertrofinin inhibe etmeleridir. Yetişkin dişi sıçanlarda letrazol (0.3-1 mg/kg günlük p.o, 14 gün) uygulaması tamamen ovarian siklusu bozmakta (kesmekte), uterus ağırlığında ve serum östradiol seviyesinde ovarektomiden sonraki miktarlara benzer düşüşler yapmaktadır (369,374-376).

### **3.5.1.c. Letrazolün Anti-tümör Etkileri:**

Letrazol yetişkin sıçanlarda oluşturulan östrojen bağımlı DMBA indüklediği meme tümörlerinde 100 µg/kg günlük dozda (ED50 10-30 µg/kg günlük) yaklaşık tamamen gerileme meydana getirmiştir (369,375). Ovarektomize fındık farelerinde oluşturulan ve androstenedion tarafından büyümesi uyarılan MCF-7Ca kanseri oluşturulmuş ve 2 mg/kg oral doz letrazol anlamlı bir şekilde tümör büyümesini azaltırken 20 mg/kg günlük doz ise büyümeyi tamamen baskılamıştır (377). Benzer şekilde fındık farelerinde subkutan 5 µg günlük letrazol uygulaması güçlü bir şekilde meme tümör gelişimini azaltmıştır (372). Yine fındık faresi modelinde letrazol (10mg/gün) anti-östrojen ICI 182780 (5 mg haftalık), tamoxifen (60 µg/gün) ve anastrozole (60 µg/gün) uygulamalarından daha güçlü bir şekilde tümör büyümesini azaltmıştır (378). Fındık faresi meme kanseri modelinde letrazol (5µg günlük) beraberinde ya tamoksifen (3 µg/gün) veya ICI 182780 (70 µg/hafta) verilmiş ve etkilerinin letrazolün tek başına verilmesinden anlamlı olmamakla beraber daha az olduğu bulunmuştur (372). Bundan dolayı kombine tedavini avantajı bu hayvan modelinde yoktur.

Karsinojenik çalışmalarda letrazolün sıçanların distal dişi üreme kanalı glandüler hücre tümörleri ve meme tümörlerinin kendiliğinden oluşma insidansını azalttığı bulunmuştur (379,380).

Birinci kuşak aromataz inhibitörü aminoglutetimid aromartizasyonu %90-92 inhibe ederlerken (381,382) ikinci kuşak fadrozol bunlardan biraz daha iyiydi (383). Fakat üçüncü kuşak aromataz inhibitörleri *in vivo* aromatazasyonu %96'dan daha fazla baskılamaktadır (384-386). Faz-I letrazol denemelerinde postmenopozal meme kanserli kadınlarda 0.1, 0.5 ve 2.5 mg günlük uygulamalardan 4 hafta sonra serum E<sub>1</sub>'i %79 ve serum E<sub>2</sub>'yi de %74 oranında azalmalara sebep olmuştur. Üç dozda ve 24 saat içinde %50'den fazla etki göstermekte en fazlada 14 günde östrojen seviyelerini düşürmekte olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Çoğu serum örneklerinde östron (<3 pmol/l) ve östradiol (10 pmol/l) tanımlanabilir sınırların altında bulunmuş ve ölçülebilir en fazla inhibisyon değeri %86 olarak tesbit edilmiştir (387). Benzer sonuçlar günlük 0.1-5 mg letrazol alan kadınların plazma E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>1</sub>-sülfat, idrar E<sub>1</sub> ve E<sub>2</sub>'nin 2 haftada doz bağımsız bir şekilde %90'dan daha fazla azalttığı bulunmuştur (388). Yapılan çalışmalarda 0,1-5 mg ve 2,5 mg letrazol verilen hastaların plazma östrojen seviyelerinin letrezol uygulama öncesine göre sırasıyla %95'i ve %99.4 oranında azaldığı ortaya konmuştur (389,390). Başka bir çalışmada letrazolün farklı iki dozu 0.5 ve 2.5 mg/gün verilmesi randomize çalışmalarda aromataz inhibisyonunda doz bağımlı değişiklik göstermediği belirlenmiştir (%98.4 ve %98.9 sırasıyla) (384).

Postmenopozal kadınların plazma seviyelerinden meme tümöründeki östradiolün 10-20 ve östronun 2-10 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (391). Tümör içi östrojen kaynağı kişiler arasında farklı varyasyonlar göstermesine rağmen (392) muhtemelen aktif östrojen alınımı (393) ve lokal sentezinin (394) birlikteliğinden

kaynaklanır.

Maymunlarda yapılan bir çalışmada letrazol insan koryon gonadotropini (HCG) kullanılarak ovulasyon yapılabilecek çok sayıda olgun folikül oluşumunda yüksek bir şekilde etkin olmuştur (395). Başka bir çalışmada daha önce klomifen ile başarısız indüksiyon olmuş kadınlarda letrazol verilmesi ovulasyonu indükleyebileceği gösterildi (396). Letrazol infertil anovulatoar kadınların %75'inde ovulasyonu uyarabilmektedir.

#### **3.5.1.d. Letrazolün Seçiciliği:**

Letrazolün seçiciliğini ölçmek için iki hayvan modeli kullanılmaktadır:

1. Hamster over kesitlerinde LH'nın uyardığı östrojen ve progesteron üretimi,
2. Sıçan adrenal dokusunda adrenokortikotrop hormonun (ACTH) uyardığı kortikosteron ve aldosteron üretimidir.

Letrazol güçlü bir şekilde östrojen üretimini azaltırken (IC<sub>50</sub> 0.02 µM), en yüksek konsantrasyonlarda bile (350 µM) kortikosteron veya progesteron azaltması hiç yoktur ve aldosteron inhibisyonu için IC<sub>50</sub> değeri 120 µM olması gerekmektedir (369). Letrazolün *in vitro* seçiciliğini *in vivo* metodlarla teyit etmek için ACTH uyaran ilaçlar klinik olarak adrenal kapasiteleri ölçmek için kullanılır (369). Yetişkin dişi sıçanlara cilt altı tek doz ACTH aromataz inhibitörleri verilmeden 16 saat önce uygulanır ve aromataz inhibitörleri verildikten 2 saat sonra serum kortikosteron ve aldosteron seviyeleri ölçülür. Fadrozol anlamlı olarak hem aldosteron hemde kortikosteron seviyelerini baskımlarken letrazol *in vivo* aromataz inhibisyonu için gerekli ED<sub>50</sub>'den (1-3 µg/kg) 1000 kat fazla olan en yüksek doz (4 mg/kg) uygulamalarında bile ne aldosteronu nede kortikosteron seviyesini anlamlı etkilememektedir.

Letrazolün seçiciliği ile ilgili klinik çalışmalar da hayvan deneylerini desteklemektedir (387,389,397). Sadece bir çalışmada plazma kortizol seviyesi %20-25 düşüş bulunmasına rağmen bu seviyeler de hala normal değerlerindedir (398). Benzer şekilde plazma aldesteron seviyesi üzerine letrozulun etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda plazma aldesteron seviyesinde değişiklik tesbit edilememiştir (387,389,398). Letrazolün normal sınırlar arasında kalmak şartıyla plazma aldesteron seviyesinde çok az bir artış sebep olduğu tesbit edilmiştir (397).

Dişi sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada bir haftalık letrazol tedavisi sonrasında LH ve FSH seviyelerinde ve ovaryan ağırlıklarında artış gözleendiği bildirilmiştir (376). Letrazolün plazma 17 $\alpha$ -OH progesteron, tiroid uyarıcı hormon (TSH), LH, FSH veya androstenedion seviyelerini (387,397) ve normal idrar elektrolit atımını veya tiroid fonksiyonlarını etkilemediği gösterilmiştir (389).

### **3.5.1.e. Diğer Etkiler:**

Sistemik letrazol kullanımının özellikle östrojen bağımlı kemik ve kardiyovasküler sistemler gibi etkileri kemoterapik olarak kullanımında önem arz etmektedir.

Randomize bir klinik çalışmada sağlıklı postmenopozal kadınlara 6 ay günlük 2.5 mg letrazol uygulanmış ve kemik formasyonuna herhangi bir etkisi gözlenmemişken idrarda kemik resorpsiyonunun markerlarında artış tesbit edilmiştir (399). Harper-Wynne ve ark. başka bir çalışmasında 3 ay günlük 2.5 mg letrazol kullanan postmenopozal kadınlarda kemik resorpsiyonunda anlamlı artış bulmuştur (400).

Letrazolün serum lipitleri üzerine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır. İleri meme kanserli postmenopozal 20 kadında letrazol tedavisinin 8-16. haftalarında serum total kolesterolde (%8), LDL kolesterolde (%15), ve apolipoprotein B'de (%17) artış bulunmuştur. Bu çalışmada arterojenik risk oranları olan total kolesterol/HDL kolesterol (%14), LDL kolesterol/HDL kolesterol (%21) anlamlı artış ve arterojenik risk faktörü ApoA1/ApoB oranında (%15) anlamlı azalma gösterilmiştir (401). Bu çalışmaya ters bulguların olduğu iki ayrı çalışmada 3 ve 6 ay letrazol uygulaması total, HDL ve LDL kolesterol seviyelerinde anlamlı değişiklik bulunmamıştır (399,400).

Küçük bir randomize çalışmada 0.5 ve 2.5 mg günlük letrazol alan meme kanserli hastalarda tedaviden 3 ay sonra insülin benzeri büyüme faktör-1 (IGF-1) seviyesi anlamlı olarak %24 arttığı bulundu. Aynı çalışmada IGF bağlayıcı protein 3 seviyesinde herhangi bir değişiklik bulunamadı (402). Yaygın bir şekilde tamoksifen uygulamasının postmenopozal sağlıklı kadınlarda IGF-1 seviyesini azalttığı gösterilmesine rağmen 3 ay süreyle günlük 2.5 mg letrazol alan kadınlarda IGF-1 seviyelerinde herhangi bir değişiklik tesbit edilemedi (400).

Özetle, letrazol prelinik modellerde meme kanseri tümörlerine karşı çok güçlü ve seçici bir aromataz inhibitörüdür. Postmenopozal ilerlemiş meme kanseri endokrin tedavisinde altın standart olan tamoksifenden daha iyi bir etkinliğe sahip olduğu artık bilinmektedir. Kemik resorbsiyon belirteçleri üzerine olanların dışında büyük bir farmakolojik değişikliklere sebep olmaması letrazolü erken meme kanseri tedavisinde ve ya ovulasyonun uyarılmasında çok önemli bir konuma getirmiştir.



### **3.6. Amaç:**

Merkezi katekolaminler ve NCAM miktarlarının ölçülmesi ile öğrenme ve hafıza arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak östrojenin de kognitif fonksiyonları etkilediği bilinmektedir. Aromataz inhibitörü anastrozol ile tedavi edilen küçük bir grup meme kanseri hastalarında yapılan pilot çalışmada bu ajanların yan etkileri kognitif fonksiyonlar yönünden ele alınmış ve sözel hafızada defisit olabileceği bildirilmiştir (403). Ancak, bu konuda şimdiye kadar yapılmış deneysel bir çalışma yoktur.

Bu nedenle, güçlü bir aromataz inhibitörü olan letrozolün kognitif fonksiyonlar, hipokampus ve kortekste NCAM ekspresyonu ile hipokampus, striatum, korteks ve hipotalamus beyin bölgelerinde noradrenalin, dopamin ve bunların metabolitlerinin (sırasıyla dihidroksifenil glikol (DHPG) ve dihidroksifenilasetik asit (DOPAC)) düzeyleri üzerine etkilerini ve aralarındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

#### 4. GEREÇ VE YÖNTEM:

##### 4.1. DeneY Hayvanlarının Bakım ve Beslenmeleri:

Çalışmada F.Ü. Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden temin edilen, 200-250 gr ağırlığında 64 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan kullanıldı.

Tüm hayvanlar 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı ( $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) sağlanan ortamda, dörderli gruplar halinde, her gün temizlenen pleksiglas kafeslerde tutuldu. Hayvanlar çeşme suyuyla ve Elazığ Yem Fabrikası'nda hazırlanan pelet halindeki özel sıçan yemiyle beslendi. (Tablo 2).

**Tablo 2.** Sıçan yeminin bileşimi ve kalori değeri.

Maddenin adı	Birim	Değer
Kuru madde	%	93,69
Ham protein	%	34,15
Ham yağ	%	3,00
Metabolik enerji	Kcal/kg	2095
Kalsiyum	%	3,36
Sodyum	%	1,09
Magnezyum	%	0,50
Çinko	mg/kg	286,80
Demir	mg/kg	920,00
Bakır	mg/kg	29,33
Ham maddeler	Balık unu, mısır, buğday, ayçiçeği küspesi, çavdar ve mineral maddeler	

## **4.2. Kimyasal maddeler:**

Letrazol (Femera) İstanbul Novartis firmasından 17 $\beta$ -östradiol ise Sigma Chemical Co.'dan (St. Louis, MO, USA) temin edildi.

## **4.3. Deney Dizaynı:**

### **4.3.1. Birinci Deney Düzenneği:**

Bu bölümde kullanılan ve arka arkaya 3 düzenli siklus gösterdiği günlük vajinal smear (metot aşağıda açıklanmıştır) takibiyle belirlenen toplam 32 intak dişi sıçan, dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (n=8) oral yolla (gavaj) taşıt solüsyonu (serum fizyolojik, 0.5 ml/sıçan) verildi. İkinci (n=8) ve üçüncü (n=8) gruptaki sıçanlara ise sırasıyla 0.2mg/kg ve 1mg/kg dozunda Letrazol oral yolla (gavaj) (0.5 ml) uygulandı. Diğer bir grup (n=8) hayvana da letrazol 1mg/kg dozunda (0.5 ml) uygulandı ve uygulama sonrasında 15 günlük iyileşme sürecine bırakıldı (iyileşme grubu). Tüm gruplardaki ilaç uygulamaları saat 9 ve 11 arasında ve günlük olarak toplam 42 gün süreyle gerçekleştirildi.

### **4.3.2. İkinci Deney Düzenneği:**

Bu deneylerde kullanılan toplam 32 dişi sıçan bilateral olarak ovariectomize (OVX) edildi ve daha sonra dört ayrı gruba ayrıldı. Birinci gruptaki sıçanlar (n=8) OVX olarak ayrıldı ve bu hayvanlara taşıt solüsyonu olan serum fizyolojik oral yolla (gavaj) (0.5 ml/sıçan) verildi. İkinci grup OVX sıçanlara (n=8) Letrazol 1mg/kg (0.5 ml) dozunda orogastik yolla uygulandı ve üçüncü grup OVX sıçanlara (n=8) Letrazol 1mg/kg (0.5 ml) dozunda orogastik olarak uygulandı ve 10  $\mu$ g/sıçan dozunda 17 $\beta$ -östradiol (17 $\beta$ -E<sub>2</sub>) cilt altına (0.5 ml) uygulandı. Dördüncü gruptaki (n=8) hayvanlara ise aynı yolla 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> (10  $\mu$ g/sıçan/0.5 ml) uygulamaları birer gün atlayarak gün aşırı olarak uygulandı. Tüm gruplardaki uygulamalar 42 gün süreyle gerçekleştirildi.

*Tüm gruplar:*

- 1-Kontrol grubu
- 2- Letrazol (0.2mg/kg; Letrazol (0.2))
- 3- Letrazol (1mg/kg; Letrazol (1))
- 4- Letrazol (1mg/kg) + 15 gün iyileşme (İyileşme)
- 5- OVX grubu (OVX)
- 6- OVX + letrazol (1mg/kg)
- 7- OVX+letrazol+ 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> (EST-I, 10  $\mu$ g/sıçan )
- 8- OVX+letrazol+ 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> (EST-II, 10  $\mu$ g/sıçan gün aşırı uygulandı)

**4.4. Sıçanlarda Vajinal Smear Değerlendirilmesi:**

Puara sabitlenmiş pipete 0,5 ml serum fizyolojik çekildi. Sıçana karnı üstte başı aşağı meyilli olacak şekilde pozisyon verilerek serum fizyolojik çekilmiş pipetin ucu vajinaya yerleştirilerek puar iki üç kez yavaşça sıkılarak vajinal sekresyon ve hücrelerin pipete alınması sağlandı. Pipetteki sıvıdan bir damla lam üzerine damlatılıp boyanmadan ışık mikroskopunda 10x ve 40x büyütmede incelendi. Mikroskopik incelemede sıçanların reproduktif sikluslarının hangi safhada oldukları tespit edildi. Diöstrus (bazal ve parabazal hücreler), proöstrus (çok sayıda intermedier, az sayıda parabazal ve süperfisial hücreler), östrus (karnifiye süperfisial hücre, keratinize hücre) safhaları her sıçan için ayrı ayrı kaydedildi. Üst üste iki kez normal reproduktif siklus özelliği gösteren sıçanlar (ortalama 12-15 gün) deney grubuna dahil edildi.

#### **4.5. Ovaryektomi:**

İkinci deney düzeneğindeki sıçanlar, kas içi yolla uygulanan 60mg/kg ketamin (Eczacıbaşı, İstanbul) ve 5 mg/kg rompun (Bayer, İstanbul) kombinasyonu ile genel anesteziye alındı. Hayvanlar dorso-ventral pozisyonda diseksiyon tahtasına sabitlendi. Sırtın orta kısmı ile kuyruk kaidesi arasında kalan abdominal bölge üzerindeki tüyler kesilerek temizlendi ve etil alkol ile silindi. Temizlenen abdominal bölgenin merkez kısmında orta hatta makasla küçük bir deri insizyonu (0.5-1 cm) 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. İşlem bittikten sonra kas tabakası ve deri 4.0 ipek iplik ile dikildi ve yara kenarlarına betadin sürüldü. Bu işlem bilateral olarak gerçekleştirildi ve hayvanlar iyileşme süresince (15-25 gün) bireysel kafeslerde tutuldu.

#### **4.6. Morris'in Su Tankı Testi:**

Öğrenme testi olarak Morris Water Maze Testi (Morris'in su tankı testi) kullanıldı (404). MWM testi; sıçan ve farelerde en yaygın olarak kullanılan bir öğrenme ve bellek testidir. Kullanılan su tankı dairesel olup 120 cm çapında galvanizli ve 50 cm yüksekliğine sahiptir. Tank 25 cm kadar su ile dolduruldu ve süt tozu ile boyandı ve 10 cm çapındaki platformun su yüzeyinden 2 cm alta bırakılarak sıçanlar tarafından görünmesi engellendi. Suyun ısısı  $24\pm 2^{\circ}\text{C}$  de sabit tutuldu. Su tankın yerleştirildiği konum ve platform yeri deney süresince sabit tutuldu. Deneklerin bulunduğu yerin uzaysal konumunu algılayabilmeleri için görsel bir

işaret olan kırmızı ışık kaynağı tank dışına konuldu (visual cues). Sanal olarak dört eşit parçaya ayrılan tankın bir çeyreğinin ortasına tank duvarından 30cm uzaklıkta kalaçak şekilde platform bırakıldı. Sıçanlar sırayla diğer ¼ oranındaki alanlardan birine bırakılarak yüzerek platformu bulmaları için 60 saniye (sn) zaman verildi. Platformu bulunca 30 sn platform üzerinde dinlenmelerine izin verildi. Sonra sıçanlar alınıp kurutulularak ayrı bir kafeste 30 sn bekletildi. Farklı bir çeyrekte tekrar su tankına bırakılarak aynı işlem her hayvan için 4 kez tekrarlanıp platformu bulma süreleri kaydedildi. 60 sn içinde platformu bulamayan sıçan alınıp platforma bırakıldı ve 30 sn platform üzerinde kalması sağlandı. Her hayvan için 5 gün süreyle aynı denemeler yapıp deneklerin öğrenme yeteneği zaman olarak (sn) kaydedildi.

Belleğin pekiştirilme işlemini test etmek için 5 günlük testten 24 saat sonra probe testi yapıldı. Bu testte platform tanktan alındı ve denekler yüzdürüldü. Denekler doğal olarak platformun önceden buldukları tankın dörtte birlik kısmında daha çok arama yaparlar. Bu süre belleğin pekiştirilmesini ölçer. Deneklerin eski platformun bulunduğu dörtte birlik alanda yüzdükleri süre kaydedildi.

Öğrenme testleri tamamlandıktan sonra sıçanlar dekapite edildi. Sıçanların beyinleri hızla çıkarıldı ve beyin bölgeleri korteks, hipokampus, striatum ve hipotalamus olaçak şekilde ayrıldı. Her sıçan için beyin bölgelerinin sağ prefrontal korteksi ve ¾ hipokampusu western blot yöntemi kullanılarak NCAM analizi için ayrılırken kalan diğer beyin dokuları elektrokimyasal deteksiyonlu-yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ECD) ile monoamin tayini yapılmak için bırakıldı. Tüm beyin dokuları analizler yapılana kadar -80°C'de saklandı.

Tüm hayvanların vücut ağırlıkları deney başında ve çalışmanın sonunda belirlendi. Ayrıca, sıçanların uterus ve intak sıçanların over ağırlıkları da deneylerden sonra tartıldı ve vücut ağırlıklarının yüzde kaçını oluşturdukları hesaplandı.

#### **4.7. Western Blot Yöntemiyle NCAM Analizi:**

##### **4.7.1. Örneklerin Hazırlanması:**

Dondurulmuş dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solusyonunda (10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5µM soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)) cam bir homojenizatör yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4°C'de 60 dakika süreyle 60.000xg'de santrifüj edildi. İlk süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak pelletler eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon solusyonunda (25 mM Tris-HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, % 2'lik TritonX-100 ve % 1'lik SDS) yeniden süspanse edildi. Homojenatlar +4°C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı ve tekrar soğutmalı santrifüjde +4°C'de 60 dakika süreyle 60.000xg'de santrifüj edildi. Elde edilen 2. süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid gel elektroforez (SDS-PAGE) ve western blot analizleri için -80°C'de muhafaza edildi.

##### **4.7.2. Örneklerin SDS-PAGE ile Analizi:**

Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml'lik separating jel solusyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solusyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam levha arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar (~1cm) bir boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek içindeki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına 12 dişli tarak yerleştirildi.

Tarak dişlerinin ara dolgu jeli (10 ml) hazırlandı. Hazırlanan bu jel kasete yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Kaset 25-30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek dolgu jelin de polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solusyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8), %2'lik SDS, %0.002 oranında Bromofenol mavisini, %20'lik gliserol, %10'luk merkaptoethanol şeklinde hazırlandı. Protein örneklerinden 150 µl alındı ve her birine eşit oranda çözücü solusyondan eklenerek iyice karıştırıldı. Hazırladığımız karışımdan 13 µl tarak dişlerinin boşluklarına dolduruldu. Tank içerisine yeterli miktarda tank solusyonu ilave edildi.

Güç kaynağından önce düşük bir voltajla (150 V) akım elektroforeze verildi. Voltaj değeri 10 dakika sonra yükseltildi (180-200 V). Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı. Protein bantlarının görünür hale gelebilmesi için bu jel % 1.25'lik Coomassie blue boya ortamına alındı. Burada en az yarım saat en çok bir gece boyunca oda sıcaklığında bekletildi.

Boya solusyonundan alınan jel boyayı giderici solusyon ortamına bırakıldı. Jel çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde boya giderici solusyonla yıkandı. Böylece jel üzerinde bulunan protein bantlarının dışındaki boya giderilmiş oldu (405).



### **4.7.3. Örneklerin Western Blot ile Analizi:**

#### **4.7.3.a. Blotlama; Jeldeki Proteinlerin Nitroselüloz Membrana Aktarımı:**

SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana (Schleicher and Schuell, Inc., USA) transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya getirildi ve filtre kağıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solusyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solusyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

#### **4.7.3.b. Bloklama; Spesifik Olmayan Reaksiyonları Engellemek İçin Nitroselüloz Membranda Protein Bağlanmamış Bölgelerin İlgisiz Proteinlerle Kaplanması:**

Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solusyonla ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.025 M),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  (0.075 M),  $\text{NaCl}$  (1.45 M)) çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM  $\text{NaCl}$ , 20 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 20 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sıgır serum albumini ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

#### **4.7.3.c. Özgül Antikorlarla Tepkime:**

Primer antikor olarak poliklonal tavşan anti-sığır NCAM antikorunu kullanıldı. NCAM primer antikorunu % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:2000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar NCAM antikorunu ile

+4°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar %0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş keçi-anti-tavşan immünoglobulinle 37°C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solusyonuyla yıkandı.

#### **4.7.3.d. Bantların Görüntülenmesi:**

Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda %0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solusyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Lab. Works 4.0 (Ultra Violet Products Ltd. Combridy, CD<sub>4</sub> 1TG UK) software programı kullanılarak analiz edildi (405).

#### **4.8. Monoamin Tayini:**

##### **4.8.1. Monoamin Tayini İçin Beyin Dokularının Ekstraksiyonu:**

Hipokampus, korteks, striatum ve hipotalamus dokuları bulunan ependorf tüpler, derin dondurucudan çıkarıldı ve hassas terazide tartıldı. Tartılan dokular cam bir homojenizatörün içerisine konuldu ve üzerlerine 300 µl Dihidroksi benzilamin (DHBA) (2 ng/20 µl), ile 600 µl 0.1M HCl ilave edildi. Dokular 3-4 dakika soğuk ortamda homojenize edildi ve numuneler tekrar ependorf tüplerine kondu.

Homojenizasyondan sonra numuneler santrifüj cihazına yerleştirildi. +4°C sıcaklıkta 4500 devir/dk hızında 20 dk. santrifüj edildi. Santrifüjden sonra tüplerin üst bölgesindeki berrak sıvı içeriği enjektör yardımıyla alındı ve 0.20'lik mikrofiltrelerden süzöldükten sonra 0.5'lik ependorf tüplere kondu. Analiz yapılıncaya kadar numuneler -80°C 'de saklandı.

#### **4.8.2. Monoamin Analiz İşlemleri:**

Beyin örneklerindeki noradrenalin, dopamin ve bunların metabolit düzeyleri, (sırasıyla DHPG ve DOPAC) HPLC-ECD (Waters, Ireland) kullanılarak tayin edildi.

HPLC'den elde edilen pg cinsinden monoamin miktarları, yaş doku ağırlıklarına bölündü. Sonuçta monoamin konsantrasyonları pg amin/mg yaş doku olarak değerlendirildi.

#### **4.8.3. Noradrenalin, Dopamin ve Metabolitlerin Tayini:**

HPLC, yüksek basınç altında kimyasal ayrışmanın hızlandırılması esasına dayanan sıvı kromatografisidir. HPLC'de ki temel çalışma prensibi, bir numunenin yüksek basınç altında bir tampon çözelti vasıtasıyla kolon içinden koşturulmasıdır. Tampon çözelti önceden belirlenmiş bir akım hızıyla (1 ml/dk.) sirküle edilir. Numune içindeki maddeler, kolondan geçerken kimyasal uygunluklarına göre (içerdikleri OH<sup>-</sup> iyonu miktarıyla orantılı olarak) ayrışırlar. Bu nedenle, her madde elektrokimyasal detektöre farklı zamanlarda ulaşır ve sisteme bağlı bilgisayar ekranındaki kromatogramda farklı zamanlarda pik olarak ortaya çıkar. Bu pik alanları bilgisayar programında otomatik olarak hesaplanır ve ekrandan okunur. Ayrışan maddelerin konsantrasyonları ile pik alanları arasında doğru orantı vardır.

Analizlerde, 25 cm, Waters, ODS2 paslanmaz çelikten yapılmış mikro

parçalardan oluşmuş ve üzeri oktadesil silan hipersil (5µm) ile kaplanmış analitik kolon kullanıldı (S5ODS2-250A, 5m m, 4.6 mm i.d.325 cm, Waters).

Tampon çözeltinin HPLC'deki fonksiyonu (pompadan gelen yüksek basınç altında) enjekte edilen numunenin sistem içerisinde taşınmasını sağlamaktır. Çözeltiyi oluşturan maddeler, analiz yapılması düşünülen kimyasal maddelerin elektrokimyasal özelliklerine göre bazı değişiklikler içerir. Monoaminlerin analizi için deneylerimizde kullanılan tampon çözeltinin içeriği aşağıdaki gibi hazırlandı;

Mobil Faz:

25 ml HPLC metanol (Merck, Darmstadt, Almanya)

3 ml tetrahidroforan (Merck, Darmstadt, Almanya)

1.15 ml glasiyal asetik asit (Merck, Darmstadt, Almanya)

6.74 gr sitrik asit (Surechem Products Ltd, İngiltere)

4.81 gr sodyum sitrat (Merck, Darmstadt, Almanya))

400 mg heptasulfonik asit (Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD)

47 mg EDTA (Sigma Chemicals Co., St. Louis, ABD)

Bu kimyasallar 100 ml bidistile su içinde çözüldü ve çözelti 1 lt'ye bidistile suyla tamamlandı. 1M NaOH (Merck, Darmstadt, Almanya) ile solusyonun pH'sı 4.9'a ayarlandı.

Çözeltideki hava kabarcıklarını elimine için 20 dakika süreyle sonikasyon uygulandı. Sistemde bilgisayar kontrollü, tampon çözelti ve numunenin yüksek basınç altında sirkülasyonunu sağlayan bir HPLC pompası (Waters 1515 Model) kullanıldı. Akım hızı analiz esnasında ECD açıkken 1 ml/dk, analiz yapılmayan diğer süreçlerde ise 0.2 ml/dk olarak ayarlandı (406).

Standart çözeltiler veya analizi yapılmak istenen numuneler sisteme enjeksiyon ünitesi (*injection port*)'nden verildi. Enjeksiyon işlemi 100 µl'lik

mikroenjektörle toplam hacim 20 µl olacak şekilde yapıldı. Uygulamadan önce ve sonra enjeksiyon ünitesi metanol ile yıkandı.

Analiz işlemlerinde kromatografi cihazına eklenmiş bir elektrokimyasal detektör kullanıldı. Voltaj +0.70 mV olarak ayarlandı. Bu detektör sabit akımda çalışan cam benzeri bir karbon elektrot esasına dayanmaktadır. ECD'de asıl fonksiyonu "cell" denen bölüm yapmaktadır. Cell, üzerinde çalışan (*working*), referans ve yardımcı olmak üzere üç elektrot taşır. Cell ve kolonu muhafaza eden bölüm 35°C olacak şekilde ayarlandı.

Tampon çözelti içerisinde yüksek basınç altında koşturulan maddeler analitik kolon üzerinde iyonize olurlar ve daha sonra detektör tarafından okunurlar. Farklı maddeler farklı zamanlarda iyonize olduğu için bu değişiklikler bilgisayar monitöründe değişik zamanlarda pik olarak yansır. Deteksiyonu yapılan monoaminler ve metabolitlerin standart çözeltileri tek tek sisteme verildi ve monitörde ortaya çıkan piklerin görünme zamanları bilgisayar programına (Breeze Software, Waters) kaydedilerek, hangi maddenin hangi zaman diliminde ortaya çıktığı belirlendi. Dokulardan ekstrakte edilmiş numune çözeltiler sisteme enjekte edildikten sonra monitörde görülen pikler, standart pikleriyle karşılaştırılarak hangi madde oldukları program vasıtasıyla saptandı.

Yapılan analizler sonucunda elde edilen piklerin alanları hesaplanarak monoaminlerin miktarı belirlendi. Hesaplama işleminde kullanılan formüller :

$$\text{Standart solüsyondaki DHBA'in pik alanı}$$
$$\text{Respons Faktör (RF)} = \frac{\text{Standart solüsyondaki DHBA'in pik alanı}}{\text{Standart solüsyondaki monoaminin pik alanı}}$$

$$\text{Pik Konsantrasyonu} = \frac{\text{Örnekteki bilinmeyen pikin alanı}}{\text{Örnekteki DHBA pikinin alanı}} \times \text{RF} \times \text{SF}^*$$

$$\text{Sonuç} = \frac{\text{Pik konsantrasyonu}}{\text{Yaş doku ağırlığı}} \quad (\text{pg amin /g yaş doku})$$

\*SF = Sulandırma Faktörü = 45

#### **4.9. Serum Hormon Konsantrasyonlarının Ölçülmesi:**

##### **4.9.1. Serum Elde Edilmesi:**

Sıçanlar dekapite edildikten sonra kan örnekleri cam tüplerde toplandı ve daha sonra +4°C’de 10 dk süreyle santrifüj (3000 devir/dk) edildi. Elde edilen serum örnekleri kuru buz içine yerleştirilmiş 1.5 ml’lik plastik ependorf tüplere transfer edilerek hemen donduruldu ve analiz edilinceye kadar -80°C’de saklandı.

##### **4.9.2. Serum 17β-E<sub>2</sub> Konsantrasyonunun Ölçülmesi:**

Serum örnekleri hazır olarak alınan 96 numunelik Eliza kitleri (DiaMetra, Foligno, İtalya) kullanılarak ölçüldü. Öncelikle her bir standart ve örnekten ikişerli olacak şekilde 25 µl kuyucuklara kondu, üzerlerine 100µl konjugat solusyonunda eklenerek 37 °C’de 2 saat inkübasyona bırakıldı. Sonra tüm kuyucuklar 300 µl distile su ile yıkanarak su kalmayaçak şekilde akıtıldı. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB-substrat eklendi ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı.

Sonra 100 µl stop solüsyon eklendi ve 450 nm’de okutuldu. Standart ve örneklerin ortalama absorbans değerleri alındı. Aşağıdaki formül kullanılarak %B/B<sub>0</sub> değerleri bulundu. Standart eğri logit-log grafik ile çıkartılarak örneklerin %B/B<sub>0</sub> değerleri yerleştirilerek 17β-E<sub>2</sub> konsantrasyonları pg/ml cinsinden hesaplandı (407).

Ortalama Absorbans

$$\%B/B_0 = \frac{\text{Ortalama Absorbans}}{\text{Sıfır Standartı Ortalama Absorbansı}} \times 100$$

Sıfır Standartı Ortalama Absorbansı

#### **4.9.3. Serum DHEA Konsantrasyonunun Ölçülmesi:**

Serum örnekleri hazır olarak alınan 96 numunelik Eliza kiti (DRG Diagnostics, Marburg,Almanya) kullanılarak ölçüldü. Öncelikle her bir standart ve örnekten ikişerli olacak şekilde 20 µl kuyucuklara kondu, üzerlerine 100µl konjugat solusyonunda eklenerek oda ısısında 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra tüm kuyucuklar 400 µl yıkama solüsyonu ile 3 defa yıkanarak solüsyon kalmayaçak şekilde akıtıldı. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB-substrat eklendi ve oda sıcaklığında 15 dakika inkübasyona bırakıldı. Sonra 100 µl stop solüsyon eklendi ve 450 nm’de okutuldu. Standart ve örneklerin ortalama absorbans değerleri alındı. Yukarıdaki formül kullanılarak %B/B<sub>0</sub> değerleri bulundu. Standart eğri linear grafik ile çıkartılarak örneklerin %B/B<sub>0</sub> değerleri yerleştirilerek DHEA konsantrasyonları pg/ml cinsinden hesaplandı.

#### **4.10. İstatistiksel Değerlendirme:**

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS paket programından (12.0 for Windows) yararlanıldı. Tüm sonuçlar Ortalama±Standart Hata (ORT±SH) olarak gösterildi.

Ağırlık ölçümleri ve NCAM analiz sonuçları için Tek Yönlü Varyans Analizi, katekolamin analiz sonuçları ile serum 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> ve DHEA analiz sonuçlarının karşılaştırılmasında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## **5. BULGULAR:**

### **5.1. Ağırlık Ölçümleri:**

#### **5.1.1. Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimi (Tablo 3, Şekil 7):**

**5.1.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Tüm sıçanların deney süresince vücut ağırlık alımları yüzde olarak hesaplandığında letrazol uygulanan gruplarda doz bağımlı vücut ağırlık artışı olduğu belirlendi. Letrazol (0.2) grubu vücut ağırlık artışında kontrole grubuna göre anlamlı olmayan artış vardı ancak letrazol (1) grubunda kontrol ve düşük doz letrazol grubuna göre anlamlı vücut ağırlık artışı tesbit edildi (sırasıyla  $p<0.01$  ve  $p<0.05$ ). Vücut ağırlık artışı iyileşme grubunda kontrol grubuna göre artarak devam ettiği görüldü ( $p<0.001$ ).

**5.1.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** EST-II grubu sıçanların diğer ovariectomize gruplardan anlamlı olarak daha fazla vücut ağırlıklarının artışı tesbit edildi ( $p<0.01$ ).

#### **5.1.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:**

EST-II grubu hariç OVX gruplarda vücut ağırlık artışında kontrole göre anlamlı olmayan azalma bulundu ama EST-II grubu sıçanların tüm gruplardan anlamlı olarak vücut ağırlıklarının daha fazla artışı tesbit edildi ( $p<0.05$  iyileşme grubuna göre,  $p<0.01$  letrazol (1) grubuna göre ve  $p<0.001$  diğer gruplarla kıyaslandığında).

### **5.1.2. Yüzde Uterus Ağırlıkları (Tablo 3, Şekil 8):**

**5.1.2.a. Birinci Deney Düzenegi:** İntak gruplarda letrazol uygulaması doz bağımlı olarak yüzde uterus ağırlıklarında azalma meydana getirdi. Kontrole göre letrazol (0.2) grubundaki uterus ağırlığı anlamlı azalma gösterirken ( $p<0.01$ ) letrazol (1) grubundaa uterus ağırlığının daha fazla azaldığı tespit edildi ( $p<0.001$ ). İyileşme grubunda ise uterus ağırlıkları yüksek doz letrazol grubuna göre artmış olduğu bulundu ( $p<0.05$ ) ancak bu artış kontrol grubu seviyesine ulaşmadı ( $p<0.05$ ).

**5.1.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** Ovariectomize gruplara östradiol uygulanması uterus ağırlığını anlamlı olarak artırdı ve normal seviyelerine dönmesini sağladı ( $p<0.001$ ).

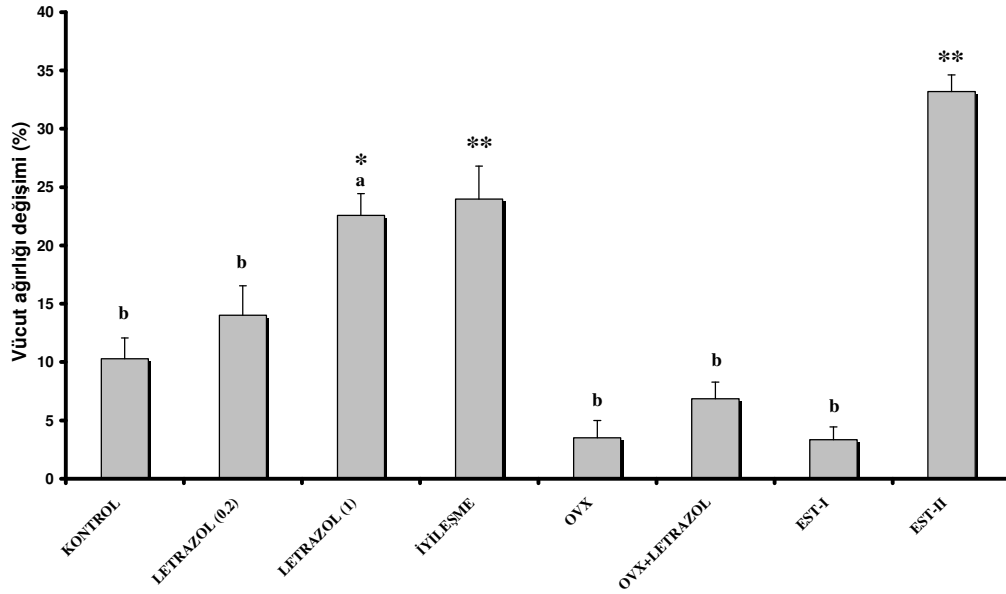
**5.1.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** OVX ve OVX+Letrazol gruplarında uterus ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı tespit edildi ( $p<0.001$ ).

### **5.1.3. Yüzde Over Ağırlıkları (Tablo 3, Şekil 9):**

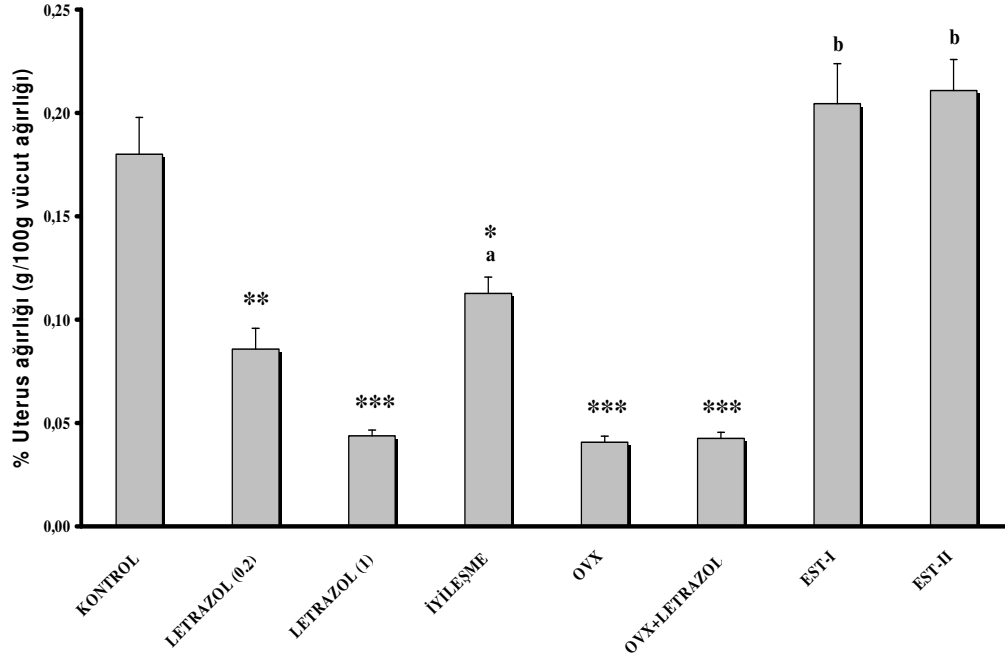
İntak grupların over ağırlıklarının vücut ağırlıklarına yüzde oranlarında gruplar arasında anlamlı değişiklik bulunmadı.

**Tablo 3.** Tüm grupların vücut ağırlık değişimi, uterus ağırlıkları ve intak grubun over ağırlıkları yüzde olarak değerleri (ORT±SH).

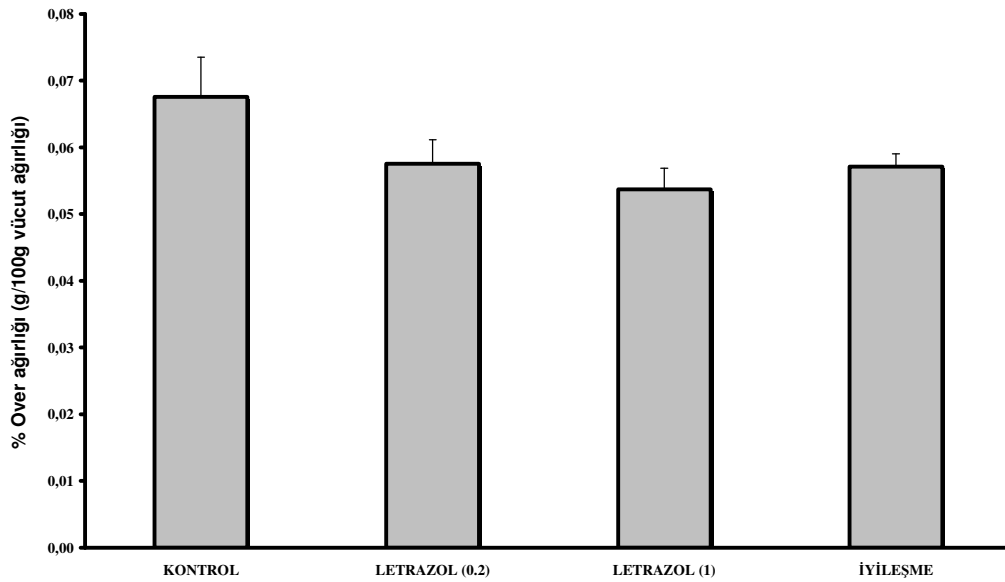
	<b>%VÜCUT AĞIRLIĞI DEĞİŞİMİ</b>	<b>%UTERUS AĞIRLIKLARI</b>	<b>%OVER AĞIRLIKLARI</b>
<b>KONTROL</b>	10.28±1.79	0.18±0.02	0.07±0.01
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	14.01±2.51	0.09±0.01	0.06±0.00
<b>LETRAZOL (1)</b>	22.56±1.88	0.04±0.00	0.05±0.00
<b>İYİLEŞME</b>	23.98±2.81	0.11±0.01	0.06±0.00
<b>OVX</b>	3.49±1.51	0.04±0.00	
<b>OVX+LETRAZOL</b>	6.85±1.43	0.04±0.00	
<b>EST-I</b>	3.33±1.10	0.20±0.02	
<b>EST-II</b>	33.18±1.43	0.21±0.02	



**Şekil 7.** Deney sonunda başlangıç ağırlıklarına göre vücut ağırlık değişimlerinin yüzdelik gösterimi (ORT±SH; \*: p<0.01. \*\*: p<0.001 kontrole göre. a: p<0.05 Letrazol (0.2)'ye göre. b: p<0.001 EST-II'ye göre; Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 8.** Uterus ağırlıklarının vücut ağırlıklarına yüzde olarak oranı (ORT±SH; \*: p<0.05. \*\*: p<0.01. \*\*\*: p<0.001 kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (1) ile, b: p<0.001 OVX ve OVX+Letrazol gruplarıyla karşılaştırıldığında; Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 9.** İntak gruplarda over ağırlıklarının vücut ağırlığına yüzde olarak oranı (ORT±SH).

## **5.2. Öğrenme Deneyleri Bulguları:**

### **5.2.1. MWM Testinde Gizli Platform Bulma Süreleri (Tablo 4, Şekil 10):**

**5.2.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Öğrenme testlerinde tüm grupların ilk gündeki öğrenme yetenekleri arasında anlamlı farklılıklar bulunmazken, beş günlük deney sonucunda tüm grupların öğrenme performansının giderek arttığı tespit edildi. İntak gruplarda ilk gün ile son günün performansları karşılaştırıldığında kontrol ve iyileşme gruplarının ilk güne göre platform bulma süreleri ( $p<0.001$ ) letrazol uygulanan gruplardan ( $p<0.01$ ) daha fazla azaldığı tesbit edildi. Grupların öğrenme performansları bir önceki güne göre kıyaslandı ve anlamlı farklılık bulunmadı.

**5.2.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX gruplarda ilk gün ile son günün platform bulma süreleri karşılaştırıldığında OVX+Letrazol grubu ve EST-II gruplarında ilk güne göre anlamlı olarak platform bulma süresi azalmış bulundu ( $p<0.001$ ). OVX grubunda ilk güne göre son gün platform bulma süresi anlamlı olmayan azalma gösterdiği belirlendi ( $p=0.065$ ). EST-I grubunda ise ilk günkü performansla son günkü performans arasında anlamlı fark bulunamadı. Grupların öğrenme performanslarının günlük olarak kendi aralarında kıyaslanmasında EST-I grubu üçüncü günde OVX+Letrazol grubuna göre ( $p<0.05$ ) dördüncü günde ise hem OVX grubuna ( $p<0.05$ ) hem de OVX+Letrazol grubuna göre ( $p<0.01$ ) daha kötü performans gösterdi.

**5.2.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Üçüncü günde EST-I grubu sıçanların platform bulma süreleri kontrol ( $p<0.01$ ) ve iyileşme ( $p<0.05$ ) gruplarına göre daha uzun sürdüğü bulundu. Dördüncü günde ise EST-I grubu iyileşme ( $p<0.001$ ), kontrol ( $p<0.01$ ), letrazol (1) ( $p<0.01$ ) ve letrazol (0.2) ( $p<0.05$ ) gruplarından gizli platformu daha geç zamanda buldukları gözlemlendi.

### **5.2.2. Prob Testi Bulguları (Tablo 4, Şekil 11):**

**5.2.2.a: Birinci Deney Düzenegi:** İntak gruplarda yüksek doz letrazol uygulanan gruptaki sıçanlar kontrol ve iyileşme gruplarındakilere göre hedef kadranda daha fazla süre kaldılar ( $p<0.05$ ).

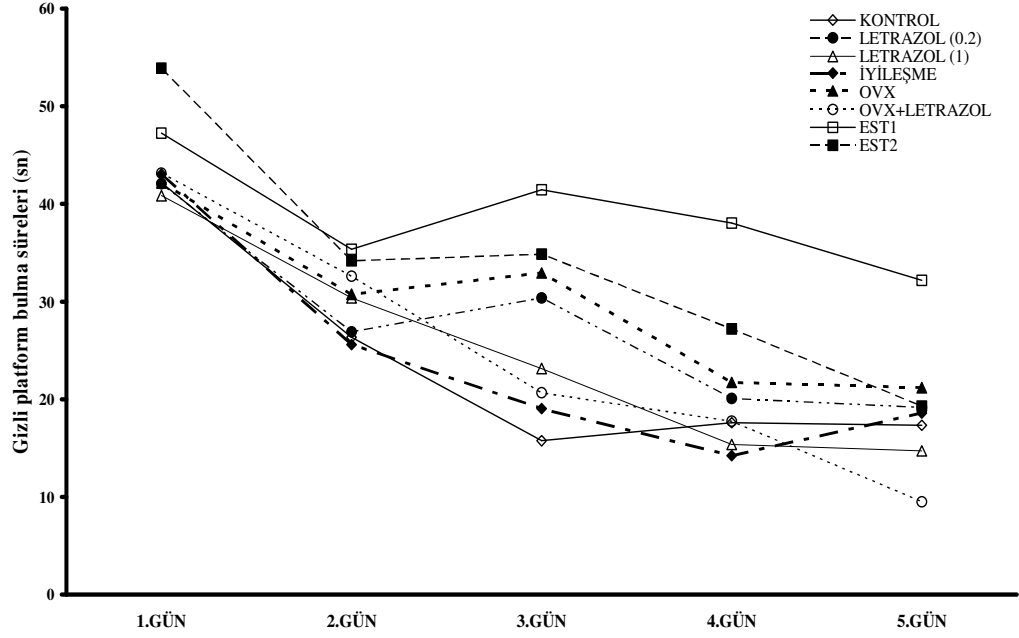
**5.2.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX gruplarda letrazol uygulanan gruptaki hayvanlar hedef kadranda Ovx gruptan daha fazla zaman geçirdiler ( $p<0.05$ ).

**5.2.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Letrazol (1) grubu kontrol ve iyileşme gruplarında olduğu gibi OVX ve EST-I gruplarından da daha uzun süre hedef kadranda kaldıkları tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

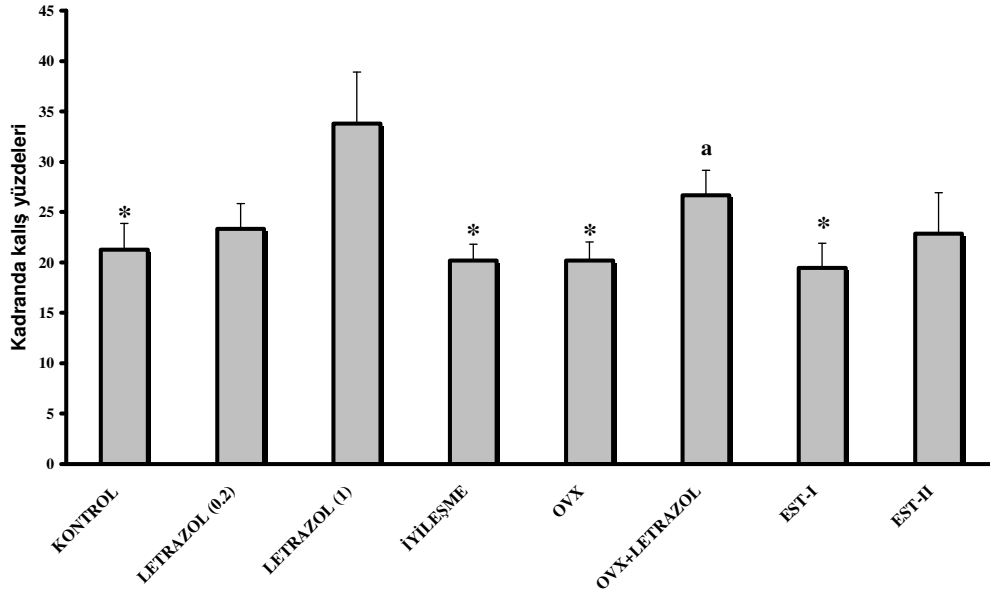
**Tablo 4.** Beş günlük öğrenme sürecinde sıçanların platform bulma süreleri (sn) ve prob testinde hedef kadranda kalma yüzdeleri (ORT±SH).

	<b>1.GÜN</b> (sn)	<b>2.GÜN</b> (sn)	<b>3.GÜN</b> (sn)	<b>4.GÜN</b> (sn)	<b>5.GÜN</b> (sn)	<b>KADRANDA KALIŞ SÜRESİ</b> (%)
<b>KONTROL</b>	42.19±4.45	26.34±4.46	15.75±3.49	17.59±2.27	17.34±3.85 <sup>**</sup>	21.25±2.61
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	42.07±3.68	26.91±5.77	30.38±5.59	20.09±2.20	19.16±4.16 <sup>*</sup>	23.33±2.52
<b>LETRAZOL (1)</b>	40.86±5.46	30.39±5.71	23.14±2.80	15.36±2.62	14.71±3.06 <sup>*</sup>	33.81±5.10
<b>İYİLEŞME</b>	43.06±3.97	25.59±3.88	19.03±3.17	14.22±1.81	18.59±3.38 <sup>**</sup>	20.21±1.59
<b>OVX</b>	42.16±4.50	30.75±5.64	32.94±5.66	21.72±5.14	21.19±5.73	20.21±1.82
<b>OVX+LETRAZOL</b>	43.16±5.04	32.59±5.63	20.66±5.77	17.75±2.30	9.5±2.26 <sup>**</sup>	26.67±2.50
<b>EST-I</b>	47.25±2.90	35.36±5.68	41.47±4.84 <sup>a,b</sup>	38.06±5.26 <sup>c,d,e</sup>	32.19±6.61	19.44±2.45
<b>EST-II</b>	53.89±2.94	34.18±3.26	34.86±5.20	27.21±5.03	19.29±2.67 <sup>**</sup>	22.86±4.06

(\*: p<0.01, \*\*: p<0.001, birinci gün ile karşılaştırıldığında; a: p<0.05 OVX+Letrazol ve İyileşme grupları ile; b: p<0.01 Kontrol grubu ile; c: p<0.05 OVX ve Letrazol (0.2) grupları ile; d: p<0.01 Konrol, Letrazol (1) ve OVX+Letrazol grupları ile; e: p<0.001 İyileşme grupları ile karşılaştırıldığında; Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 5.4.** Tüm gruplardaki sıçanlarda uzaysal öğrenmenin kazanımının MWM testi ile ölçülmesi. Her 8 grup için toplam 5 gün süreyle günlük 4 denemenin ortalama platform bulma süreleri gösterildi.



**Şekil 5.5.** Öğrenmenin kazanımı süresince platformun kaldığı hedef kadrandaki platform alındıktan sonra sıçanların bir dakika içinde geçirdikleri sürenin yüzde değerleri (ORT±SH; \*: p<0.05 Letrazol (1) grubu ile, a: p<0.05 Ovx grubu ile karşılaştırıldığında, Tek Yönlü Varyans Analizi).



### **5.3. NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri:**

#### **5.3.1. Hipokampus NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri:**

##### **5.3.1.1. Hipokampus NCAM 180 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 12):**

**5.3.1.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Düşük doz letrazol uygulaması kontrol grubuna göre anlamlı olarak NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz değerlerini artırırken ( $p<0.01$ ) yüksek doz uygulanması NCAM 180 kDa değerlerinde anlamlı değişiklik oluşturmadığı belirlendi. Bununla birlikte iyileşme sürecine bırakılan hayvanlarda NCAM 180 kDa değerleri kontrol ve letrazol (1) grubuna göre daha fazla ( $p<0.001$ ) letrazol (0.2) grubundana göre ise daha az ( $p<0.01$ ) bir artış gösterdiği bulundu.

**5.3.1.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX gruplar arasında hipokampus NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz değerleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı.

**5.3.1.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** OVX gruplar ile karşılaştırıldığında hem letrazol (0.2) grubu ( $p<0.01$ ) hem de iyileşme ( $p<0.001$ ) grubunda daha yüksek hipokampus NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz değerleri saptandı.

##### **5.3.1.2. Hipokampus NCAM 140 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 13):**

**5.3.1.2.a. Birinci Deney Düzenegi:** İntak sıçanlarda letrazol uygulanan tüm gruplarda hipokampus NCAM 140 kDa seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.001$ ).

**5.3.1.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX gruplarda hipokampus NCAM 140 kDa seviyeleri etkilenmediği belirlendi.

**5.3.1.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** İntak letrazol uygulanan grupların hipokampus NCAM 140 kDa seviyeleri ovarektomize gruplardan yüksek bulundu ( $p<0.001$ ).

**5.3.1.3. Hipokampus NCAM 120 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 14):**

Hipokampus NCAM 120 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analizleri sadece intak gruplarda gösterilebildi. Yüksek doz letrazol uygulanan grubun hem düşük doz letrazol uygulanan gruptan hem de iyileşme grubundan anlamlı olarak daha düşük hipokampus NCAM 120 kDa değerlerine sahip olduğu saptandı ( $p<0.05$ ).

**5.3.2. Korteks NCAM Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri:**

**5.3.2.1. Korteks NCAM 180 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 15):**

**5.3.2.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** İntak gruplar arasında korteks NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçümleri kıyaslandığında iyileşme grubu değerlerinin kontrol ( $p<0.001$ ) ve letrazol uygulanan gruplardan ( $p<0.01$ ) daha yüksek olduğu gözlemlendi.

**5.3.2.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** Korteks NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçümleri OVX gruplar arasında farklılık göstermedi.

**5.3.2.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol, letrazol (1) ve iyileşme gruplarının korteks NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçümleri OVX gruplardan daha yüksek seviyede bulundu ( $p<0.05$  ve  $p<0.001$ ).

**5.3.2.2. Korteks NCAM 140 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 16):**

**5.3.2.2.a: Birinci Deney Düzenegi:** İntak gruplardan letrazol (1) NCAM 140 kDa değerlerinde kontrol ve letrazol (0.2) gruplarına göre anlamlı olmayan bir artış tespit edildi. Fakat iyileşme grubu korteks NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçüm sonuçları hem kontrol hem de letrazol (0.2) grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu ( $p<0.01$ ).

**5.3.2.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX gruplar arasında korteks NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçümlerinde fark bulunmadı.

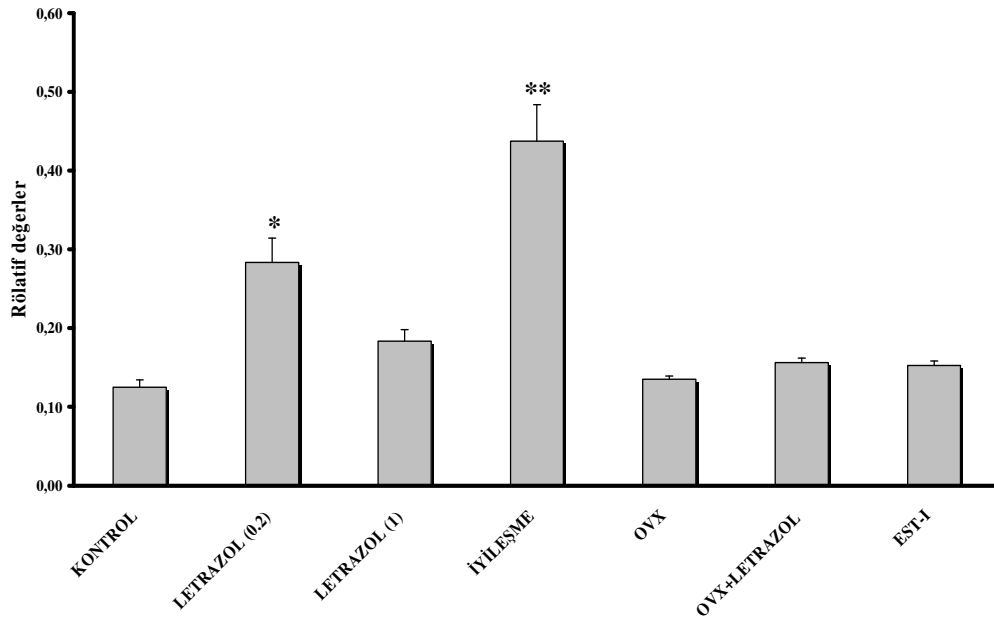
**5.3.2.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Korteks NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik ölçüm sonuçları iyileşme grubu değerleri OVX ( $p<0.05$ ), OVX+Letrazol ( $p<0.01$ ) ve EST-I ( $p<0.01$ ) gruplarının değerlerinden daha yüksek düzeylerde olduğu bulundu.

**5.3.2.2. Korteks NCAM 120 kDa Polipeptit Bandlarının Densitometrik Analiz Değerleri (Tablo 5, Şekil 17):**

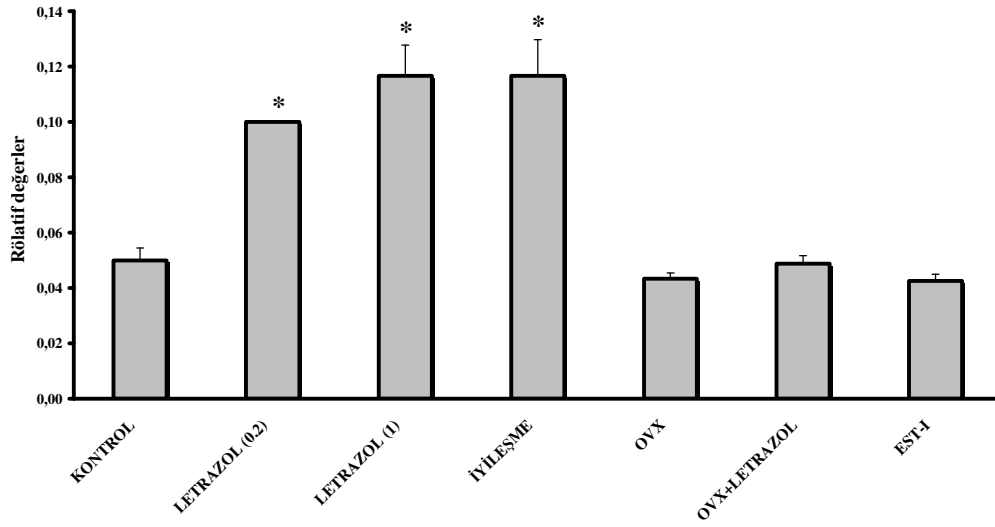
Korteks NCAM 120 kDa polipeptit bandları sadece kontrol ve OVX gruplarda gösterilebildi. Ölçüm sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi.

**Tablo 5.** Western blot ile ölçülebilen tüm NCAM polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH).

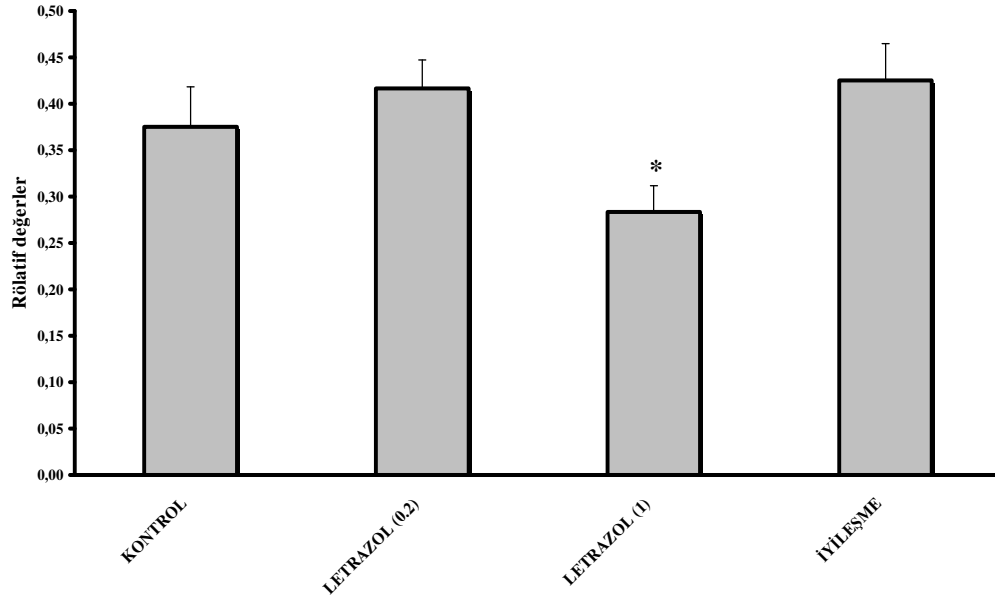
	HİPOKAMPUS			KORTEKS		
	NCAM 180 kDA	NCAM 140 kDA	NCAM 120 kDA	NCAM 180 kDA	NCAM 140 kDA	NCAM 120 kDA
<b>KONTROL</b>	0.13±0.01	0.05±0.00	0.38±0.04	0.20±0.01	0.20±0.00	0.50±0.14
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	0.28±0.03	0.10±0.00	0.42±0.03	0.27±0.07	0.20±0.01	
<b>LETRAZOL (1)</b>	0.18±0.01	0.12±0.01	0.28±0.03	0.44±0.12	0.50±0.20	
<b>İYİLEŞME</b>	0.44±0.05	0.12±0.01	0.43±0.04	0.83±0.09	0.83±0.07	
<b>OVX</b>	0.14±0.00	0.04±0.00		0.05±0.03	0.29±0.08	1.27±0.38
<b>OVX+LETRAZOL</b>	0.16±0.01	0.05±0.00		0.08±0.04	0.16±0.07	1.13±0.39
<b>EST-I</b>	0.15±0.01	0.04±0.00		0.12±0.05	0.17±0.08	1.40±0.40



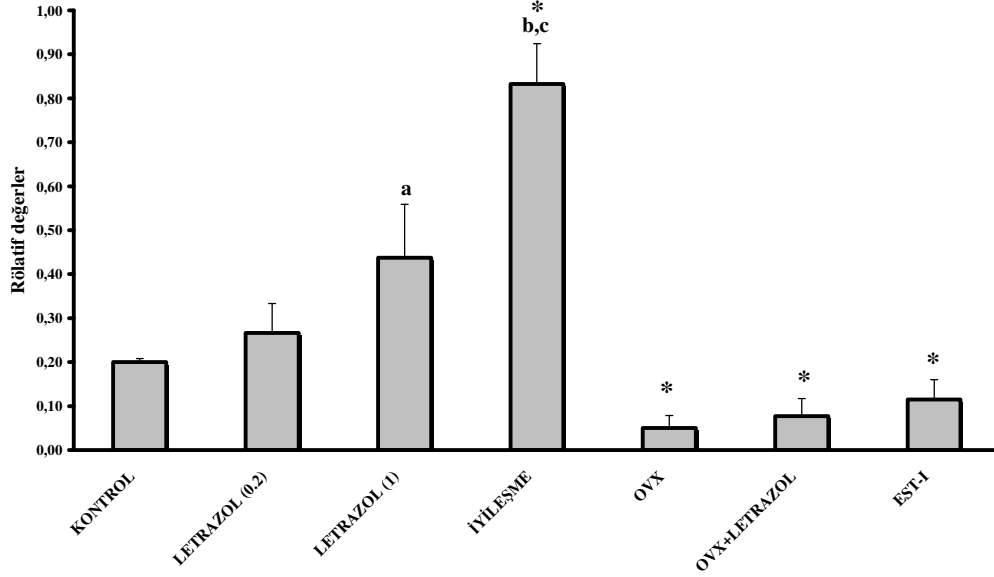
**Şekil 12.** Western blot ile hipokampus NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH; \*: p<0.01 Letrazol (1) hariç tüm gruplara göre, \*\*: p<0.001 Letrazol (0.2) hariç tüm gruplara göre, Tek Yönlü Varyans Analizi).



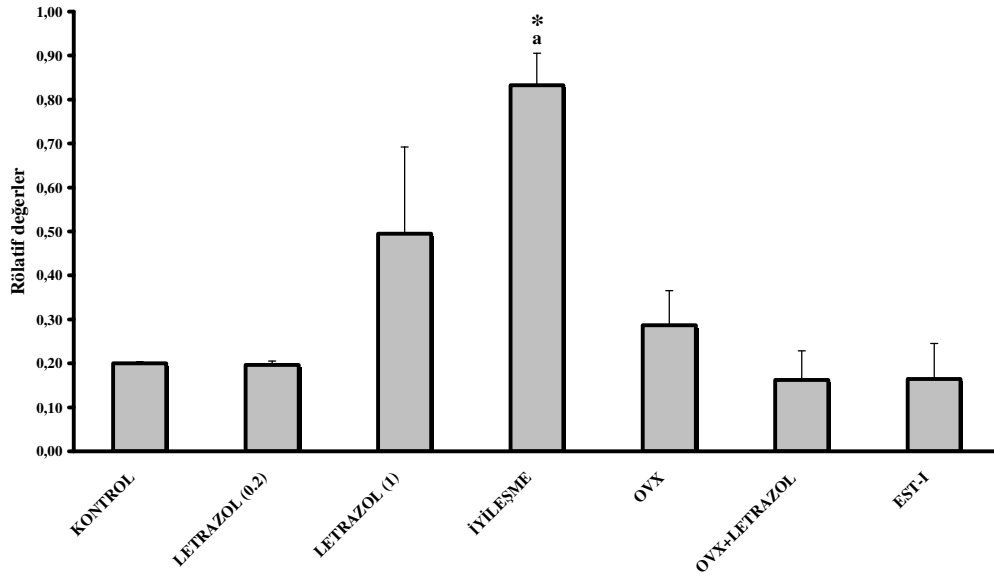
**Şekil 13.** Western blot ile hipokampus NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH; \*:  $p < 0.001$  Kontrol, OVX, OVX+Letrazol ve EST-I gruplarıyla kıyaslandığında, Tek Yönlü Varyans Analizi).



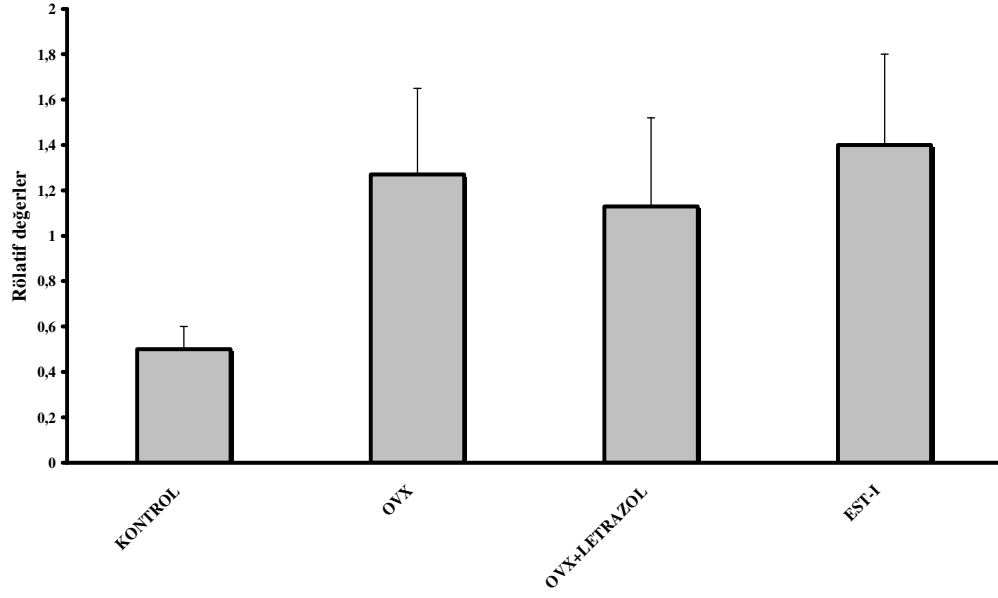
**Şekil 14.** Western blot ile hipokampus NCAM 120 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH; \*:  $p < 0.05$  Letrazol (0.2) ve İyileşme gruplarına göre, Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 15.** Western blot ile korteks NCAM 180 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH; \*:  $p<0.001$  Kontrol ile, a:  $p<0.05$  ovariectomize grupları ile, b:  $p<0.01$  Letrazol (0.2) ve Letrazol (1) grupları ile, c:  $p<0.001$  ovariectomize grupları ile karşılaştırıldığında, Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 16.** Western blot ile korteks NCAM 140 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH; \*:  $p<0.01$  Kontrol, Letrazol (0.2), OVX+Letrazol ve EST-I gruplarıyla, a:  $p<0.05$  OVX grubu ile karşılaştırıldığında, Tek Yönlü Varyans Analizi).



**Şekil 17.** Western blot ile korteks NCAM 120 kDa polipeptit bandlarının densitometrik analiz sonuçları (ORT±SH, Tek Yönlü Varyans Analizi).

#### **5.4. Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri:**

##### **5.4.1. Hipokampus Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri:**

###### **5.4.1.1. Hipokampus Noradrenalin Değerleri (Tablo 6, Şekil 18):**

**5.4.1.1.a: Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol ve letrazol (0.2) gruplarına kıyasla hem letrazol (1) grubu ( $p<0.05$ ) hem de iyileşme grubu ( $p<0.01$ ) noradrenalin konsantrasyonları düşük bulundu.

**5.4.1.1.b: İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol grubu noradrenalin düzeyinde artış saptanırken ( $p<0.01$ ), EST-II grubu noradrenalin seviyesinde azalma tespit edildi ( $p<0.01$ ). OVX+Letrazol grubu ile östrojen uygulanan gruplar karşılaştırıldığında EST-I ve EST-II gruplarında noradrenalin konsantrasyonları daha düşük seviyede olduğu bulundu (sırasıyla  $p<0.01$  ve  $p<0.001$ ). Östrojen uygulanan gruplar arasında farklılık olup olmadığı incelendiğinde ise EST-II grubunun noradrenalin düzeyleri EST-I grubuna göre daha düşük olduğu gözlemlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.1.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX grubunda ( $p<0.05$ ) ve OVX+Letrazol grubunda ( $p<0.01$ ) noradrenalin seviyelerinin arttığı tespit edilirken EST-II grubunda ise azaldığı bulundu ( $p<0.01$ ). Letrazol (1) grubu noradrenalin düzeyi OVX, OVX+Letrazol ve EST-I gruplarından anlamlı olarak daha düşük seviyelerde olduğu ( $p<0.01$ ) buna karşılık EST-II grubundan daha yüksek seviyelerde olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).



#### **5.4.1.2. Hipokampus DHPG Değerleri (Tablo 6, Şekil 19):**

**5.4.1.2.a: Birinci Deney Düzenegi:** İntak gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında sadece iyileşme grubunda hipokampus DHPG seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı bulundu ( $p<0.05$ ) diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

**5.4.1.2.a: İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol grubunda hipokampal DHPG konsantrasyonu artarken ( $p<0.05$ ) EST-I grubu buna ters olarak azaldığı bulundu ( $p<0.05$ ). EST-I grubu OVX+Letrazol grubunda artmış olan hipokampal DHPG miktarını anlamlı bir şekilde azalttığı belirlendi ( $p<0.01$ ). Östrojen uygulanan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında EST-II hipokampal DHPG seviyesi EST-I grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**5.4.1.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** OVX grubunun hipokampal DHPG değerleri kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşük düzeyde olduğu az belirlendi ( $p<0.05$ ) ve EST-I grubunda bu azalma daha da belirgindi ( $p<0.01$ ). İntak letrazol (1) grubu ile EST-I grupları kıyasladığında EST-I grubunda hipokampal DHPG seviyesinde bir azalma olduğu bulundu ( $p<0.01$ ).

#### **5.4.1.3. Hipokampus Dopamin Değerleri (Tablo 6, Şekil 20):**

**5.4.1.3.a: Birinci Deney Düzenegi:** Yüksek doz letrazol uygulanan letrazol (1) ve iyileşme grubu, kontrol grubuna göre hipokampus dopamin seviyeleri azalmış bulundu ( $p<0.05$ ). Letrazol grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında yüksek doz letrazol grubunun dopamin düzeyleri daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

**5.4.1.3.b: İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol grubunda dopamin miktarı daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ) ancak östrojen uygulanan EST-I ve EST-II gruplarında dopamin miktarının daha düşük düzeyde olduğu

belirlendi (sırasıyla  $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ). OVX+Letrazol grubuna göre EST-I ve EST-II gruplarında da dopamin düzeyleri düşük analiz edildi (sırasıyla  $p<0.01$  ve  $p<0.001$ ). Östrojen uygulanan gruplarda kendi aralarında farklılık gösterdi ve EST-II grubunda daha düşük dopamin seviyesi tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

**5.4.1.3.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX ( $p<0.05$ ), EST-I ( $p<0.01$ ) ve EST-II ( $p<0.001$ ) grupları anlamlı olarak daha düşük dopamin seviyeleri ölçüldü. Letrazol (1) grubuna kıyasla OVX+Letrazol grubunda dopamin konsantrasyonları daha yüksek belirlendi ( $p<0.05$ ).

#### **5.4.1.4. Hipokampus DOPAC Değerleri (Tablo 6, Şekil 21):**

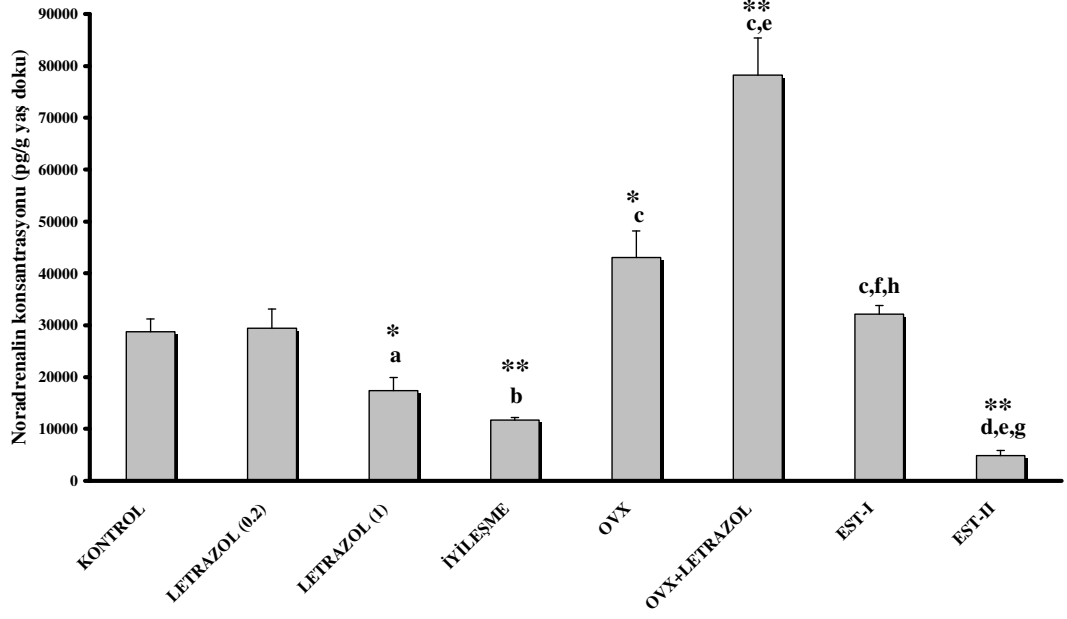
**5.4.1.4.a. Birinci Deney Düzenine:** Letrazol (1) ve iyileşme gruplarında DOPAC seviyeleri kontrole göre daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ).

**5.4.1.4.b. İkinci Deney Düzenine:** OVX gruplardan OVX+Letrazol grubunda OVX ve EST-I gruplarına göre DOPAC miktarının yüksek olduğu görüldü ( $p<0.05$ ).

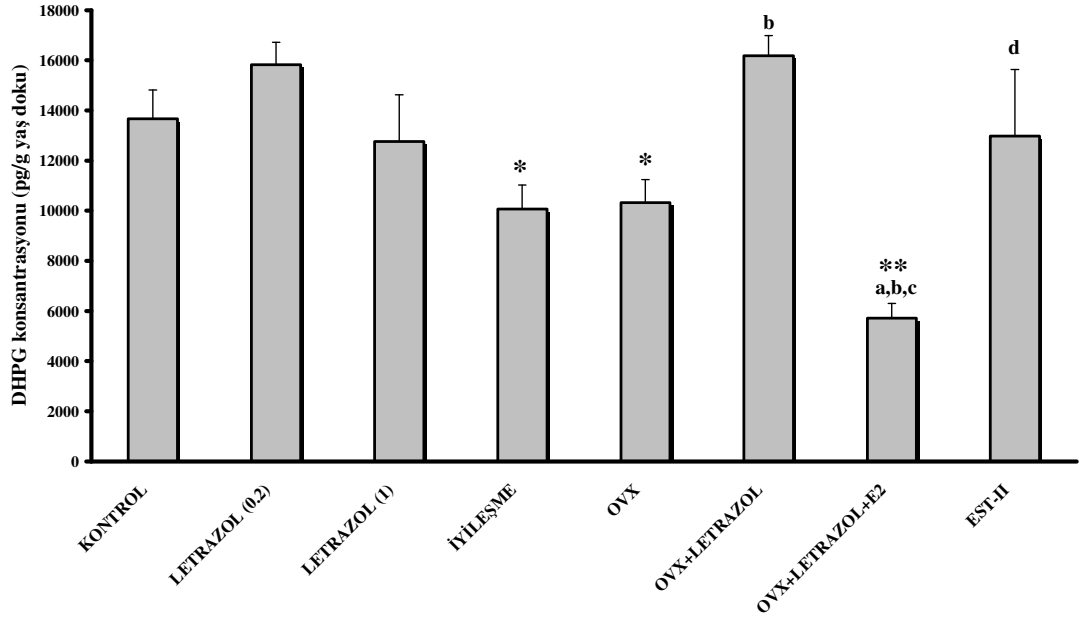
**5.4.1.4.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX ( $p<0.01$ ), OVX+Letrazol ( $p<0.05$ ) ve EST-I ( $p<0.01$ ) gruplarının DOPAC seviyeleri düşük bulundu. EST-I grubu letrazol (1) grubuna göre DOPAC konsantrasyonunun azalmış olduğu saptandı ( $p<0.01$ ). EST-II grubu DOPAC düzeyleri tüm gruplardan anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Tablo 6.** Hipokampus monoamin konsantrasyonları (pg/g yaş doku; ORT±SH).

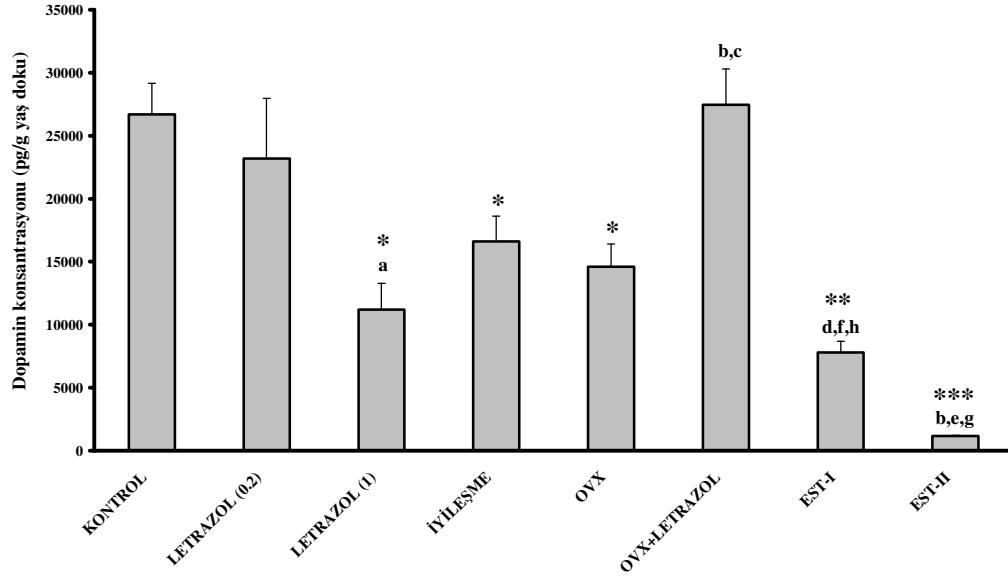
	<b>NORADRENALİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DHPG</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAMİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAC</b> (pg/g yaş doku)
<b>KONTROL</b>	28714±2496	13661±1159	26682±2475	1515±79
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	29417±3730	15817±903	23178±4786	1391±120
<b>LETRAZOL (1)</b>	17375±2539	12758±1864	11208±2078	1241±136
<b>İYİLEŞME</b>	11731±473	10068±964	16609±2000	1243±164
<b>OVX</b>	43079±5086	10328±920	14608±1808	576±72
<b>OVX+LETRAZOL</b>	78219±7180	16187±794	27439±2852	1045±135
<b>EST-I</b>	32124±1687	5717±585	7807±873	473±111
<b>EST-II</b>	4837±992	12973±2661	1172±48	17629±2119



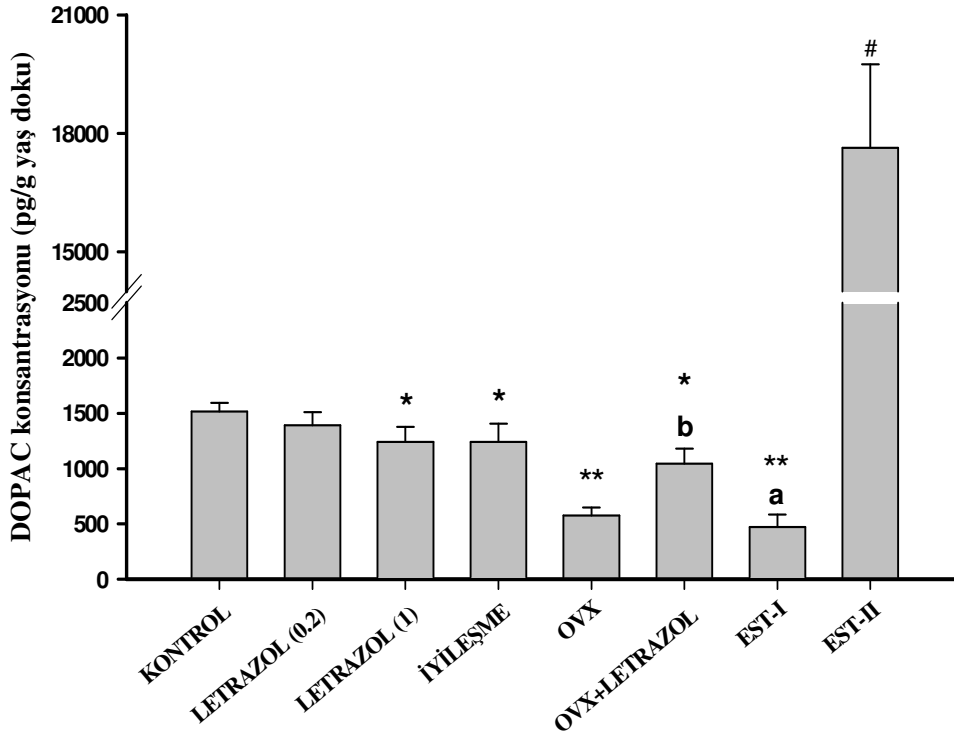
**Şekil 18.** Hipokampus noradrenalin seviyeleri (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 kontrol ile, a: p<0.05, b: p<0.01 Letrazol (0.2) ile, c: p<0.01, d: p<0.05 Letrazol (1) ile, e: p<0.01 OVX ile, f: p<0.01, g: p<0.001 OVX+Letrazol ile, h: p< 0.01 EST-II ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 19.** Hipokampus DHPG seviyeleri (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 kontrol ile, a: p<0.01 Letrazol (1) ile, b: p<0.05 OVX ile, c: p<0.01 OVX+Letrazol ile, d: p<0.01 EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 20.** Hipokampus dopamin seviyeleri (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (0.2) ile, b: p<0.05 Letrazol (1) ile, c: p<0.05, d: p<0.01 e: p<0.001 OVX ile, f: p<0.01, g: p<0.001 OVX+Letrazol ile, h: p< 0.01 EST-II ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 21.** Hipokampus DOPAC seviyeleri (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 kontrol ile, a: p<0.01 Letrazol (1) ile, b: p<0.05 OVX ve EST-I ile, #: p<0.01 tüm gruplar ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

#### **5.4.2. Korteks Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri:**

##### **5.4.2.1. Korteks Noradrenalin Değerleri (Tablo 7, Şekil 22):**

**5.4.2.1.a: Birinci Deney Düzenegi:** Letrazol (1) grubu noradrenalin miktarı kontrol ve letrazol (0.2) gruplarından anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). İyileşme grubu noradrenalin seviyesi hem kontrol grubundan hem de letrazol (1) grubundan anlamlı bir şekilde düşük seviyede olduğu bulundu ( $p<0.01$ ).

**5.4.2.1.b: İkinci Deney Düzenegi:** OVX+Letrazol grubunda diğer üç OVX gruptan anlamlı olarak yüksek noradrenalin seviyeleri belirlendi ( $p<0.01$ ). Benzer şekilde EST-II grubunun değerleri de OVX ve EST-I değerlerinden daha fazla miktarda olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.2.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında OVX, EST-I ( $p<0.01$ ) ve EST-II ( $p<0.05$ ) grupları daha düşük, OVX+Letrazol grubu ( $p<0.01$ ) ise daha yüksek seviyelerde noradrenalin düzeyi gösterdi. Letrazol (1) grubunda noradrenalin seviyesi OVX, EST-I ve EST-II gruplarından yüksek bulundu ancak OVX+Letrazol grubundan düşük konsantrasyonda olduğu gözlemlendi ( $p<0.01$ ).

##### **5.4.2.2. Korteks DHPG Değerleri (Tablo 7, Şekil 23):**

**5.4.2.2.a: Birinci Deney Düzenegi:** Letrazol (1) grubu DHPG değerleri diğer intak gruplardan anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulundu ( $p<0.01$ ). Diğer gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmedi.

**5.4.2.2.b: İkinci Deney Düzenegi:** OVX+Letrazol grubunun DHPG seviyeleri diğer ovariectomize üç gruptan da önemli ölçüde yüksek seviyede bulundu ( $p<0.01$ ). EST-II grubunun DHPG seviyeleri OVX ve EST-I grubundan anlamlı olarak yüksek düzeyde olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.2.2.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrole göre OVX ve EST-I grubunun DHPG miktarı daha düşük seviyede olduğu tespit edildi ( $p<0.01$ ) ancak OVX+Letrazol grubunda DHPG miktarının daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ). OVX, EST-I ve EST-II gruplarının DHPG seviyeleri letrazol (1) grubu DHPG düzeyinden daha düşük olduğu bulundu ( $p<0.01$ ).

#### **5.4.2.3. Korteks Dopamin Değerleri (Tablo 7, Şekil 24):**

**5.4.2.3.a. Birinci Deney Düzenine:** Kontrol grubuna göre letrazol (0.2) ve letrazol(1) gruplarında dopamin seviyeleri daha düşük seviyede bulundu ( $p<0.05$ ). Benzer şekilde letrazol uygulanan gruplar karşılaştırıldığında letrazol (0.2) grubunun dopamin düzeyleri letrazol (1) grubu dopamin düzeylerinden daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

**5.4.2.3.b. İkinci Deney Düzenine:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol ve EST-II grubu yüksek miktarlarda dopamin konsantrasyonu tespit edildi ( $p<0.05$ ). EST-I grubunda diğer üç OVX gruptan da daha düşük düzeyde dopamin miktarları ölçüldü ( $p<0.05$ ).

**5.4.2.3.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrole göre OVX ve EST-I grupları daha anlamlı olmakla beraber ( $p<0.01$ ) OVX+Letrazol ve EST-II gruplarında ( $p<0.05$ ) daha düşük dopamin seviyeleri bulundu. Benzer şekilde letrazol (1) grubunun dopamin konsantrasyonunun OVX ve EST-I gruplarından daha yüksek seviyede olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

#### **5.4.2.4. Korteks DOPAC Değerleri (Tablo 7, Şekil 25):**

**5.4.2.4.a: Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre letrazol (0.2) ve letrazol (1) gruplarında DOPAC miktarı yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). İyileşme grubunda hem kontrol hem de letrazol (1) grubundan daha düşük DOPAC miktarları saptandı ( $p<0.01$ ).

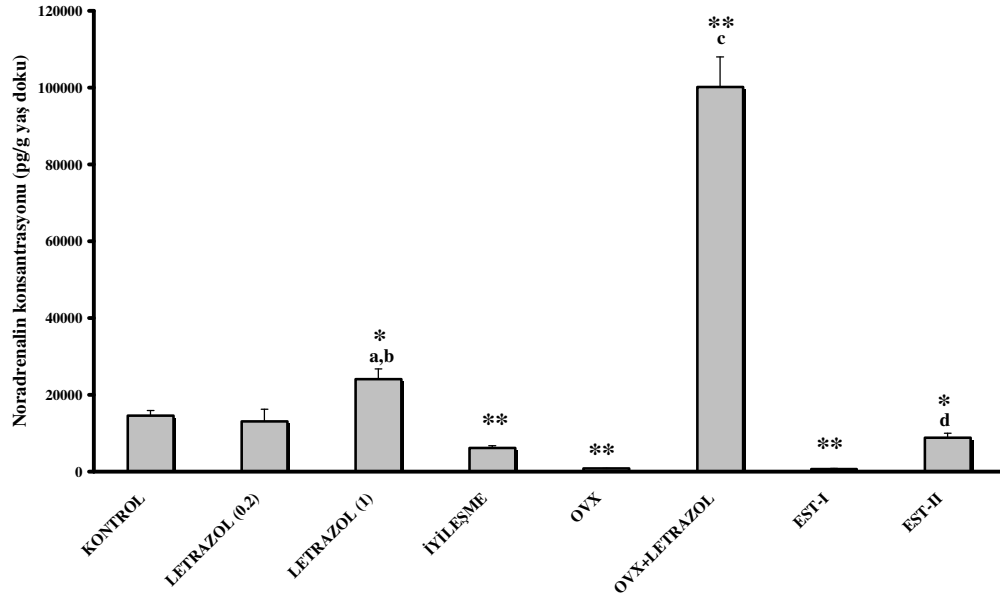
**5.4.2.4.b: İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre EST-I ( $p<0.05$ ), OVX+Letrazol ve EST-II grubunda ( $p<0.01$ ) daha yüksek DOPAC düzeyleri belirlendi. OVX+Letrazol grubu hem OVX hem de EST-I grubundan daha yüksek DOPAC seviyeleri gösterdiği gözlemlendi ( $p<0.01$ ). EST-II grubu diğer üç OVX gruptan da yüksek DOPAC konsantrasyonu tesbit edildi ( $p<0.01$ ).

**5.4.2.4.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX ( $p<0.01$ ) ve EST-I ( $p<0.05$ ) gruplarında daha düşük buna karşılık OVX+Letrazol ve EST-II gruplarında ( $p<0.01$ ) ise daha yüksek DOPAC düzeyleri belirlendi. Benzer bulgular letrazol (1) grubu ile OVX gruplar arasında da vardı ( $p<0.01$ ). EST-II grubu tüm OVX gruplardan olduğu gibi intak gruplardan da daha yüksek DOPAC seviyelerinde seyretti ( $p<0.01$ ).

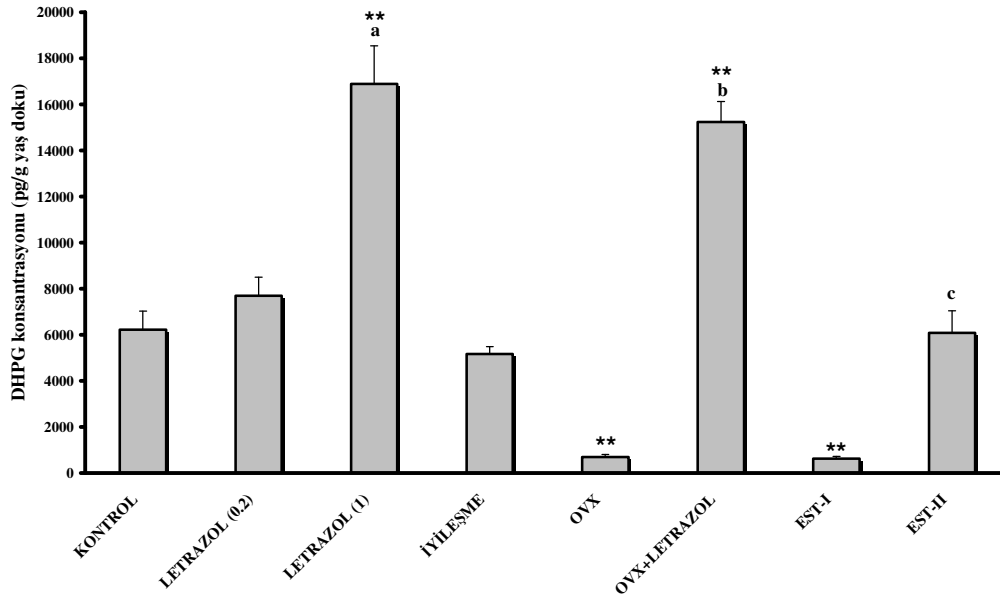


**Tablo 7.** Korteks monoamin düzeyleri (pg/g yaş doku; ORT±SH).

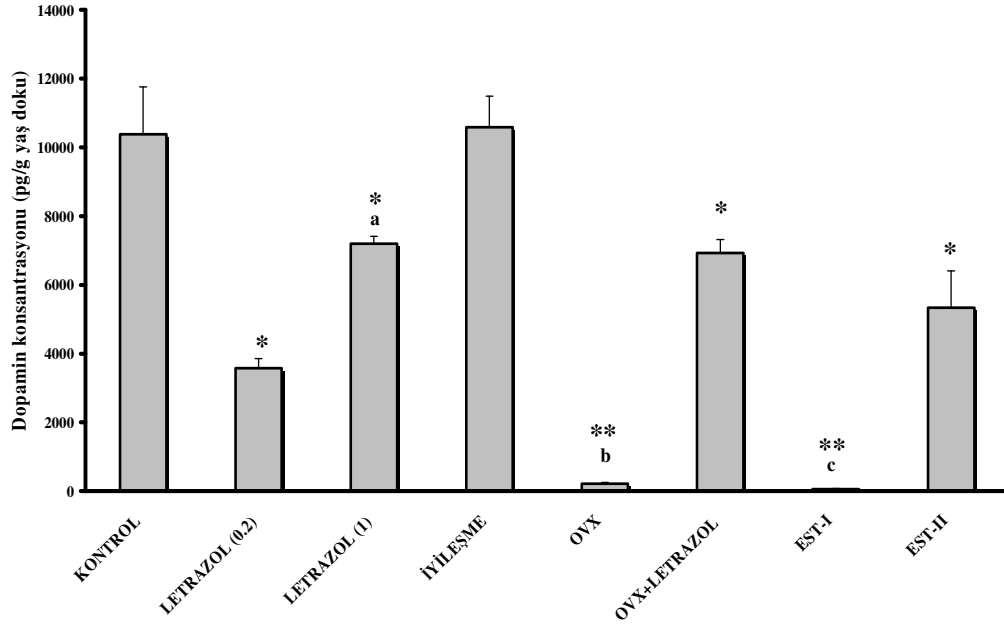
	<b>NORADRENALİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DHPG</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAMİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAC</b> (pg/g yaş doku)
<b>KONTROL</b>	14578±1404	6216±812	10377±1378	873±38
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	13117±3148	7692±806	3571±283	1471±126
<b>LETRAZOL (1)</b>	24135±2644	16892±1647	7202±210	1591±379
<b>İYİLEŞME</b>	6228±533	5166±320	10590±897	464±49
<b>OVX</b>	822±65	692±120	218±31	425±65
<b>OVX+LETRAZOL</b>	100174±7754	15238±887	6923±395	6974±527
<b>EST-I</b>	722±105	625±99	59±18	647±81
<b>EST-II</b>	8849±1158	6076±960	5336±1074	16495±1653



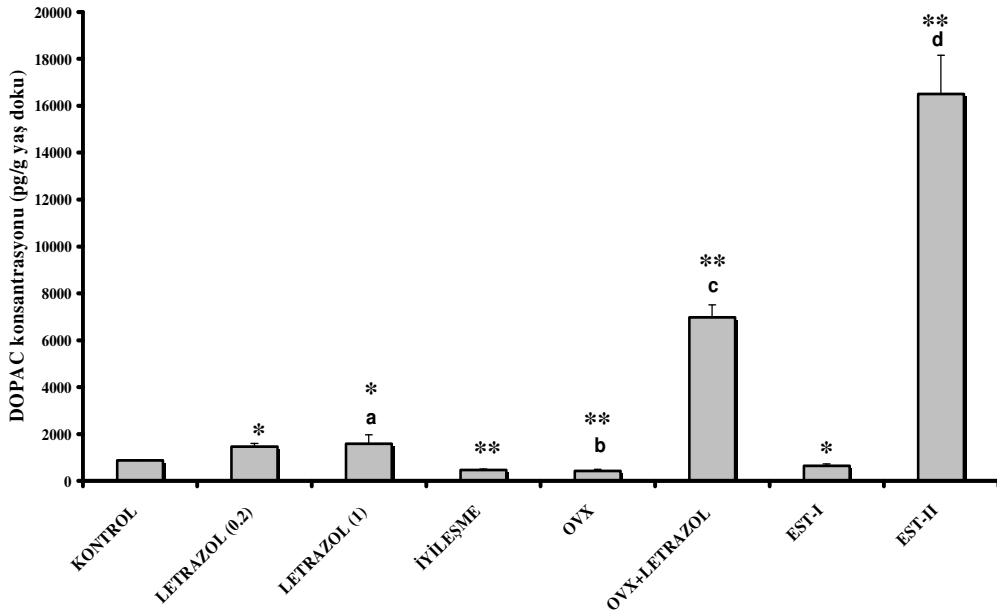
**Şekil 22.** Korteks noradrenalin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (0.2) ile, b: p<0.01 İyileşme, OVX, OVX+Letrazol, EST-I ve EST-II grupları ile, c: p<0.01 OVX, EST-I ve EST-II grupları ile, d: p<0.01 OVX ve EST-I grupları ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 23.** Korteks DHPG seviyeleri (ORT±SH, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.01 Letrazol (0.2), İyileşme, OVX, EST-I ve EST-II ile, b: p<0.01 OVX, EST-I ve EST-II ile, c: p<0.01 OVX ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 24.** Korteks dopamin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (0.2), İyileşme, OVX ve EST-I, b: p<0.05 OVX+Letrazol, EST-I ve EST-II ile, c: p<0.05 OVX+Letrazol ve EST-II ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 25.** Korteks DOPAC konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.01 İyileşme, OVX, OVX+Letrazol, EST-I ve EST-II ile, b: p<0.05 EST-I ile, c: p<0.01 OVX ve EST-I ile, d: p<0.01 tüm gruplar ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

### **5.4.3. Hipotalamus Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri:**

#### **5.4.3.1. Hipotalamus Noradrenalin Değerleri (Tablo 8, Şekil 26):**

**5.4.3.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre hem letrazol (0.2) hem de letrazol (1) gruplarında noradrenalin seviyesi daha yüksek olduğu tesbit edildi ( $p<0.05$ ). İyileşme grubu noradrenalin konsantrasyonu letrazol (1) grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p<0.01$ ).

**5.4.3.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol, EST-I ( $p<0.01$ ) ve EST-II ( $p<0.05$ ) gruplarında daha yüksek noradrenalin miktarları belirlendi. OVX+Letrazol grubuna göre hem EST-I hemde EST-II gruplarında daha düşük noradrenalin seviyesi belirlendi ( $p<0.05$ ). EST-II grubunun noradrenalin miktarı EST-I grubundan daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ).

**5.4.3.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında OVX+Letrazol ve EST-I gruplarında daha yüksek noradrenalin seviyesi hesaplandı ( $p<0.01$ ). Letrazol (1) grubunun noradrenalin seviyeleri OVX grubundan daha yüksek ( $p<0.01$ ) ama OVX+Letrazol ( $p<0.01$ ) ve EST-I ( $p<0.05$ ) gruplarından daha düşük bulundu.

#### **5.4.3.2. Hipotalamus DHPG Değerleri (Tablo 8, Şekil 27):**

**5.4.3.2.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre hem letrazol (0.2) hem de letrazol (1) gruplarında DHPG seviyesi daha yüksek tesbit edildi ( $p<0.05$ ). İyileşme grubu DHPG konsantrasyonu letrazol (1) grubundan anlamlı olarak düşük bulundu ( $p<0.01$ ).

**5.4.3.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol ( $p<0.01$ ) ve EST-I ( $p<0.05$ ) gruplarında DHPG seviyesi daha yüksek tespit edildi ( $p<0.01$ ). Bununla birlikte EST-II grubunda ise DHPG miktarı daha düşük olarak

belirlendi ( $p < 0.01$ ). OVX+Letrazol grubuna göre hem EST-I ( $p < 0.05$ ) hemde EST-II ( $p < 0.01$ ) gruplarında daha düşük DHPG seviyesi saptandı. Östrojen grupları kendi içinde karşılaştırıldığında ise EST-II grubunun DHPG miktarı EST-I grubundan anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $p < 0.01$ ).

**5.4.3.2.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrol grubuyla OVX+Letrazol grubu karşılaştırıldığında DHPG seviyesi kontrol grubunda anlamlı olarak düşük iken ( $p < 0.05$ ), EST-II grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek DHPG seviyesi tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Letrazol (1) grubunun DHPG seviyesi OVX ( $p < 0.01$ ), EST-I ( $p < 0.05$ ) ve EST-II ( $p < 0.01$ ) gruplarından daha yüksek bulundu.

#### **5.4.3.3. Hipotalamus Dopamin Değerleri (Tablo 8, Şekil 28):**

**5.4.3.3.a. Birinci Deney Düzenine:** Kontrol ve Letrazol (1) gruplarına göre Letrazol (0.2) grubunda dopamin konsantrasyonu yüksek bulundu ( $p < 0.05$ ).

**5.4.3.3.b. İkinci Deney Düzenine:** OVX grubunda OVX+Letrazol ve EST-I grubundan düşük düzeylerde dopamin seviyesi belirlendi ( $p < 0.05$ ). EST-II grubunun dopamin düzeyi diğer tüm OVX gruplardan daha düşük saptandı ( $p < 0.05$ ).

**5.4.3.3.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** Kontrol ve Letrazol (1) grubuna göre OVX ( $p < 0.05$ ) ve EST-II ( $p < 0.01$ ) gruplarında daha düşük dopamin miktarı bulundu.

#### **5.4.3.4. Hipotalamus DOPAC Değerleri (Tablo 8, Şekil 29):**

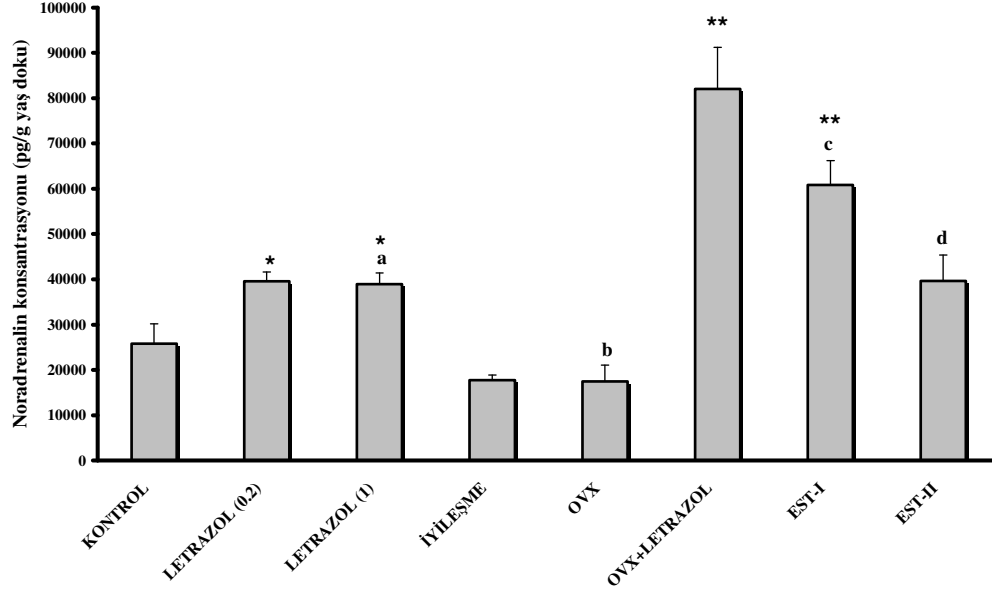
**5.4.3.4.a. Birinci Deney Düzeneği:** Letrazol (0.2) grubunun DOPAC konsantrasyonu Kontrol ve Letrazol (1) grubundan daha düşük seviyede idi ( $p<0.05$ ).

**5.4.3.4.b. İkinci Deney Düzeneği:** OVX+Letrazol grubunun DOPAC seviyesi OVX ve EST-I grubundan daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). EST-II grubunun DOPAC miktarı diğer üç OVX grupta yüksek tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

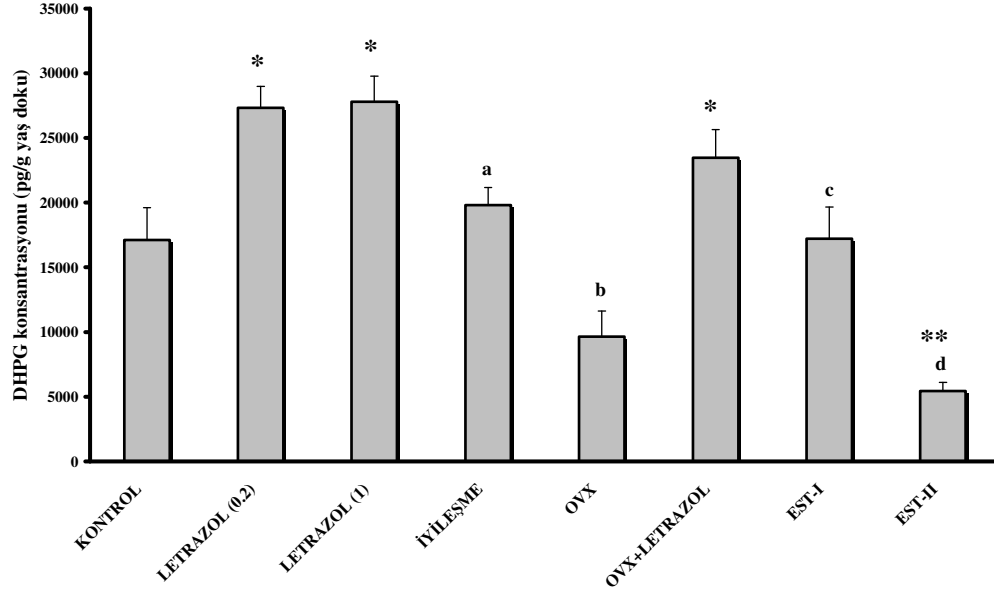
**5.4.3.4.c. İki Deney Düzeneğinin Karşılaştırılması:** EST-II grubunun DOPAC düzeyi Kontrol grubundan daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Letrazol (1) grubunun DOPAC miktarı EST-I grubundan yüksek olmakla birlikte EST-II grubundan düşük seviyede belirlendi ( $p<0.05$ ).

**Tablo 8.** Hipotalamus monoamin düzeyleri (pg/g yaş doku, ORT±SH).

	<b>NORADRENALİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DHPG</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAMİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAC</b> (pg/g yaş doku)
<b>KONTROL</b>	25853±4328	17121±2503	51289±9514	2207±339
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	39550±2057	27337±1638	93860±11177	1302±65
<b>LETRAZOL (1)</b>	38929±2493	27809±1977	52336±11028	2400±188
<b>İYİLEŞME</b>	17732±1157	19810±1358	49712±8704	1762±214
<b>OVX</b>	17455±3598	9643±1975	13568±2858	1421±413
<b>OVX+LETRAZOL</b>	82006±9221	23472±2192	32707±2388	2847±294
<b>EST-I</b>	60835±5379	17223±2436	37028±5163	1953±175
<b>EST-II</b>	39620±5745	5435±677	1164±115	5429±1182

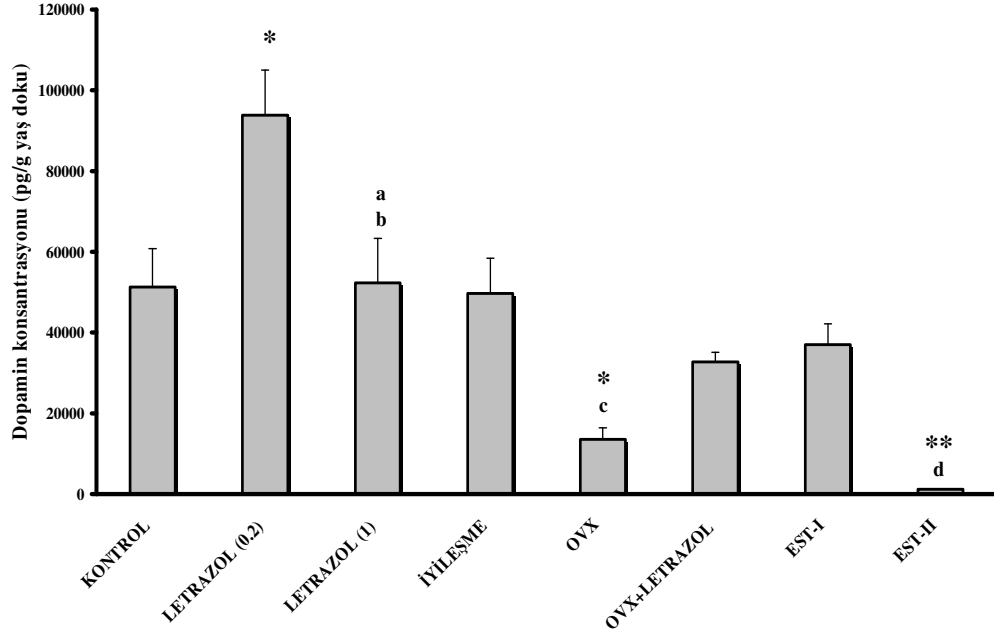


**Şekil 26.** Hipotalamus noradrenalin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05 Kontrol ile, a: p<0.01 İyileşme, OVX ve OVX+Letrazol ile, b: p<0.01 OVX+Letrazol ve EST-I, c: p<0.05 Letrazol (1) ve OVX+Letrazol ile, d: p<0.05 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

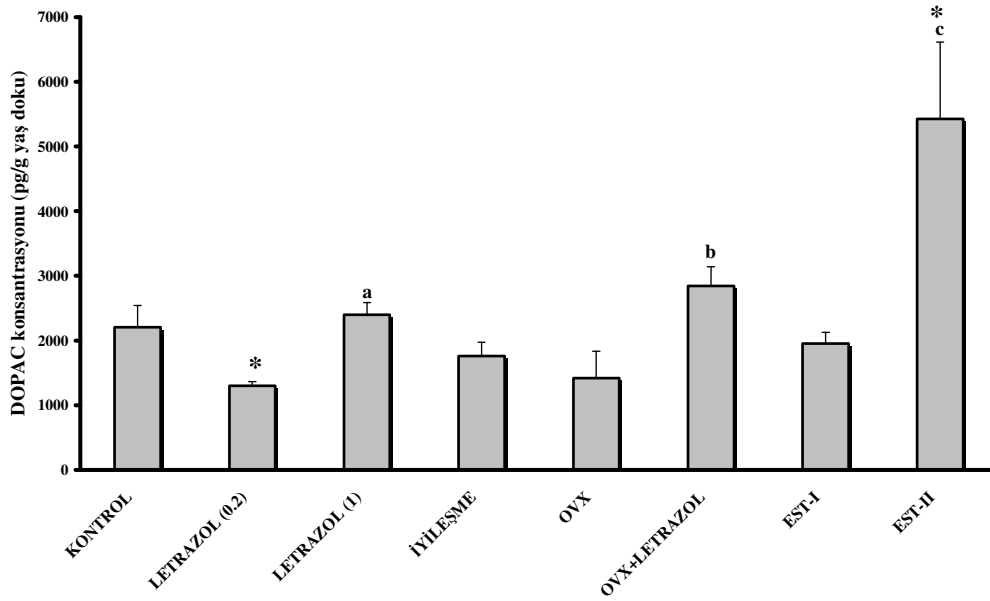


**Şekil 27.** Hipotalamus DHPG konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05 \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (1) ile, b: p<0.01 Letrazol (1) OVX+Letrazol ve EST-II ile, c: p<0.05 Letrazol (1), OVX ve OVX+Letrazol ile, d: p<0.01 Letrazol (1), OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).





**Şekil 28.** Hipotalamus dopamin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05 \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 İyileşme ve OVX ile, b: p<0.01 EST-II ile, c: p<0.05 OVX+Letrazol ve EST-I ile, d: p<0.01 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 29.** Hipotalamus DOPAC konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05 Kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (0.2), EST-I ve EST-II ile, b: p<0.05 OVX, EST-I ile, c: p<0.05 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

#### **5.4.4. Striatum Monoaminerjik Nörotransmitter Seviyeleri:**

##### **5.4.4.1. Striatum Noradrenalin Değerleri (Tablo 9, Şekil 30):**

**5.4.4.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre hem letrazol (0.2) hem de letrazol (1) grubunun noradrenalin konsantrasyonu daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). İyileşme grubunun noradrenalin miktarı Letrazol (1) grubundan düşük olduğu tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

**5.4.4.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** EST-II grubunun noradrenalin seviyesi diğer üç OVX gruptan da yüksek gözlemlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.4.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX gruplardan sadece EST-II grubunun noradrenalin miktarı yüksek bulundu ( $p<0.01$ ) diğer gruplarda anlamlı farklılık yoktu. Letrazol (1) grubuna göre OVX ( $p<0.01$ ), OVX+Letrazol ( $p<0.05$ ), ve EST-I ( $p<0.01$ ) gruplarının noradrenalin düzeyleri düşük belirlenirken EST-II grubu yüksek bulundu ( $p<0.05$ ).

##### **5.4.4.2. Striatum DHPG Değerleri (Tablo 9, Şekil 31):**

**5.4.4.2.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre diğer üç intak grubun DHPG düzeyi daha yüksek bulundu ( $p<0.01$ ).

**5.4.4.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** EST-II grubunun DHPG seviyesi diğer üç OVX gruptan da yüksek gözlemlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.4.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX gruplardan OVX ( $p<0.01$ ), EST-I ( $p<0.05$ ) ve OVX+Letrazol ( $p<0.01$ ) gruplarının DHPG seviyesinin düşük olduğu tespit edildi. Ancak EST-II grubunun DHPG miktarı kontrol grubuna göre anlamlı düzede yüksekti ( $p<0.01$ ). Letrazol (1) grubu ile OVX ( $p<0.01$ ), OVX+Letrazol ( $p<0.05$ ), ve EST-I ( $p<0.01$ ) grupları karşılaştırıldığında ise DHPG düzeylerinin anlamlı ölçüde yüksek olduğu belirlendi.

#### **5.4.4.3. Striatum Dopamin Değerleri (Tablo 9, Şekil 32):**

**5.4.4.3.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre diğer üç intak grubunda dopamin konsantrasyonunun daha yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ). Letrazol (1) grubu dopamin seviyesi hem letrazol (0.2) ( $p<0.05$ ) hem de iyileşme grubuna ( $p<0.01$ ) göre daha yüksek bulundu.

**5.4.4.3.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX grubuna göre OVX+Letrazol grubunda daha yüksek dopamin düzeyleri belirlendi ( $p<0.05$ ). EST-I grubunda dopamin miktarı hem OVX hem de OVX+Letrazol grubundan daha düşük bulundu ( $p<0.01$ ). EST-II grubunun dopamin konsantrasyonu diğer üç ovariectomize gruptan yüksek hesaplandı ( $p<0.01$ ).

**5.4.4.3.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubuna göre OVX gruplardan sadece EST-II grubunun dopamin seviyesi yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). Letrazol (1) grubuna kıyasla OVX, OVX+Letrazol ve EST-I gruplarının dopamin düzeyleri daha düşük olduğu ama EST-II grubunun ki daha yüksek olduğu tesbit edildi ( $p<0.01$ ).

#### **5.4.4.4. Striatum DOPAC Değerleri (Tablo 9, Şekil 33):**

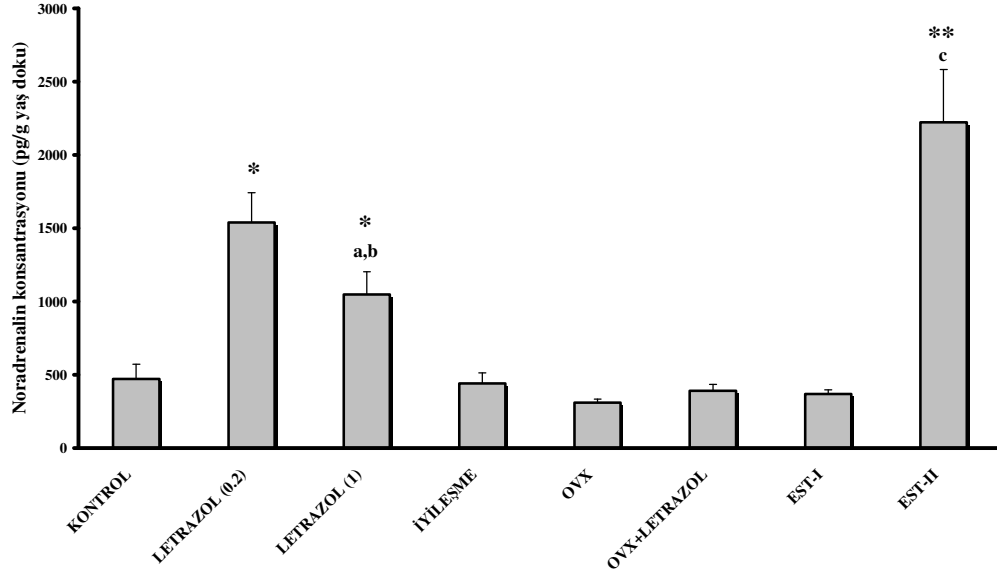
**5.4.4.4.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol grubuna göre hem letrazol (0.2) hem de letrazol (1) grubunun DOPAC düzeyi yüksek bulundu ( $p<0.01$ ). İyileşme grubu DOPAC miktarı letrazol (1) grubuna göre daha düşük seviyede belirlendi ( $p<0.01$ ).

**5.4.4.4.b. İkinci Deney Düzenegi:** OVX+Letrazol grubu DOPAC seviyesi hem OVX hem de EST-I grubuna göre daha yüksek olduğu saptandı ( $p<0.01$ ). EST-II grubu DOPAC seviyesi tüm OVX gruplardan daha yüksek düzeyde bulundu ( $p<0.001$ ).

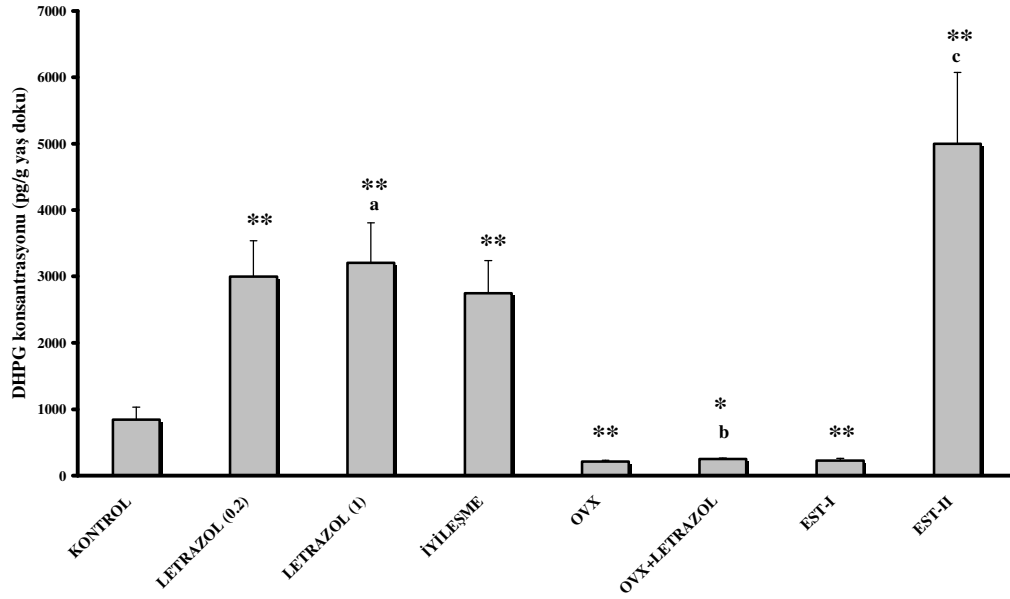
**5.4.4.4.c. İki Deney Düzenine Karşılaştırılması:** EST-II grubu DOPAC miktarı tüm intak gruplardan daha yüksek olduğu hesaplandı ( $p<0.001$ ). Ayrıca kontrol grubuna göre OVX+Letrazol grubunun DOPAC düzeyi daha yüksek olduğu tesbit edildi ( $p<0.01$ ). Letrazol (1) grubu DOPAC konsantrasyonu hem OVX hem de EST-I grubundan daha yüksek bulundu ( $p<0.01$ ).

**Tablo 9.** Striatum katekolamin değerleri (pg/g yaş doku, ORT±SH).

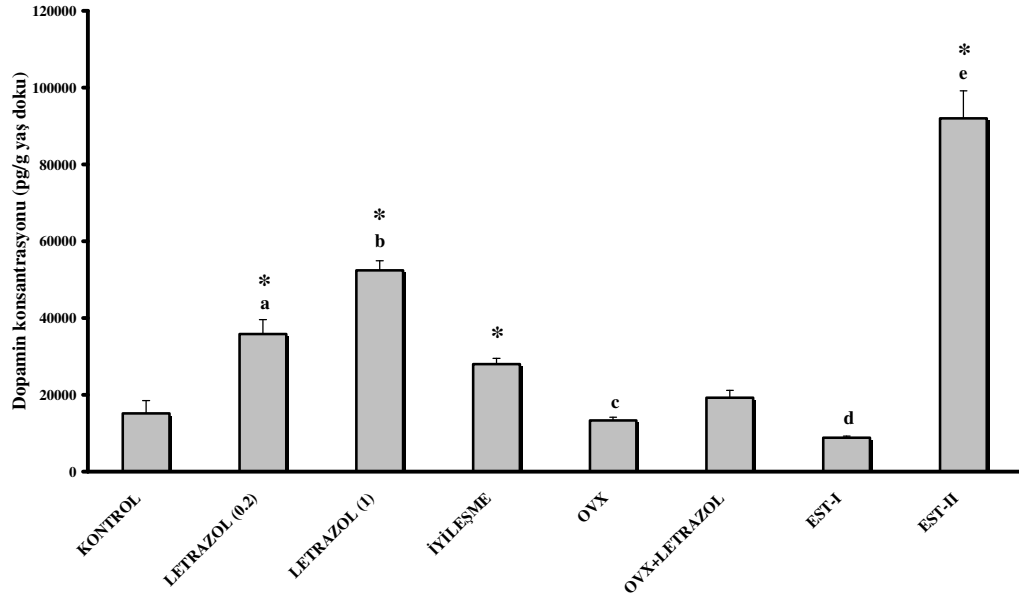
	<b>NORADRENALİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DHPG</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAMİN</b> (pg/g yaş doku)	<b>DOPAC</b> (pg/g yaş doku)
<b>KONTROL</b>	472±101	842±188	15184±3314	3371±519
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	1540±201	2998±540	35824±3759	7343±726
<b>LETRAZOL (1)</b>	1047±157	3208±596	52456±2411	7152±584
<b>İYİLEŞME</b>	441±71	2747±488	28034±1501	4022±203
<b>OVX</b>	309±25	211±19	13347±831	3859±866
<b>OVX+LETRAZOL</b>	391±44	250±12	19262±1900	8111±518
<b>EST-I</b>	370±28	227±30	8814±447	4327±433
<b>EST-II</b>	2221±362	4999±1071	91983±7188	288869±30578



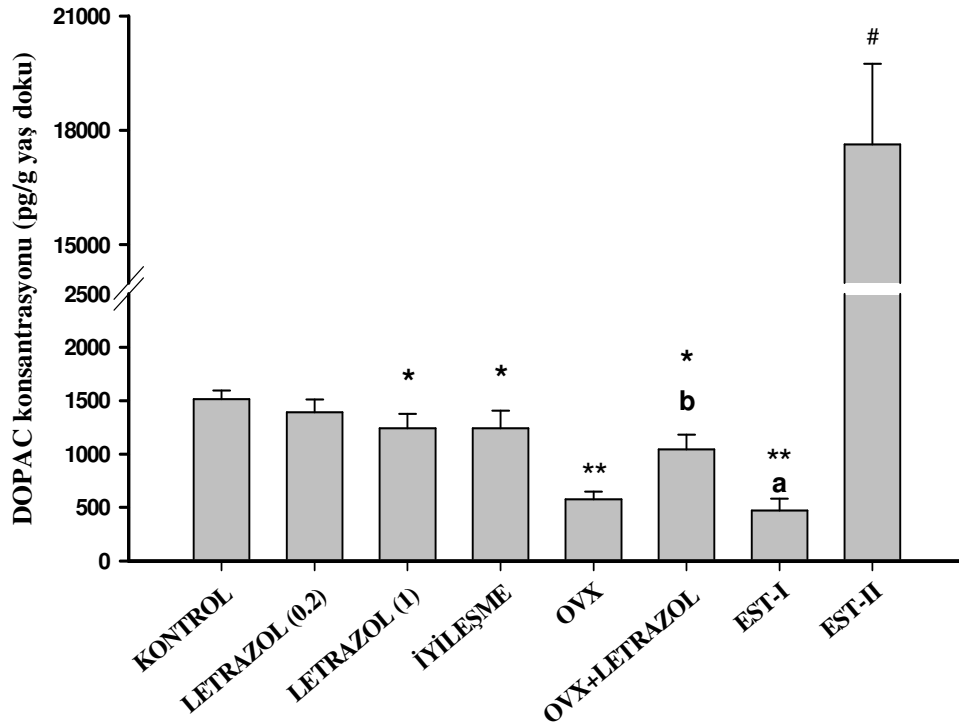
**Şekil 30.** Striatum noradrenalin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 İyileşme, OVX+Letrazol ve EST-II ile, b: p<0.01 OVX ve EST-I ile, c: p<0.01 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 31.** Striatum DHPG konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.01 OVX ve EST-I ile, b: p<0.05 Letrazol (1) ile, c: p<0.01 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 32.** Striatum dopamin konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05 Kontrol ile, a: p<0.05 Letrazol (1), b: p<0.01 İyileşme, OVX, OVX+Letrazol, EST-I ve EST-II ile, c: p<0.05 OVX+Letrazol ile d: p<0.01 OVX ve OVX+Letrazol ile, e: p<0.01 OVX, OVX+Letrazol ve EST-I ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 33.** Striatum DOPAC konsantrasyonu (ORT±SH, \*\*: p<0.01 \*\*\*: p<0.001 Kontrol ile, a: p<0.01 OVX ve EST-I ile, b: p<0.01 Letrazol (1) ile, c: p<0.01 OVX ve EST-I ile, d: p<0.001 tüm gruplar ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

## **5.5. Serum Hormon Seviyeleri:**

### **5.5.1. Serum DHEA Değerleri (Tablo 10, Şekil 34):**

**5.5.1.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol ile karşılaştırıldığında letrazol (0.2), letrazol (1) ( $p<0.05$ ) ve iyileşme grubunun ( $p<0.01$ ) DHEA konsantrasyonu daha yüksek bulundu. Letrazol (1) grubu DHEA seviyesi iyileşme grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ).

**5.5.1.b. İkinci Deney Düzenegi:** EST-II grubunun DHEA miktarı hem OVX hem de OVX+Letrazol grubundan daha düşük olduğu tesbit edildi ( $p<0.05$ ).

**5.5.1.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** EST-I ve EST-II grubunun DHEA düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Benzer şekilde letrazol (1) grubu DHEA seviyesi hem EST-I ( $p<0.05$ ) hem de EST-II grubundan ( $p<0.01$ ) daha yüksek saptandı.

### **5.5.2. Serum $17\beta$ -E<sub>2</sub> Düzeyleri (Tablo 10, Şekil 35):**

**5.5.2.a. Birinci Deney Düzenegi:** Kontrol ile karşılaştırıldığında diğer üç intak grubun  $17\beta$ -E<sub>2</sub> konsantrasyonu daha düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Letrazol (1) grubu  $17\beta$ -Östradiol seviyesi hem letrazol (0.2) ( $p<0.05$ ) hem de iyileşme grubuna göre daha düşük olduğu belirlendi ( $p<0.01$ ).

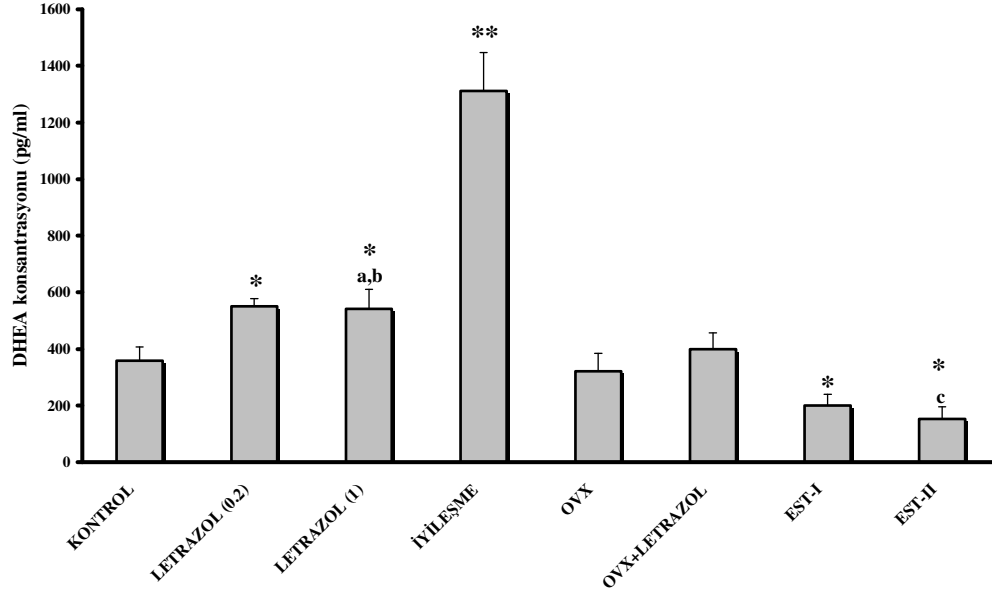
**5.5.2.b. İkinci Deney Düzenegi:** EST-II grubunun  $17\beta$ -Östradiol miktarı diğer üç ovariectomize gruptan daha yüksek olduğu hesaplandı ( $p<0.001$ ). Hem OVX hem de OVX+Letrazol grubunun  $17\beta$ -Östradiol düzeyi EST-I grubundan daha düşük olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).



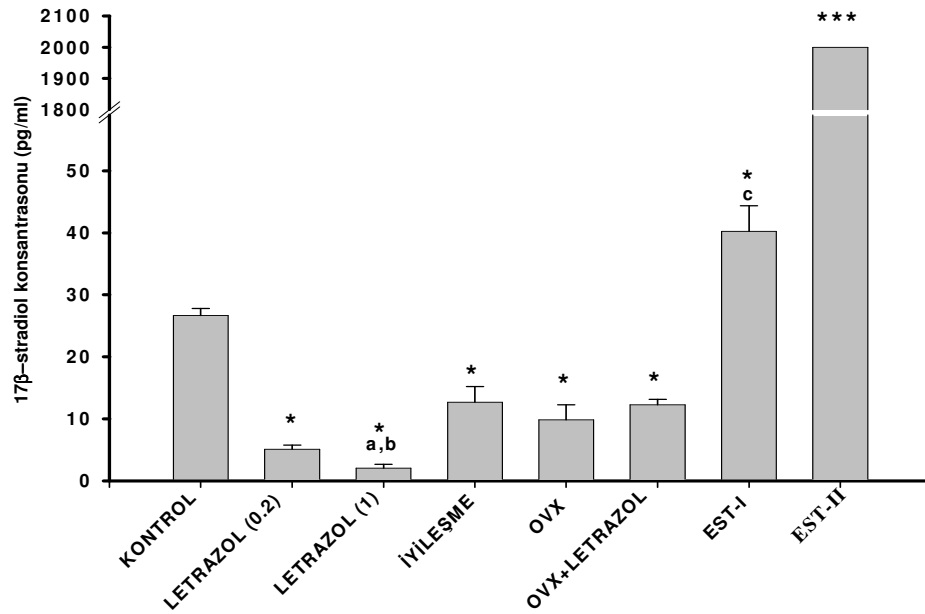
**5.5.2.c. İki Deney Düzeneginin Karşılaştırılması:** Kontrol grubu  $17\beta$ -E<sub>2</sub> konsantrasyonu OVX ve OVX+Letrazol grubuna göre daha yüksek belirlendi ama EST-I grubunda ise  $17\beta$ -E<sub>2</sub> konsantrasyonu düşük bulundu (p<0.05). EST-II grubu  $17\beta$ -E<sub>2</sub> seviyesi tüm intak gruplardan daha yüksek olduğu hesaplandı (p<0.001). Letrazol (1) uygulaması  $17\beta$ -E<sub>2</sub> düzeylerini OVX (p<0.05), OVX+Letrazol (p<0.01) ve EST-I gruplarına göre anlamlı şekilde azalttı (p<0.01).

**Tablo 10.** Serum DHEA ve 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> düzeyleri (pg/ml, ORT $\pm$ SH).

	<b>DHEA (pg/ml)</b>	<b>17<math>\beta</math>-E<sub>2</sub> (pg/ml)</b>
<b>KONTROL</b>	358 $\pm$ 49	26,64 $\pm$ 1,15
<b>LETRAZOL (0.2)</b>	550 $\pm$ 28	5,08 $\pm$ 0,68
<b>LETRAZOL (1)</b>	542 $\pm$ 69	2,06 $\pm$ 0,62
<b>İYİLEŞME</b>	1311 $\pm$ 136	12,68 $\pm$ 2,49
<b>OVX</b>	322 $\pm$ 63	9,85 $\pm$ 2,4
<b>OVX+LETRAZOL</b>	400 $\pm$ 57	12,23 $\pm$ 0,89
<b>EST-I</b>	200 $\pm$ 40	40,23 $\pm$ 4,09
<b>EST-II</b>	153 $\pm$ 43	>2000



**Şekil 34.** Serum DHEA konsantrasyonu (ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, a: p<0.05 İyileşme ve EST-I ile, b<0.01 EST-II ile, c: p<0.05 OVX ve OVX+Letrazol ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).



**Şekil 35.** Serum 17β-E<sub>2</sub> konsantrasyonu (pg/ml, ORT±SH, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01 Kontrol ile, \*\*\*: p<0.001 tüm gruplar ile, a: p<0.05 Letrazol (0.2) ve OVX ile, b<0.01 İyileşme, OVX+Letrazol ve EST-I ile, c: p<0.05 OVX ve OVX+Letrazol ile karşılaştırıldığında, Mann-Whitney U Testi).

## **6. TARTIŞMA:**

### **6.1. Ağırlıklar:**

Letrazol uygulanmasının kemirgenlerde vücut ağırlığını arttırdığı fakat, over ağırlığında değişiklik yapmadığı daha önceki çalışmalarda bulunmuştur (376,408). Bununla birlikte, farklı hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, letrazolün uterus ağırlıklarını anlamlı düzeyde azalttığını ortaya koymuştur (375,376,378,409-411). Bu etki doz bağımlıdır (408). Bu çalışmada literatürle uyumlu olarak letrazol uygulanan gruplarda vücut ağırlıkları artmış bulunurken, over ağırlıklarında farklılık gözlenmedi. Östrojenin uterus üzerindeki hiperplazik ve hipertrofik etkileri östrojen sentezinin engellenmesi ile ortadan kalkmaktadır. Letrazol uygulamasının doz bağımlı olarak uterus ağırlıklarını azaltması, bu ajanın östrojen sentezini etkin bir şekilde baskıladığının kanıtıdır. Altı haftalık letrazol uygulamasından sonra iki hafta iyileşme sürecine bırakılan sıçanlarda ise uterus ağırlıkları tekrar normale dönme eğilimi göstermiştir. Ancak uterus ağırlıklarının tamamen normal seviyelerine ulaşamaması, aromataz enzim inhibisyonunun azaldığını, fakat tamamen ortadan kalkmadığını göstermektedir.

### **6.2. Öğrenme Performansları:**

Öğrenme kabiliyeti ve onun tekrar hatırlanmasında östrojenin rolü tam olarak aydınlatılabilmiş değildir. İnsan ve kemirgen türlerinde yapılan çalışmalarda östrojenin çeşitli kognitif fonksiyonları arttırdığı (96,412,413,414), azalttığı (136,145-151) veya etkilemediği (50,54) bildirilmiştir.

Östrojen uygulamasının süresi, dozu, uygulama yöntemi ve hayvanların yaşı östrojenin nörobiyolojik cevaplarını etkileyebilir. Örneğin, farelerde yapılan çalışmalarda 20 µg dozunda E<sub>2</sub> uygulanması uzaysal hafızayı bozarken, 180 µg E<sub>2</sub>

dozunun hafızayı geliştirici etkilere yol açtığı gösterilmiştir (137,148). Frick ve ark. yaşlı farelerde 5 µg E<sub>2</sub> uygulamasının uzaysal hafızayı artırdığını, buna karşılık 1 µg dozunda ise etki göstermediğini ve her iki dozun da uzaysal olmayan hafızayı etkilemediğini bildirmişlerdir (413). Yaşlı kemirgenlerde östrojen uygulamalarıyla hafıza geliştirme çalışmaları arasında ilişki vardır (157,415,416). Örneğin; 21gün gibi uzun süre E<sub>2</sub> uygulanması iskeminin sebep olduğu görsel işlek hafızada azalmaya neden olmuştur. Bununla birlikte kısa süreli uzaysal hafızayı (1-7 dakika) korumasına rağmen uzun süreli uzaysal hafızaya (15 dakika) etki etmediği tespit edilmiştir (417). Bu bulguların aksine Rhodes ve ark. yüksek doz E<sub>2</sub> (10 µg) uygulamasının uzaysal hafızada azalmaya sebep olduğunu bulmuşlardır (418). Postmenopozal kadınlara uzun süre östrojen ve medroksiprogesteron asetatın kombine verilmesinin sözel hafıza üzerine negatif, şekilsel hafıza üzerine ise pozitif etki gösterdiği gözlenmiştir (419). Kognitif fonksiyonlar üzerine pellet ile tonik şekilde östrojen uygulaması, fazik uygulamadan (ip) daha faydalıdır. Tonik östrojen uygulanan Ovx hayvanlarda bozulan radyal kollu labirent (RAM) hatasında azalma bulunmuştur. Buna rağmen fazik uygulamanın ise T-labirent performansını hafifçe bozduğu gözlenmiştir (420). Başka bir çalışmada siklik östrojen uygulamasının 14 aylık ve 9 aylık sıçanlarda uzaysal hafızayı etkilemediği bildirilmiştir (421). Yaşlı hayvanlara deneylerden birkaç gün önce östrojen uygulamasının hafıza gelişimi üzerine kronik uygulamadan daha fazla etkili olduğu bulunmuştur (143,165,178). Başka çalışmalarda ise kronik östrojen uygulamasının uzaysal öğrenmedeki bozulmayı azaltabileceği bildirilmiştir (146,152,422). İlginç bir şekilde akut olarak sc veya intrahipokampal östrojen enjeksiyonu genç sıçanlarda 2 saat içerisinde MWM kazanımında anlamlı düzelme sağlamaktadır (142).

Ovx deneylerindeki kognitif fonksiyonlar ile ilgili bulgular da birbirleriyle ters düşmektedir. Yapılan bazı çalışmalar Ovx'in uzaysal hafızayı arttırıcı etkileri olduğunu göstermiştir (156). Ovx sıçanlarda işlek bellek artmasına (157-159) rağmen referans hafıza performansında değişiklik gösterilememiştir (159). Başka bir çalışmada Ovx farelerde uzaysal işlek hafızanın ölçüldüğü RAM testinde bozulmalar gözlenmiştir (423).

Yapılan çalışmaların çoğu Ovx sıçanlara östrojen uygulamasının uzaysal hafızayı arttırdığını göstermektedir (157,158,424). Bu bulguların aksine bazı çalışmalar ise Ovx sıçanlara östrojen uygulamasının uzaysal hafızaya etki etmediğini bildirmişlerdir (152,425). Ovaryumların uzaklaştırılmasının N-metil-D-aspartatın (NMDA) non-kompetitif bir antagonisti olan dekstrometorfanın genç dişi sıçanlardaki uzaysal hafıza üzerine olan olumsuz etkilerini düzelttiği bildirilmiştir. Östrojen uygulanmasının ise bozulmayı tekrar eski haline getirdiği gözlenmiştir (160). Son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ise bu bulguların aksine Ovx'nin MWM testinde platform bulma süresini olumsuz yönde etkilediği bulunmuştur. Ovx farelere 20 veya 100 µg/kg/gün dozunda E<sub>2</sub>'in uzun süre (4-5 hafta) enjeksiyonunun bu olumsuzlukları düzelttiği rapor edilmiştir (62). Benzer şekilde Ovx+östrojen alan sıçanlarda işlek uzaysal hafıza ve uzaysal referans hafıza performansının Ovx hayvanlardan daha iyi yönde etkilendiği gözlenmiştir (244). Düşük doz östrojenin, Ovx farelerde uzaysal öğrenmeyi arttırırken, yüksek seviyelerde etki etmediği tespit edilmiştir (137). İntrahipokampal E<sub>2</sub> enjeksiyonu Ovx sıçanlarda MWM kazanımını bozmuştur (138,139). Ovx farelere yedi gün östrojen minipelet uygulaması MWM testinde düzelmeler sağlamıştır (137). Fakat Ovx farelere beş gün östrojen enjeksiyonunun yapılması MWM uzaysal öğrenme performansını bozduğu bulunmuştur (148). Luine ve ark. sıçanlara Ovx yapılmasının RAM görevinde

bozulmalara neden olduğunu, östrojen uygulamasının bu bozulmaları geri döndürdüğünü göstermiştir (424). Daniel ve Lee bu bulguların aksine MWM testi öğreniminde Ovx sıçanlara 10 günlük östrojen uygulanmasının öğrenme performansını olumsuz yönde etkilediğini gözlemlemiştir (426). Belki de östrojenin hafıza üzerine pozitif etkisinin tedavi edici aralığı yalnız hafıza bozukluğu koşulu altında meydana gelmektedir.

Östrojenin öğrenme üzerine etkileri farklı beyin bölgelerinde değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin; Ovx sıçanlara östrojen uygulaması hipokampusun düzenlediği uzaysal öğrenmede arttırıcı etki gösterirken (427), striatumun düzenlediği artı labirent öğrenme deneylerinde ise bozulmalar bulunmuştur (428). Dorsal striatumun su labirenti öğrenme deneylerinde görev aldığı gösterilmiştir (429). Ovx sıçanlara uzun süre östrojen replasmanının bu öğrenmeyi bozduğu bildirilmiştir (426).

E<sub>2</sub>'nin uzaysal öğrenmeyi geliştirmesi veya azaltması doza ve farklı E<sub>2</sub> reseptörlerinin etkilemesine bağlı olabilir. Ovx'nin, MWM öğrenmeyi normal hayvanlarda azaltırken transjenik olarak ER- $\alpha$  taşımayan hayvanlarda etkilemediği görülmüştür (155). Benzer şekilde östrojenin bilişsel fonksiyonlar üzerine etkisinin ER- $\alpha$  reseptörü aracılığıyla olduğu ileri sürülmüştür (418).

Mevcut çalışmada son günlük performansları ile ilk günlük performansları karşılaştırıldığında sadece Ovx ve günlük 17  $\beta$ -E<sub>2</sub> uygulanan gruplarda anlamlı fark bulunmadı. Hatta günlük 17  $\beta$ -E<sub>2</sub> uygulanan grubun günlük performanslarının diğer gruplardan daha kötü olduğu belirlendi. Buna rağmen gün aşırı östrojen replasmanının uzaysal performansı etkilemediği tespit edildi. Ovx hayvanlara östrojen replasmanının şekli öğrenme performansını farklı etkileyebilmektedir.

Serum  $17 \beta\text{-E}_2$  seviyeleri ile MWM testi arasında östrojen seviyesinin en düşük olduğu intak yüksek letrazol uygulanan grubun prob testinin en iyi olması, hafızanın pekiştirilmesinde östrojenin negatif etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde günlük östrojen replasmanı yapılan Ovx grubunun platform bulma sürelerindeki gecikme ile yüksek plazma östrojen seviyesi arasında da ilişki olabilir. Gün aşırı östrojen replasmanı yapılan grupta serum östrojen seviyesinin çok yüksek olması ve öğrenme performanslarını etkilememesi, östrojenin belirli serum konsantrasyon aralıklarında öğrenmeyi etkileyebileceğini göstermektedir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular östrojenin uzaysal öğrenmeyi negatif yönde etkilediğine işaret etmektedir. Ayrıca bu çalışmada 15 günlük bir iyileşme süresinin, geri dönüşümlü aromataz inhibitörü olan letrazolün kognitif fonksiyonlar üzerine olan etkilerinin ortadan kalkması için yeterli olduğunu da göstermiştir. Bunlara ek olarak Ovx hayvanlara östrojen takviyesinin şekli ve dozu da öğrenme performansını etkileyebilir.

### **6.3. NCAM:**

Çeşitli çalışmalar NCAM salınımının sadece nöronal regülasyon için değil, ayrıca migrasyon gibi yapısal değişiklikler, aksonal büyüme ve fasikülasyon için de gerekli olduğunu göstermiştir (285). NCAM (299,430,431) ve onun polisialize olmuş formu olan PSA-NCAM (318,323,432,433) sadece sinir sistemi gelişimi esnasında hücrelerin etkileşimi üzerine değil, aynı zamanda yetişkinlerde sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde de etkili olabilir. NCAM formları içinde sinaptik plastisitede rol alan en önemli molekül PSA-NCAM'dır (301,325). Polisialize olmuş yapı NCAM'ın yapıştırıcı etkilerini artırır (285,326). Sinaptik plastisite ve nöronal aktiviteye bağlı nörojenez olayında önemli rol alan PSA-NCAM'ın, özellikle



hipokampal formasyonda rol alan olfaktor sistem ve dentat girus gibi beynin belli bölgelerinde yeni oluşan nöronların farklılaşma ve olgunlaşmasında da aktif rol aldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (297,327-330). Aynı zamanda PSA-NCAM'ın kafa travması sonrası fonksiyonel iyileşme ve tamirde, nöronal bağlantıların yapı ve fonksiyonel plastisitesinde rol oynadığı ortaya konulmuştur (333).

Öğrenme ve hafızanın oluşumunda temel mekanizma olan sinaptik plastisiteye (315) NCAM moleküllerinin aracılık ettikleri artık bilinmektedir (321,337). Öğrenme sürecinde nöronal bağlantılarda yapısal değişikliklerin oluşması uzun dönem hafızanın yerleşmesini sağlar. Bu nöronal bağlantı ve yeniden organizasyon işleminde NCAM ve PSA-NCAM molekülleri çok önemli görevler üstlenir (338,339). NCAM antikorlarının intraventriküler enjeksiyonu ile sıçanlarda ve tavuklarda öğrenme ve uzun dönem hafızaya zarar verdiği yapılan pasif sakınma cevabı testi ile gösterilmiştir (316,317). Başka çalışmalarda NCAM'dan yoksun bırakılan farelerde uzaysal öğrenme ve bulma yeteneğinin bozulduğu, MWM testlerinde öğrenmelerinde geri kalmalar olduğu tespit edilmiştir (285,324). Benzer şekilde PSA-NCAM'ın enzimatik olarak ortadan kaldırılmasıyla sıçanlarda uzaysal öğrenme engellenmiştir (318). Sıçanlarda pasif kaçınma denemelerinden ve uzaysal öğrenmeden sonra hatta bu denemelerden 12 ve 24 saat sonra bile NCAM artmaktadır (295,332). Yetişkin sıçanların dentat girusunun granül hücrelerinde hem pasif kaçınma cevabının öğrenilmesinden sonra, hem de MWM testinde uzaysal öğrenmeden sonra NCAM polisiyalizasyonunun arttığı gösterilmiştir (334,335). Başka çalışmalarda polisiyalizasyondaki bu yükselme hipokampal oluşumda dişli granül hücrelerinin bulunduğu yerde ve öğrenmeye katılan kortikohipokampal yoldan şekillenebilen entorinal korteksteki nöronlarda gerçekleşmiştir (285,336).

Anti-NCAM ajanlar hipokampal uzun dönem hafızanın oluşumunu engellerken kısa dönem hafıza oluşumuna etki etmemektedir (434). ICV olarak anti-NCAM'in kronik bir şekilde infüzyonunda MWM uzaysal öğrenme performansı da azalmıştır (435). Yetişkin sıçanların dentat girusunda öğrenmeden sonra post sinaptik membranda NCAM değişiklikleri meydana gelmektedir (436). Tüm bu etkiler başta PSA-NCAM olmak üzere NCAM salınımının, öğrenmenin ve uzun dönem hafızanın oluşumunda ne kadar gerekli olduğunu göstermektedir (321).

Sıçan ve maymunlarda bazal hipotalamusta  $E_2$  sinaptik yeniden yapılanmayı uyarır (437,438). Bu değişiklikler sıçanlarda östrus evresi boyunca meydana gelir (439) ve preovulatar LH yükselmesinin sonucuna bağlanır (440). Yüksek östrojen uygulanan dişi sıçanların hipokampus ve dentat giruslarının boyutları düşük östrojen uygulananların boyutundan daha fazla bulunmuştur (441). Buna karşılık dişi tarla farelerinin üreme evrelerinde olmadığı zamanki hipokampus hücre proliferasyonu, üreme evresinde tutulanlardan daha yüksek tespit edilmiştir.  $E_2$ 'nin yüksek seviyeleri ile hücre proliferasyonunda azalma arasında ilişki vardır. Hücre proliferasyonundaki bu zamansal değişiklikler ile uzaysal öğrenme arasında ilişki olduğu ileri sürülmüştür (442). Benzer şekilde üretken olarak aktif olan dişi tarla farelerinde üretken olmayanlara göre dentat girusta hücre proliferasyonu oranının baskılandığı bulunmuştur. Yetişkin dişilerde östrojen uygulanması başlangıçta (ilk 4 saat) dentat girusta hücre proliferasyonunu artırırken devamında (48 saat içinde) hücre çoğalmasını baskılamıştır. Yeni hücrelerin canlı kalma oranlarının, endojen östrojen düzeyi yüksek olan üretken aktif dişilerde daha fazla olduğu belirlenmiştir (443). Dişi kemirgenlerde östrojen seviyesinin artması ile CA1 alanında dentritik uzantı ve sinaps yoğunluğunda artma (444,445) yine CA1 alanında sinaptik proteinde artma (446) ve nörojenezde artma (447) gibi hipokampusu ilgilendiren fonksiyonlar

arasında ilişki bulunmuştur. Bu çalışmalar östrojenin endojen veya eksojen kaynaklı olmasının, serum seviyesinin, uygulamadan sonraki sürenin ve hayvanların cinsinin beyin nöronal hücre proliferasyonunda değişikliklere sebep olabileceğini göstermektedir.

PSA-NCAM'ın hem gelişmekte olan (448,449) hem de yetişkin (450-452) nöroendokrin sisteminde (hipotalamonörohipofizyal sistem) değişiklikler oluşturduğu bildirilmiştir. Hem NCAM hem de PSA-NCAM yetişkin beyninde sürekli eksprese edilmektedir ve hipotalamusun gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) içeren bölgelerinde de bulunmuştur (453-455). İlginç bir şekilde NCAM ve PSA-NCAM, GnRH nöronlarının prenatal göç yolu boyunca eksprese edildikleri belirlenmiştir (456,457) NCAM ve PSA izoformunun immün yolla nötralize edilmesi, GnRH nöronal göçünü engellemektedir (448,449). Bu çalışmalar NCAM'ın, GnRH ve ona bağlı LH ve FSH salınımını etkileyerek östrojen fonksiyonlarını etkileyebileceğini gösterir.

Ovx+ICV asit enjekte edilen sıçanlara tek doz (100µg/100g vücut ağırlığı) 17 β-E<sub>2</sub> uygulamasının, arkuat nükleustaki GABA(+) nöronların sinaps yoğunluğunu azalttığı bulunmuştur. Buna rağmen PSA'yı NCAM'den ayıran endonöraminidaz enziminin ICV enjeksiyonundan sonraki E<sub>2</sub> uygulamalarında bir değişiklik gösterilememiştir. GABA(-) nöronlarda ise hiçbir değişiklik belirlenememiştir (458). Bu çalışma E<sub>2</sub>'nin GABA'erjik nöronların proliferasyonunu PSA-NCAM aracılığıyla etkileyebileceğini göstermektedir. Ovx yapılan hayvanların dentat giruslarında Ovx'den 6 gün sonra PSA-NCAM miktarının azaldığı, 21 gün sonra etkilenmediği ve hamilelikte ise arttığı bulunmuştur. Ovx'in 6. günde E<sub>2</sub> uygulanması PSA-NCAM'deki azalmayı geri döndürmüştür. Böylece östrojenin hücre çoğalmasından bağımsız olarak nöronal plastisiteyi kolaylaştırabileceği gösterilmiştir (459). Parkash

ve Kaur sıçanlarda medyan eminens ve arkuat nükleus bölgesindeki PSA-NCAM yoğunluğunun proöstrus evresinde (östrojen seviyesinin yüksek) diöstrus evresinden (östrojen seviyesi düşük) daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (460). Yine aynı çalışmada Ovx sıçanlara tek doz östrojen+progesteron uygulanmış ve Ovx grubu sıçanların PSA-NCAM yoğunluklarının sham grubundan daha düşük miktarda olduğu tespit edilmiştir. Buna rağmen Ovx+östrojen ve progesteron uygulanan grubun PSA-NCAM yoğunluklarının hem sham ve hem de Ovx grubundan yüksek olduğu belirlenmiştir (460).

Aromataz inhibitörlerinin NCAM izoformlarının ekspresyonunda ne gibi değişiklikler meydana getirdiği bilinmemektedir. Bununla birlikte bu çalışma ile hem hipokampusta hem de kortekste NCAM'in normal ekspresyon paterninin letrazol tarafından etkilenebileceği ilk kez gösterildi. Bu moleküllerin normal ekspresyonunda meydana gelecek herhangi bir değişikliğin, öğrenme ve hafıza gibi kognitif fonksiyonları etkileyebileceğine inanılmaktadır (321). Sinapslarda en fazla eksprese edilen NCAM olan NCAM-180 izoformu, esas olarak nöronların birbirleri arasındaki adezyonların oluşumunda rol alırken, NCAM-120 ve NCAM-140 izoformları oligodendrosit ve astrositler tarafından eksprese edilir (461,462). NCAM 180'nin sinaptik plastisitede önemli bir belirleyici olduğu ve sinaptik bağlantının stabilizasyonunda yer aldığı düşünülmektedir (331). NCAM 140 hem presinaptik hem de postsinaptik membranlarda eksprese olur ve hücrelerin adezyonu ve nöritlerin büyümesinde rol oynar (323).

Bu çalışmada, letrazol hem hipokampus hem de kortekste NCAM-180 ve 140 ekspresyonlarını kontrol grubuna göre genel olarak arttırdı. Yüksek doz (1 mg/kg) letrazol uygulanan intak sıçanlarda hipokampus NCAM-120 izoformu diğer gruplara göre daha düşük seviyelerde bulundu. Bu bulgular, hipokampus ve kortekste östrojen

sentezinin azalmasının NCAM ekspresyonunda artışa neden olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada aromataz inhibitörü uygulanan grupta hafıza pekiştirilmesinin daha iyi olmasının altındaki mekanizma NCAM moleküllerinin ekspresyonu ile ilgili olabilir. İlginç olarak iyileşme gruplarında rölatif NCAM değerleri her iki beyin bölgesinde de kontrol grubundan daha yüksekti. Yani NCAM ekspresyon paterninde 15 günlük sürenin “normale” dönmede yeterli olmadığı görüldü. Bu alandaki araştırmaların oldukça sınırlı oluşu ve iyileşme grubu uygulamasına başvurulmaması, bu verilerin literatür bilgilerle karşılaştırılmasını güçleştirmektedir. Daha uzun iyileşme süresinin kullanılacağı, beyinde NCAM ve lokal östrojen sentezi arasındaki ilişkinin mekanizmasının inceleneceği araştırmalar düşünülmelidir.

Ovx grup ve Ovx+letrazol uygulanan grubun korteks NCAM 180 izoformunda kontrole göre anlamlı olmayan azalma bulundu ve östrojen uygulamasının bu azalmayı tekrar arttırdığı tespit edildi. Bu değişiklik dışında Ovx grupların NCAM izoformunu ne hipokampusta ne de kortekste kontrol grubuna göre etkilemediği görüldü. Literatüre göre Ovx'in NCAM yoğunluğunu azaltması ve Ovx'den sonra östrojen uygulanmasının bu azalmayı normale çevirmesi ile ilişkili bilgiler olmasına rağmen mevcut çalışmada östrojen replasmanının beyin korteks bölgesinde sadece NCAM 180 izoformunda benzer şekilde etki ettiği belirlendi. Bu da bize östrojenin NCAM ekspresyonuna etkilerinin değişik beyin bölgelerinde farklı olabileceğini göstermektedir.

#### 6.4. Monoaminler:

Östrojenin beyinde katekolaminler üzerine etkileri doz, uygulama süresi, beyin bölgesi ve katekolaminin tipi ile değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin Ovx+E<sub>2</sub> (10 µg/kg, s.c., 4 hafta) uygulanan sıçanların kaudat putameninde noradrenalin, nükleus akkumbensinde dopamin, frontal korteks, hipokampus, kaudat putamen, nükleus akumbens ve substansiya nigrada serotonin seviyeleri Ovx sıçanlardan daha düşük bulunmuştur (463). Düşük doz veya pulsatil E<sub>2</sub> uygulaması striatumda dopamin salınımını artırırken yüksek doz E<sub>2</sub> uygulaması ise azaltmaktadır (464).

Dışarıdan östrojen uygulanmasının hipokampusta noradrenalin ve dopamin serbestlemede artışa neden olduğu bildirilmiştir (465). Bununla birlikte Ovx sıçanlara östrojen uygulaması hipokampusta katekolamin seviyelerine etki etmediği (424) veya noradrenalin seviyesini artırdığı (466) tespit edilmiştir. Ovx farelerde hipokampal noradrenalin ve DOPAC seviyeleri daha düşük bulunurken, dopamin seviyelerinde ise değişiklik tespit edilememiştir (467). Benzer şekilde farelerde Ovx'in hipokampusta noradrenalin ve dopamin seviyelerini azalttığı bulunmuştur (468). Başka bir çalışmada Ovx sıçanlara 27 gün östrojen uygulamasından sonra hipokampusta noradrenalin ve dopamin seviyelerinde değişiklik gözlenmemiştir (424). Yaşlı intak sıçanların hipokampusunda bazal noradrenalin seviyelerinde bir değişiklik belirlenmemiştir. Buna rağmen dopamin ve metabolitlerinin seviyesi düşük bulunmuştur (469).

Bu çalışmada letrazol, intak ve Ovx sıçanların hipokampusunda katekolamin seviyelerini farklı şekilde etkilemiştir. Letrazol endojen östrojen varlığında hipokampal noradrenalin ve dopamin seviyesini azaltmıştır. Ancak endojen östrojen yokluğunda (Ovx) ise letrazol hipokampal noradrenalin ve dopamin miktarını

arttırmıştır. Bunlara ek olarak östrojen uygulanan gruplar arasında farklılık olması, östrojen uygulamasının şeklinin hipokampal noradrenalin ve dopamin miktarlarını farklı etkiliyor olabileceğini düşündürmektedir.

Steroidlerin katekolamin sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan tirozin hidroksilaz aktivitesi üzerine etkileri, doz ve maruz kalma süresine bağlıdır. Ventromediyal hipotalamusta tirozin hidroksilaz aktivitesi proöstrus süresince veya östrojen ve progesteron uygulamasından sonra azalır. Bu azalma geçici olmasına rağmen düşük dopamin seviyesi ise kalıcıdır (470). Östrojen ve progesteron uygulamasından sonra nükleus akumbensta dopamin metabolizması artmış bulunmuştur (471). Östrojen ve progesteronun birlikte uygulanması sıçanların ventromediyal hipotalamusunda noradrenalin konsantrasyonunu arttırmıştır. Bununla birlikte östrojen ve progesteronun ayrı ayrı uygulanmaları ise hipotalamusunda noradrenalin miktarını değiştirmemiştir (470). Ovx kedi balığına düşük dozda östrojen uygulandığı bir çalışmada, hipotalamusta noradrenalin seviyesinin arttığı buna karşılık yüksek doz uygulamanın ise noradrenalin düzeyini azalttığı bulunmuştur. Östrojenin dopamin seviyesi üzerine ise noradrenalin seviyesinin aksi etki gösterdiği gözlenmiştir (472,473).

Bu çalışmada kontrol grubuna göre letrazol uygulanan sıçanların hipotalamusunda noradrenalin ve dopamin miktarının daha yüksek olduğu belirlendi.

Östrojenin striatumda özellikle dopamin fonksiyonlarını düzenlediği bilinmektedir (250,262-264,474). Deneysel çalışmalarda en yüksek hücre dışı striatal dopamin seviyelerinin, plazma östrojen seviyesinin yüksek olduğu proöstrus ve östrus evreleri boyunca bulunurken en düşük seviyeler ise diöstrus evresinde ve Ovx olan sıçanlarda elde edilmiştir (475). Benzer şekilde genç yetişkin Ovx sıçanlarda östrojen uygulamasının dorsolateral striatumda dopamin salınımını arttırdığı

bulunmuştur (476). Başka bir çalışmada östrojenin maymunların striatumunda tirozin hidroksilazı arttırdığı tespit edilmiştir (477). Bununla birlikte dopaminin sıçan striatumundan uzaklaştırılmasını geciktirdiği bulunmuştur (478). Bir in vitro çalışmada Ovx sıçanlara östrojen verilmesinin dopamin salınımını striatal dilimlerde arttırdığı belirlenmiştir (479).

Östrojenin striatumdaki etkileri de doz ve süre bağımlıdır. Östrojenin düşük doz veya pulsatil uygulanması striatumda dopamin salınımını artırırken, yüksek doz uygulanması ise azaltmaktadır (480). Östrojen uygulaması striatumda tirozin hidroksilaz aktivitesini artırır ve bu da yeni dopamin salınımına neden olur (481). Kısa süre akut östrojen replasmanı, Ovx sıçanların striatumunda dopamin salınımını artırır (476,480). Östrus siklusu boyunca endojen östrojenin seviyesinde artış striatal dopamin seviyesini de artırır (475). Fakat Ovx sıçanlara iki hafta kronik östrojen replasmanının striatal dopamin seviyesini azalttığı bulunmuştur (482). Genç yetişkin maymunların 30 gün östrojenden yoksun bırakılmalarının, dopamin üreten substantia nigra'da tirozin hidroksilaz immünreaktivitesinde azalma meydana getirdiği gözlenmiştir. Bu azalma hızlı ve devamlı östrojen replasmanı ile önlenebilmiştir (483). Östrojen yerine koyma tedavisinin striatal hem D1 hem de D2 dopamin reseptör bağlanma yoğunluğunu artırdığı bulunmuştur (484,485). Kronik olmayan siklik bir şekilde östrojen uygulaması substantia nigra'da tirozin hidroksilaz mRNA yapımını artırır (255). Yaşla birlikte aynı bölgede tirozin hidroksilaz transkripsiyonu azalır (256-259).

Genel olarak yapılan çalışmalarda östrojen uygulanmasının hipokampusta noradrenalin ve dopamin serbestlemede artışa neden olduğu bildirilmiştir (465). Bu nedenle, bizim çalışmamızda östrojen sentez inhibitörü letrazolün hipokampusta hem noradrenalin hem de dopamin düzeylerini azaltması beklenen etkiler olarak



düşünülebilir. Östrojenin beyinde katekolaminler üzerine etkileri doz, uygulama süresi ve beyin bölgesi ile değişkenlik gösterebilmektedir. Örneğin, östrojenin düşük doz veya pulsatil uygulanması striatumda dopamin salınımını artırırken, yüksek doz uygulanması ise azaltmaktadır (480). Bizim bulgularımız da doz bağımlı olarak letrazol uygulamasının noradrenalin hipokampusta azaltırken hem korteks hem de striatumda artırması, benzer şekilde dopamin seviyesinde hipokampusta azalma meydana getirirken striatumda ve hipotalamusta ise artırması bu hipotezi desteklemektedir. Bu çalışmada intak sıçanlara letrazol uygulaması striatumda noradrenalin, dopamin ve onların metabolitlerinin konsantrasyonlarını artırmıştır. Bunun sebebi hayvanların uzun süre östrojenden yoksun bırakılması olabilir.

#### **6.5. Monoaminler ile Öğrenme Performansı Arasındaki İlişki:**

Uzaysal öğrenme fonksiyonlarının nörofarmakolojik ve nörokimyasal sistem ile ilişkisini inceleyen çalışmalarda MWM testi kullanılmaktadır (404,486). NMDA sistemi MWM’de birinci önemli nörokimyasal sistemdir. NMDA reseptör antagonistinin intraventriküler verilmesinin, gizli platform ve prop testlerinde bozulmalara sebep olduğu gösterilmiştir (487). NMDA tip glutamat reseptörleri yer öğrenmede kritik rol oynarlar, fakat sürecin depolanmasında veya geri çağırılmasında rol almazlar (486).

Kolinerjik sistem MWM’de ikinci önemli nörokimyasal sistemdir. Atropin veya skopolamin ile santral muskarinik asetil kolinin blokajı, MWM kazanımını bozmakta ama geri çağırımı etkilememektedir (404,486). Cinsiyet farklılığına dayanan MWM öğrenmenin temelini kolinerjik sistemdeki değişim oluşturur. Kolinerjik blokör olan skopolamin uygulanmasına dişi farelerin erkeklerden daha duyarlı olduğu bulunmuştur (240). E<sub>2</sub> MWM kazanımını dişi sıçanlarda artırır ve

skopolamin tarafından bu artış engellenir (138). Ovx sıçanlara östrojen uygulaması sonucu kolinerjik sistemin ve kognitif performansın daha iyi olduğu gösterilmiştir (152). Kolin asetiltransferaz aktivitesindeki azalma kognitif fonksiyonlardaki azalmayla ilişkilidir (242). Östrojenin dişi sıçanların bazal ön beyin, hipokampus ve frontal kortekste kolin asetiltransferaz enzimini artırdığı gösterilmiştir (243). Buna rağmen uzun süre östrojen uygulamasının kolinerjik fonksiyonları azaltabileceği bildirilmiştir (244,245). Bazal ön beyinde kolinerjik nöronlar AH'li hastalarda dejenere olurlar (246). Asetil kolin reseptör antagonisti uygulanması, östrojenin indüklediği MWM testinde öğrenme performansındaki artışı azaltmıştır. Bu etki hipokampusa infüzyonda gözlenirken kortekse yapılan uygulamada gösterilememiştir (249). Yine son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada postmenopozal kadınlara östrojen uygulamasının anti kolinerjik ilaçların dikkat ve hız bileşenini içeren kognitif görevlerdeki bozucu etkilerini hafiflettiği tespit edilmiştir (248).

Yapılan ilk çalışmalarda beyin noradrenalin, dopamin veya serotonin azalmasının MWM performansını etkilediği gösterilemediğinden, aminerjik sistemlerin uzaysal öğrenme için majör bir role sahip olmadıkları ileri sürülmüştür (486). Fakat son zamanlardaki çalışmalarda uzaysal hafıza formasyonunda farklı aminerjik sistemlerin sınırlı fonksiyonları olduğu ileri sürülmektedir. Belli şartlar altında noradrenerjik sistemin uyarılması MWM kazanımını artırmaktadır. Selektif monoamin oksidaz-B inhibitörü L-deprenil, skopalaminin indüklediği kazanım ve prop testlerindeki hasarı azaltmaktadır (488). L-amfetamin ve L-deprenil orta yaş sıçanlarda MWM kazanımını artırır (489). Buna ilavaten bazolateral amigdalya noradrenalin infüzyonu MWM kazanımı ve prob testi performansını artırır (490). DSP-4 nörotoksini tarafından noradrenalin salınmasının, MWM performansını

etkilemediği fakat ilk uygulamadan 16 gün sonra geri çağırım testini etkilediği gösterilmiştir (491). Dopaminden noradrenalin sentezleyen  $\beta$ -3-hidroksilazdan yoksun farelerde, MWM ve prob testinde kontrole göre fark bulunamamıştır. Bununla birlikte  $\beta$ -3-hidroksilaz yoksun farelerde son denemeden 2, 8 ve 31 gün sonraki prob deneyi performansında azalma görülmüştür (492). Dopamin antagonistlerinin gizli ve görülebilir platform performansını bozmalarının altında sensorimotor veya motivasyon defekti yatıyor olabilir (486). DA1 dopamin reseptöründen yoksun transjenik farelerde MWM gizli ve görülür platform testlerinde ciddi bozukluklar olduğu bulunmuştur (493). 6-OH-dopaminin mezohipokampal dopaminerjik sistemde oluşturduğu lezyon sonucu gizli ve prob denemelerinde defekt gösterilmişken, görünür platform performansını etkilemediği tespit edilmiştir (490). DA1 dopamin reseptörü agonistinin yaşlı sıçanlarda gizli platform yeteneğini artırdığı bulunmuştur (494).

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda (dorsal noradrenalin kümesinde) noradrenalin azalması (495) ve ICV 6-OH-dopamin enjeksiyonundan sonra azalan dopamin seviyeleri (496) ile bozulan uzaysal öğrenme arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada ise farelerde hipokampal dopamin, noradrenalin ve DOPAC seviyeleri ile RAM ve T labirent testlerindeki davranışlar arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (467). Başka bir çalışmada Ovx sıçanlara östrojen uygulamasının RAM uzaysal öğrenmeyi ve hipokampusta noradrenalin seviyesini arttırdığı tespit edilmiştir (466).

Özellikle sağ hipokampusun görsel hafıza ile ilgili fonksiyonlarda daha fazla aktivite gösterdiği bilinmektedir (273). Bu çalışmada hipokampus monoamin seviyeleri ile öğrenme performansı arasında zıt bir ilişki bulundu. Bunun sebebi sağ hipokampusun NCAM analiz için kullanılması ve sol hipokampusun yarısının

monoamin tayini için kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir.

Hipokampus ve frontal korteks arasındaki etkileşimin hem uzaysal hem de uzaysal olmayan hafızada önemli olabileceği gösterilmiştir (497,498). Yaşlı intak sıçanların frontal kortekslerinde düşük dopamin seviyeleri ile kötü RAM performansı arasında ilişki bulunmuştur (469). Aynı zamanda primatlar ve kemirgenlerin frontal kortekslerinde dopaminerjik aktivite ile kısa dönem hafıza arasında bağlantı bulunmuştur (499,500). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, prefrontal kortekste (PFK) noradrenalin ve dopamin serbestlenmesinde meydana gelen artış ile uzaysal işlek bellek arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmiştir (501). Alfa-2 noradrenerjik reseptör agonistlerinin seçici bir şekilde yaşlı maymunlarda (502), sıçanlarda (503) ve inen katekolaminerjik yolları hasarlı hayvanlarda (504,505) azalmış işlek hafıza performansını düzelttikleri ortaya konulmuştur. Maymunların PFK'ine noradrenerjik antagonistlerin lokal olarak enjekte edildiği başka bir çalışmada, maymunların işlek hafıza performansının bozulduğu tespit edilmiştir (506). PFK'deki dopaminin işlek hafıza fonksiyonlarının düzenlenmesinde esas rol aldığı ileri sürülmüştür (507-511). Geçerli kanı, PFK'in dikkat fonksiyonları için önemli bir role sahip olduğudur (512). Kemirgenlerde seçici bir şekilde PFK nöronlarının cevabı uzaysal öğrenme için gereklidir (513). Buna rağmen yüksek sinaptik dopamin ve noradrenalin konsantrasyonunun PFK işlek hafıza fonksiyonunda bozulmalara neden olduğu bildirilmiştir (514).

Bu çalışmada kortekste yüksek noradrenalin seviyesi ile hafızanın pekiştirilmesi arasında pozitif bir ilişki olduğu belirlendi. Noradrenalinin çok yüksek bulunduğu Ovx+letrazol uygulanan hayvanlarda prob testi performansında bir değişiklik olmaması noradrenalinin belirli dozlarda hafızayı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Buna karşı olarak intak sıçanlarda düşük korteks dopamin düzeyi

ile hafıza performansı arasında negatif bir ilişki olduğu gözlemlendi.

Striatumun iki taraflı lezyonları kısa süre sonra MWM performansını etkilemektedir (515). Striatal lezyonlar ile kognitif fonksiyonlar arasında ilişki vardır (516). Sıçanlara intrastriatal quinolik asit enjeksiyonu ile striatal lezyon oluşturulmasının gizli platform öğrenmesini bozduğu bildirilmiştir (517). Striatal lezyon oluşan sıçanlar havuzun duvarına doğru daha fazla hareket etmekte ve yüzmeleri kontrol grubuna göre daha fazla yavaşlamaktadır. Medial striatuma quinolik asitle lezyon oluşturulması gizli platform görevinde bozulmaya neden olurken, görsel platform testini etkilemediği gösterilmiştir (516). Striatumun MWM öğrenmenin hafızayla ilgili kısmından daha çok, motor kontrol ve cevap esnekliğinde rol aldığı ileri sürülmüştür. D2 dopamin reseptör antagonisti sulpiridinin posteroventral striatuma infüzyonu sıçanlarda prob deneme performansını değiştirmiştir (518). Striatumun bölgelerinin fonksiyonel olarak farklı olduğu ve MWM performansının etkilerinin aynı olmadığı son yıllarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (519,520). Dorsal striatal lezyonlarda gizli ve görsel platform performansları bozulmamaktadır. Lateral striatumun lezyonu sensorimotor fonksiyonları etkilemekte ve medial striatumun lezyonları MWM görevinin kognitif uzaysal görünümünü bozmaktadır (521).

Striatumun hafıza görevlerinin düzenlenmesinde önemli olduğu ile ilgili bir çok çalışma bulunmaktadır (522). Kaudat nükleus içine lidokain enjeksiyonu ile kaudat nükleusun inaktif hale getirilmesi sağa veya sola dönüş yaparak sıçanların doğru cevap vermelerinin ölçüldüğü çapraz labirent görevinde, artı ve T şeklindeki labirent öğrenme deneylerinde bozulmalar olduğu bulunmuştur (428). Ek olarak dorsal striatumun lezyonlarında su labirentinde öğrenme deneylerinde de bozulmalar gözlemlenmiştir (523).

Nükleus akumbens anatomik olarak limbik sistem ile striatum arasındadır ve buradaki dopamin seviyeleri ile T-labirent performansı arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (524). Benzer şekilde striatal dopamin ve prefrontal noradrenalin geri dönüşümü ile T-labirent kazanımı arasında pozitif bir ilişki gözlenmiştir (525). Bu sonuçlar striatumda MWM öğrenme yöntem farklılığına bağlı olabilir. Mevcut çalışmanın bulgularından letrazol uygulanan gruplarda uzaysal öğrenmede önemli olan striatumda noradrenalin ve dopamin seviyelerinin yüksek olması, özellikle yüksek doz letrazol uygulanan grupta prop testi performansındaki artış ile ilgili olabilir.

Son zamanlarda yapılan bir başka çalışmada, PFK'da noradrenalin ve dopamin serbestlenmesinde meydana gelen artış ile uzaysal işlek bellek arasında pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir (501). Bu çalışmada, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olmasa da uzaysal öğrenme kazanımının yüksek doz letrazol uygulanan sıçanlarda daha iyi olması, prefrontal korteks noradrenalin düzeyleri ile paralellik göstermektedir. Ayrıca, öğrenmenin pekiştirilmesinin de letrazol grubunda anlamlı şekilde iyi olduğu görülmüştür. Farklı beyin bölgelerinde katekolamin düzeylerinde gözlemlenen letrazol-ilişkili bu değişiklikler kognitif fonksiyonları (özellikle pekiştirme) önemli oranda etkileyebilir. İyileşme süresinin sonunda elde edilen amin seviyelerinin genel olarak kontrol grubu değerlerinden daha düşük olması, bu sıçanlarda endojen östrojen dengesinin henüz sağlanmadığını düşündürmektedir.

*Sonuç:* Bu çalışmanın sonuçları özetlenebilir:

1-Östrojen sentez inhibisyonunun uzaysal hafızayı (özellikle pekiştirmeyi) olumlu yönde etkilediği görülmüştür. Kognitif fonksiyonlarda gözlemlenen letrazol-ilişkili bu farklılıkların, özellikle hipokampus ve korteks bölgelerinde NCAM

ekspresyonunda meydana gelen değişiklikler ile ilişkili olabileceği sanılmaktadır.

2-Korteks, hipokampus, hipotalamus ve striatumda katekolaminerjik nörotransmitter düzeylerinde görülen değişiklikler, aromataz inhibitörleri ile tedavi edilen hastaların kognitif fonksiyonlar başta olmak üzere olası santral yan etkiler yönünden de izlenmesi gerektiğini düşündürmektedir.

3-İki haftalık iyileşme süresinin uzaysal öğrenme ve pekiştirme bulgularının normale dönmesine yardımcı olmasına rağmen, NCAM gibi moleküler düzeydeki değişikliklerde letrazol öncesine dönüşünün daha uzun zaman gerektirdiği görülmüştür.

4-Ovx hayvanlara östrojen takviyesinin şekli ve dozu da öğrenme performansını etkileyebilmektedir. Östrojenin kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi bu steroid hormonun belirli serum konsantrasyon aralıklarında olabilmektedir.

## **7. KAYNAKLAR:**

1. Simpson ER, Davis SR: Minireview: aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis--some new perspectives. *Endocrinology* 2001;142:4589-4594.
2. Kamat A, Hinshelwood MM, Murry BA, Mendelson CR: Mechanisms in tissue-specific regulation of estrogen biosynthesis in humans. *Trends Endocrinol Metab* 2002;13:122-128.
3. Akhtar M, Lee-Robichaud P, Akhtar ME, Wright JN: The impact of aromatase mechanism on other P450s. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;61:127-132.
4. Lephart ED, Simpson ER, McPhaul MJ, Kilgore MW, Wilson JD, Ojeda SR: Brain aromatase cytochrome P-450 messenger RNA levels and enzyme activity during prenatal and perinatal development in the rat. *Brain Res Mol Brain Res* 1992;16:187-192.
5. Roselli CE, Resko JA: Aromatase activity in the rat brain: hormonal regulation and sex differences. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:499-508.
6. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Amarneh B, Ito Y, Fisher CR, Michael MD, et al.: Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. *Endocr Rev* 1994;15:342-355.
7. Harada N, Sasano H, Murakami H, Ohkuma T, Nagura H, Takagi Y: Localized expression of aromatase in human vascular tissues. *Circ Res* 1999;84:1285-1291.
8. Siiteri PK: Review of studies on estrogen biosynthesis in the human. *Cancer Res* 1982;42:3269s-3273s.
9. Hickey GJ, Chen SA, Besman MJ, Shively JE, Hall PF, Gaddy-Kurten D,



Richards JS: Hormonal regulation, tissue distribution, and content of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid and enzyme in rat ovarian follicles and corpora lutea: relationship to estradiol biosynthesis. *Endocrinology* 1988;122:1426-1436.

10. Abney TO: The potential roles of estrogens in regulating Leydig cell development and function: a review. *Steroids* 1999;64:610-617.

11. Doody KJ, Lorence MC, Mason JI, Simpson ER: Expression of messenger ribonucleic acid species encoding steroidogenic enzymes in human follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1041-1045.

12. Simpson ER, Zhao Y, Agarwal VR, Michael MD, Bulun SE, Hinshelwood MM, Graham-Lorence S, Sun T, Fisher CR, Qin K, Mendelson CR: Aromatase expression in health and disease. *Recent Prog Horm Res* 1997;52:185-213; discussion 213-184.

13. Carani C, Qin K, Simoni M, Faustini-Fustini M, Serpente S, Boyd J, Korach KS, Simpson ER: Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* 1997;337:91-95.

14. Robertson KM, O'Donnell L, Jones ME, Meachem SJ, Boon WC, Fisher CR, Graves KH, McLachlan RI, Simpson ER: Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp 19) gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7986-7991.

15. Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K: Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3689-3698.

16. Conley A, Hinshelwood M: Mammalian aromatases. *Reproduction*

2001;121:685-695.

17. Lauber ME, Lichtensteiger W: Pre- and postnatal ontogeny of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid expression in the male rat brain studied by in situ hybridization. *Endocrinology* 1994;135:1661-1668.

18. Shinoda K, Nagano M, Osawa Y: Neuronal aromatase expression in preoptic, strial, and amygdaloid regions during late prenatal and early postnatal development in the rat. *J Comp Neurol* 1994;343:113-129.

19. Abe-Dohmae S, Tanaka R, Harada N: Cell type- and region-specific expression of aromatase mRNA in cultured brain cells. *Brain Res Mol Brain Res* 1994;24:153-158.

20. Balthazart J, Foidart A, Surlemont C, Vockel A, Harada N: Distribution of aromatase in the brain of the Japanese quail, ring dove, and zebra finch: an immunocytochemical study. *J Comp Neurol* 1990;301:276-288.

21. Sanghera MK, Simpson ER, McPhaul MJ, Kozlowski G, Conley AJ, Lephart ED: Immunocytochemical distribution of aromatase cytochrome P450 in the rat brain using peptide-generated polyclonal antibodies. *Endocrinology* 1991;129:2834-2844.

22. Tsuruo Y, Ishimura K, Fujita H, Osawa Y: Immunocytochemical localization of aromatase-containing neurons in the rat brain during pre- and postnatal development. *Cell Tissue Res* 1994;278:29-39.

23. Negri Cesi P, Melcangi RC, Celotti F, Martini L: Aromatase activity in cultured brain cells: difference between neurons and glia. *Brain Res* 1992;589:327-332.

24. Lephart ED: Molecular aspects of brain aromatase cytochrome P450. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;61:375-380.

25. MacLusky NJ NF: Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* 1981;Mar 20;211(4488) 1294-1302.
26. Naftolin F: Brain aromatization of androgens. *J Reprod Med* 1994;39:257-261.
27. Hutchison JB, Steimer T, Hutchison RE: Area-specific hormonal regulation of brain aromatase. *Brain Res* 1991;550:95-100.
28. Balthazart J, Ball GF: New insights into the regulation and function of brain estrogen synthase (aromatase). *Trends Neurosci* 1998;21:243-249.
29. Balthazart J, Foidart A, Surlemont C, Harada N: Neuroanatomical specificity in the co-localization of aromatase and estrogen receptors. *J Neurobiol* 1991;22:143-157.
30. Jakab RL, Horvath TL, Leranth C, Harada N, Naftolin F: Aromatase immunoreactivity in the rat brain: gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septum-bed nucleus-amygdala complex. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:481-498.
31. Jakab RL, Harada N, Naftolin F: Aromatase- (estrogen synthetase) immunoreactive neurons in the rat septal area. A light and electron microscopic study. *Brain Res* 1994;664:85-93.
32. Foidart A, Harada N, Balthazart J: Aromatase-immunoreactive cells are present in mouse brain areas that are known to express high levels of aromatase activity. *Cell Tissue Res* 1995;280:561-574.
33. Zwain IH, Yen SS: Neurosteroidogenesis in astrocytes, oligodendrocytes, and neurons of cerebral cortex of rat brain. *Endocrinology* 1999;140:3843-3852.
34. Zwain IH, Yen SS, Cheng CY: Astrocytes cultured in vitro produce estradiol-17beta and express aromatase cytochrome P-450 (P-450 AROM) mRNA.

Biochim Biophys Acta 1997;1334:338-348.

35. Azcoitia I, Sierra A, Veiga S, Garcia-Segura LM: Aromatase expression by reactive astroglia is neuroprotective. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1007:298-305.

36. Garcia-Segura LM, Naftolin F, Hutchison JB, Azcoitia I, Chowen JA: Role of astroglia in estrogen regulation of synaptic plasticity and brain repair. *J Neurobiol* 1999;40:574-584.

37. Garcia-Segura LM, Wozniak A, Azcoitia I, Rodriguez JR, Hutchison RE, Hutchison JB: Aromatase expression by astrocytes after brain injury: implications for local estrogen formation in brain repair. *Neuroscience* 1999;89:567-578.

38. Peterson RS, Saldanha CJ, Schlinger BA: Rapid upregulation of aromatase mRNA and protein following neural injury in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Neuroendocrinol* 2001;13:317-323.

39. Azcoitia I, Sierra A, Veiga S, Honda S, Harada N, Garcia-Segura LM: Brain aromatase is neuroprotective. *J Neurobiol* 2001;47:318-329.

40. Azcoitia I, Fernandez-Galaz C, Sierra A, Garcia-Segura LM: Gonadal hormones affect neuronal vulnerability to excitotoxin-induced degeneration. *J Neurocytol* 1999;28:699-710.

41. Baulieu EE, Robel P, Schumacher M: Neurosteroids: beginning of the story. *Int Rev Neurobiol* 2001;46:1-32.

42. Kimoto T, Tsurugizawa T, Ohta Y, Makino J, Tamura H, Hojo Y, Takata N, Kawato S: Neurosteroid synthesis by cytochrome p450-containing systems localized in the rat brain hippocampal neurons: N-methyl-D-aspartate and calcium-dependent synthesis. *Endocrinology* 2001;142:3578-3589.

43. Stoffel-Wagner B: Neurosteroid metabolism in the human brain. *Eur J Endocrinol* 2001;145:669-679.

44. Stoffel-Wagner B, Watzka M, Steckelbroeck S, Schramm J, Bidlingmaier JF, Klingmuller D: Expression of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1, 2, 3 and 4 in the human temporal lobe. *J Endocrinol* 1999;160:119-126.
45. di Michele F, Lekieffre D, Pasini A, Bernardi G, Benavides J, Romeo E: Increased neurosteroids synthesis after brain and spinal cord injury in rats. *Neurosci Lett* 2000;284:65-68.
46. Sierra A, Azcoitia I, Garcia-Segura L: Endogenous estrogen formation is neuroprotective in model of cerebellar ataxia. *Endocrine* 2003;21:43-51.
47. Paganini-Hill A: Oestrogen replacement therapy and Alzheimer's disease. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103 Suppl 13:80-86.
48. Paganini-Hill A: Estrogen replacement therapy and stroke. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:223-242.
49. Sherwin BB: Can estrogen keep you smart? Evidence from clinical studies. *J Psychiatry Neurosci* 1999;24:315-321.
50. Yaffe K, Sawaya G, Lieberburg I, Grady D: Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. *Jama* 1998;279:688-695.
51. Saunders-Pullman R, Gordon-Elliott J, Parides M, Fahn S, Saunders HR, Bressman S: The effect of estrogen replacement on early Parkinson's disease. *Neurology* 1999;52:1417-1421.
52. Wolf OT, Kudielka BM, Hellhammer DH, Torber S, McEwen BS, Kirschbaum C: Two weeks of transdermal estradiol treatment in postmenopausal elderly women and its effect on memory and mood: verbal memory changes are associated with the treatment induced estradiol levels. *Psychoneuroendocrinology* 1999;24:727-741.

53. Costa MM, Reus VI, Wolkowitz OM, Manfredi F, Lieberman M: Estrogen replacement therapy and cognitive decline in memory-impaired post-menopausal women. *Biol Psychiatry* 1999;46:182-188.
54. Hogervorst E, Williams J, Budge M, Riedel W, Jolles J: The nature of the effect of female gonadal hormone replacement therapy on cognitive function in post-menopausal women: a meta-analysis. *Neuroscience* 2000;101:485-512.
55. Resnick SM, Maki PM: Effects of hormone replacement therapy on cognitive and brain aging. *Ann N Y Acad Sci* 2001;949:203-214.
56. Tsang KL, Ho SL, Lo SK: Estrogen improves motor disability in parkinsonian postmenopausal women with motor fluctuations. *Neurology* 2000;54:2292-2298.
57. Chowen JA, Azcoitia I, Cardona-Gomez GP, Garcia-Segura LM: Sex steroids and the brain: lessons from animal studies. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000;13:1045-1066.
58. Garcia-Segura LM, Azcoitia I, DonCarlos LL: Neuroprotection by estradiol. *Prog Neurobiol* 2001;63:29-60.
59. Green PS, Simpkins JW: Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. *Int J Dev Neurosci* 2000;18:347-358.
60. Lee SJ, McEwen BS: Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogens and their therapeutic implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:569-591.
61. Wise PM, Dubal DB, Wilson ME, Rau SW, Bottner M, Rosewell KL: Estradiol is a protective factor in the adult and aging brain: understanding of mechanisms derived from in vivo and in vitro studies. *Brain Res Brain Res Rev* 2001;37:313-319.

62. Xu X, Zhang Z: Effects of estradiol benzoate on learning-memory behavior and synaptic structure in ovariectomized mice. *Life Sci* 2006;79:1553-1560.
63. Papalexi E, Antoniou K, Kitraki E: Estrogens influence behavioral responses in a kainic acid model of neurotoxicity. *Horm Behav* 2005;48:291-302.
64. Li K, Futrell N, Tovar S, Wang LC, Wang DZ, Schultz LR: Gender influences the magnitude of the inflammatory response within embolic cerebral infarcts in young rats. *Stroke* 1996;27:498-503.
65. Roof RL, Zhang Q, Glasier MM, Stein DG: Gender-specific impairment on Morris water maze task after entorhinal cortex lesion. *Behav Brain Res* 1993;57:47-51.
66. Arimatsu Y, Hatanaka H: Estrogen treatment enhances survival of cultured fetal rat amygdala neurons in a defined medium. *Brain Res* 1986;391:151-159.
67. Brinton RD, Tran J, Proffitt P, Montoya M: 17 beta-Estradiol enhances the outgrowth and survival of neocortical neurons in culture. *Neurochem Res* 1997;22:1339-1351.
68. Sudo S, Wen TC, Desaki J, Matsuda S, Tanaka J, Arai T, Maeda N, Sakanaka M: Beta-estradiol protects hippocampal CA1 neurons against transient forebrain ischemia in gerbil. *Neurosci Res* 1997;29:345-354.
69. Miranda P, Williams CL, Einstein G: Granule cells in aging rats are sexually dimorphic in their response to estradiol. *J Neurosci* 1999;19:3316-3325.
70. Hao J, Janssen WG, Tang Y, Roberts JA, McKay H, Lasley B, Allen PB, Greengard P, Rapp PR, Kordower JH, Hof PR, Morrison JH: Estrogen increases the number of spinophilin-immunoreactive spines in the hippocampus of young and aged female rhesus monkeys. *J Comp Neurol* 2003;465:540-550.

71. Pelligrino DA, Santizo R, Baughman VL, Wang Q: Cerebral vasodilating capacity during forebrain ischemia: effects of chronic estrogen depletion and repletion and the role of neuronal nitric oxide synthase. *Neuroreport* 1998;9:3285-3291.
72. Rusa R, Alkayed NJ, Crain BJ, Traystman RJ, Kimes AS, London ED, Klaus JA, Hurn PD: 17beta-estradiol reduces stroke injury in estrogen-deficient female animals. *Stroke* 1999;30:1665-1670.
73. Brawer JR, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C: Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat. *Endocrinology* 1978;103:501-512.
74. Desjardins GC, Beaudet A, Meaney MJ, Brawer JR: Estrogen-induced hypothalamic beta-endorphin neuron loss: a possible model of hypothalamic aging. *Exp Gerontol* 1995;30:253-267.
75. Garcia-Segura LM, Veiga S, Sierra A, Melcangi RC, Azcoitia I: Aromatase: a neuroprotective enzyme. *Prog Neurobiol* 2003;71:31-41.
76. Dubal DB, Kashon ML, Pettigrew LC, Ren JM, Finklestein SP, Rau SW, Wise PM: Estradiol protects against ischemic injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1253-1258.
77. Chen J, Adachi N, Liu K, Arai T: The effects of 17beta-estradiol on ischemia-induced neuronal damage in the gerbil hippocampus. *Neuroscience* 1998;87:817-822.
78. Komenich P LD, Dickey RP: Gonadal hormones and cognitive performance. *Br J Psychol* 1978;12:1016-1037.
79. Hampson E: Variations in sex-related cognitive abilities across the menstrual cycle. *Brain Cogn* 1990;14:26-43.



80. Fluck E, File SE, Rymer J: Cognitive effects of 10 years of hormone-replacement therapy with tibolone. *J Clin Psychopharmacol* 2002;22:62-67.
81. File SE, Heard JE, Rymer J: Trough oestradiol levels associated with cognitive impairment in post-menopausal women after 10 years of oestradiol implants. *Psychopharmacology (Berl)* 2002;161:107-112.
82. Jacobs DM, Tang MX, Stern Y, Sano M, Marder K, Bell KL, Schofield P, Dooneief G, Gurland B, Mayeux R: Cognitive function in nondemented older women who took estrogen after menopause. *Neurology* 1998;50:368-373.
83. Sherwin BB: Estrogen and cognitive aging in women. *Trends Pharmacol Sci* 2002;23:527-534.
84. Zec RF, Trivedi MA: Effects of hormone replacement therapy on cognitive aging and dementia risk in postmenopausal women: a review of ongoing large-scale, long-term clinical trials. *Climacteric* 2002;5:122-134.
85. Resnick SM, Maki PM, Golski S, Kraut MA, Zonderman AB: Effects of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance. *Horm Behav* 1998;34:171-182.
86. Kampen DL, Sherwin BB: Estrogen use and verbal memory in healthy postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1994;83:979-983.
87. Grodstein F, Chen J, Pollen DA, Albert MS, Wilson RS, Folstein MF, Evans DA, Stampfer MJ: Postmenopausal hormone therapy and cognitive function in healthy older women. *J Am Geriatr Soc* 2000;48:746-752.
88. Phillips SM, Sherwin BB: Effects of estrogen on memory function in surgically menopausal women. *Psychoneuroendocrinology* 1992;17:485-495.
89. Sherwin BB: Estrogen and/or androgen replacement therapy and cognitive functioning in surgically menopausal women. *Psychoneuroendocrinology*

1988;13:345-357.

90. Hackman BW, Galbraith D: Replacement therapy and piperazine oestrone sulphate ('Harmogen') and its effect on memory. *Curr Med Res Opin* 1976;4:303-306.

91. Joffe H, Hall JE, Gruber S, Sarmiento IA, Cohen LS, Yurgelun-Todd D, Martin KA: Estrogen therapy selectively enhances prefrontal cognitive processes: a randomized, double-blind, placebo-controlled study with functional magnetic resonance imaging in perimenopausal and recently postmenopausal women. *Menopause* 2006;13:411-422.

92. Resnick SM, Metter EJ, Zonderman AB: Estrogen replacement therapy and longitudinal decline in visual memory. A possible protective effect? *Neurology* 1997;49:1491-1497.

93. Duka T, Tasker R, McGowan JF: The effects of 3-week estrogen hormone replacement on cognition in elderly healthy females. *Psychopharmacology (Berl)* 2000;149:129-139.

94. Ditkoff EC, Crary WG, Cristo M, Lobo RA: Estrogen improves psychological function in asymptomatic postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1991;78:991-995.

95. Stevens MC, Clark VP, Prestwood KM: Low-dose estradiol alters brain activity. *Psychiatry Res* 2005;139:199-217.

96. Sherwin BB: Estrogen and memory in women: how can we reconcile the findings? *Horm Behav* 2005;47:371-375.

97. Sherwin BB: Estrogenic effects on memory in women. *Ann N Y Acad Sci* 1994;743:213-230; discussion 230-211.

98. Phillips K, Silverman I: Differences in the relationship of menstrual cycle

phase to spatial performance on two- and three-dimensional tasks. *Horm Behav* 1997;32:167-175.

99. Hampson E: Estrogen-related variations in human spatial and articulatory-motor skills. *Psychoneuroendocrinology* 1990;15:97-111.

100. Mulnard RA, Cotman CW, Kawas C, van Dyck CH, Sano M, Doody R, Koss E, Pfeiffer E, Jin S, Gamst A, Grundman M, Thomas R, Thal LJ: Estrogen replacement therapy for treatment of mild to moderate Alzheimer disease: a randomized controlled trial. *Alzheimer's Disease Cooperative Study. Jama* 2000;283:1007-1015.

101. Brenner DE, Kukull WA, Stergachis A, van Belle G, Bowen JD, McCormick WC, Teri L, Larson EB: Postmenopausal estrogen replacement therapy and the risk of Alzheimer's disease: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol* 1994;140:262-267.

102. Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D: Cognitive function and endogenous sex hormones in older women. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:1289-1293.

103. Fillenbaum GG, Hanlon JT, Landerman LR, Schmader KE: Impact of estrogen use on decline in cognitive function in a representative sample of older community-resident women. *Am J Epidemiol* 2001;153:137-144.

104. Matthews K, Cauley J, Yaffe K, Zmuda JM: Estrogen replacement therapy and cognitive decline in older community women. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:518-523.

105. Binder EF, Schechtman KB, Birge SJ, Williams DB, Kohrt WM: Effects of hormone replacement therapy on cognitive performance in elderly women. *Maturitas* 2001;38:137-146.

106. MacLennan AH, Henderson VW, Paine BJ, Mathias J, Ramsay EN, Ryan

P, Stocks NP, Taylor AW: Hormone therapy, timing of initiation, and cognition in women aged older than 60 years: the REMEMBER pilot study. *Menopause* 2006;13:28-36.

107. Daniel JM, Hulst JL, Berbling JL: Estradiol replacement enhances working memory in middle-aged rats when initiated immediately after ovariectomy but not after a long-term period of ovarian hormone deprivation. *Endocrinology* 2006;147:607-614.

108. Hoskin EK, Tang MX, Manly JJ, Mayeux R: Elevated sex-hormone binding globulin in elderly women with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2004;25:141-147.

109. Asthana S, Craft S, Baker LD, Raskind MA, Birnbaum RS, Lofgreen CP, Veith RC, Plymate SR: Cognitive and neuroendocrine response to transdermal estrogen in postmenopausal women with Alzheimer's disease: results of a placebo-controlled, double-blind, pilot study. *Psychoneuroendocrinology* 1999;24:657-677.

110. Drake EB, Henderson VW, Stanczyk FZ, McCleary CA, Brown WS, Smith CA, Rizzo AA, Murdock GA, Buckwalter JG: Associations between circulating sex steroid hormones and cognition in normal elderly women. *Neurology* 2000;54:599-603.

111. Wise PM: Estrogens: protective or risk factors in brain function? *Prog Neurobiol* 2003;69:181-191.

112. Wolf OT, Kirschbaum C: Endogenous estradiol and testosterone levels are associated with cognitive performance in older women and men. *Horm Behav* 2002;41:259-266.

113. Yaffe K, Lui LY, Grady D, Cauley J, Kramer J, Cummings SR: Cognitive decline in women in relation to non-protein-bound oestradiol concentrations. *Lancet*

2000;356:708-712.

114. Moosmann B, Behl C: The antioxidant neuroprotective effects of estrogens and phenolic compounds are independent from their estrogenic properties.

Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96:8867-8872.

115. Resnick SM, Henderson VW: Hormone therapy and risk of Alzheimer disease: a critical time. *Jama* 2002;288:2170-2172.

116. Grodstein F, Clarkson TB, Manson JE: Understanding the divergent data on postmenopausal hormone therapy. *N Engl J Med* 2003;348:645-650.

117. Zandi PP, Carlson MC, Plassman BL, Welsh-Bohmer KA, Mayer LS, Steffens DC, Breitner JC: Hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the Cache County Study. *Jama* 2002;288:2123-2129.

118. Birge SJ: Hormones and the aging brain. *Geriatrics* 1998;53 Suppl 1:S28-30.

119. Kawas C, Resnick S, Morrison A, Brookmeyer R, Corrada M, Zonderman A, Bacal C, Lingle DD, Metter E: A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology* 1997;48:1517-1521.

120. Brookmeyer R, Gray S, Kawas C: Projections of Alzheimer's disease in the United States and the public health impact of delaying disease onset. *Am J Public Health* 1998;88:1337-1342.

121. Paganini-Hill A, Henderson VW: Estrogen deficiency and risk of Alzheimer's disease in women. *Am J Epidemiol* 1994;140:256-261.

122. Tang MX, Jacobs D, Stern Y, Marder K, Schofield P, Gurland B, Andrews H, Mayeux R: Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet* 1996;348:429-432.

123. Henderson VW, Paganini-Hill A, Emanuel CK, Dunn ME, Buckwalter JG: Estrogen replacement therapy in older women. Comparisons between Alzheimer's disease cases and nondemented control subjects. *Arch Neurol* 1994;51:896-900.
124. Paganini-Hill A, Henderson VW: Estrogen replacement therapy and risk of Alzheimer disease. *Arch Intern Med* 1996;156:2213-2217.
125. Waring SC, Rocca WA, Petersen RC, O'Brien PC, Tangalos EG, Kokmen E: Postmenopausal estrogen replacement therapy and risk of AD: a population-based study. *Neurology* 1999;52:965-970.
126. Hoff AL, Wieneke M, Faustman WO, Horon R, Sakuma M, Blankfeld H, Espinoza S, DeLisi LE: Sex differences in neuropsychological functioning of first-episode and chronically ill schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1998;155:1437-1439.
127. Goldstein JM, Seidman LJ, Goodman JM, Koren D, Lee H, Weintraub S, Tsuang MT: Are there sex differences in neuropsychological functions among patients with schizophrenia? *Am J Psychiatry* 1998;155:1358-1364.
128. Almeida OP, Lautenschlager NT, Vasikaran S, Leedman P, Gelavis A, Flicker L: A 20-week randomized controlled trial of estradiol replacement therapy for women aged 70 years and older: effect on mood, cognition and quality of life. *Neurobiol Aging* 2006;27:141-149.
129. Schiff R, Bulpitt CJ, Wesnes KA, Rajkumar C: Short-term transdermal estradiol therapy, cognition and depressive symptoms in healthy older women. A randomised placebo controlled pilot cross-over study. *Psychoneuroendocrinology* 2005;30:309-315.
130. Morse CA, Rice K: Memory after menopause: preliminary considerations

of hormone influence on cognitive functioning. *Arch Womens Ment Health* 2005;8:155-162.

131. Low LF, Anstey KJ, Jorm AF, Rodgers B, Christensen H: Reproductive period and cognitive function in a representative sample of naturally postmenopausal women aged 60-64 years. *Climacteric* 2005;8:380-389.

132. Zayas Jaime FJ, Elizondo Alanis LJ, Gaxiola Cueto MA, Aragon Meras E: (Effects of the hormone replacement therapy on cardiovascular system, bone mass and memory in climacteric patients). *Ginecol Obstet Mex* 2004;72:16-22.

133. Shumaker SA, Legault C, Rapp SR, Thal L, Wallace RB, Ockene JK, Hendrix SL, Jones BN, 3rd, Assaf AR, Jackson RD, Kotchen JM, Wassertheil-Smoller S, Wactawski-Wende J: Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *Jama* 2003;289:2651-2662.

134. Rapp SR, Espeland MA, Shumaker SA, Henderson VW, Brunner RL, Manson JE, Gass ML, Stefanick ML, Lane DS, Hays J, Johnson KC, Coker LH, Dailey M, Bowen D: Effect of estrogen plus progestin on global cognitive function in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *Jama* 2003;289:2663-2672.

135. Roof RL: The dentate gyrus is sexually dimorphic in prepubescent rats: testosterone plays a significant role. *Brain Res* 1993;610:148-151.

136. Warren SG, Juraska JM: Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behav Neurosci* 1997;111:259-266.

137. Rissanen A, Puolivali J, van Groen T, Riekkinen P, Jr.: In mice tonic estrogen replacement therapy improves non-spatial and spatial memory in a water

maze task. *Neuroreport* 1999;10:1369-1372.

138. Packard MG, Kohlmaier JR, Alexander GM: Posttraining intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: interaction with cholinergic systems. *Behav Neurosci* 1996;110:626-632.

139. Packard MG, Teather LA: Intra-hippocampal estradiol infusion enhances memory in ovariectomized rats. *Neuroreport* 1997;8:3009-3013.

140. Kondo Y, Suzuki K, Sakuma Y: Estrogen alleviates cognitive dysfunction following transient brain ischemia in ovariectomized gerbils. *Neurosci Lett* 1997;238:45-48.

141. O'Neal MF, Means LW, Poole MC, Hamm RJ: Estrogen affects performance of ovariectomized rats in a two-choice water-escape working memory task. *Psychoneuroendocrinology* 1996;21:51-65.

142. Packard MG: Posttraining estrogen and memory modulation. *Horm Behav* 1998;34:126-139.

143. Sandstrom NJ, Williams CL: Memory retention is modulated by acute estradiol and progesterone replacement. *Behav Neurosci* 2001;115:384-393.

144. Yamada K, Tanaka T, Zou LB, Senzaki K, Yano K, Osada T, Ana O, Ren X, Kameyama T, Nabeshima T: Long-term deprivation of oestrogens by ovariectomy potentiates beta-amyloid-induced working memory deficits in rats. *Br J Pharmacol* 1999;128:419-427.

145. Chesler EJ, Juraska JM: Acute administration of estrogen and progesterone impairs the acquisition of the spatial morris water maze in ovariectomized rats. *Horm Behav* 2000;38:234-242.

146. Foster TC, Sharrow KM, Kumar A, Masse J: Interaction of age and chronic estradiol replacement on memory and markers of brain aging. *Neurobiol*



Aging 2003;24:839-852.

147. Frye CA: Estrus-associated decrements in a water maze task are limited to acquisition. *Physiol Behav* 1995;57:5-14.

148. Fugger HN, Cunningham SG, Rissman EF, Foster TC: Sex differences in the activational effect of ERalpha on spatial learning. *Horm Behav* 1998;34:163-170.

149. Galea LA, Kavaliers M, Ossenkopp KP: Sexually dimorphic spatial learning in meadow voles *Microtus pennsylvanicus* and deer mice *Peromyscus maniculatus*. *J Exp Biol* 1996;199:195-200.

150. Galea LA, Kavaliers M, Ossenkopp KP, Hampson E: Gonadal hormone levels and spatial learning performance in the Morris water maze in male and female meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Horm Behav* 1995;29:106-125.

151. Galea LA, Ormerod BK, Sampath S, Kostaras X, Wilkie DM, Phelps MT: Spatial working memory and hippocampal size across pregnancy in rats. *Horm Behav* 2000;37:86-95.

152. Singh M, Meyer EM, Millard WJ, Simpkins JW: Ovarian steroid deprivation results in a reversible learning impairment and compromised cholinergic function in female Sprague-Dawley rats. *Brain Res* 1994;644:305-312.

153. Berry B, McMahan R, Gallagher M: Spatial learning and memory at defined points of the estrous cycle: effects on performance of a hippocampal-dependent task. *Behav Neurosci* 1997;111:267-274.

154. Day M, Sung A, Logue S, Bowlby M, Arias R: Beta estrogen receptor knockout (BERKO) mice present attenuated hippocampal CA1 long-term potentiation and related memory deficits in contextual fear conditioning. *Behav Brain Res* 2005;164:128-131.

155. Rissman EF, Wersinger SR, Fugger HN, Foster TC: Sex with knockout

models: behavioral studies of estrogen receptor alpha. *Brain Res* 1999;835:80-90.

156. Daniel JM, Roberts SL, Dohanich GP: Effects of ovarian hormones and environment on radial maze and water maze performance of female rats. *Physiol Behav* 1999;66:11-20.

157. Bimonte HA, Denenberg VH: Estradiol facilitates performance as working memory load increases. *Psychoneuroendocrinology* 1999;24:161-173.

158. Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, Singh M, de Fiebre NC, Rajakumar G: Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. *Am J Med* 1997;103:19S-25S.

159. Fader AJ, Johnson PE, Dohanich GP: Estrogen improves working but not reference memory and prevents amnesic effects of scopolamine of a radial-arm maze. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;62:711-717.

160. Jahng JW, Cho HJ, Kim JG, Kim NY, Lee S, Lee YS: Ovariectomy ameliorates dextromethorphan--induced memory impairment in young female rats. *J Cell Mol Med* 2006;10:166-173.

161. Lannert H, Wirtz P, Schuhmann V, Galmbacher R: Effects of Estradiol (-17beta) on learning, memory and cerebral energy metabolism in male rats after intracerebroventricular administration of streptozotocin. *J Neural Transm* 1998;105:1045-1063.

162. Lacreuse A, Herndon JG: Estradiol selectively affects processing of conspecifics' faces in female rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 2003;28:885-905.

163. Lacreuse A, Verreault M, Herndon JG: Fluctuations in spatial recognition memory across the menstrual cycle in female rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology* 2001;26:623-639.

164. Voytko ML: The effects of long-term ovariectomy and estrogen replacement therapy on learning and memory in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Behav Neurosci* 2000;114:1078-1087.
165. Rapp PR, Morrison JH, Roberts JA: Cyclic estrogen replacement improves cognitive function in aged ovariectomized rhesus monkeys. *J Neurosci* 2003;23:5708-5714.
166. Lacreuse A, Wilson ME, Herndon JG: Estradiol, but not raloxifene, improves aspects of spatial working memory in aged ovariectomized rhesus monkeys. *Neurobiol Aging* 2002;23:589-600.
167. Shughrue PJ, Lane MV, Merchenthaler I: Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 1997;388:507-525.
168. Woolley CS: Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav* 1998;34:140-148.
169. Toran-Allerand CD, Singh M, Setalo G, Jr.: Novel mechanisms of estrogen action in the brain: new players in an old story. *Front Neuroendocrinol* 1999;20:97-121.
170. Luine VN, Khylichevskaya RI, McEwen BS: Effect of gonadal steroids on activities of monoamine oxidase and choline acetylase in rat brain. *Brain Res* 1975;86:293-306.
171. Shughrue PJ, Merchenthaler I: Distribution of estrogen receptor beta immunoreactivity in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 2001;436:64-81.
172. Adams MM, Fink SE, Shah RA, Janssen WG, Hayashi S, Milner TA, McEwen BS, Morrison JH: Estrogen and aging affect the subcellular distribution of estrogen receptor-alpha in the hippocampus of female rats. *J Neurosci* 2002;22:3608-

3614.

173. Petersen DN, Tkalcevic GT, Koza-Taylor PH, Turi TG, Brown TA: Identification of estrogen receptor beta2, a functional variant of estrogen receptor beta expressed in normal rat tissues. *Endocrinology* 1998;139:1082-1092.

174. Rao BR: Isolation and characterization of an estrogen binding protein which may integrate the plethora of estrogenic actions in non-reproductive organs. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1998;65:3-41.

175. Register TC, Shively CA, Lewis CE: Expression of estrogen receptor alpha and beta transcripts in female monkey hippocampus and hypothalamus. *Brain Res* 1998;788:320-322.

176. Shughrue P, Scrimo P, Lane M, Askew R, Merchenthaler I: The distribution of estrogen receptor-beta mRNA in forebrain regions of the estrogen receptor-alpha knockout mouse. *Endocrinology* 1997;138:5649-5652.

177. Shughrue PJ, Lane MV, Scrimo PJ, Merchenthaler I: Comparative distribution of estrogen receptor-alpha (ER-alpha) and beta (ER-beta) mRNA in the rat pituitary, gonad, and reproductive tract. *Steroids* 1998;63:498-504.

178. Markowska AL, Savonenko AV: Effectiveness of estrogen replacement in restoration of cognitive function after long-term estrogen withdrawal in aging rats. *J Neurosci* 2002;22:10985-10995.

179. Fugger HN, Foster TC, Gustafsson J, Rissman EF: Novel effects of estradiol and estrogen receptor alpha and beta on cognitive function. *Brain Res* 2000;883:258-264.

180. Toran-Allerand CD, Guan X, MacLusky NJ, Horvath TL, Diano S, Singh M, Connolly ES, Jr., Nethrapalli IS, Tinnikov AA: ER-X: a novel, plasma membrane-associated, putative estrogen receptor that is regulated during

development and after ischemic brain injury. *J Neurosci* 2002;22:8391-8401.

181. Luine VN, Jacome LF, Maclusky NJ: Rapid enhancement of visual and place memory by estrogens in rats. *Endocrinology* 2003;144:2836-2844.

182. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER: A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* 2005;307:1625-1630.

183. Sawai T, Bernier F, Fukushima T, Hashimoto T, Ogura H, Nishizawa Y: Estrogen induces a rapid increase of calcium-calmodulin-dependent protein kinase II activity in the hippocampus. *Brain Res* 2002;950:308-311.

184. Setalo G, Jr., Singh M, Guan X, Toran-Allerand CD: Estradiol-induced phosphorylation of ERK1/2 in explants of the mouse cerebral cortex: the roles of heat shock protein 90 (Hsp90) and MEK2. *J Neurobiol* 2002;50:1-12.

185. Sharrow KM, Kumar A, Foster TC: Calcineurin as a potential contributor in estradiol regulation of hippocampal synaptic function. *Neuroscience* 2002;113:89-97.

186. Shingo AS, Kito S: Estrogen induces elevation of cAMP-dependent protein kinase activity in immortalized hippocampal neurons: imaging in living cells. *J Neural Transm* 2002;109:171-174.

187. Singh M, Setalo G, Jr., Guan X, Frail DE, Toran-Allerand CD: Estrogen-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade in the cerebral cortex of estrogen receptor-alpha knock-out mice. *J Neurosci* 2000;20:1694-1700.

188. Mize AL, Alper RH: Acute and long-term effects of 17beta-estradiol on G(i/o) coupled neurotransmitter receptor function in the female rat brain as assessed by agonist-stimulated (35S)GTPgammaS binding. *Brain Res* 2000;859:326-333.

189. Mize AL, Alper RH: Rapid uncoupling of serotonin-1A receptors in rat

hippocampus by 17beta-estradiol in vitro requires protein kinases A and C. *Neuroendocrinology* 2002;76:339-347.

190. Moss RL, Gu Q: Estrogen: mechanisms for a rapid action in CA1 hippocampal neurons. *Steroids* 1999;64:14-21.

191. Razandi M, Pedram A, Park ST, Levin ER: Proximal events in signaling by plasma membrane estrogen receptors. *J Biol Chem* 2003;278:2701-2712.

192. Kelly MJ, Qiu J, Ronnekleiv OK: Estrogen modulation of G-protein-coupled receptor activation of potassium channels in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1007:6-16.

193. Bi R, Broutman G, Foy MR, Thompson RF, Baudry M: The tyrosine kinase and mitogen-activated protein kinase pathways mediate multiple effects of estrogen in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:3602-3607.

194. Nilsen J, Chen S, Brinton RD: Dual action of estrogen on glutamate-induced calcium signaling: mechanisms requiring interaction between estrogen receptors and src/mitogen activated protein kinase pathway. *Brain Res* 2002;930:216-234.

195. Shupnik MA: Crosstalk between steroid receptors and the c-Src-receptor tyrosine kinase pathways: implications for cell proliferation. *Oncogene* 2004;23:7979-7989.

196. Bi R, Foy MR, Thompson RF, Baudry M: Effects of estrogen, age, and calpain on MAP kinase and NMDA receptors in female rat brain. *Neurobiol Aging* 2003;24:977-983.

197. Lee SJ, Campomanes CR, Sikat PT, Greenfield AT, Allen PB, McEwen BS: Estrogen induces phosphorylation of cyclic AMP response element binding (pCREB) in primary hippocampal cells in a time-dependent manner. *Neuroscience*

2004;124:549-560.

198. Giovannini MG, Efooudebe M, Passani MB, Baldi E, Bucherelli C, Giachi F, Corradetti R, Blandina P: Improvement in fear memory by histamine-elicited ERK2 activation in hippocampal CA3 cells. *J Neurosci* 2003;23:9016-9023.

199. Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL: Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem* 2003;80:178-193.

200. Quevedo J, Vianna M, Daroit D, Born AG, Kuyven CR, Roesler R, Quillfeldt JA: L-type voltage-dependent calcium channel blocker nifedipine enhances memory retention when infused into the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 1998;69:320-325.

201. Roozendaal B, Quirarte GL, McGaugh JL: Glucocorticoids interact with the basolateral amygdala beta-adrenoceptor--cAMP/cAMP/PKA system in influencing memory consolidation. *Eur J Neurosci* 2002;15:553-560.

202. Foster TC: Interaction of rapid signal transduction cascades and gene expression in mediating estrogen effects on memory over the life span. *Front Neuroendocrinol* 2005;26:51-64.

203. Nakamura NH, Rosell DR, Akama KT, McEwen BS: Estrogen and ovariectomy regulate mRNA and protein of glutamic acid decarboxylases and cation-chloride cotransporters in the adult rat hippocampus. *Neuroendocrinology* 2004;80:308-323.

204. Prange-Kiel J, Wehrenberg U, Jarry H, Rune GM: Para/autocrine regulation of estrogen receptors in hippocampal neurons. *Hippocampus* 2003;13:226-234.

205. Wilson ME, Rosewell KL, Kashon ML, Shughrue PJ, Merchenthaler I, Wise PM: Age differentially influences estrogen receptor-alpha (ERalpha) and

estrogen receptor-beta (ERbeta) gene expression in specific regions of the rat brain. *Mech Ageing Dev* 2002;123:593-601.

206. Chakraborty TR, Ng L, Gore AC: Age-related changes in estrogen receptor beta in rat hypothalamus: a quantitative analysis. *Endocrinology* 2003;144:4164-4171.

207. Ishunina TA, Swaab DF: Increased expression of estrogen receptor alpha and beta in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001;22:417-426.

208. Carswell HV, Macrae IM, Gallagher L, Harrop E, Horsburgh KJ: Neuroprotection by a selective estrogen receptor beta agonist in a mouse model of global ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:H1501-1504.

209. Zhao L, Wu TW, Brinton RD: Estrogen receptor subtypes alpha and beta contribute to neuroprotection and increased Bcl-2 expression in primary hippocampal neurons. *Brain Res* 2004;1010:22-34.

210. Lim HJ, Lim CJ, Hwang DY, Lee SH, Min SH, Song YS, Seo SJ, Park HK, Sheen YY, Cho JS, Kim YK: Carboxyl-terminus of the amyloid protein precursor and ERbeta are required for estrogenic effect in activating mitogen-activated protein kinase. *Int J Mol Med* 2004;13:691-696.

211. Abraham IM, Han SK, Todman MG, Korach KS, Herbison AE: Estrogen receptor beta mediates rapid estrogen actions on gonadotropin-releasing hormone neurons in vivo. *J Neurosci* 2003;23:5771-5777.

212. Wang L, Andersson S, Warner M, Gustafsson JA: Morphological abnormalities in the brains of estrogen receptor beta knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:2792-2796.

213. Zhang QH, Huang YH, Hu YZ, Wei GZ, Han XF, Lu SY, Zhao YF:



Disruption of estrogen receptor beta in mice brain results in pathological alterations resembling Alzheimer disease. *Acta Pharmacol Sin* 2004;25:452-457.

214. Foster TC, Sharrow KM, Masse JR, Norris CM, Kumar A: Calcineurin links Ca<sup>2+</sup> dysregulation with brain aging. *J Neurosci* 2001;21:4066-4073.

215. Weiland NG, Orikasa C, Hayashi S, McEwen BS: Distribution and hormone regulation of estrogen receptor immunoreactive cells in the hippocampus of male and female rats. *J Comp Neurol* 1997;388:603-612.

216. Boon WC, Diepstraten J, van der Burg J, Jones ME, Simpson ER, van den Buuse M: Hippocampal NMDA receptor subunit expression and watermaze learning in estrogen deficient female mice. *Brain Res Mol Brain Res* 2005;140:127-132.

217. Cordoba Montoya DA, Carrer HF: Estrogen facilitates induction of long term potentiation in the hippocampus of awake rats. *Brain Res* 1997;778:430-438.

218. Foy MR, Xu J, Xie X, Brinton RD, Thompson RF, Berger TW: 17beta-estradiol enhances NMDA receptor-mediated EPSPs and long-term potentiation. *J Neurophysiol* 1999;81:925-929.

219. Vouimba RM, Foy MR, Foy JG, Thompson RF: 17beta-estradiol suppresses expression of long-term depression in aged rats. *Brain Res Bull* 2000;53:783-787.

220. Cardona-Gomez GP, DonCarlos L, Garcia-Segura LM: Insulin-like growth factor I receptors and estrogen receptors colocalize in female rat brain. *Neuroscience* 2000;99:751-760.

221. Azcoitia I, Sierra A, Garcia-Segura LM: Neuroprotective effects of estradiol in the adult rat hippocampus: interaction with insulin-like growth factor-I signalling. *J Neurosci Res* 1999;58:815-822.

222. Bi R, Foy MR, Vouimba RM, Thompson RF, Baudry M: Cyclic changes in estradiol regulate synaptic plasticity through the MAP kinase pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:13391-13395.
223. Kim JS, Kim HY, Kim JH, Shin HK, Lee SH, Lee YS, Son H: Enhancement of rat hippocampal long-term potentiation by 17 beta-estradiol involves mitogen-activated protein kinase-dependent and -independent components. *Neurosci Lett* 2002;332:65-69.
224. Kuroki Y, Fukushima K, Kanda Y, Mizuno K, Watanabe Y: Neuroprotection by estrogen via extracellular signal-regulated kinase against quinolinic acid-induced cell death in the rat hippocampus. *Eur J Neurosci* 2001;13:472-476.
225. Kuroki Y, Fukushima K, Kanda Y, Mizuno K, Watanabe Y: Putative membrane-bound estrogen receptors possibly stimulate mitogen-activated protein kinase in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 2000;400:205-209.
226. Manthey D, Heck S, Engert S, Behl C: Estrogen induces a rapid secretion of amyloid beta precursor protein via the mitogen-activated protein kinase pathway. *Eur J Biochem* 2001;268:4285-4291.
227. Mize AL, Shapiro RA, Dorsa DM: Estrogen receptor-mediated neuroprotection from oxidative stress requires activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. *Endocrinology* 2003;144:306-312.
228. Wade CB, Dorsa DM: Estrogen activation of cyclic adenosine 5'-monophosphate response element-mediated transcription requires the extracellularly regulated kinase/mitogen-activated protein kinase pathway. *Endocrinology* 2003;144:832-838.
229. Zhen X, Uryu K, Cai G, Johnson GP, Friedman E: Age-associated

impairment in brain MAPK signal pathways and the effect of caloric restriction in Fischer 344 rats. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1999;54:B539-548.

230. Roth GS, Joseph JA, Mason RP: Membrane alterations as causes of impaired signal transduction in Alzheimer's disease and aging. *Trends Neurosci* 1995;18:203-206.

231. Bollig A, Miksicek RJ: An estrogen receptor-alpha splicing variant mediates both positive and negative effects on gene transcription. *Mol Endocrinol* 2000;14:634-649.

232. Raap DK, DonCarlos L, Garcia F, Muma NA, Wolf WA, Battaglia G, Van de Kar LD: Estrogen desensitizes 5-HT(1A) receptors and reduces levels of G(z), G(i1) and G(i3) proteins in the hypothalamus. *Neuropharmacology* 2000;39:1823-1832.

233. Zhou Y, Watters JJ, Dorsa DM: Estrogen rapidly induces the phosphorylation of the cAMP response element binding protein in rat brain. *Endocrinology* 1996;137:2163-2166.

234. Murphy DD, Segal M: Morphological plasticity of dendritic spines in central neurons is mediated by activation of cAMP response element binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:1482-1487.

235. Panickar KS, Guan G, King MA, Rajakumar G, Simpkins JW: 17beta-estradiol attenuates CREB decline in the rat hippocampus following seizure. *J Neurobiol* 1997;33:961-967.

236. Watters JJ, Dorsa DM: Transcriptional effects of estrogen on neuronal neurotensin gene expression involve cAMP/protein kinase A-dependent signaling mechanisms. *J Neurosci* 1998;18:6672-6680.

237. Walton MR, Dragunow I: Is CREB a key to neuronal survival? *Trends*

Neurosci 2000;23:48-53.

238. Pozzo-Miller LD, Inoue T, Murphy DD: Estradiol increases spine density and NMDA-dependent Ca<sup>2+</sup> transients in spines of CA1 pyramidal neurons from hippocampal slices. *J Neurophysiol* 1999;81:1404-1411.

239. Beyer C, Raab H: Nongenomic effects of oestrogen: embryonic mouse midbrain neurones respond with a rapid release of calcium from intracellular stores. *Eur J Neurosci* 1998;10:255-262.

240. Berger-Sweeney J, Arnold A, Gabeau D, Mills J: Sex differences in learning and memory in mice: effects of sequence of testing and cholinergic blockade. *Behav Neurosci* 1995;109:859-873.

241. Luine VN, McEwen BS: Sex differences in cholinergic enzymes of diagonal band nuclei in the rat preoptic area. *Neuroendocrinology* 1983;36:475-482.

242. Baskin DS, Browning JL, Pirozzolo FJ, Korporaal S, Baskin JA, Appel SH: Brain choline acetyltransferase and mental function in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999;56:1121-1123.

243. McEwen BS, Alves SE, Bulloch K, Weiland NG: Ovarian steroids and the brain: implications for cognition and aging. *Neurology* 1997;48:S8-15.

244. Gibbs RB: Oestrogen and the cholinergic hypothesis: implications for oestrogen replacement therapy in postmenopausal women. *Novartis Found Symp* 2000;230:94-107; discussion 107-111.

245. Gibbs RB, Nelson D, Anthony MS, Clarkson TB: Effects of long-term hormone replacement and of tibolone on choline acetyltransferase and acetylcholinesterase activities in the brains of ovariectomized, cynomolgus monkeys. *Neuroscience* 2002;113:907-914.

246. Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR: Alzheimer

disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* 1981;10:122-126.

247. Luine VN: Estradiol increases choline acetyltransferase activity in specific basal forebrain nuclei and projection areas of female rats. *Exp Neurol* 1985;89:484-490.

248. Dumas J, Hancur-Bucci C, Naylor M, Sites C, Newhouse P: Estrogen treatment effects on anticholinergic-induced cognitive dysfunction in normal postmenopausal women. *Neuropsychopharmacology* 2006;31:2065-2078.

249. Daniel JM, Hulst JL, Lee CD: Role of hippocampal M2 muscarinic receptors in the estrogen-induced enhancement of working memory. *Neuroscience* 2005;132:57-64.

250. Di Paolo T: Modulation of brain dopamine transmission by sex steroids. *Rev Neurosci* 1994;5:27-41.

251. Canuso CM, Goldstein JM, Green AI: The evaluation of women with schizophrenia. *Psychopharmacol Bull* 1998;34:271-277.

252. Curran-Rauhut MA, Petersen SL: Oestradiol-dependent and -independent modulation of tyrosine hydroxylase mRNA levels in subpopulations of A1 and A2 neurones with oestrogen receptor (ER)alpha and ER beta gene expression. *J Neuroendocrinol* 2003;15:296-303.

253. Hou Y, Yang SP, Voogt JL: Changes in estrogen receptor-alpha expression in hypothalamic dopaminergic neurons during proestrous prolactin surge. *Endocrine* 2003;20:131-138.

254. Pohjalainen T, Rinne JO, Nagren K, Syvalahti E, Hietala J: Sex differences in the striatal dopamine D2 receptor binding characteristics in vivo. *Am J Psychiatry* 1998;155:768-773.

255. Serova LI, Maharjan S, Huang A, Sun D, Kaley G, Sabban EL: Response of tyrosine hydroxylase and GTP cyclohydrolase I gene expression to estrogen in brain catecholaminergic regions varies with mode of administration. *Brain Res* 2004;1015:1-8.
256. Schuligoi R, Fernandez J, Heavens RP, Sirinathsinghji DJ: Decreased tyrosine hydroxylase mRNA but not cholecystokinin mRNA in the pars compacta of the substantia nigra and ventral tegmental area of aged rats. *Brain Res Mol Brain Res* 1993;19:333-338.
257. Gupta M, Stoler MH, Fossom LH, Tank AW: Tyrosine hydroxylase mRNA in the dopaminergic neurons of young adult and aged mice by in situ hybridization. *Neurosci Lett* 1990;119:49-52.
258. Himi T, Cao M, Mori N: Reduced expression of the molecular markers of dopaminergic neuronal atrophy in the aging rat brain. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1995;50:B193-200.
259. Bannon MJ, Poesch MS, Xia Y, Goebel DJ, Cassin B, Kapatos G: Dopamine transporter mRNA content in human substantia nigra decreases precipitously with age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:7095-7099.
260. Amin Z, Gueorguieva R, Cappiello A, Czarkowski KA, Stiklus S, Anderson GM, Naftolin F, Epperson CN: Estradiol and Tryptophan Depletion Interact to Modulate Cognition in Menopausal Women. *Neuropsychopharmacology* 2006.
261. Daniel JM, Sulzer JK, Hulst JL: Estrogen increases the sensitivity of ovariectomized rats to the disruptive effects produced by antagonism of D2 but not D1 dopamine receptors during performance of a response learning task. *Horm Behav* 2006;49:38-44.

262. Disshon KA, Boja JW, Dluzen DE: Inhibition of striatal dopamine transporter activity by 17beta-estradiol. *Eur J Pharmacol* 1998;345:207-211.
263. Disshon KA, Dluzen DE: Estrogen as a neuromodulator of MPTP-induced neurotoxicity: effects upon striatal dopamine release. *Brain Res* 1997;764:9-16.
264. Disshon KA, Dluzen DE: Estrogen reduces acute striatal dopamine responses in vivo to the neurotoxin MPP+ in female, but not male rats. *Brain Res* 2000;868:95-104.
265. Dluzen D: Estrogen decreases corpus striatal neurotoxicity in response to 6-hydroxydopamine. *Brain Res* 1997;767:340-344.
266. Dluzen DE: Neuroprotective effects of estrogen upon the nigrostriatal dopaminergic system. *J Neurocytol* 2000;29:387-399.
267. Dluzen DE, McDermott JL, Liu B: Estrogen alters MPTP-induced neurotoxicity in female mice: effects on striatal dopamine concentrations and release. *J Neurochem* 1996;66:658-666.
268. Dluzen DE, McDermott JL, Liu B: Estrogen as a neuroprotectant against MPTP-induced neurotoxicity in C57/B1 mice. *Neurotoxicol Teratol* 1996;18:603-606.
269. Callier S, Morissette M, Grandbois M, Di Paolo T: Stereospecific prevention by 17beta-estradiol of MPTP-induced dopamine depletion in mice. *Synapse* 2000;37:245-251.
270. Yu YL, Wagner GC: Influence of gonadal hormones on sexual differences in sensitivity to methamphetamine-induced neurotoxicity. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1994;8:215-221.
271. Miller DB, Ali SF, O'Callaghan JP, Laws SC: The impact of gender and

estrogen on striatal dopaminergic neurotoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1998;844:153-165.

272. Trimble MR: Anticonvulsant drugs and cognitive function: a review of the literature. *Epilepsia* 1987;28 Suppl 3:S37-45.

273. Kandel ER SJ, Jessel TM.: *Principles of Neural Science*. ed 4, New York, Mc Graww-Hill Comp., 2000.

274. Ganong WF: *Tıbbi Fizyoloji*. ed 20. baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2002.

275. Knowlton BJ, Fanselow MS: The hippocampus, consolidation and on-line memory. *Curr Opin Neurobiol* 1998;8:293-296.

276. Carpenter MB SJ: *Human Neuroanatomy* ed 8 Baltimore, Williams & Wilkins Press 1983.

277. Taner D: *Fonksiyonel Anatomi*. Ankara, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş-Metu Press-Yayınları, 1998.

278. Guyton AC, Hall, J.E.: *Tıbbi Fizyoloji*. ed 9, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 1996.

279. Morris R: Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat,. *J. Neurosci. Methods* 1984; 11:47-60.

280. Moser E, Moser MB, Andersen P: Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J Neurosci* 1993;13:3916-3925.

281. Moser MB, Moser EI, Forrest E, Andersen P, Morris RG: Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:9697-9701.

282. Gallagher M HPC: Preserved configural learning and spatial learning



impairment in rats with hippocampal damage. *Hippocampus* 1992;2:81-88.

283. Poucet B, Save E, Lenck-Santini PP: Sensory and memory properties of hippocampal place cells. *Rev Neurosci* 2000;11:95-111.

284. Riedel G, Micheau J, Lam AG, Roloff EL, Martin SJ, Bridge H, de Hoz L, Poeschel B, McCulloch J, Morris RG: Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nat Neurosci* 1999;2:898-905.

285. Cremer H, Chazal G, Lledo PM, Rougon G, Montaron MF, Mayo W, Le Moal M, Abrous DN: PSA-NCAM: an important regulator of hippocampal plasticity. *Int J Dev Neurosci* 2000;18:213-220.

286. Thomsen NK, Soroka V, Jensen PH, Berezin V, Kiselyov VV, Bock E, Poulsen FM: The three-dimensional structure of the first domain of neural cell adhesion molecule. *Nat Struct Biol* 1996;3:581-585.

287. Cremer H, Chazal G, Carleton A, Goridis C, Vincent JD, Lledo PM: Long-term but not short-term plasticity at mossy fiber synapses is impaired in neural cell adhesion molecule-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:13242-13247.

288. Cremer H, Chazal G, Goridis C, Represa A: NCAM is essential for axonal growth and fasciculation in the hippocampus. *Mol Cell Neurosci* 1997;8:323-335.

289. Murase S, Schuman EM: The role of cell adhesion molecules in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Cell Biol* 1999;11:549-553.

290. Luthi A, Mohajeri H, Schachner M, Laurent JP: Reduction of hippocampal long-term potentiation in transgenic mice ectopically expressing the neural cell adhesion molecule L1 in astrocytes. *J Neurosci Res* 1996;46:1-6.

291. Doherty P, Walsh FS: CAM-FGF receptor interactions: a model for axonal growth. *Mol Cell Neurosci* 1996;8:99-111.
292. Holst BD, Vanderklish PW, Krushel LA, Zhou W, Langdon RB, McWhirter JR, Edelman GM, Crossin KL: Allosteric modulation of AMPA-type glutamate receptors increases activity of the promoter for the neural cell adhesion molecule, N-CAM. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:2597-2602.
293. Edelman GM, Crossin KL: Cell adhesion molecules: implications for a molecular histology. *Annu Rev Biochem* 1991;60:155-190.
294. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM: Hippocampal NCAM180 transiently increases sialylation during the acquisition and consolidation of a passive avoidance response in the adult rat. *J Neurosci Res* 1992;31:513-523.
295. Doyle E, Nolan PM, Bell R, Regan CM: Intraventricular infusions of anti-neural cell adhesion molecules in a discrete posttraining period impair consolidation of a passive avoidance response in the rat. *J Neurochem* 1992;59:1570-1573.
296. Chuong CM, Edelman GM: Alterations in neural cell adhesion molecules during development of different regions of the nervous system. *J Neurosci* 1984;4:2354-2368.
297. De Stefano ME, Leone L, Paggi P: Polysialylated neural cell adhesion molecule is involved in the neuroplasticity induced by axonal injury in the avian ciliary ganglion. *Neuroscience* 2001;103:1093-1104.
298. Tzeng SF, Cheng H, Lee YS, Wu JP, Hoffer BJ, Kuo JS: Expression of neural cell adhesion molecule in spinal cords following a complete transection. *Life Sci* 2001;68:1005-1012.
299. Dityatev A, Dityateva G, Schachner M: Synaptic strength as a function of

post- versus presynaptic expression of the neural cell adhesion molecule NCAM. *Neuron* 2000;26:207-217.

300. Andersson AM, Olsen M, Zhernosekov D, Gaardsvoll H, Krog L, Linnemann D, Bock E: Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem J* 1993;290 ( Pt 3):641-648.

301. Ronn LC, Hartz BP, Bock E: The neural cell adhesion molecule (NCAM) in development and plasticity of the nervous system. *Exp Gerontol* 1998;33:853-864.

302. Poltorak M, Frye MA, Wright R, Hemperly JJ, George MS, Pazzaglia PJ, Jerrels SA, Post RM, Freed WJ: Increased neural cell adhesion molecule in the CSF of patients with mood disorder. *J Neurochem* 1996;66:1532-1538.

303. Le Gal La Salle G, Rougon G, Valin A: The embryonic form of neural cell surface molecule (E-NCAM) in the rat hippocampus and its reexpression on glial cells following kainic acid-induced status epilepticus. *J Neurosci* 1992;12:872-882.

304. Cotman CW, Hailer NP, Pfister KK, Soltesz I, Schachner M: Cell adhesion molecules in neural plasticity and pathology: similar mechanisms, distinct organizations? *Prog Neurobiol* 1998;55:659-669.

305. Davis GW, Schuster CM, Goodman CS: Genetic dissection of structural and functional components of synaptic plasticity. III. CREB is necessary for presynaptic functional plasticity. *Neuron* 1996;17:669-679.

306. Doherty P, Walsh FS: Signal transduction events underlying neurite outgrowth stimulated by cell adhesion molecules. *Curr Opin Neurobiol* 1994;4:49-55.

307. Frei T, von Bohlen und Halbach F, Wille W, Schachner M: Different extracellular domains of the neural cell adhesion molecule (N-CAM) are involved in

different functions. *J Cell Biol* 1992;118:177-194.

308. Thiery JP, Duband JL, Delouvee A: Pathways and mechanisms of avian trunk neural crest cell migration and localization. *Dev Biol* 1982;93:324-343.

309. Maier CE, Watanabe M, Singer M, McQuarrie IG, Sunshine J, Rutishauser U: Expression and function of neural cell adhesion molecule during limb regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986;83:8395-8399.

310. Martini R, Schachner M: Immunoelectron microscopic localization of neural cell adhesion molecules (L1, N-CAM, and myelin-associated glycoprotein) in regenerating adult mouse sciatic nerve. *J Cell Biol* 1988;106:1735-1746.

311. Nieke J, Schachner M: Expression of the neural cell adhesion molecules L1 and N-CAM and their common carbohydrate epitope L2/HNK-1 during development and after transection of the mouse sciatic nerve. *Differentiation* 1985;30:141-151.

312. Murray BA, Hemperly JJ, Prediger EA, Edelman GM, Cunningham BA: Alternatively spliced mRNAs code for different polypeptide chains of the chicken neural cell adhesion molecule (N-CAM). *J Cell Biol* 1986;102:189-193.

313. Nybroe O, Albrechtsen M, Dahlin J, Linnemann D, Lyles JM, Moller CJ, Bock E: Biosynthesis of the neural cell adhesion molecule: characterization of polypeptide C. *J Cell Biol* 1985;101:2310-2315.

314. Rafuse VF, Polo-Parada L, Landmesser LT: Structural and functional alterations of neuromuscular junctions in NCAM-deficient mice. *J Neurosci* 2000;20:6529-6539.

315. Linnemann D, Skarsfelt T: Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain. *Neurobiol Aging* 1994;15:651-655.

316. Scholey AB, Mileusnic R, Schachner M, Rose SP: A role for a chicken

homolog of the neural cell adhesion molecule L1 in consolidation of memory for a passive avoidance task in the chick. *Learn Mem* 1995;2:17-25.

317. Cremer H, Lange R, Christoph A, Plomann M, Vopper G, Roes J, Brown R, Baldwin S, Kraemer P, Scheff S, et al.: Inactivation of the N-CAM gene in mice results in size reduction of the olfactory bulb and deficits in spatial learning. *Nature* 1994;367:455-459.

318. Becker CG, Artola A, Gerardy-Schahn R, Becker T, Welzl H, Schachner M: The polysialic acid modification of the neural cell adhesion molecule is involved in spatial learning and hippocampal long-term potentiation. *J Neurosci Res* 1996;45:143-152.

319. Bailey CH, Kandel ER: Structural changes accompanying memory storage. *Annu Rev Physiol* 1993;55:397-426.

320. Brewer GJ: Neuronal plasticity and stressor toxicity during aging. *Exp Gerontol* 2000;35:1165-1183.

321. Fields RD, Itoh K: Neural cell adhesion molecules in activity-dependent development and synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 1996;19:473-480.

322. Crossin KL, Krushel LA: Cellular signaling by neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Dev Dyn* 2000;218:260-279.

323. Schachner M: Neural recognition molecules and synaptic plasticity. *Curr Opin Cell Biol* 1997;9:627-634.

324. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T: Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sci* 2003;73:1907-1916.

325. Sharma M, Gupta YK: Effect of chronic treatment of melatonin on

learning, memory and oxidative deficiencies induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2001;70:325-331.

326. Escames G, Guerrero JM, Reiter RJ, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A, Ortiz GG, Oh CS: Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Neurosci Lett* 1997;230:147-150.

327. Kiss JZ, Rougon G: Cell biology of polysialic acid. *Curr Opin Neurobiol* 1997;7:640-646.

328. Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S: Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Ann N Y Acad Sci* 2001;928:168-175.

329. Carneiro RC, Reiter RJ: Melatonin protects against lipid peroxidation induced by delta-aminolevulinic acid in rat cerebellum, cortex and hippocampus. *Neuroscience* 1998;82:293-299.

330. Krog L, Olsen M, Dalseg AM, Roth J, Bock E: Characterization of soluble neural cell adhesion molecule in rat brain, CSF, and plasma. *J Neurochem* 1992;59:838-847.

331. Schuster T, Krug M, Hassan H, Schachner M: Increase in proportion of hippocampal spine synapses expressing neural cell adhesion molecule NCAM180 following long-term potentiation. *J Neurobiol* 1998;37:359-372.

332. O'Connell AW, Fox GB, Barry T, Murphy KJ, Fichera G, Foley AG, Kelly J, Regan CM: Spatial learning activates neural cell adhesion molecule polysialylation in a corticohippocampal pathway within the medial temporal lobe. *J Neurochem* 1997;68:2538-2546.

333. Kiss JZ: A role of adhesion molecules in neuroglial plasticity. *Mol Cell Endocrinol* 1998;140:89-94.

334. Fox GB, O'Connell AW, Murphy KJ, Regan CM: Memory consolidation induces a transient and time-dependent increase in the frequency of neural cell adhesion molecule polysialylated cells in the adult rat hippocampus. *J Neurochem* 1995;65:2796-2799.
335. D'Hooge R, De Deyn PP: Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev* 2001;36:60-90.
336. Nothias F, Vernier P, von Boxberg Y, Mirman S, Vincent JD: Modulation of NCAM polysialylation is associated with morphofunctional modifications in the hypothalamo-neurohypophysial system during lactation. *Eur J Neurosci* 1997;9:1553-1565.
337. Ronn LC, Berezin V, Bock E: The neural cell adhesion molecule in synaptic plasticity and ageing. *Int J Dev Neurosci* 2000;18:193-199.
338. Kadmon G, Kowitz A, Altevogt P, Schachner M: The neural cell adhesion molecule N-CAM enhances L1-dependent cell-cell interactions. *J Cell Biol* 1990;110:193-208.
339. Regan CM, Fox GB: Polysialylation as a regulator of neural plasticity in rodent learning and aging. *Neurochem Res* 1995;20:593-598.
340. Rafuse VF, Landmesser L: Contractile activity regulates isoform expression and polysialylation of NCAM in cultured myotubes: involvement of Ca<sup>2+</sup> and protein kinase C. *J Cell Biol* 1996;132:969-983.
341. Abrous DN, Montaron MF, Petry KG, Rougon G, Darnaudery M, Le Moal M, Mayo W: Decrease in highly polysialylated neuronal cell adhesion molecules and in spatial learning during ageing are not correlated. *Brain Res* 1997;744:285-292.
342. Ronn LC, Bock E, Linnemann D, Jahnsen H: NCAM-antibodies

modulate induction of long-term potentiation in rat hippocampal CA1. *Brain Res* 1995;677:145-151.

343. Brodie A, Lu Q, Long B: Aromatase and its inhibitors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;69:205-210.

344. Mokbel K: The evolving role of aromatase inhibitors in breast cancer. *Int J Clin Oncol* 2002;7:279-283.

345. Simpson ER, Dowsett M: Aromatase and its inhibitors: significance for breast cancer therapy. *Recent Prog Horm Res* 2002;57:317-338.

346. Goss PE, Strasser K: Aromatase inhibitors in the treatment and prevention of breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:881-894.

347. Kao YC, Cam LL, Laughton CA, Zhou D, Chen S: Binding characteristics of seven inhibitors of human aromatase: a site-directed mutagenesis study. *Cancer Res* 1996;56:3451-3460.

348. Gadducci A, Biglia N, Sismondi P, Genazzani AR: Breast cancer and sex steroids: critical review of epidemiological, experimental and clinical investigations on etiopathogenesis, chemoprevention and endocrine treatment of breast cancer. *Gynecol Endocrinol* 2005;20:343-360.

349. Campos SM: Aromatase inhibitors for breast cancer in postmenopausal women. *Oncologist* 2004;9:126-136.

350. Ellis MJ, Coop A, Singh B, Mauriac L, Llombert-Cussac A, Janicke F, Miller WR, Evans DB, Dugan M, Brady C, Quebe-Fehling E, Borgs M: Letrozole is more effective neoadjuvant endocrine therapy than tamoxifen for ErbB-1- and/or ErbB-2-positive, estrogen receptor-positive primary breast cancer: evidence from a phase III randomized trial. *J Clin Oncol* 2001;19:3808-3816.

351. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y, Perez-Carrion R, Boni C,



Monnier A, Apffelstaedt J, Smith R, Sleeboom HP, Janicke F, Pluzanska A, Dank M, Becquart D, Bapsy PP, Salminen E, Snyder R, Lassus M, Verbeek JA, Staffler B, Chaudri-Ross HA, Dugan M: Superior efficacy of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy for postmenopausal women with advanced breast cancer: results of a phase III study of the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol* 2001;19:2596-2606.

352. Bonneterre J, Buzdar A, Nabholz JM, Robertson JF, Thurlimann B, von Euler M, Sahnoud T, Webster A, Steinberg M: Anastrozole is superior to tamoxifen as first-line therapy in hormone receptor positive advanced breast carcinoma. *Cancer* 2001;92:2247-2258.

353. Berstein L, Kovalevskij A, Zimarina T, Maximov S, Gershfeld E, Vasilyev D, Baisheva S, Baymakhasheva A, Thijssen JH: Aromatase and comparative response to its inhibitors in two types of endometrial cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005;95:71-74.

354. Shozu M, Murakami K, Segawa T, Kasai T, Inoue M: Successful treatment of a symptomatic uterine leiomyoma in a perimenopausal woman with a nonsteroidal aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 2003;79:628-631.

355. de Ziegler D: The dawning of the non-cancer uses of aromatase inhibitors in gynaecology. *Hum Reprod* 2003;18:1598-1602.

356. de Ziegler D, Mattenberger C, Schwarz C, Ibecheole V, Fournet N, Bianchi-Demicheli F: New tools for optimizing endometrial receptivity in controlled ovarian hyperstimulation: aromatase inhibitors and LH/(mini)hCG. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1034:262-277.

357. Mitwally MF, Casper RF: Aromatase inhibition improves ovarian response to follicle-stimulating hormone in poor responders. *Fertil Steril*

2002;77:776-780.

358. Shippen ER, West WJ, Jr.: Successful treatment of severe endometriosis in two premenopausal women with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 2004;81:1395-1398.

359. Takayama K, Zeitoun K, Gunby RT, Sasano H, Carr BR, Bulun SE: Treatment of severe postmenopausal endometriosis with an aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 1998;69:709-713.

360. Vigano P, Mangioni S, Odorizzi MP, Chiodini A, Rocca S, Chiodo I: Use of estrogen antagonists and aromatase inhibitors in endometriosis. *Curr Opin Investig Drugs* 2003;4:1209-1212.

361. Colussi DM, Parisot CY, Lefevre GY: Plasma protein binding of letrozole, a new nonsteroidal aromatase enzyme inhibitor. *J Clin Pharmacol* 1998;38:727-735.

362. Sioufi A, Gauducheau N, Pineau V, Marfil F, Jaouen A, Cardot JM, Godbillon J, Czendlik C, Howald H, Pfister C, Vreeland F: Absolute bioavailability of letrozole in healthy postmenopausal women. *Biopharm Drug Dispos* 1997;18:779-789.

363. Sioufi A, Sandrenan N, Godbillon J, Trunet P, Czendlik C, Howald H, Pfister C, Ezzet F: Comparative bioavailability of letrozole under fed and fasting conditions in 12 healthy subjects after a 2.5 mg single oral administration. *Biopharm Drug Dispos* 1997;18:489-497.

364. Pfister CU, Martoni A, Zamagni C, Lelli G, De Braud F, Souppart C, Duval M, Hornberger U: Effect of age and single versus multiple dose pharmacokinetics of letrozole (Femara) in breast cancer patients. *Biopharm Drug Dispos* 2001;22:191-197.

365. B. Wirz BV, A. Parkinson, A. Madan, A. Probst, A. Zimmerlin, J. Gut CYP3A4 and CYP2A6 are involved in the biotransformation of letrozole (Femara). In Proceedings of the Seventh North American ISSX Meeting. San Diego, USA, 1996.
366. C.U. Pfister MD, T. Iveson, P. Mueller, A. Sioufi and P. Trunet: Pharmacokinetics of a new aromatase inhibitor CGS20267. Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokin 1993;18 Suppl 117.
367. Haynes BP, Dowsett M, Miller WR, Dixon JM, Bhatnagar AS: The pharmacology of letrozole. J Steroid Biochem Mol Biol 2003;87:35-45.
368. Bhatnagar AS, Brodie AM, Long BJ, Evans DB, Miller WR: Intracellular aromatase and its relevance to the pharmacological efficacy of aromatase inhibitors. J Steroid Biochem Mol Biol 2001;76:199-202.
369. Bhatnagar AS, Hausler A, Schieweck K, Lang M, Bowman R: Highly selective inhibition of estrogen biosynthesis by CGS 20267, a new non-steroidal aromatase inhibitor. J Steroid Biochem Mol Biol 1990;37:1021-1027.
370. Odum J, Ashby J: Detection of aromatase inhibitors in vitro using rat ovary microsomes. Toxicol Lett 2002;129:119-122.
371. Long BJ, Tilghman SL, Yue W, Thiantanawat A, Grigoryev DN, Brodie AM: The steroidal antiestrogen ICI 182,780 is an inhibitor of cellular aromatase activity. J Steroid Biochem Mol Biol 1998;67:293-304.
372. Lu Q, Liu Y, Long BJ, Grigoryev D, Gimbel M, Brodie A: The effect of combining aromatase inhibitors with antiestrogens on tumor growth in a nude mouse model for breast cancer. Breast Cancer Res Treat 1999;57:183-192.
373. Miller WR: Biology of aromatase inhibitors: pharmacology/endocrinology within the breast. Endocr Relat Cancer 1999;6:187-

195.

374. Bhatnagar AS, Batzl C, Hausler A, Nogues V: The role of estrogen in the feedback regulation of follicle-stimulating hormone secretion in the female rat. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;47:161-166.

375. Schieweck K, Bhatnagar AS, Batzl C, Lang M: Anti-tumor and endocrine effects of non-steroidal aromatase inhibitors on estrogen-dependent rat mammary tumors. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993;44:633-636.

376. Sinha S, Kasetta J, Santner SJ, Demers LM, Bremmer WJ, Santen RJ: Effect of CGS 20267 on ovarian aromatase and gonadotropin levels in the rat. *Breast Cancer Res Treat* 1998;48:45-51.

377. Lee K, Macaulay VM, Nicholls JE, Detre S, Ashworth A, Dowsett M: An in vivo model of intratumoural aromatase using aromatase-transfected MCF7 human breast cancer cells. *Int J Cancer* 1995;62:297-302.

378. Lu Q, Yue W, Wang J, Liu Y, Long B, Brodie A: The effects of aromatase inhibitors and antiestrogens in the nude mouse model. *Breast Cancer Res Treat* 1998;50:63-71.

379. Markovits JE, Sahota PS: Aromatase inhibitors prevent spontaneous granular cell tumors in the distal female reproductive tract of Sprague-Dawley rats. *Toxicol Pathol* 2000;28:799-801.

380. D.E. Gunson RB, P.S. Sahota and H. Han Hsu: Inhibition of spontaneous mammary tumours by CGS 20267, an aromatase inhibitor, in female Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Pathol.* 1996;24:789.

381. Jones AL, MacNeill F, Jacobs S, Lonning PE, Dowsett M, Powles TJ: The influence of intramuscular 4-hydroxyandrostenedione on peripheral aromatisation in breast cancer patients. *Eur J Cancer* 1992;28A:1712-1716.

382. MacNeill FA, Jones AL, Jacobs S, Lonning PE, Powles TJ, Dowsett M: The influence of aminoglutethimide and its analogue rogletimide on peripheral aromatisation in breast cancer. *Br J Cancer* 1992;66:692-697.

383. Lonning PE, Jacobs S, Jones A, Haynes B, Powles T, Dowsett M: The influence of CGS 16949A on peripheral aromatisation in breast cancer patients. *Br J Cancer* 1991;63:789-793.

384. Dowsett M, Jones A, Johnston SR, Jacobs S, Trunet P, Smith IE: In vivo measurement of aromatase inhibition by letrozole (CGS 20267) in postmenopausal patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 1995;1:1511-1515.

385. Geisler J, King N, Anker G, Ornati G, Di Salle E, Lonning PE, Dowsett M: In vivo inhibition of aromatization by exemestane, a novel irreversible aromatase inhibitor, in postmenopausal breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 1998;4:2089-2093.

386. Geisler J, King N, Dowsett M, Ottestad L, Lundgren S, Walton P, Kormeset PO, Lonning PE: Influence of anastrozole (Arimidex), a selective, non-steroidal aromatase inhibitor, on in vivo aromatisation and plasma oestrogen levels in postmenopausal women with breast cancer. *Br J Cancer* 1996;74:1286-1291.

387. Iveson TJ, Smith IE, Ahern J, Smithers DA, Trunet PF, Dowsett M: Phase I study of the oral nonsteroidal aromatase inhibitor CGS 20267 in postmenopausal patients with advanced breast cancer. *Cancer Res* 1993;53:266-270.

388. Lipton A, Demers LM, Harvey HA, Kambic KB, Grossberg H, Brady C, Adlercruetz H, Trunet PF, Santen RJ: Letrozole (CGS 20267). A phase I study of a new potent oral aromatase inhibitor of breast cancer. *Cancer* 1995;75:2132-2138.

389. Demers LM: Effects of Fadrozole (CGS 16949A) and Letrozole (CGS 20267) on the inhibition of aromatase activity in breast cancer patients. *Breast*

Cancer Res Treat 1994;30:95-102.

390. Geisler J, Haynes B, Anker G, Dowsett M, Lonning PE: Influence of letrozole and anastrozole on total body aromatization and plasma estrogen levels in postmenopausal breast cancer patients evaluated in a randomized, cross-over study. *J Clin Oncol* 2002;20:751-757.

391. van Landeghem AA, Poortman J, Nabuurs M, Thijssen JH: Endogenous concentration and subcellular distribution of estrogens in normal and malignant human breast tissue. *Cancer Res* 1985;45:2900-2906.

392. James VH, Reed MJ, Lai LC, Ghilchik MW, Tait GH, Newton CJ, Coldham NG: Regulation of estrogen concentrations in human breast tissues. *Ann N Y Acad Sci* 1990;595:227-235.

393. Masamura S, Santner SJ, Gimotty P, George J, Santen RJ: Mechanism for maintenance of high breast tumor estradiol concentrations in the absence of ovarian function: role of very high affinity tissue uptake. *Breast Cancer Res Treat* 1997;42:215-226.

394. Santner SJ, Feil PD, Santen RJ: In situ estrogen production via the estrone sulfatase pathway in breast tumors: relative importance versus the aromatase pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;59:29-33.

395. Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar S, Moudgal RN: Effect of estrogen deprivation on the reproductive physiology of male and female primates. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;61:157-166.

396. Mitwally MF, Casper RF: Use of an aromatase inhibitor for induction of ovulation in patients with an inadequate response to clomiphene citrate. *Fertil Steril* 2001;75:305-309.

397. Bajetta E, Zilembo N, Dowsett M, Guillevin L, Di Leo A, Celio L,

Martinetti A, Marchiano A, Pozzi P, Stani S, Bichisao E: Double-blind, randomised, multicentre endocrine trial comparing two letrozole doses, in postmenopausal breast cancer patients. *Eur J Cancer* 1999;35:208-213.

398. Bisagni G, Cocconi G, Scaglione F, Fraschini F, Pfister C, Trunet PF: Letrozole, a new oral non-steroidal aromatase inhibitor in treating postmenopausal patients with advanced breast cancer. A pilot study. *Ann Oncol* 1996;7:99-102.

399. Heshmati HM, Khosla S, Robins SP, O'Fallon WM, Melton LJ, 3rd, Riggs BL: Role of low levels of endogenous estrogen in regulation of bone resorption in late postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2002;17:172-178.

400. Harper-Wynne C, Ross G, Sacks N, Salter J, Nasiri N, Iqbal J, A'Hern R, Dowsett M: Effects of the aromatase inhibitor letrozole on normal breast epithelial cell proliferation and metabolic indices in postmenopausal women: a pilot study for breast cancer prevention. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:614-621.

401. Elisaf MS, Bairaktari ET, Nicolaidis C, Kakaidi B, Tzallas CS, Katsaraki A, Pavlidis NA: Effect of letrozole on the lipid profile in postmenopausal women with breast cancer. *Eur J Cancer* 2001;37:1510-1513.

402. Bajetta E, Ferrari L, Celio L, Mariani L, Miceli R, Di Leo A, Zilembo N, Buzzoni R, Spagnoli I, Martinetti A, Bichisao E, Seregni E: The aromatase inhibitor letrozole in advanced breast cancer: effects on serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3 levels. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1997;63:261-267.

403. Jenkins V, Shilling V, Fallowfield L, Howell A, Hutton S: Does hormone therapy for the treatment of breast cancer have a detrimental effect on memory and cognition? A pilot study. *Psychooncology* 2004;13:61-66.

404. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S: The use of the Morris Water Maze in

the study of memory and learning. *Int J Neurosci* 1989;48:29-69.

405. Baydas G, Ozveren F, Tuzcu M, Yasar A: Effects of thinner exposure on the expression pattern of neural cell adhesion molecules, level of lipid peroxidation in the brain and cognitive function in rats. *Eur J Pharmacol* 2005;512:181-187.

406. Kutlu S, Yilmaz B, Canpolat S, Sandal S, Ozcan M, Kumru S, Kelestimur H: Mu opioid modulation of oxytocin secretion in late pregnant and parturient rats. Involvement of noradrenergic neurotransmission. *Neuroendocrinology* 2004;79:197-203.

407. Sadeh D, Sela E, Hexter CS: Novel enzyme immunoassay for 17 beta-estradiol. *J Immunol Methods* 1979;28:125-131.

408. Kafali H, Iriadam M, Ozardali I, Demir N: Letrazole-induced polycystic ovaries in the rat: a new model for cystic ovarian disease. *Arch Med Res* 2004;35:103-108.

409. Yue W, Wang J, Savinov A, Brodie A: Effect of aromatase inhibitors on growth of mammary tumors in a nude mouse model. *Cancer Res* 1995;55:3073-3077.

410. Iino Y, Karakida T, Sugamata N, Andoh T, Takei H, Takahashi M, Yaguchi S, Matsuno T, Takehara M, Sakato M, Kawashima S, Morishita Y: Antitumor effects of SEF19, a new nonsteroidal aromatase inhibitor, on 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in rats. *Anticancer Res* 1998;18:171-176.

411. Nunez NP, Jelovac D, Macedo L, Berrigan D, Perkins SN, Hursting SD, Barrett JC, Brodie A: Effects of the antiestrogen tamoxifen and the aromatase inhibitor letrazole on serum hormones and bone characteristics in a preclinical tumor model for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2004;10:5375-5380.



412. Duff SJ, Hampson E: A beneficial effect of estrogen on working memory in postmenopausal women taking hormone replacement therapy. *Horm Behav* 2000;38:262-276.
413. Frick KM, Fernandez SM, Bulinski SC: Estrogen replacement improves spatial reference memory and increases hippocampal synaptophysin in aged female mice. *Neuroscience* 2002;115:547-558.
414. Vaucher E, Reymond I, Najaffe R, Kar S, Quirion R, Miller MM, Franklin KB: Estrogen effects on object memory and cholinergic receptors in young and old female mice. *Neurobiol Aging* 2002;23:87-95.
415. Gibbs RB: Impairment of basal forebrain cholinergic neurons associated with aging and long-term loss of ovarian function. *Exp Neurol* 1998;151:289-302.
416. Daniel JM, Fader AJ, Spencer AL, Dohanich GP: Estrogen enhances performance of female rats during acquisition of a radial arm maze. *Horm Behav* 1997;32:217-225.
417. Gulinello M, Lebesgue D, Jover-Mengual T, Zukin RS, Etgen AM: Acute and chronic estradiol treatments reduce memory deficits induced by transient global ischemia in female rats. *Horm Behav* 2006;49:246-260.
418. Rhodes ME, Frye CA: ERbeta-selective SERMs produce mnemonic-enhancing effects in the inhibitory avoidance and water maze tasks. *Neurobiol Learn Mem* 2006;85:183-191.
419. Resnick SM, Maki PM, Rapp SR, Espeland MA, Brunner R, Coker LH, Granek IA, Hogan P, Ockene JK, Shumaker SA: Effects of combination estrogen plus progestin hormone treatment on cognition and affect. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1802-1810.
420. Iivonen S, Heikkinen T, Puolivali J, Helisalmi S, Hiltunen M, Soininen

H, Tanila H: Effects of estradiol on spatial learning, hippocampal cytochrome P450 19, and estrogen alpha and beta mRNA levels in ovariectomized female mice. *Neuroscience* 2006;137:1143-1152.

421. Ziegler DR, Gallagher M: Spatial memory in middle-aged female rats: assessment of estrogen replacement after ovariectomy. *Brain Res* 2005;1052:163-173.

422. Rissman EF, Heck AL, Leonard JE, Shupnik MA, Gustafsson JA: Disruption of estrogen receptor beta gene impairs spatial learning in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:3996-4001.

423. Wilson IA, Puolivali J, Heikkinen T, Riekkinen P, Jr.: Estrogen and NMDA receptor antagonism: effects upon reference and working memory. *Eur J Pharmacol* 1999;381:93-99.

424. Luine VN, Richards ST, Wu VY, Beck KD: Estradiol enhances learning and memory in a spatial memory task and effects levels of monoaminergic neurotransmitters. *Horm Behav* 1998;34:149-162.

425. Luine V, Rodriguez M: Effects of estradiol on radial arm maze performance of young and aged rats. *Behav Neural Biol* 1994;62:230-236.

426. Daniel JM, Lee CD: Estrogen replacement in ovariectomized rats affects strategy selection in the Morris water maze. *Neurobiol Learn Mem* 2004;82:142-149.

427. Korol DL, Kolo LL: Estrogen-induced changes in place and response learning in young adult female rats. *Behav Neurosci* 2002;116:411-420.

428. Packard MG, McGaugh JL: Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiol Learn Mem* 1996;65:65-72.

429. McDonald RJ, White NM: Information acquired by the hippocampus interferes with acquisition of the amygdala-based conditioned-cue preference in the rat. *Hippocampus* 1995;5:189-197.

430. Muller D, Djebbara-Hannas Z, Jourdain P, Vutskits L, Durbec P, Rougon G, Kiss JZ: Brain-derived neurotrophic factor restores long-term potentiation in polysialic acid-neural cell adhesion molecule-deficient hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:4315-4320.

431. Staubli U, Chun D, Lynch G: Time-dependent reversal of long-term potentiation by an integrin antagonist. *J Neurosci* 1998;18:3460-3469.

432. Eckhardt M, Bukalo O, Chazal G, Wang L, Goridis C, Schachner M, Gerardy-Schahn R, Cremer H, Dityatev A: Mice deficient in the polysialyltransferase ST8SiaIV/PST-1 allow discrimination of the roles of neural cell adhesion molecule protein and polysialic acid in neural development and synaptic plasticity. *J Neurosci* 2000;20:5234-5244.

433. Rutishauser U, Landmesser L: Polysialic acid in the vertebrate nervous system: a promoter of plasticity in cell-cell interactions. *Trends Neurosci* 1996;19:422-427.

434. Luthl A, Laurent JP, Figurov A, Muller D, Schachner M: Hippocampal long-term potentiation and neural cell adhesion molecules L1 and NCAM. *Nature* 1994;372:777-779.

435. Arami S, Jucker M, Schachner M, Welzl H: The effect of continuous intraventricular infusion of L1 and NCAM antibodies on spatial learning in rats. *Behav Brain Res* 1996;81:81-87.

436. Fux CM, Krug M, Dityatev A, Schuster T, Schachner M: NCAM180 and glutamate receptor subtypes in potentiated spine synapses: an immunogold electron

microscopic study. *Mol Cell Neurosci* 2003;24:939-950.

437. Parducz A, Perez J, Garcia-Segura LM: Estradiol induces plasticity of gabaergic synapses in the hypothalamus. *Neuroscience* 1993;53:395-401.

438. Naftolin F, Leranath C, Perez J, Garcia-Segura LM: Estrogen induces synaptic plasticity in adult primate neurons. *Neuroendocrinology* 1993;57:935-939.

439. Olmos G, Naftolin F, Perez J, Tranque PA, Garcia-Segura LM: Synaptic remodeling in the rat arcuate nucleus during the estrous cycle. *Neuroscience* 1989;32:663-667.

440. Horvath TL, Garcia-Segura LM, Naftolin F: Control of gonadotropin feedback: the possible role of estrogen-induced hypothalamic synaptic plasticity. *Gynecol Endocrinol* 1997;11:139-143.

441. Galea LA, Perrot-Sinal TS, Kavaliers M, Ossenkopp KP: Relations of hippocampal volume and dentate gyrus width to gonadal hormone levels in male and female meadow voles. *Brain Res* 1999;821:383-391.

442. Galea LA, McEwen BS: Sex and seasonal differences in the rate of cell proliferation in the dentate gyrus of adult wild meadow voles. *Neuroscience* 1999;89:955-964.

443. Ormerod BK, Galea LA: Reproductive status influences cell proliferation and cell survival in the dentate gyrus of adult female meadow voles: a possible regulatory role for estradiol. *Neuroscience* 2001;102:369-379.

444. Woolley CS, McEwen BS: Estradiol mediates fluctuation in hippocampal synapse density during the estrous cycle in the adult rat. *J Neurosci* 1992;12:2549-2554.

445. Woolley CS, McEwen BS: Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat.

J Comp Neurol 1993;336:293-306.

446. Li C, Brake WG, Romeo RD, Dunlop JC, Gordon M, Buzescu R, Magarinos AM, Allen PB, Greengard P, Luine V, McEwen BS: Estrogen alters hippocampal dendritic spine shape and enhances synaptic protein immunoreactivity and spatial memory in female mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101:2185-2190.

447. Tanapat P, Hastings NB, Reeves AJ, Gould E: Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. J Neurosci 1999;19:5792-5801.

448. Yoshida K, Rutishauser U, Crandall JE, Schwarting GA: Polysialic acid facilitates migration of luteinizing hormone-releasing hormone neurons on vomeronasal axons. J Neurosci 1999;19:794-801.

449. Murakami S, Seki T, Rutishauser U, Arai Y: Enzymatic removal of polysialic acid from neural cell adhesion molecule perturbs the migration route of luteinizing hormone-releasing hormone neurons in the developing chick forebrain. J Comp Neurol 2000;420:171-181.

450. Theodosis DT, Bonhomme R, Vitiello S, Rougon G, Poulain DA: Cell surface expression of polysialic acid on NCAM is a prerequisite for activity-dependent morphological neuronal and glial plasticity. J Neurosci 1999;19:10228-10236.

451. Theodosis DT, El Majdoubi M, Pierre K, Poulain DA: Factors governing activity-dependent structural plasticity of the hypothalamoneurohypophysial system. Cell Mol Neurobiol 1998;18:285-298.

452. Theodosis DT, Rougon G, Poulain DA: Retention of embryonic features by an adult neuronal system capable of plasticity: polysialylated neural cell adhesion molecule in the hypothalamo-neurohypophysial system. Proc Natl Acad Sci U S A

1991;88:5494-5498.

453. Bonfanti L, Olive S, Poulain DA, Theodosia DT: Mapping of the distribution of polysialylated neural cell adhesion molecule throughout the central nervous system of the adult rat: an immunohistochemical study. *Neuroscience* 1992;49:419-436.

454. Alonso G, Prieto M, Legrand A, Chauvet N: PSA-NCAM and B-50/GAP-43 are coexpressed by specific neuronal systems of the adult rat mediobasal hypothalamus that exhibit remarkable capacities for morphological plasticity. *J Comp Neurol* 1997;384:181-199.

455. Perera AD, Lagenaur CF, Plant TM: Postnatal expression of polysialic acid-neural cell adhesion molecule in the hypothalamus of the male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Endocrinology* 1993;133:2729-2735.

456. Schwanzel-Fukuda M, Reinhard GR, Abraham S, Crossin KL, Edelman GM, Pfaff DW: Antibody to neural cell adhesion molecule can disrupt the migration of luteinizing hormone-releasing hormone neurons into the mouse brain. *J Comp Neurol* 1994;342:174-185.

457. Schwanzel-Fukuda M, Abraham S, Crossin KL, Edelman GM, Pfaff DW: Immunocytochemical demonstration of neural cell adhesion molecule (NCAM) along the migration route of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons in mice. *J Comp Neurol* 1992;321:1-18.

458. Hoyk Z, Parducz A, Theodosia DT: The highly sialylated isoform of the neural cell adhesion molecule is required for estradiol-induced morphological synaptic plasticity in the adult arcuate nucleus. *Eur J Neurosci* 2001;13:649-656.

459. Banasr M, Hery M, Brezun JM, Daszuta A: Serotonin mediates oestrogen stimulation of cell proliferation in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci*

2001;14:1417-1424.

460. Parkash J, Kaur G: Neuronal-glia plasticity in gonadotropin-releasing hormone release in adult female rats: role of the polysialylated form of the neural cell adhesion molecule. *J Endocrinol* 2005;186:397-409.

461. Bhat S, Silberberg DH: Oligodendrocyte cell adhesion molecules are related to neural cell adhesion molecule (N-CAM). *J Neurosci* 1986;6:3348-3354.

462. Massaro AR: The role of NCAM in remyelination. *Neurol Sci* 2002;22:429-435.

463. Pandaranandaka J, Poonyachoti S, Kalandakanond-Thongsong S: Anxiolytic property of estrogen related to the changes of the monoamine levels in various brain regions of ovariectomized rats. *Physiol Behav* 2006;87:828-835.

464. Fabre-Nys C: Steroid control of monoamines in relation to sexual behaviour. *Rev Reprod* 1998;3:31-41.

465. Maeda T, Ikegami H, Sakata M, Yamaguchi M, Wada K, Koike K, Adachi K, Kurachi H, Hirota K, Miyake A: Intraventricular administration of estradiol modulates rat prolactin secretion and synthesis. *J Endocrinol Invest* 1996;19:586-592.

466. Bowman RE, Ferguson D, Luine VN: Effects of chronic restraint stress and estradiol on open field activity, spatial memory, and monoaminergic neurotransmitters in ovariectomized rats. *Neuroscience* 2002;113:401-410.

467. Heikkinen T, Puolivali J, Liu L, Rissanen A, Tanila H: Effects of ovariectomy and estrogen treatment on learning and hippocampal neurotransmitters in mice. *Horm Behav* 2002;41:22-32.

468. Toriizuka K, Okumura M, Iijima K, Haruyama K, Cyong JC: Acupuncture inhibits the decrease in brain catecholamine contents and the

impairment of passive avoidance task in ovariectomized mice. *Acupunct Electrother Res* 1999;24:45-57.

469. Luine V, Bowling D, Hearn M: Spatial memory deficits in aged rats: contributions of monoaminergic systems. *Brain Res* 1990;537:271-278.

470. Etgen AM, USvPN: Estradiol and progesterone modulation of norepinephrine neurotransmission: implications for the regulation of female reproductive behavior. *Journal of Neuroendocrinology* 1992;4:255-271.

471. Shimizu H, Bray GA: Effects of castration, estrogen replacement and estrus cycle on monoamine metabolism in the nucleus accumbens, measured by microdialysis. *Brain Res* 1993;621:200-206.

472. Manickam P, Joy KP: Changes in hypothalamic catecholamine levels in relation to season, ovariectomy, and 17 beta-estradiol replacement in the catfish, *Clarias batrachus* (L.). *Gen Comp Endocrinol* 1990;80:167-174.

473. Senthilkumaran B, Joy KP: Changes in hypothalamic catecholamines, dopamine-beta-hydroxylase, and phenylethanolamine-N-methyltransferase in the catfish *Heteropneustes fossilis* in relation to season, raised photoperiod and temperature, ovariectomy, and estradiol-17 beta replacement. *Gen Comp Endocrinol* 1995;97:121-134.

474. Dluzen D, Horstink M: Estrogen as neuroprotectant of nigrostriatal dopaminergic system: laboratory and clinical studies. *Endocrine* 2003;21:67-75.

475. Xiao L, Becker JB: Quantitative microdialysis determination of extracellular striatal dopamine concentration in male and female rats: effects of estrous cycle and gonadectomy. *Neurosci Lett* 1994;180:155-158.

476. Becker JB, Rudick CN: Rapid effects of estrogen or progesterone on the amphetamine-induced increase in striatal dopamine are enhanced by estrogen



priming: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav* 1999;64:53-57.

477. Kritzer MF, Adler A, Bethea CL: Ovarian hormone influences on the density of immunoreactivity for tyrosine hydroxylase and serotonin in the primate corpus striatum. *Neuroscience* 2003;122:757-772.

478. Arvin M, Fedorkova L, Disshon KA, Dluzen DE, Leipheimer RE: Estrogen modulates responses of striatal dopamine neurons to MPP(+): evaluations using in vitro and in vivo techniques. *Brain Res* 2000;872:160-171.

479. Dluzen DE, Anderson LI: Estrogen differentially modulates nicotine-evoked dopamine release from the striatum of male and female rats. *Neurosci Lett* 1997;230:140-142.

480. Becker JB: Direct effect of 17 beta-estradiol on striatum: sex differences in dopamine release. *Synapse* 1990;5:157-164.

481. Pasqualini C, Olivier V, Guibert B, Frain O, Leviel V: Acute stimulatory effect of estradiol on striatal dopamine synthesis. *J Neurochem* 1995;65:1651-1657.

482. Di Paolo T, Dupont A, Daigle M: Effect of chronic estradiol treatment on dopamine concentrations in discrete brain nuclei of hypophysectomized female rats. *Neurosci Lett* 1982;32:295-300.

483. Leranth C, Roth RH, Elsworth JD, Naftolin F, Horvath TL, Redmond DE, Jr.: Estrogen is essential for maintaining nigrostriatal dopamine neurons in primates: implications for Parkinson's disease and memory. *J Neurosci* 2000;20:8604-8609.

484. Levesque D, Di Paolo T: Chronic estradiol treatment increases ovariectomized rat striatal D-1 dopamine receptors. *Life Sci* 1989;45:1813-1820.

485. Di Paolo T, Poyet P, Labrie F: Effect of chronic estradiol and haloperidol treatment on striatal dopamine receptors. *Eur J Pharmacol* 1981;73:105-106.

486. McNamara RK, Skelton RW: The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res Brain Res Rev* 1993;18:33-49.
487. Morris RG, Anderson E, Lynch GS, Baudry M: Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 1986;319:774-776.
488. Yavich L, Sirvio J, Heinonen E, Riekkinen P, Sr.: The interaction of L-deprenyl and scopolamine on spatial learning/memory in rats. *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1993;6:189-197.
489. Gelowitz DL, Richardson JS, Wishart TB, Yu PH, Lai CT: Chronic L-deprenyl or L-amphetamine: equal cognitive enhancement, unequal MAO inhibition. *Pharmacol Biochem Behav* 1994;47:41-45.
490. Hatfield T, McGaugh JL: Norepinephrine infused into the basolateral amygdala posttraining enhances retention in a spatial water maze task. *Neurobiol Learn Mem* 1999;71:232-239.
491. Decker MW, McGaugh JL: Effects of concurrent manipulations of cholinergic and noradrenergic function on learning and retention in mice. *Brain Res* 1989;477:29-37.
492. Thomas SA, Palmiter RD: Disruption of the dopamine beta-hydroxylase gene in mice suggests roles for norepinephrine in motor function, learning, and memory. *Behav Neurosci* 1997;111:579-589.
493. Smith DR, Striplin CD, Geller AM, Mailman RB, Drago J, Lawler CP, Gallagher M: Behavioural assessment of mice lacking D1A dopamine receptors. *Neuroscience* 1998;86:135-146.
494. Hersi AI, Rowe W, Gaudreau P, Quirion R: Dopamine D1 receptor

ligands modulate cognitive performance and hippocampal acetylcholine release in memory-impaired aged rats. *Neuroscience* 1995;69:1067-1074.

495. Pisa M, Martin-Iverson MT, Fibiger HC: On the role of the dorsal noradrenergic bundle in learning and habituation to novelty. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;30:835-845.

496. Archer T, Danysz W, Fredriksson A, Jonsson G, Luthman J, Sundstrom E, Teiling A: Neonatal 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletions: motor activity and performance in maze learning. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;31:357-364.

497. Bunsey M, Eichenbaum H: Conservation of hippocampal memory function in rats and humans. *Nature* 1996;379:255-257.

498. Floresco SB, Seamans JK, Phillips AG: Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *J Neurosci* 1997;17:1880-1890.

499. Goldman-Rakic PS: Regional and cellular fractionation of working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:13473-13480.

500. Verma A, Moghaddam B: NMDA receptor antagonists impair prefrontal cortex function as assessed via spatial delayed alternation performance in rats: modulation by dopamine. *J Neurosci* 1996;16:373-379.

501. Rossetti ZL, Carboni S: Noradrenaline and dopamine elevations in the rat prefrontal cortex in spatial working memory. *J Neurosci* 2005;25:2322-2329.

502. Arnsten AF, Cai JX, Goldman-Rakic PS: The alpha-2 adrenergic agonist guanfacine improves memory in aged monkeys without sedative or hypotensive side effects: evidence for alpha-2 receptor subtypes. *J Neurosci* 1988;8:4287-4298.

503. Tanila H, Rama P, Carlson S: The effects of prefrontal intracortical

microinjections of an alpha-2 agonist, alpha-2 antagonist and lidocaine on the delayed alternation performance of aged rats. *Brain Res Bull* 1996;40:117-119.

504. Arnsten AF, Goldman-Rakic PS: Catecholamines and cognitive decline in aged nonhuman primates. *Ann N Y Acad Sci* 1985;444:218-234.

505. Cai JX, Ma YY, Xu L, Hu XT: Reserpine impairs spatial working memory performance in monkeys: reversal by the alpha 2-adrenergic agonist clonidine. *Brain Res* 1993;614:191-196.

506. Li BM, Mei ZT: Delayed-response deficit induced by local injection of the alpha 2-adrenergic antagonist yohimbine into the dorsolateral prefrontal cortex in young adult monkeys. *Behav Neural Biol* 1994;62:134-139.

507. Sawaguchi T, Matsumura M, Kubota K: Dopamine enhances the neuronal activity of spatial short-term memory task in the primate prefrontal cortex. *Neurosci Res* 1988;5:465-473.

508. Sawaguchi T, Matsumura M, Kubota K: Effects of dopamine antagonists on neuronal activity related to a delayed response task in monkey prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 1990;63:1401-1412.

509. Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS: D1 dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science* 1991;251:947-950.

510. Williams GV, Goldman-Rakic PS: Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature* 1995;376:572-575.

511. Wang M, Vijayraghavan S, Goldman-Rakic PS: Selective D2 receptor actions on the functional circuitry of working memory. *Science* 2004;303:853-856.

512. Desimone R, Duncan J: Neural mechanisms of selective visual attention. *Annu Rev Neurosci* 1995;18:193-222.

513. Rainer G, Asaad WF, Miller EK: Memory fields of neurons in the primate

prefrontal cortex. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95:15008-15013.

514. Arnsten AF: Stress impairs prefrontal cortical function in rats and monkeys: role of dopamine D1 and norepinephrine alpha-1 receptor mechanisms. Prog Brain Res 2000;126:183-192.

515. Whishaw IQ, Mittleman G, Bunch ST, Dunnett SB: Impairments in the acquisition, retention and selection of spatial navigation strategies after medial caudate-putamen lesions in rats. Behav Brain Res 1987;24:125-138.

516. Furtado JC, Mazurek MF: Behavioral characterization of quinolinate-induced lesions of the medial striatum: relevance for Huntington's disease. Exp Neurol 1996;138:158-168.

517. Block F, Kunkel M, Schwarz M: Quinolinic acid lesion of the striatum induces impairment in spatial learning and motor performance in rats. Neurosci Lett 1993;149:126-128.

518. Setlow B, McGaugh JL: Involvement of the posteroventral caudate-putamen in memory consolidation in the Morris water maze. Neurobiol Learn Mem 1999;71:240-247.

519. Devan BD, McDonald RJ, White NM: Effects of medial and lateral caudate-putamen lesions on place- and cue-guided behaviors in the water maze: relation to thigmotaxis. Behav Brain Res 1999;100:5-14.

520. Devan BD, White NM: Parallel information processing in the dorsal striatum: relation to hippocampal function. J Neurosci 1999;19:2789-2798.

521. Thullier F, Lalonde R, Mahler P, Joyal CC, Lestienne F: Dorsal striatal lesions in rats. 2: Effects on spatial and non-spatial learning. Arch Physiol Biochem 1996;104:307-312.

522. Packard MG, Knowlton BJ: Learning and memory functions of the Basal

Ganglia. *Annu Rev Neurosci* 2002;25:563-593.

523. Compton DM: Behavior strategy learning in rat: effects of lesions of the dorsal striatum or dorsal hippocampus. *Behav Processes* 2004;67:335-342.

524. Taghzouti K, Louilot A, Herman JP, Le Moal M, Simon H: Alternation behavior, spatial discrimination, and reversal disturbances following 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens of the rat. *Behav Neural Biol* 1985;44:354-363.

525. Tanila H, Taira T, Piepponen TP, Honkanen A: Effect of sex and age on brain monoamines and spatial learning in rats. *Neurobiol Aging* 1994;15:733-741.

## **8. ÖZGEÇMİŞ:**

1979 yılında Malatya ilinde dünyaya geldim. İlk, orta, lise eğitimimi aynı ilde tamamladım. 2002 yılında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım ve halen eğitime devam etmekteyim.