



OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**İZOLE KOYUN KORONER ARTERİNDE  
ESTROJEN, PROGESTERON,  
TESTOSTERON VE TAMOKSİFEN'İN  
ETKİLERİ**

**124038**

EC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. ENGİN YILDIRIM**

**124038**

**ESKİŞEHİR 2003**

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Özet.....	i
Summary.....	iii
<b>GİRİŞ</b> .....	1
<b>AMAÇ</b> .....	2
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	3
1. ENDOKRİN SİSTEM FARMAKOLOJİSİNİN ESASLARI .....	3
1.1. Steroid hormonların biyosentez, taşınma ve eliminasyonları.....	3
1.1.1. Biyosentez.....	3
1.1.2. Taşınma.....	4
1.1.3. Eliminasyon.....	4
1.1.4. Steroid hormon reseptörleri.....	5
2. ESTROJENLER.....	7
2.1. Biyosentez.....	7
2.2. Dağılım ve metabolizma.....	8
2.3. Estrojen reseptörleri.....	9
2.4. Estrojen ve steroid hormonların nongenomik etkileri.....	9
3. PROGESTİNLER.....	20
3.1. Dağılım ve metabolizma.....	20
3.2. Progesteronun kardiyovasküler sistem üzerine fizyolojik ve farmakolojik etkileri.....	20
4. TESTOSTERON.....	25
4.1. Testosteron ve dihidrotestosteron biyosentezi.....	25
4.2. Absorbsiyon, dağılım ve metabolizma.....	26
4.3. Testosteronun kardiyovasküler sistem üzerine fizyolojik ve farmakolojik etkileri.....	27
4.4. Androjen reseptörleri.....	28
5. TAMOKSİFEN.....	32
5.1. Etki mekanizması.....	32
5.2. Absorbsiyon, dağılım ve metabolizma.....	32
5.3. Tamoksifenin kardiyovasküler sistem üzerine fizyolojik ve farmakolojik etkileri.....	33

	<b>Sayfa No</b>
<b>GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	36
1. GEREÇLER .....	36
1.1. Deney hayvanları.....	36
1.2. Gruplar.....	36
1.3. Kullanılan kimyasal maddeler.....	36
1.4. Modifiye Krebs solüsyonu .....	37
1.5. Kullanılan aygıtlar.....	37
2. YÖNTEMLER.....	37
2.1. Koroner arter preparatlarının hazırlanması.....	37
2.2. Maddelerin uygulanması.....	38
2.3. İstatistiksel değerlendirme .....	38
<b>BULGULAR</b> .....	39
1. ESTROJEN .....	39
2. PROGESTERON.....	45
3. TESTOSTERON.....	50
4. TAMOKSİFEN.....	55
<b>TARTIŞMA</b> .....	60
<b>SONUÇ</b> .....	77
<b>KAYNAKLAR</b> .....	78
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	85

## ÖZET

Bu çalışmada koyun koroner arteri üzerinde estradiol propiyonat, testosteron propiyonat, progesteron ve tamoksifen sitrat'ın gevşeme yapıcı etkileri ve bu hormonların etkileri üzerinde L-NAME ( $10^{-4}$  M) veya L-argininin ( $10^{-4}$  M) cevapları incelendi. Ayrıca etkilerin endotel veya cinsiyete bağlı olarak değişip değişmediği araştırıldı.

İzole organ banyosunda koyun koroner arter preparatları kontrol grubunda öncelikle KCL (30 mM) ile kasıldı, daha sonra maddeler kümülatif olarak ( $10^{-7}$ - $10^{-4}$  M) uygulandı. L-NAME ( $10^{-4}$  M) veya L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile 15 dak. inkübasyondan sonra aynı işlem tekrarlandı. Çalışmada kullanılan gruplar: Grup-1: Koroner, erkek, endotelli grup, Grup-2: Koroner, dişi, endotelli grup, Grup-3: Koroner, erkek, endotelsiz grup, Grup-4: Koroner, dişi, endotelsiz grup.

Kontrol grubunda, estrojen endotelli erkek grupta ( $10^{-7,5,-4}$  M) ve endotelli dişi grupta ( $10^{-5,-4}$  M) endotelsiz gruplara göre daha fazla gevşemeye neden oldu. Kontrol grubunda, estrojenin endotelli grup ( $10^{-6,-5}$  M) ve endotelsiz grup ( $10^{-7,-6,-5}$  M) arasında dişi grupta erkek gruba göre daha fazla gevşemeye neden olduğu gözlemlendi. L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra endotelli erkek grupta ( $10^{-5,-4}$  M) endotelsiz gruba göre daha fazla gevşeme cevabı olduğu gözlemlendi. Ayrıca endotelli erkek grupta ( $10^{-7}$  M) konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşeme tespit edildi. L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra endotelsiz erkek grupta ( $10^{-5}$  M) konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşeme cevabı olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubunda progesteron ( $10^{-4}$  M) endotelli erkek ve dişi gruplarda endotelsiz olanlara göre daha fazla gevşemeye neden oldu. Kontrol grubunda, progesteron ile endotelli erkek grupta ( $10^{-4}$  M) konsantrasyonda dişi gruba göre, endotelsiz dişi grupta ise  $10^{-7,-6,-5}$  M konsantrasyonlarda erkek gruba göre daha fazla gevşeme gözlemlendi. L-arginin ile inkübasyondan sonra progesteron endotelli erkek grupta ( $10^{-6,-5,-4}$  M), endotelli dişi grupta ( $10^{-4}$  M) endotelsiz gruplara göre daha fazla gevşemeye neden oldu. L-arginin ile inkübasyondan sonra, grupta tüm konsantrasyonlarda endotelsiz erkek grupta dişi gruba göre daha fazla gevşeme cevabı gözlemlendi. Progesteron L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra, endotelli dişi grupta ( $10^{-7,-6,-4}$  M) konsantrasyonlarda endotelsiz olana göre daha fazla gevşemeye neden oldu. Ayrıca L-NAME ( $10^{-4}$  M) grubunda, progesteron endotelli dişi grupta ( $10^{-4}$  M) erkek gruba

göre, endotelsiz erkek grupta ise her dört konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşeme oluşturdu.

Kontrol grubunda, testosteron endotelli erkek grupta ( $10^{-6.4}$  M) endotelsiz erkek gruba göre daha fazla gevşeme yaptı. Kontrol grubunda, testosteron endotelli dişi grupta her dört konsantrasyonda erkek gruba göre, endotelsiz dişi grupta ise ( $10^{-6.5.4}$  M) konsantrasyonlarda erkek gruba göre daha fazla gevşeme cevabına neden oldu. L-arginin uygulanan grupta, testosteron endotelli erkek grupta ( $10^{-7.4}$  M) endotelsiz erkek gruba göre daha fazla gevşeme oluşturdu. Ayrıca L-arginin ile inkübasyondan sonra uygulanan testosteron grupta, endotelli erkek grupta ( $10^{-4}$  M) ve endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşemeye neden oldu. L-NAME'den sonra uygulanan testosteron, endotelsiz erkek grupta ( $10^{-7.6.5}$  M) endotelli gruba göre daha fazla gevşeme cevabı oluşturdu. L-NAME grubunda, endotelli erkek grupta ( $10^{-7.6.5}$  M) ve endotelsiz erkek grupta ( $10^{-5.4}$  M) dişi gruba göre daha fazla gevşeme cevabı olduğu gözlemlendi.

Kontrol grubunda, tamoksifen uygulanması endotelli erkek grupta tüm konsantrasyonlarda endotelsiz gruba göre daha fazla gevşemeye neden oldu. Ayrıca tamoksifen, endotelli erkek grupta her dört konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşeme yaptı. L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra, tamoksifen ( $10^{-7.6.5}$  M) konsantrasyonlarda endotelsiz dişi grupta endotelli dişi gruba göre daha fazla gevşemeye neden oldu. L-arginin ile inkübasyondan sonra, tamoksifen endotelli erkek grupta  $10^{-6.5.4}$  M konsantrasyonlarda ve endotelsiz erkek grupta ( $10^{-4}$  M) konsantrasyonda dişi gruba göre daha fazla gevşeme oluşturdu. Tamoksifen L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra endotelli erkek grupta her dört konsantrasyonda ve endotelli dişi grupta  $10^{-6}$  M konsantrasyonda endotelsiz gruplara göre daha fazla gevşeme yaptı. L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile inkübasyondan sonra tamoksifen endotelli erkek grupta ( $10^{-4}$  M) konsantrasyonda ve endotelsiz erkek grupta ( $10^{-4}$  M) konsantrasyonda dişi gruplara göre daha fazla gevşeme oluşturdu.

## SUMMARY

In this study, we studied the relaxing effects of estradiol propionate, testosterone propionate, progesterone and tamoxifen citrate on sheep coronary artery. We also studied the relaxing effects of L-NAME ( $10^{-4}$  M) and L-arginin ( $10^{-4}$  M) on the responses induced by these hormones and whether the relaxing effects of these hormones were altered in the presence of endothelium or it differed in accordance to gender.

In isolated organ bath, first, in the control group; sheep coronary arterial rings were contracted with KCl (30 mM). After that, increasing concentrations of hormones ( $10^{-7.4}$  M) were added. In L-NAME ( $10^{-4}$  M) or L-arginin ( $10^{-4}$  M) groups, these substances were added to coronary arterial rings 15 min before the contractions with KCl (30 mM) and then the hormones were ( $10^{-7}$ - $10^{-4}$  M) added. The groups we used in this study were; Group 1; Male coronary with endothelium, group 2; female coronary with endothelium, group 3; male coronary with no endothelium, group 4; female coronary with no endothelium.

In the control group; relaxations to estrogen in both male ( $10^{-7.5, -4}$  M) and female ( $10^{-5, -4}$  M) with endothelium groups, were significantly more than that of groups with no endothelium. In female with endothelium group ( $10^{-6, -5}$  M) and female with no endothelium group ( $10^{-7, -6, -5}$  M) the relaxations to estrogen, were significantly more than that of male groups with endothelium and groups with no endothelium. In the L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; relaxations to estrogen in the male with endothelium group ( $10^{-5, -4}$  M) was more than that of male group with no endothelium. In the male with endothelium group ( $10^{-7}$  M) relaxation to estrogen was significantly more than that of female group with no endothelium. In the L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in male group with no endothelium ( $10^{-5}$  M), relaxation to estrogen was significantly more than that of female group with no endothelium.

In the control group; relaxations to progesterone in male and female groups with endothelium ( $10^{-4}$  M) were more than that of male and female groups with no endothelium. In control group, male group with endothelium ( $10^{-4}$  M) showed more relaxation to progesterone than that of female group with endothelium. In female group with no endothelium ( $10^{-7, -6, -5}$  M) the relaxation to progesterone was more than that of male group with no endothelium. In the L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; in the male with endothelium ( $10^{-6, -5, -4}$  M) and in the female with endothelium groups ( $10^{-4}$  M) relaxations to progesterone were more than that of male and female groups with no endothelium. In the L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; in the male with no endothelium group ( $10^{-7, -6, -5, -4}$  M)

relaxations to progesterone were more than that of female group with no endothelium. In the L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in the female with endothelium group ( $10^{-7,-6,-4}$  M) relaxation to progesterone were more than that of female group with no endothelium. In the L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in the female with endothelium group ( $10^{-4}$  M) ) relaxation to progesterone were more than that of male group with endothelium and in male group with no endothelium ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M), relaxation to progesterone were more than that of female group with no endothelium.

In control group; relaxation to testosterone in the male with endothelium group ( $10^{-6,-4}$  M) was more than that of male group with no endothelium. In the female with endothelium group ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M) and in the female with no endothelium group ( $10^{-6,-5,-4}$  M) relaxation to testosterone were more than that of male groups with endothelium and male groups with no endothelium respectively. In L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; in the male with endothelium group ( $10^{-7,-4}$  M) relaxation to testosterone was more than that of male group with no endothelium. In the L-arginin group; in the male with endothelium group ( $10^{-4}$  M) and in male group with no endothelium ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M) relaxations to testosterone were more than that of female groups with endothelium and female with no endothelium groups respectively. In the L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in male with no endothelium group ( $10^{-7,-6,-5}$  M) ) relaxation to testosterone was more than that of male group with endothelium. In the L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in male with endothelium group ( $10^{-7,-6,-5}$  M) and in male with no endothelium group ( $10^{-5,-4}$  M) relaxations to testosterone were more than that of female group with endothelium and female group with no endothelium respectively.

In control group; relaxation to tamoxifen in male with endothelium group ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M) was more than that of male group with no endothelium and in male with endothelium group ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M) relaxation to tamoxifen was more than that of female group with endothelium. In L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; in group female with no endothelium ( $10^{-7,-6,-5}$  M) relaxation to tamoxifen was more than that of female group with endothelium. In L-arginin ( $10^{-4}$  M) group; in male with endothelium group ( $10^{-6,-5,-4}$  M) and in the male with no endothelium group ( $10^{-4}$  M) relaxation to tamoxifen were more than that of female group with endothelium group and female group with no endothelium respectively. In L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in male group with endothelium ( $10^{-7,-6,-5,-4}$  M) and female group with endothelium ( $10^{-6}$  M), relaxations to tamoxifen were more than that of male groups with no endothelium and female groups with no endothelium respectively. In L-NAME ( $10^{-4}$  M) group; in male with endothelium group ( $10^{-4}$  M) and in male with no endothelium group ( $10^{-4}$  M) relaxations to tamoxifen were more than that of female group with endothelium and female group with no endothelium respectively.

# GİRİŞ

Kalp hastalıkları riski erkeklerde yaşla birlikte artarken, premenopozal kadınlarda risk düşüktür fakat menopozdan sonra risk kendi yaş grubundaki erkeklerle karşılaştırılabilecek kadar hızla artar (1-6). Postmenopozal dönemde estrogen replasman tedavisi alan kadınlarda kardiyovasküler mortalite, almayan kadınlara göre %30-50 daha azdır. Bu epidemiyolojik verilere dayanarak estrogenin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğu söylenebilir (1, 4, 6-9). Estrogenin etki mekanizması ile ilgili yapılan araştırmalar, estrogenin kardiyovasküler koruyucu etkilerinin, lipid profilindeki antiaterojenik etkisine ve arter duvarına ve endotele olan direkt etkisine bağlı olduğunu göstermiştir (1-5, 9, 10).

Progesteronun vasküler fonksiyon üzerine olan etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda progesteronun kasıcı bir rolü olduğu (11), diğer bazı çalışmalarda ise gevşeme yapıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (12-14).

Testosteronun koroner sirkülasyon üzerine olan etkisi tam olarak bilinmemektedir. Fakat erkeklerde testosteron tedavisinin, angina pectoris ve angina pectorisli hastalarda egzersizle indüklenen ST segment çökmesi üzerine olumlu etkisi olduğuna dair çalışmalar vardır. Testosteronun koroner arterler üzerindeki direkt etkisi ve etki mekanizması bilinmemektedir (15-17).

Tamoksifenin kardiyovasküler olaylar üzerindeki etkisi belirgin olmamakla birlikte estrojene benzer etki gösterir (18). Tamoksifenin koroner arterler üzerinde endotel aracılığıyla veya direkt vasküler düz kaslar üzerine etki ederek gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. Diğer mekanizmalar arasında ise endoteldeki estrogen reseptörleri ile etkileşmesi ve nitrik oksit (NO) salgılanmasına neden olması düşünülmektedir (19).



Steroid hormonlar (estrogen, progesteron, testosteron vb.) genomik veya nongenomik olmak üzere iki farklı mekanizma ile etki göstermektedirler. Genomik etkiler bir saat veya daha uzun bir sürede gerçekleşirken, nongenomik etkiler birkaç dakika gibi kısa bir sürede gerçekleşmektedir. Pekçok steroid hormon için spesifik hücre membran reseptörleri saptanmıştır. Steroid hormonların hızlı cevap oluşturma mekanizmaları membrandan kalsiyum ve sodyum transportu ya da endotelden NO salgılanması şeklinde olabilmektedir (20).

## AMAÇ

Çalışmamızın amacı, daha önce yapılmış olan çalışmalarda, çeşitli damarlar üzerinde farklı mekanizmalarla değişik etkiler oluşturduğu düşünülen steroid hormonların (estradiol propiyonat, testosteron propiyonat, progesteron) ve estrogen reseptörleri üzerinde parsiyel agonistik etki gösteren tamoksifen sitrat'ın izole koyun koroner arterleri üzerindeki etkilerini ve etki mekanizmalarını araştırmaktır. Etki mekanizmalarını değerlendirirken nitrik oksid sentaz (NOS) inhibitörü olan L-NAME'in ( $10^{-4}$  M) ve de L-arginin'in ( $10^{-4}$  M) bu hormonlar tarafından koyun koroner arterinde oluşturulan etkileri üzerinde nasıl bir farklılığa yol açtıklarını, oluşan etkiler üzerinde endotelin var olup olmasının farklı sonuçlara neden olup olmadığını değerlendirmektir. Ayrıca bu hormonlar tarafından oluşturulan etkilerin, uygulanan hormonun konsantras-yonuna bağlı olarak değişiklik gösterip göstermediği ve yine hormonlar tarafından koroner arterlerde oluşan farklı cevaplar üzerinde cinsiyetin bir etken olup olmadığını araştırmaktır.

# GENEL BİLGİLER

## 1. ENDOKRİN SİSTEM FARMAKOLOJİSİNİN ESASLARI

Endokrin bezler kan dolaşımı içine salgıladıkları hormon adı verilen endojen aktif maddelerle, genellikle kendilerinden uzaktaki belirli hücrelerin çalışmasını düzenleyen yapılardır (21). Endokrin bezler genelde epitelyal bezlerden türerler (22).

### 1.1. STEROID HORMONLARIN BİYOSENTEZ, TAŞINMA VE ELİMİNASYONLARI

#### 1.1.1. Biyosentez:

Steroid hormonların biyosentezinin ilk basamakları ortaktır. Son basamaklarda ayrılık gösterirler. Sentez adrenal korteks, overler ve testislerde olur. İlk madde **kolesteroldür** (21).

Steroidogenez için gerekli kolesterolün kaynağı:

1. Düşük dansiteli lipoprotein (DDL) şeklinde, reseptör aracılı endositoz yoluyla dolaşımdan hücreye giren kolesterol ve kolesterol esterleri
2. Asetat'tan de novo sentezle oluşan kolesterol
3. Kolesterol ester depolarından hücre içine salgılanan serbest kolesteroldür.

Steroidogenezde hız kısıtlayan basamak ilk basamak olan kolesterolün iç mitokondri matriksinde pregnenolona dönüşümüdür. Steroid sentez eden hücrelerde ACTH, gonadotropinler ve anjiyotensin kendilerine özgü membranal reseptörleri aktive ederek;

1. Kolesterolün mitokondri iç matriksine translokasyonunu hızlandırırlar.
2. Pregnonolona dönüşümünü katalize eden, kolesterol yan zincirlerini koparan enzimi (kolesterol desmolaz) indüklerler.

Steroid hormon sentez basamaklarında yer alan steroid hidroksilazlar ve steroid dehidrogenazlar sitokrom P450 enzimleri süperfamilyasına girerler.

Steroid hormonlar sentez edildikleri hücrelerde pek depolanmazlar ve pasif difüzyonla salgılanırlar. Bunların salgılanmalarının stimülasyonu, biyosentezlerini hızlandırmak suretiyle sağlanır ve sentez edilen hormon hemen salgılanır.

### 1.1.2. Taşınma:

Steroid hormonlar, suda çözünmediklerinden plazmada bir veya birkaç protein türüne bağlanmış olarak bulunur. Kortizol, aldosteron ve progesteron **kortikosteroid bağlayan globüline (transkortine)** yüksek afiniteli bir şekilde bağlanırlar. Testosteron, dihidrotestosteron ve estrogenler **seks-hormonu bağlayan globüline (SHBG)** yüksek afiniteli bir şekilde bağlanırlar. Sıçanlarda gebelikte ve neonatal dönemde plazmada bulunan ve sonra kaybolan  **$\alpha$ -fetoprotein** estrogenleri bağlar.

### 1.1.3. Eliminasyon:

Hormonların eliminasyonunda, ilaçlar için olduğu gibi, karaciğerdeki metabolik değişmeler ve böbreklerden itrah rol oynar; ancak ilaçlardan farklı olarak hormonlar etki yerlerinde de önemli ölçüde metabolize edilebilirler.

Steroid hormonların vücutta enzimatik değişmeleri sonucu aktif olan diğer bir türev oluşabilir veya inaktif bir metabolit aktif bir şekle dönüşebilir. Örneğin; testosteron bazı genital organlarda (prostat, vesicula seminalis, epididimis gibi), ciltte ve beyinde hedef hücre içindeki 5  $\alpha$ -redüktaz enzimi tarafından daha etkin bir türev olan dihidrotestosterona dönüştürülür. Testis, beyin, karaciğer ve yağ

dokusunda aromataz enzimi ile estradiol'e dönüştürülür. Karaciğerde inaktif bir madde olan etiokolanolon'a veya daha az aktif olan androsteron'a dönüştürülür veya glukronat ve sulfat konjugatı haline sokulur. Ayrıca testis ve karaciğerde androstenediona dönüştürülür. Androstenedion, testosterona ya da aromatize edilerek estrojenlere çevrilebilir. Çeşitli yollardan metabolize edilme, interkonversiyon, başka tür hormonal etkinliği olan veya aynı türde fakat daha az etkinliği olan maddelere çevrilme gibi karmaşık metabolizma kalıbı steroid hormonlara özgü bir durumdur. Testosteron, 17 $\beta$ -estradiol, estron ve adrenal kaynaklı zayıf androjenik etkinliği olan androstenedionun bir çok dokuda 17 $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi tarafından birbirlerine dönüşebildikleri gösterilmiştir. Metabolitler karaciğerden sülfat ve biraz da glukronat konjugatları şeklinde safra içine atılır, kısmen de böbreklerden itrah edilir (21).

#### **1.1.4. Steroid hormon reseptörleri:**

Lipidde çözünür hormonlardan steroidlerin ve 1,25-OH D vitamininin reseptörleri genellikle nükleus içindedir. Lipidde çözünür hormonlar hücre membranını pasif diffüzyonla kolayca geçebilirler ve sitoplazma içine ve oradan da nükleus içine girebilirler. Her bir steroid hormon türü için ayrı bir reseptör vardır; böylece altı tür (glukokortikoid, mineralokortikoid, estrojen, progesteron, testosteron ve D vitamini) steroid hormon reseptörü ayırt edilir.

Steroid hormon reseptörleri sitoplazma içinde hormon molekülü ile kenetlenip aktive edildikten sonra nükleus içine geçebildikleri gibi, yapılan immuno-sitokimyasal çalışmalarda hedef hücrelerdeki serbest steroid reseptörlerinin de nükleusta buldukları gösterilmiştir. Serbest steroid reseptörleri nükleustaki bağlanma yerlerine gevşek şekilde bağlanmış durumdadırlar. Hormon reseptörü tarafından işgal edilen reseptörlerin, nükleustaki bağlanma yerine afinitesi yükselir.

Çeşitli steroid hormon türlerinin reseptör molekülleri aynı genel yapı kalıbı gösteren fosfoproteinlerdir. Steroid hormon reseptör proteinlerinin molekül ağırlığı 80-100 kilodalton kadardır. Her bir molekül, bir steroid hormon molekülü bağlar. Serbest reseptör molekülleri monomerik durumdadır. Steroid hormonla birleşmiş reseptörler veya DNA üzerindeki özel bağlanma yerine bağlanmış reseptörler ikişer ikişer birbiriyle birleşir ve dimerik duruma geçerler. Serbest durumdaki reseptör molekülleri çeşitli ısı şoku proteinleri (hsp) ile birleşmiş durumdadırlar. Hsp'lerle bağlanmanın, reseptör molekülünün sitoplazmadan çekirdeğe kaçmasını önlediği ve onu agoniste karşı yeterli afinite sağlayan bir konformasyonda tuttuğu düşünülmektedir.

Çeşitli steroid hormon reseptörlerinin molekülünde fonksiyonel önemi olan üç bölge ayırt edilir; 1. Hormon bağlayan bölge 2. DNA'ya bağlanan bölge 3. RNA polimeraz II'yi aktive eden aktivasyon bölgesi (molekülün N-ucuna rastlayan bu bölge (tau 1 bölgesi), reseptör proteini DNA'ya bağladıktan sonra çeşitli transkripsiyon faktörlerini bağlar ve hedef genin transkripsiyonel trans-aktivasyonunu, bu arada RNA polimeraz II'nin gene bağlanmasını sağlar).

Steroid hormonların hedef hücrelerdeki primer etkisi kendilerine özgü strüktürel geni aktive ederek onların mRNA transkripsiyonu yapmasını başlatmak ve hızlandırmaktır. Bunun için önce steroid hormon reseptör kompleksinin genin yukarı (5') tarafındaki artırıcı ve körükleyici DNA kısımlarını veya segmentlerini etkilemesi gerekir. Proksimal ve distal körükleyici segmentler, RNA polimeraz II ve transkripsiyon faktörlerinin kendilerine bağlanmasını körükler ve genin transkripsiyonunu başlatırlar. Körüklemenin olabilmesi için; körükleyici segmentlerin hormon reseptör kompleksi ile bağlanıp aktive edilen artırıcı kısımlar tarafından aktive edilmeleri ve stabilize edilmeleri gerekir. Transkripsiyonun tetiklenmesi için körükleyici segmentlere çeşitli transkripsiyon faktörlerinin bağlanması da gerekir (21).

## 2. ESTROJENLER

Kadınlarda estrojenik etkiden sorumlu ana estrojen hormon  $17\beta$ -**estradiol**dür. 18 karbonlu bir steroiddir ve A halkası aromatik (fenolik) niteliktedir; 3 numaralı karbonunda bir  $-OH$  grubu ve 17 numaralı karbonunda bir  $\beta-OH$  grubu içerir. Estradiol gravimetrik etki gücü en yüksek olan doğal estrojendir. Vücutta kısmen **estrone** dönüşür. Dönüşüm iki yönlüdür, bu yüzden estron aynı zamanda estradiolün prekürsörüdür. Bunlardan oluşan üçüncü estrojenik hormon olan **estriol**ün estrojenik etkinliği daha zayıftır (23).

### 2.1. Biyosentez:

Dişide estrojenlerin büyük bir kısmı overlerde Graaf folikülünde granüloza hücrelerinde sentez edilir. Overlerde sentez edilen estrojenlerin prekürsörleri theca hücrelerinde yapıp granüloza hücrelerine sunulan androjenik maddelerdir. Androstenedion overlerde estrone ve kısmen de testostereona dönüştürülür. Testosteron da demetilasyon ve aromatisasyon sonucu estradiole dönüştürülür (23).

Estrojen sentezi ayrıca çeşitli yapılarda da gerçekleşir;

Örneğin gebelikte plasentanin sinsisyotrofoblast hücreleri yüksek miktarda estrojen sentez eder ve salgılar. Bu hücreler aromataz enziminden zengindir. Estrojen sentezi için gereken estrojen prekürsörlerinin çoğu fötusun adrenal korteksinden sağlanır.

Bir diğer yapı adrenal kortektir. Adrenal kortekte dehidroepiandrostenedionun dehidrojenasyonu sonucu oluşan androstenedion kısmen estrone ve o da estradiole dönüştürülür. Postmenapozal dönemdeki kadınlarda ya da overektomi yapılmış olanlarda estrojenin az bir kısmı adrenal kortekte sentez edilen estrojenlerdir, büyük bir kısmı ise adrenallerden salgılanan androstenedionun over dışı yapılarda dönüşümünden oluşan estrojenlerdir.

Testislerdeki Leydig hücreleri testosteronun yanında testosterondan ve androstenediondan az miktarda oluşan estrojenleri salgılar. Bunların dışında başta yağ dokusu olmak üzere karaciğer, böbrek, akciğer, cilt, beyin, çizgili kaslar gibi pek çok dokuda kadınlarda büyük bir kısmı adrenal korteksinden kan dolaşımına dökülen androstenedion ve testosterondan estron ve estradiol sentez ederler. Androstenediondan estron veya testosterondan estradiol oluşumu aromataz enzimi tarafından katalize edilir.

## **2.2. Dağılım ve metabolizma:**

Estrojen hormonlar plazmada albumine ve seks hormonu bağlayan globulin (SHBG) adı verilen bir beta-globuline büyük ölçüde bağlanırlar. Estradiolün %70'den fazlası bağlı durumda bulunur. SHBG karaciğerde sentez edilir ve sentezi estrojen tarafından artırılır. Estrojenler SHBG'ne yüksek afiniteli bir şekilde bağlandıkları halde albumine gevşek bir şekilde bağlanırlar.

Estradiol ve estron karaciğer hücrelerinde iki yönlü bir reaksiyonla birbirlerine dönüştürülürler. Estradiolün estrona dönüşümünü sağlayan enzim  $17\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenazdır. Estradiol ve estronun karaciğer ve diğer dokularda oluşan ilk ve en önemli metaboliti estrioldür. Bu dönüşüm  $16\alpha$ -hidroksilaz enzimi ile  $16\alpha$ -hidroksi estron üzerinden olur. Estradiol ve estronun estriole dönüşümü bunların estrojenik etkinliğini önemli ölçüde azaltır. Estriolün parsiyel agonistik etkisi vardır.

Estradiol, estron ve bunlardan oluşan estriol, karaciğerde sülfirik asid ve glukronik asidle konjuge edilerek inaktif duruma getirilir. Bu konjugatların bir kısmı safra içine atılır, fakat safra içinde ince barsağa gelen konjugatlar enterohepatik dolanıma girerler. Konjugatların kalan kısmı böbrekten atılır (33).

Rekombinant DNA teknikleri nükleer reseptör sentezini kodlayan gen düzenini incelemeye imkan sağlamıştır. Her bir reseptör benzer ve birbirinin yerine konulabilen karakteristik alanlar içerir. Böylece spesifik hormonların bu familyada birden fazla reseptörle etkileşmesi şaşırtıcı değildir. Bu familya solucandan insektisite ve insana kadar yaklaşık bütün türlerde 150 kadar protein içerir. Bu proteinler için spesifik ligandlar henüz tanımlanamamıştır (20).

### 2.3. Estrojen reseptörleri:

İki tip estrojen reseptörü tanımlanmıştır. **Estrojen reseptör-alfa (ER- $\alpha$ )** ve **estrojen reseptör-beta (ER- $\beta$ )**. Estrojen reseptör-alfa 6 nolu kromozomun uzun kolundaki bir genden 8 exon içeren 6.8 kilobazlık m-RNA'dan dönüştürülür. Yaklaşık 66,000 moleküler ağırlığa sahip ve 595 aminoasidlidir. Alfa reseptörün yarı ömrü yaklaşık 4-7 saattir. Estrojen reseptör-alfa hızlı dönüşümü olan bir proteindir. Daha yakın zamanda keşfedilen estrojen reseptör-beta kromozom 14, q22-q24'de lokalize bir gen tarafından kodlanır (20).

Estrojen reseptörleri A'dan F'ye kadar adlandırılan 6 bölge ve 5 alana ayrılır. ER- $\beta$ , DNA bağlanma alanında ER- $\alpha$  ile aminoasid dizilişi açısından %97 benzerlik gösterir. Hormon bağlanma alanında ise %59 benzerlik gösterir. Estrojen reseptörleri değişik dokularda farklılıklar gösterir. Örneğin; ER- $\beta$  beynin belirli bölgelerinde ve kardiyovasküler sistemde hakim olan estrojen reseptörüdür. Spesifik estrojenlere farklı ve selektif cevaplar verir. Over folikülündeki granüloza hücrelerindeki estrojen reseptörleri sadece ER- $\beta$  m-RNA'sı içerir. İnsan akciğeri her iki reseptörü de içerir. Alfa ya da beta estrojen reseptörüne bağlanan aynı estrojen zıt etkilere neden olabilir. Örneğin; estradiol ER- $\alpha$  ile gen transkripsiyonunu stimüle ederken aynı sistemde ER- $\beta$  ile gen transkripsiyonunu inhibe edebilir (20).

### 2.4. Estrojen ve steroid hormonların nongenomik etkileri:

Steroid hormonların genomik etkileri bir saat veya daha uzun süren kısmen yavaş oluşan bir cevapla karakterizedir. Fakat bazı steroid hormon etkileri birkaç dakika gibi kısa bir sürede meydana gelir ve bu hızlı cevabın oluşmasında nongenomik mekanizmalar etkili olmalıdır. Bu hızlı cevaplar aynı zamanda gen transkripsiyon veya protein sentez inhibitörlerinden etkilenmezler. Hızlı cevaplar bütün steroid hormonlar için bildirilmiştir ve membrandan kalsiyum ve sodyum transportunu içermektedir. Pek çok steroid hormon için spesifik hücre membran reseptörleri tanımlanmıştır. Fakat bu bağlanma bölgeleri ile ilgili fizyolojik rolleri tanımlamak güç olmaktadır. Koroner arterlerdeki estrojene bağlı vazodilatasyonun kısmen nongenomik kalsiyum akış mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmektedir (20).



Kalp hastalıkları riski erkeklerde yaşla birlikte artarken, premenopozal kadınlarda risk düşüktür, fakat menopozdan sonra risk kendi yaş grubundaki erkeklerle karşılaştırılabilecek kadar hızla artar (1-6). Postmeno-pozal dönemde estrojen replasman tedavisi alan kadınlarda kardiyovasküler mortalite, almayan kadınlara göre %30-50 daha azdır. Bu epidemiyolojik verilere dayanarak estrojenin kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olduğu söylenebilir (1, 4, 6-9). Estrojenin etki mekanizması ile ilgili yapılan araştırmalar, estrojenin kardiyovasküler koruyucu etkilerinin, lipid profilindeki antiaterojenik etkisine ve arter duvarı ile endotele olan direkt etkisine bağlı olduğunu göstermiştir (1-5, 9, 10). Teorik olarak estrojenler koroner kasılmaya bağlı oluşan angina ve myokardial iskemi sıklığını azaltır. Bunda kasıcı ajanları inhibe etmesi ya da koroner arterlerdeki damar gevşetici mekanizmaları artırmasının katkısı vardır. 17 $\beta$ -estradiol memelilerde fizyolojik olarak aktif olan primer estrojendir (24). Estrojen replasman tedavisi düşük dansiteli lipoprotein (DDL) düzeyini azaltırken, yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyini artırır. Bunlara ilave olarak estrojenlerin arter duvarında kolesterol depolanmasını ve aterosklerotik plak oluşmasını önlediği gösterilmiştir (4, 6, 9, 10).

Estrojenin arter duvarına direkt etkisi olduğu düşünülmektedir. NO'nin ateroskleroz gelişimini damarlarda gevşemeye neden olarak ve endotelde monosit adhezyonuna engel olarak önlediği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda estrojenin vasküler tonus üzerine olan etkisini endotelde NOS-3 aktivitesini kontrol ederek gösterdiği öne sürülmektedir (10). 17 $\beta$ -estradiolün NOS-3 aktivitesini reseptör aracılı bir sistemle artırdığı ve yüksek doz 17 $\beta$ -estradiolün NOS-3 aktivitesini reseptöre bağlı olmayan bir mekanizma ile inhibe ettiği düşünülmektedir. Aynı zamanda 17  $\beta$ -estradiol, NOS-3 üzerinde Ca<sup>++</sup>/kalmodulin sistemini etkileyerek de etki gösterebilir (10).

Uzun süre estrojene maruz kalmanın neointimal ve vasküler düz kaslardaki proliferasyonu azalttığı, hem in vivo hem de in vitro olarak arterleri tekrar remodelize ettiği gösterilmiştir. Arterlerin uzun süre estrojenlere maruz kalmasının kasıcı ajanlara karşı oluşan cevabı azaltırken, gevşetici ajanlara

karşı oluşan cevabı artırdığı bildirilmektedir. Estrojenin bu etkisi, bazal veya agonistle-stimüle edilen endotelden salgılanan gevşetici faktörler (NO gibi), prostasiklin veya henüz tanımlanmamış gevşetici mediyatörlerle ilişkili olabilir. Estrojen endotelyal fonksiyonlara etkilerinin yanı sıra, vasküler düz kaslarda intrasellüler sinyal yollarını değiştirebilir ve böylece kasıcı ajanlara karşı oluşan vasküler cevap verilebilirliği azaltır. Estrojenin vasküler duvardaki uzun süreli etkilerinin endotel ve vasküler düz kaslardaki estrojen reseptörlerinin aktivasyonuna ve sonuç olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Estrojene uzun süre maruz kalmak vasküler endotelde endotelyal NO-sentaz gen ekspresyonunu upregüle eder ve vasküler düz kasta fosfoinositid turnover'ını ve inositol trifosfat oluşumunu azaltır. Bu da nörotransmitter ve humoral faktörlere karşı uzun süre estrojenle indüklenen vasküler duyarlılıktan sorumludur (1).

Estrojen vasküler tonusta direkt ve akut etkilere de sahiptir. Estrojenin arterleri hem endotele bağımlı ve hem de endotelden bağımsız mekanizmalarla gevşettiği bildirilmiştir. Endotelden bağımsız estrojenle indüklenen gevşeme genellikle  $Ca^{++}$  kanallarının blokajına,  $Ca^{++}$  influksunun inhibisyonuna ve dokudaki cAMP, cGMP düzeylerindeki değişime bağlıdır, oysa estrojenle indüklenen endotele bağımlı gevşemenin vasküler endotelden NO oluşumunun stimülasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (1).

Estrojenin kan damarları üzerinde genomik ve genomik olmayan etkilerinin olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Estrojenin genomik etki mekanizması üç ana başlık altında toplanabilir.

1. Biyolojik etkiler estrojenin nanomolar konsantrasyonlarında oluşabilir.
2. Genomik mekanizmaların etkisi için kronik tedavi gereklidir.
3. Bu etki estrojen reseptör antagonistleri ile antagonize edilebilir.

Buna zıt olarak estrojenin nongenomik etki mekanizmaları şunlarla karakterizedir.

1. Nongenomik mekanizma için mikromolar konsantrasyonlarda estrogen gereklidir.
2. Estrojenin bu tip etkileri estrojenin verilmesini takiben hızlı bir şekilde görülür.
3. Nongenomik etki estrojen reseptör antagonistleri ile antagonize edilemez.

Teoh ve arkadaşları, 17 $\beta$ -estradiole düşük dozlarda ve kısa süre maruz kalmanın koroner arterlerde endotelden bağımsız gevşemeyi artırdığını gösterdiler. Her ne kadar bu etki stereospesik olsa da, bilinen estrojen reseptör antagonistlerinin vazodilatörlere karşı 17 $\beta$ -estradiol ile indüklenen duyarlılık artışını antagonize etmedikleri gösterilmiştir. Henüz estrojenin bu etkisinin mekanizması açıklanamamıştır (5).

Asetilkoline bağlı gevşeme cevaplarının menstrüel siklusun foliküler fazındaki yüksek kan estrojen seviyesi olan kişilerden alınan uterin arterlerde luteal fazda alınan arterlere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (25).

Koroner damarlarda reseptör aracılığıyla oluşan endotele bağlı gevşeme cevapları sadece NO ve prostasiklin oluşumu ile açıklanamaz. Çünkü damar gevşetici etki bu ajanların inhibitörleri kullanılarak tamamen önlenememektedir. Dolayısıyla NO ve prostasiklinden bağımsız olarak oluşan koroner gevşeme cevaplarında in vitro olarak tanımlanan endotelden salınan hiperpolarize edici faktör de katkıda bulunabilir (26).

Estrojenin koroner arterlere etkisi ve kan damarlarını ateroskleroz gelişimine karşı koruyucu etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat son zamanlardaki kanıtlar NO salgılanmasının önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Estradiolün endotelial NO sentaz (eNOS) ekspresyonunu intrasellüler reseptörler aracılığı ile artırdığı gösterilmiştir. Estradiolün vasküler reaktivite üzerinde gözlenen hızlı etkisi ve endotel hücrelerinden kısa bir süre estrojen verilmesinden sonra NO salgılanması, transkripsiyonel aracılı yollarla uyum

göstermez. Yakın zamandaki iki rapor 17 $\beta$ -estradiolün endotel hücre kültürlerinde eNOS'ın nongenomik aktivasyonuna aracılık ettiği ve  $\alpha$  ve  $\beta$  estrogen reseptörlerinin hem nükleus hem de membranda lokalize olduğunu göstermiştir (2).

Estrojene bağlı etkilerin nitrik oksid salgılanmasındaki artışa ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerinin artışına bağlı olduğu düşünülmektedir. Kültürü yapılmış koroner olmayan endotel hücrelerinde yapılan çalışmalar estrogenin NO salgılanmasını hem genomik hem de nongenomik yolla artırdığını göstermiştir. İnsanlarda koroner arter endotelinden NO salgılanmasının artması, estrojene bağlı bazal koroner tonusun azalması ve koroner arter kan akımının artmasında anahtar bir rol oynamaktadır. ATP'nin vasküler endotel hücrelerde NO salgılanmasını artırması ve gevşemeye neden olması koroner arterler dahil pek çok damarda açıklanmıştır. ATP, P<sub>2y</sub> purinerjik reseptörlere etki ederek inositol-1,4,5-trifosfat oluşumunu ve intrasellüler kalsiyum mobilizasyonunu stimüle eder ve bu da endotelde NO sentazı aktive eder. Postmenopozal kadınlarda koroner damarlarda 17 $\beta$ -estradiolün uygulanması asetilkolinle indüklenen kasılma cevabını azaltır ve bazal kan akımını artırır. Bu sonuçlar estrogenin koroner arter endoteli üzerindeki nongenomik etkilerini açıklar. İzole perfüze sıçan kalbinde yapılan çalışmalar, estrogenin koroner arterler üzerindeki akut gevşeme yapıcı etkisinin NO ve endotelden bağımsız olduğu ve düz kas hücre membranına direkt etkisine bağlı olduğunu göstermiştir. Estrogenin vasküler düz kas üzerine akut etkisi olduğu ve gevşemeye neden olduğuna dair önemli kanıtlar vardır. Uzun süre 17 $\beta$ -estradiol uygulanmasına bağlı artmış NOx (nitrat, nitrit ve nitrik oksid) salgılanmasının, koroner arter sirkülasyonunda estrojene bağlı hemodinamik etkilerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Bir çok çalışmada estrogen tarafından, NO salgılanmasının kısa dönem nongenomik stimülasyonunun, endotelde intrasellüler Ca<sup>++</sup> artışı aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (3).

17 $\beta$ -estradiolün KCl ile kasılma oluşturulan izole koroner ve mezenterik rezistans arterlerde doza bağlı gevşemeye neden olduğu gözlenmiştir. 17 $\beta$ -estradiol ile oluşturulan gevşeme cevaplarının belirgin bir şekilde (tam olarak değil) L-NAME varlığında azaldığı gözlenirken, prostaglandin sentez inhibitörü

olan indometazin ile böyle bir etki gözlenmemiştir. L-NAME varlığında 17 $\beta$ -estradiol ile oluşan cevaplar gerek kullanılan damar gerekse kullanılan kasıcı ajana bağlı değildir. Bu sonuçlar izole sıçan koroner ve mezenterik rezistans arterlerinde 17 $\beta$ -estradiolün damar gevşetici etkisinde NO'nin katkısı olduğunu göstermektedir. Tavşanda veya insanda izole koroner arterde 17 $\beta$ -estradiol ile oluşturulan gevşemenin endotelin uzaklaştırılması veya NOS inhibitörleri eklenmesi ile değişmediği gösterilmiştir. Bunun da vasküler düz kaslara direkt etkisine bağlı olduğu düşünülmektedir. Estrojenlerin aynı zamanda sistemik arter yataklarında in vivo olarak kısmen endotele bağımlı gevşemeye neden olduğu, izole femoral ve aortik damarlarda estradiolün gevşetici etkisinde nitrik oksid ve endotelial faktörlerin rolü olduğu bazı araştırmacılar tarafından desteklenmiştir (27). Böylece estradiol hem koroner hem de sistemik vasküler yataklarda gevşemeye neden oluyor gibi görünmektedir. Her ne kadar koroner arterlerin gevşemesi ve böylece artmış miyokardial perfüzyon kardiyoprotektif etkilerine katkıda bulunuyor gözükse de, bunun koroner damarların estrojenlere yüksek duyarlılık göstermesine mi yoksa genel bir vazodilatasyona mı bağlı olduğu açık değildir. Otter D. ve Austin C.'in çalışmasında endotelsiz damarlarda estrojen ile oluşan gevşeme cevabı endotelli damarlarla karşılaştırıldığında daha az bulunmuştur, fakat L-NAME ve indometazin varlığında oluşan gevşeme cevaplarının ise benzediği gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmada indometazinin gevşeme cevaplarına herhangi bir etkisi olmadığı bulunmuştur. L-NAME ve indometazin birlikte uygulandığında 17 $\beta$ -estradiol ile oluşan cevaplarla, L-NAME'in yalnız uygulandığında 17 $\beta$ -estradiol ile oluşan cevaplar benzerdir. Bu da prostaglandinlerin bu hormon ile oluşan gevşeme cevaplarında bir etkisi olmadığını göstermektedir (4). Bu gözlem Rosenfeld ve ark. sıçır uterin arterlerinde yaptıkları çalışmayla da desteklenmektedir (28). Otter D. ve Austin C.'in yapmış oldukları çalışmada sonuç olarak, izole sıçan koroner ve mezenterik arterlerindeki 17 $\beta$ -estradiole bağlı gevşemenin kısmen nitrik oksid sentez veya salgılanması sonucu olduğu ve başka herhangi bir endotelial faktöre bağlı olmadığı gösterilmiştir. Estradiolün bu dokulardaki gevşetici etkisinin düz kaslara olan direkt etkisine bağlı olduğu söylenebilir (4).

Estrojenlerin damar gevşetici etkilerinin steroid aktivasyonunun klasik genomik yollarından bağımsız olduğu düşünülmektedir. Bunun için bazı kanıtlar vardır; nongenomik etki hızı estrojenlerin gen ekspresyonu üzerine olan etki hızından çok daha hızlıdır; estrojenlerin vasküler gevşetici cevapları üzerine RNA ve protein sentez inhibitörlerinin ve sitozolik/nükleer estrojen reseptör antagonistlerinin bir etkisi olmadığı gösterilmiştir ve herhangi bir genomik etkisi olmayan 17 $\alpha$ -estradiolün, 17 $\beta$ -estradiole benzer gevşeme yapıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu nongenomik etkilerin hücre yüzey reseptörlerine bağlanmak suretiyle olduğu düşünülmektedir. Çünkü estrojen reseptörleri pek çok türde aortada, insan ve sıçan koroner arter düz kas hücrelerinde gösterilmiştir. Vasküler endotelin de estrojen reseptörleri içerdiğine dair kanıtlar vardır. Bu da estrojenin vasküler etkilerini kısmen nitrik oksid aracılığıyla gerçekleştirdiğini açıkça desteklemektedir. Estrojenin damar gevşetici etkileri açıkça kardiyoprotektif etkilerine katkıda bulunmaktadır. Yapılan bir çalışma koroner arterin estradiole verdiği gevşeme cevabının sistemik damarlardan farklı olmadığını göstermiştir. Koruyucu etkinin spesifik olarak koroner damarlardaki gevşemeye değil genel vazodilatasyona bağlı olduğu düşünülmektedir (4).

17 $\beta$ -estradiolün Bay K8644 (L-tip kanal agonisti) varlığında veya yokluğunda NO salgılanmasıyla orantılı olarak koroner vasküler dirençte konsantrasyona bağlı gevşemeye neden olduğu bildirilmiştir. Ortama L-NAME ( $10^{-4}$  M) eklenmesi NO oluşumunu tamamen inhibe etmiştir. Bay K8644 ile kasılma oluşturulan izole aortik halkalarda 17 $\beta$ -estradiol ( $10^{-5}$  M), hem endotelli hem de endotelsiz aortik halkalarda gevşemeye neden olmuştur. L-NAME endotelli halkalarda NO oluşumunu tamamen bloke etmiş, fakat endotelsiz halkalarda gevşeme oluşmasını önleyememiştir. Bu veriler şunu göstermektedir; 17 $\beta$ -estradiol ile oluşan endotele bağlı gevşeme NO oluşumu ile ilişkilidir ve L-NAME ile baskılanır. Yüksek 17 $\beta$ -estradiol konsantrasyonlarında aortik ve koroner düz kaslardaki direkt gevşeme cevabı NO oluşumundan bağımsızdır (27).

Endotelde, vasküler düz kaslarda ve myokard endotelinde endotelial estrojen reseptörleri bulunmaktadır. Estrojen verilmesi ile aktive olan reseptör

nükleusa transloke olur. Gevşeme cevabının hızlı başlaması ve estrogenlere olan sensitivitenin azalması sitozolik reseptörlerle karşılaştırılınca daha az duyarlı ve muhtemelen estrogenler için daha az spesifik bir bağlanma bölgesinin mevcut olabileceğini göstermektedir. Kardiovasküler sistemde estrogenlerin kısa süreli (saniye veya dakikalar içinde başlayan) ve uzun süreli (saatler ve günler içinde başlayan) etkilerine aracılık eden farklı reseptörlerin olduğu düşünülmektedir. Hem kontrol grubunda hem de Bay K8644 ile tedavi edilen grupta yapılan çalışmalarda 17 $\beta$ -estradiolün koroner damar direncini hem dolaylı (endotel aracılığı ile) hemde doğrudan koroner damar düz kaslarını etkileyerek azalttığı gözlenmiştir (27).

Estrojen tedavisi domuz koroner arterinde direkt olarak endotele bağlı gevşemeyi artırır. Tavşan koroner arterinde 17 $\beta$ -estradiolün akut olarak uygulanması direkt endotelden bağımsız gevşemeye neden olur, domuz ve tavşan koroner arterindeki kasılmaları bozar. Fakat bu etkiler steroidlerin normal plazma seviyelerinin 1000-10.000 katı kadar yüksek dozlarda gerçekleşir. A-23187 (endotele bağlı non-reseptör vazodilatör), endotelde L-argininden NO oluşumunu artırır ve vasküler düz kaslarda cGMP oluşumunu artırarak gevşemeye neden olur. Yapılan bu çalışmada endotelsiz koroner arterlerde A-23187'nin hiçbir dozuna karşı bir cevap gözlenmemiştir. Buna ilave olarak endotelli veya endotelsiz koroner arterlerde 17 $\beta$ -estradiolün nitrogliserine bağlı gevşeme cevabını artırmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar da NO ile aktive edilen vasküler cGMP'den çok, estrogenin koroner endoteldeki NO mekanizmaları ile etki göstermesi ile uyum göstermektedir. Aynı zamanda estrogen reseptör antikollarının domuz koroner arter endotel hücre nükleusuna spesifik olarak bağlandığı gözlenmiştir. Otoradyografik olarak estradiolün domuz koroner arterlerinin endoteline sitozol ve nükleusuna, düz kasına ve adventisiasına bağlandığı gösterilmiştir (24). Robinson ve ark. NO sentaz geninin promotor bölgesinde estrogen cevap elemanlarının varlığını tanımlamışlardır ve böylece domuz endotelial hücre kültürlerinde 1nM 17 $\beta$ -estradiol verilmesinden 16-24 saat sonra NO sentaz, NO sentaz mRNA ve cGMP oluşumunun arttığını göstermişlerdir (29). Bu gözlemler 17 $\beta$ -estradiolün endotele bağlı NO aracılığıy-

la oluşan gevşeme etkisine estrogen reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermektedir. Domuz koroner arterinde ve diğer arterlerde iki tane prostanoit olmayan endotelden salınan gevşetici faktör (EDRFs) olduğu düşünülmektedir. Birincisi EDRF ya da NO, ki bunun oluşumu A-23187 ile artırılırken L-arginin analogları ile bloke edilir. Diğer EDRF ise L-arginin analogları ile oluşan blokaja duyarlıdır ve asetilkolin, bradikinin ve ADP'ye cevap olarak oluşur (24).

İnsan koroner arterinde yapılan in vitro çalışmalarda 3mM dozda uygulanan 17 $\beta$ -estradiolün endotelli ve endotelsiz preparatlarda benzer bir gevşemeye neden olduğu gözlemlendi. Kasılmış koroner arterlerdeki gevşeme cevabının 17 $\beta$ -estradiol uygulamasından 5 dakika sonra başladığı, maksimum etkinin 40 dakika sonra oluştuğu ve gevşeme cevabının konsantrasyona bağlı olarak değiştiği gözlemlendi. 17 $\beta$ -estradiole bağlı maksimum gevşeme cevaplarının bayanlarda erkeklerden daha fazla olduğu ve bayanlarda oluşan gevşeme cevaplarının daha hızlı oluştuğu tespit edildi. İnsan koroner arterinin 17 $\beta$ -estradiole (3mM) 30 dk süre ile maruz kalması sonucu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında cAMP ve cGMP düzeylerinde belirgin olarak artışa neden olduğu gözlemlendi. Yapılan bazı çalışmalarda koroner arterlerde, 17 $\beta$ -estradiolün maksimum etkisinde endotelin olması veya olmaması arasında herhangi bir fark görülmemiştir. Bu da 17 $\beta$ -estradiolün koroner vasküler düz kas hücrelerine direkt etkisi olduğunu göstermektedir. Koroner arter halkalarında gerek cAMP ve gerekse cGMP artışının gözlenmesi 17 $\beta$ -estradiolün hem adenilat siklaz hem de guanilat siklaz aktivasyonunu sağladığını veya siklik nükleotid fosfodiesteraz aktivitesini inhibe ettiğini göstermektedir. 17 $\beta$ -estradiol insan koroner arterlerini başka mekanizmalarla da gevşetebilir. Estrojenlerin köpek koroner düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona neden olduğu ve sıçan aortik düz kas hücre kültürlerinde prostasiklin sentezini stimüle ettiği bildirilmiştir (8). Magness ve arkadaşları uterin arterlerde azalmış protein kinaz C aktivitesi ile yüksek kan estrogen seviyesi arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar uterus arterlerindeki gevşemenin estrogenle indüklenen protein kinaz C aktivitesindeki azalmaya bağlı olduğunu öne sürmüşlerdir (30).



17 $\beta$ -estradiolün fizyolojik konsantrasyonlarda in vivo olarak akut ve kronik uygulanması endotele bağılı gevşemeyi artırmaktadır. Buna zıt olarak suprafizyolojik dozlarda düz kas hücreleri aracılığı ile gevşemeye neden olur. Böylece estrogenin vasküler etkilerinin premenopozal kadınlarda kardiyoprotektif etkiye katkıda bulunduğu söylenebilir. İmmunositokimyasal kanıtlar insan koroner arterlerinde klasik estrogen reseptörlerinin olmadığını ve steroide bağılı gevşemenin bundan bağımsız olduğunu ileri sürmektedir. Muhtemel vasküler estrogen reseptör subtipleri, bunların üretimi, hücresel lokalizasyonları, postreseptör olaylar ve hızlı etkili hücre yüzey membran estrogen reseptörlerinin varlığı hala tartışmalıdır (5).

Estrojenle tedavi edilen koroner arterlerdeki gevşeme endotel ve nitrik okside bağılıdır. Çünkü bu gevşeme cevabı endotelin uzaklaştırılması ve nitrik oksid sentaz inhibitörlerinin uygulanması ile azalmaktadır. Estrojen, kardiyak outputu ve arteriyel akım hızını artırmakta, vasküler rezistans, sistolik ve diyastolik kan basıncını azaltmaktadır. Kasılmış koroner arter halkalarında gevşemeye neden olur ve izole kardiyak miyositlere kalsiyum influksunu inhibe eder. Yapılan in vivo çalışmalar 17 $\beta$ -estradiolün vasküler tonusu EDRF'ye bağılı bir mekanizmayla etkilediğini göstermektedir. L-NAME bu gevşemeyi azaltmaktadır. Bu azalma L-arginin ile önlenir (9). Jiang ve arkadaşları in vitro olarak koroner arterlerde 17 $\beta$ -estradiolün direkt gevşetici etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda tavşan koroner arterinde 17 $\beta$ -estradiolün endotelli ve endotelsiz arterlerde eşit derecede gevşemeye neden olduğunu göstermişlerdir. İzole koroner arterlerde 17 $\beta$ -estradiolün kalsiyum antagonistik özelliği olduğu düşünülmektedir (31-33).

Hayvanlara veya dokulara uzun veya kısa süreli estrogen verilmesi agonistle stimüle edilen kasılmaları inhibe eder ve bazı izole kan damarlarında endotele bağılı gevşemeyi artırır. Pek çok etki mekanizması düşünülmektedir. Estrojenler kısa süreli ve yüksek dozda kullanıldıkları zaman kalsiyum kanal antagonisti olarak etki ederler ve böylece vasküler reaktiviteyi düz kaslar üzerine direkt etkiyle gösterirler. Uzun süre estrogen kullanımı aynı zamanda

indirekt olarak protein sentezi üzerine genomik bir etki göstererek endotelden NO salgılanmasını artırır. Endotelin hasar görmesi veya NOS inhibitörleri ile NO salgılanmasının azaltılması koroner kasılmayı artırır. Menopoz dönemindeki kadınlarda estrogen tedavisinin koroner arter hastalığı riskini azaltması ve kobaylarda kısa dönem estrogen verilmesiyle kalsiyuma bağlı NOS RNA ve myokardiyal NOS aktivitesinin artması, estrogenlerin endotelden NO üretimini artırarak kasıcı ajanlara karşı olan koroner reaktiviteyi azalttığını düşündürmektedir (6).

Postmenopozal dönemde bayanlarda koroner arter hastalığı riskinin artması (34) estrogen replasman tedavisi ile azalma gösterebilir (35, 36). Estrogen tedavisi yalnızca lipoprotein profilini değiştirmekle kalmaz (Ettinger ve ark.) (35) aynı zamanda endotele bağlı (Lieberman ve ark.) (37) ve endotelden bağımsız (Gilligan ve ark.) (38) gevşemeye neden olur. Daha önce yapılan çalışmalar yüksek konsantrasyonlardaki  $17\beta$ -estradiolün direkt damar gevşetici etki gösterdiğini belirtmektedirler (39, 40). Buna zıt olarak yapılan bir çalışmada ise fizyolojik konsantrasyonlarda (1nM)  $17\beta$ -estradiolün domuz koroner arterin-de in vitro olarak gevşeme cevabı oluşturduğu gösterilmiştir (19). Estrogen seviyesinin azalmasıyla koroner kalp hastalığı insidensinin artması arasındaki ilişki hala araştırılmayı beklemektedir (41).

Endotel hücreleri estrogen reseptörleri içermektedir (42). Estrogenin NO salgılanmasını artırması hormonun endotelial hücre reseptörleri ile etkileşmesi sonucu bu hücrelerdeki muskarinik reseptörlerin sayısını artırması ile açıklanabilir (43).

Estrogenin kan damarları üzerindeki etkisini direkt, düz kas hücre cGMP aktivitesini değiştirerek veya indirekt endotelden NO salgılanmasını artırarak gösterir. Estrogen reseptör üretimi aterosklerotik damarlarda normal damarlara göre daha azdır. Yapılan bazı çalışmalarda estrogenin pek çok insan endotel hücre fonksiyonunu (proliferasyon, yapışma, migrasyon vs.) ve kapiller benzeri yapıların oluşmasını artırdığı gösterilmiştir (44).

### 3. PROGESTİNLER

**Progesteron** ve onun gibi etki yapan ilaçlara **progestinler** veya **progestogenler** denir. Progesteron esas olarak menstrüel siklusun ikinci yarısında corpus luteum'dan salgılanır. Progesteronun steroid prekürsörlerden oluşumu over, testis, adrenal korteks ve plasentada gerçekleşir. Corpus luteumda progesteronun sentez ve sekresyonuna LH'nun etkisi, G proteinine bağlı membran reseptör sinyal iletim yolu ile gerçekleşir. Bu da adenilat siklaz stimülasyonu aracılığı ile cAMP oluşumunu artırır (45).

#### 3.1. Dağılım ve metabolizma:

Progesteron karaciğerde önemli ölçüde ilk geçiş eliminasyonuna uğradığı için oral dozu parenteral dozundan yüksektir.

Progesteron plazmada bir transport proteini olan **transkortine** kısmen bağlanmış olarak bulunur. Progesteron karaciğerde ve incebarsak mukozasında hızlı bir şekilde metabolize edilir. Oral biyoyararlanımı yaklaşık olarak %25'dir. Eliminasyon yarılanma ömrü 19-95 dakika arasında değişir. Başlıca metaboliti pregnandiol (5 $\beta$ -pregnandiol) dür. Diğer metabolitleri 5 $\alpha$ -pregnandion ve 20 $\alpha$ -dihidroprogesterondur. Bunlar zayıf progesteron benzeri etkinlik gösterirler. Pregnandiol glukronik asid ile konjuge edilir ve bu şekilde böbrekten idrara itrah edilir. Progesteron fazla lipofilik bir hormon olduğundan kısmen yağ dokusunda depo edilir. Vücutta progesteron sentez hızının ölçüsü idrarla çıkarılan pregnandiol miktarıdır. Vücutta salıverilen progesteronun %25-30 kadarlık bir kısmı idrarda pregnandiol şeklinde çıkar.

#### 3.2. Progesteronun kardiyovasküler sistem üzerindeki fizyolojik ve farmakolojik etkileri:

Protein metabolizması üzerine olan etkinliği pek belirgin değildir. Zayıf bir katabolik etki yapabilir. Progestinler plazma trigliserid düzeyini düşürürler.

Progesteron ve türevlerinin böyle bir etkisi yoktur. Sentetik progestinlerin büyük bir kısmı androjenik etkinlikleri nedeniyle DDL'de artma ve YDL'de düşme yapabilirler. Sentetik progestinler tek başlarına uzun süre verildiklerinde, YDL nin plazma düzeyini hepatic lipaz etkinliğini stimüle ederek düşürürler. Androjenik etkinliği belirgin olan sentetik progestinlerin yüksek dozda uzun süre kullanılması arterleri bozabilir ve aterosklerotik kronik kalp hastalığına ve diğer iskemik bozukluklara yol açabilir. Ancak bu ilaçlar estrogenlerin aksine pıhtılaşmaya dokunmadıkları için direkt olarak tromboembolik bozukluklar yapmazlar ve venlere dokunmazlar (12).

Progestinler hedef hücrelerdeki spesifik etkilerini progesteron reseptörlerini aktive ederek yaparlar. Reseptör molekülünde bir hormon bağlayan alan, DNA'ya bağlanan alan ve ısı şoku proteini bağlayan alan vardır. Agonist molekülü reseptöre bağlandığında reseptör molekülündeki konformasyonel değişiklik sonucu hsp90 molekülden kopar. Böylece reseptör molekülünün DNA'ya bağlanan alanı açılır ve molekül progesteronla düzenlenen bir genin yukarı tarafındaki hormon cevap elemanları denilen DNA bölgesine bağlanır. Böylece düzenlenen genin transkripsiyonu stimüle edilir. Meydana gelen özgül mRNA'lar hedef hücrede progesteron fonksiyonları ile ilgili protein sentezini artırır (12).

Progesteron, estrogenin uterus vasküler duvardaki gevşeme yapıcı etkisine zıt bir etki gösterir. Ovariectomize koyunlara progesteron uygulanması ekzojen noradrenalin infuzyonundan sonra oluşan semptomimetik sinir uyarımına cevap olarak uterus arterlerinin kasılmasını artırır. Aynı şekilde progesteron uterus arter düz kas hücre membranındaki  $\alpha_1$  adrenoreseptörler ile ve uterus arterlerindeki ekstraselüler kalsiyum uptake'i ile pozitif olarak ilişkilidir. Aynı zamanda progesteronun izole insan uterus venlerinde ve intrakraniyal arterlerdeki kasılmayı inhibe ettiği bildirilmiştir (12).

Progesteronun koroner arterlerde gevşetici etkisinin progesteronun menstrual siklus sırasındaki fizyolojik konsantrasyonunun 30-100 katı yüksek bir

dozda meydana geldiği gözlenmiştir. Dolayısıyla progesteronun gözlenen in vitro akut farmakolojik etkisi in vivo fizyolojik etkisi ile uyumlu olmayabilir. Bu etki mekanizmasında cGMP'nin rolü ile ilgili yapılan çalışmalarda progesteronla oluşturulan gevşemede cGMP nin rolü olmadığı gözlenmiştir. Progesteronun insan serebral arterlerindeki gevşetici etkisinin ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının aktivasyonuna ya da artmış potasyum akımına bağlı olduğu düşünülmektedir. Progesteronun farklı vasküler yapılarda farklı etkileri olduğu düşünülmektedir. Progesteronun izole tavşan kalbinde negatif inotropik etkiye sahip olduğu ve bu etkinin de kalsiyum ve izoprenalin ile antagonize edildiği gözlenmiştir. Bay K8644 ile oluşturulan myokardiyal ve koroner kasılmanın progesteron ile antagonize edildiği gözlenmiştir. Progesteronun gerek tavşan koroner arter gerekse sıçan aortunda kalsiyum konsantrasyonuna bağlı kontraksiyon eğrilerini sağa kaydırıldığı gözlenmiştir. Tavşan koroner arterinde progesteronla oluşturulan gevşemede kalsiyum influksunun inhibisyonunun önemli bir mekanizma olabileceği düşünülmektedir (12).

Progesteronun estrogenle eş zamanlı olarak uygulanması estrogenin yararlı etkilerini önleyebilir. İzole köpek koroner arter halkalarında estrogenle oluşturulan endotele bağlı gevşeme eş zamanlı progesteron uygulaması ile azalmıştır. Benzer şekilde medroksiprogesteron asetat ovariyektomize maymunlardaki koroner vazoreaktivite üzerine estrogenin pozitif etkilerini azaltmaktadır. Hiperkolesterolemik dişi tavşanlarda estrogenin aortik dokularda intimal plak oluşumu üzerine olan azaltıcı etkisini progesteron azaltmaktadır. Birlikte alındığında progesteron estrogenin pozitif vasküler etkilerini antagonize etmektedir. Yapılan bu çalışmada domuz koroner arter halkalarına 1 nM progesteron verilmesinin bradikinin ve kalsiyum iyonoforu A23187 aracılığı ile oluşan gevşemeyi azalttığı ve bu etkinin de eş zamanlı 1 nM 17 $\beta$ -estradiol verilmesi ile sınırlandırıldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda progesteronun suprafizyolojik konsantrasyonlarda direkt olarak U46619 ile kasılmış domuz koroner arter halkalarında gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. Progesteronun dolaşım sistemi üzerine ve ateroskleroz oluşumu ile ilgili etkileri konusunda yeterli çalışmaya rastlanmamıştır. Progesteron ile yapılan uzun süreli tedavi köpek koroner arterlerinde

ADP aracılığı ile oluşan gevşemeyi artırmıştır. Fakat sıçan aortik halkalarında gerek kasılma gerekse gevşeme cevapları üzerine bir etki göstermemiştir. İlginç olarak progesteronun uzun süre uygulanması dişi tavşanlarda plak oluşumunu etkilemezken erkek hayvanlarda intimal plak oluşumunu önemli ölçüde artırmaktadır (46). Bugüne kadar iki çalışma grubu (Jiang ve ark., Glusa ve ark.) (12, 14) progesteronun akut uygulamasından sonra gevşeme cevabına neden olduğunu göstermişlerdir. Fakat bu modelde belirgin bir direkt cevabın oluşması için yüksek dozda progesterona gereksinim duyulmuştur. Babun düz kas hücrelerinde, tavşan aortunda, insan koroner arter ve safen venlerinde progesteron reseptörlerinin varlığı araştırılmıştır. Progesteronun akut uygulamasına bağlı hızlı başlangıç, klasik steroid reseptörlerinin intrinsik yavaş gen indüksiyon üretimi aracılığı ile oluşan cevaplarıyla uyumsuzluk göstermektedir. Genomik yoldan bağımsız olarak progesteron reseptörlerinin aktivasyonu ile oluşan bu etkinin mekanizması araştırılmayı beklemektedir (46).

Progesteronun vasküler fonksiyon üzerine olan etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. Progesteronun kasıcı bir rolü olduğu düşünülmektedir. Progesteron veya progesteron ve estrogen kombinasyonu ile yapılan çalışmada, KCl ile oluşturulan kasılma cevabının gerek endotelli gerekse endotelsiz preparatlarda belirgin bir farklılık göstermediği gözlenmiştir. Ovariectomize sıçanların seks hormonları ile kronik tedavisi izole aorta preparatlarında endotele bağlı veya endotelden bağımsız gevşemeyi etkilememiştir. Kronik seks hormon tedavisi NO'nin L-NAME aracılığı ile inhibisyonuna eğilim göstermektedir. Progestinlerin sıklıkla estrogenlerin fizyolojik antagonisti olarak kasıcı bir role sahip olduğu düşünülmektedir. Progesteron aracılığıyla oluşan kasılma estrogenle antagonize edilir ve progesteron estrogenle oluşan endotele bağlı cevapları azaltır. Diğer bazı çalışmalar progesteronun izole insan plasental ve omental arterlerinde gevşemeye neden olduğunu ve gebelikte gevşeme yapıcı bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada seks hormonları ile yapılan kronik tedavinin L-NAME ile endotele bağlı oluşan inhibisyonu azaltma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak ovariectomize sıçanların seks hormonları ile kronik tedavisi, NO üretimi veya salıverilmesini veya aort düz

kas hücrelerinin NO'e olan duyarlılıklarını değiştirmemiştir. Seks hormonları, inhibitör prostanoidler veya EDHF gibi diğer endotelial faktörlerin üretim veya salgılanmasını artırabilirler (11).

Daha önce yapılan çalışmalarda progesteronun direkt gevşetici etkisi sıçan izole torasik aortasında (14), domuz koroner arterinde (47) ve portal vende (48) gösterilmiştir. Fakat bu etkinin kalsiyum influksunun reseptöre bağlı kalsiyum kanallarının inhibisyonuna mı yoksa intrasellüler depolardan kalsiyum salınımına mı bağlı olduğu kesin değildir. (13).

Progesteron ile oluşturulan gevşeme cevaplarında NO veya endotel hücrelerinin etkileri tartişmalıdır. Uygulamanın yapıldığı hayvan türleri, deneysel metodlar, hormonun dozu ve damarın boyutları bu farklı sonuçlara neden olabilir (13).

Vasküler düz kas hücre membranında reseptör aracılı kalsiyum kanallarını aktive eden agonistler (noradrenalin gibi) aynı zamanda G proteinlerini ve fosfolipaz C'yi aktive edebilirler. Bu da inositol-1,4,5-trifosfat (IP<sub>3</sub>) oluşumuna neden olur ve endoplazmik retikulumdan kalsiyum salgılanmasına neden olur (49, 50). Progesteronun henüz tam olarak bilinmeyen bir mekanizma ile noradrenalin tarafından oluşturulan bu etkiyi önlediği belirtilmektedir. Progesteron yağda çözüdür ve moleküler ağırlığı çok olmadığı için bazı genlerin üretimini sağlamak için hücre membranından sitoplazmaya kolaylıkla geçer (13). Fakat progesteron ile oluşan cevap, gen üretimine göre çok daha çabuk olduğu için (Lan ve ark.) (51) bu çalışmada bu klasik yolun etkili olmadığı düşünölmektedir (13).

İndometazin uygulandıktan 20 dk sonra fenilefrin veya KCl ile kasılma oluşturulmuş izole sıçan aortasında yapılan bir çalışmada progesteron uygulanması sonucunda progesteronun gevşetici özelliğinin değişmediği görölmüş ve sonuç olarak eikozanoid metabolizmasının progesteronun gevşeme oluşturucu özelliğine bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Yine aynı çalışmada progesteronun

ATP-duyarlı potasyum kanalları ile olan ilişkisini değerlendirmek için glibenklamid uygulanmış ve sonuç olarak progesteronun gevşetici özelliklerine potasyum kanallarının bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (14).

Progesteronla oluşturulan endotelden bağımsız gevşeme cevapları nongenomik mekanizmalarla oluşmaktadır. Vasküler düz kaslarda voltaja bağlı kalsiyum kanallarını inhibe etmekte ayrıca sıçan portal veninde kalsiyumla indüklenen kasılmaları potasyum kanal açıcı mekanizmalarla baskıladığı gözlenmiştir. Sonuç olarak progesteronun damar gevşetici etkisinin voltaj ve reseptör-aracılı kanallardan kalsiyum uptake'inin inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (14).

Yakın zamanda domuz damar düz kas hücrelerinde progesteron bağlayıcı protein izole edilmiş ve klonlanmıştır. Sonuçta membran progesteron bağlayıcı bölgenin, L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum artışını inhibe ettikleri düşünülebilir. Primat koroner arterlerinde yapılan gerek in vivo gerekse in vitro çalışmalarda, progesteronun kardiyovasküler sistem üzerindeki yararlı etkilerini, klasik genomik etkilerinin dışında gerçekleştirdiği gösterilmiştir (52).

## 4. TESTOSTERON

### 4.1. Testosteron ve dihidrotestosteron biyosentezi:

Testosteron kimyaca 19-karbonlu bir steroid olan **androstenol**'ün türevidir. Testiste kolesterolden sentez edilir. Sentez için kullanılan prekürsörler, diğer steroid hormonların sentezinde kullanılanlara benzer. Adrenal kortekste kortikosteroidlerin ve overlerde estrogenler ile progesteronun sentezinde de benzer prekürsörler kullanılır. Testiste kolesterolden oluşan  $\Delta_5$ -pregnenolon iki ayrı yolak üzerinden sonuçta testosteroon dönüşür. Leydig hücrelerinde steroidogenez esas olarak ön hipofizden salgılanan lüteinleyici hormonun (LH) kontrolü altında yapılır. Erkeklerde adrenal kortekste ve kadınlarda adrenal



korteks ve overlerde çok az miktarda testosteron sentez edilir. Ayrıca testosteron dan çok az miktarda oluşan estradiol testislerden salgılanır. Testislerden ayrıca androjenik etkili **dihidrotestosteron (DHT)**, **androstenedion** ve **dehidroepiandrosteron** sentez edilir ve salgılanır. Dihidrotestosteron testosteron a göre çok daha güçlü androjenik etki gösterir. Erkeklerde testosteron dan estradiol oluşması testislerden çok hedef hücrelerde ve yağ dokusu hücrelerindeki aromataz enzimi tarafından katalize edilir. Dehidroepiandrosteron androstenedion üzerinden testosteron a dönüştürülür. Estradiol aynı zamanda androstenedionun aromataz enzimi ile estrona ve onunda estradiole dönüşümü ile de üretilebilir (53).

#### 4.2. Absorbsiyon, dağılım ve metabolizma:

Testosteron ağız yolundan verildiğinde mide barsak kanalından absorbe edilir; ancak karaciğerden ilk geçişi sırasında önemli ölçüde inaktive edildiği için sistemik biyoyararlanımı yetersiz derecededir.

Plazmadaki testosteronun %44'ü **SHBG**'ne, %54'ü **albümin** ve diğer proteinlere bağlıdır. Albuminin testosteron a afinitesi SHBG'ne göre 1000 kez daha düşüktür. Plazmada SHBG düzeyi, androjenler tarafından azaltılır ve estrojenler tarafından yükseltilir, gebelerde 5-10 kez artar. Bu globulin türünün plazmadaki düzeyi dişilerde erkeklerdekinin 2-3 katıdır. Diğer hormonlar ve ilaçlarda olduğu gibi plazmadaki testosteronun da ekstraselüler sıvı ve hücrelere geçmeye elverişli olan etkin kısmı serbest fraksiyonudur; SHBG'ne bağlı fraksiyon plazmada rezervuar görevi yapar. Yüksek oranda bağlanmış olmasına rağmen testosteron vücutta hızlı bir şekilde inaktive edilir. Bunun nedeni karaciğerden geçerken sadece serbest testosteronun değil albumine gevşek olarak bağlanmış testosteronun da kısmen hepatositlerin içine girebilmesidir. Bu nedenle karaciğer, beyin ve diğer bazı dokulardan geçerken kandaki testosteronun yaklaşık %50'si kapillerden dokuya geçmeye elverişli durumdadır.

Testosteron, testosteron prekürsörleri ve ilaç olarak kullanılan testosteron benzeri steroidler, esas olarak karaciğerde metabolize edilirler. Testosteron karaciğerde önce androstenediona çevrilir, bu iki madde birbirine dönüşebilirler. Androstenediondan esas olarak androsteron ve ondan da etiokonalon oluşur. Bu üç testosteron metabolitinin ortak niteliği **17-ketosteroid** olmalarıdır. 17-ketosteroidler ve çok az miktarda olmak üzere değişmeden kalan testosteron karaciğerde glukronik asid veya sülfirik asid ile konjuge edilir; bu metabolitler esas olarak böbreklerden idrar içine atılır. Çok az bir kısmı safra içinde feçese atılır. İdrarda çıkan 17-ketosteroid türevlerinin toplam miktarının %30'u testosteron kaynaklıdır, %70'i ise adrenal korteksinden çıkan androjenlerden oluşur. Testosteron hedef hücrelerde 5 $\alpha$ -redüktaz enzimi tarafından iki kez daha güçlü olan dihidrotestosterona indirgenir. Bu olay bir biyoaktivasyon reaksiyonudur (53).

#### **4.3. Testosteronun kardiyovasküler sistem üzerindeki fizyolojik ve farmakolojik etkileri:**

Androjenler lipoprotein metabolizmasını etkiler. Kanda DDL düzeyini yükseltirler ve YDL düzeyini düşürürler. Bu değişimler ateroskleroz gelişmesi riskini artırır.

Testosteron, hipogonadizm olgularında daha belirgin olmak üzere kemik iliğinde eritropoezi stimüle eder. Alyuvar yapımını artırır ve hematokriti yükseltir. Alyuvarın 2,3-difosfogliserat düzeyini artırır ve böylece hemoglobinin oksijene afinitesini azaltıp dokulara oksijen geçişini kolaylaştırır. Alyuvar yapımındaki artma, böbreklerde eritropoetin sentezinin stimüle edilmesine ve ilave olarak kemik iliğinin duyarlı hücrelerinin direkt olarak stimülasyonuna bağlıdır. Androjenler trombositlerin agregasyonunu hem in vitro ve hem de in vivo koşullarda artırır. Bu nedenle kanın pıhtılaşmasını artırabilirler (53).

#### 4.4. Androjen reseptörleri:

Testosteron, DHT ve diğer androjenler hedef hücrelerde etkilerini tek bir androjen reseptör türünü aktive etmek suretiyle yaparlar. Androjen reseptör proteini sentezi, X kromozomu üzerinde bir lokus tarafından kodlanır. DHT'nun reseptöre afinitesi testosterondan birkaç kat daha fazladır. Son zamanlarda yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular bazı steroid reseptör türlerinin (belki de hepsinin) daima çekirdekte bulunduğunu göstermiştir. Testiste androjen reseptörleri hem Sertoli hücrelerinde ve hem de Leydig hücrelerinde bulunur. Ön hipofizdeki gonadotrof hücrelerde yerleşmiş bulunan androjen reseptörleri, testosteron tarafından gonadotropinlerin salgılanmasının düzenlenmesine katkıda bulunur (53).

Testosteron veya dihidrotestosteron intrasellüler protein reseptöre bağlanırlar ve hormon reseptör kompleksi nükleustaki kromozomlarda bulunan hormon düzenleyici elemanlara bağlanır ve spesifik RNA ve protein sentezini artırır. Androjen reseptörleri steroid ve tiroid hormon reseptör süperfamilyasının üyesidir. Bunlar X kromozomundaki bir gen tarafından kodlanır ve androjen bağlayan, DNA bağlayan ve fonksiyonel, bölümlerden oluşur (54).

Postmenopozal kadınların aynı yaştaki erkeklere göre koroner kalp hastalığı ve myokard enfarktüsü geçirme riskinin daha az olması nedeniyle testosteronun koroner arter hastalığını kolaylaştırıcı etkisi olduğu düşünülebilir. Fakat testosteron verilmesine bağlı koroner arter hastalığının arttığına yönelik herhangi bir kanıt bulunamamıştır (15). Testosteronun koroner sirkülasyon üzerine olan etkisi tam olarak bilinmemektedir. Fakat erkeklerde testosteron tedavisinin angina pectoris üzerinde ve angina pectorisli hastalarda egzersizle indüklenen ST segment çökmesi üzerine olumlu etkisi olduğuna dair çalışmalar vardır. Testosteron ile 4-8 hafta yapılan tedavi ve plasebo ile yapılan tedavi sonrası, testosteron uygulanan grupta egzersizle indüklenen ST segment çökmesinde azalma gözlenmiştir. Testosteronun bu etkisinin mekanizması tam olarak saptanamamıştır. Testosteronun koroner arterler üzerine direkt etkisi ve

etki mekanizması bilinmemektedir (15-17). Yapılan çalışmalar sonucu testosteronun 1, 10, 100 µmol/L dozlarda kasılmış tavşan koroner arterinde ve aortasında gerek endotelli gerekse endotelsiz preparatlarda gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. Bu etki dişi veya erkek arasında da bir farklılık göstermemiştir. PGF<sub>2α</sub> ile kasılmış preparatlarda, KCl ile kasılmış preparatlara göre gevşemenin daha fazla olduğu gözlenmiştir (15).

Testosteronun anginal semptomlar üzerine olan yararlı etki mekanizmalarından biri koroner gevşeme yapıcı etkisidir. Yakın zamanda yapılan çalışmalar uzun süre yapılan testosteron tedavisinin angina pectorisli hastalarda egzersizle oluşan myokardiyal iskemiye azalttığını göstermiştir. Bu yararlı etkilerinin düşünülen etki mekanizmaları ise; eritrositlerin oksijen taşıma kapasitesinin artırılması ve kan hemoglobin düzeylerinin artırılmasıdır. Testosteron plazmada yüksek oranda proteinlere bağlanır. Bu da testosteronun farklı dokularda farklı konsantrasyonlarda bulunmasına neden olur. Böylece fizyolojik etkileri düşük plazma konsantrasyonuna rağmen görülebilir (15).

Vasküler ve kardiyak dokularda testosteron reseptörü olduğuna dair herhangi bir kanıt bulunmamaktadır. Testosteronun diğer bir gevşetici mekanizması testosteronun aromataz yoluyla estradiole dönüşmesidir. Flutamid ve aminoglutetimid ile yapılan çalışmalarda her ikisinin de testosteron ile oluşan gevşeme üzerine bir etkisi olmadığı görülmüştür. Bu da bize ne testosteron reseptörünün ne de testosteronun estrojene dönüşmesinin testosteronun düz kas gevşetici özelliği üzerine herhangi bir etkisi olmadığını göstermiştir (15). Duyarlı kalsiyum kanalları, ekstraselüler potasyum konsantrasyonu arttığında plazma membran depolarizasyonu yoluyla aktive olur. Endotelli tavşan koroner arterinde yüksek potasyum depolarizasyon ortamında testosteron ile yapılan inkübasyonun kalsiyum kontraksiyonuna bağlı kontraksiyon eğrilerinde sağa kayma oluşturmadığı gözlenmiştir. Bu da testosteronun bu vasküler preparatlarda kalsiyum antagonistik etkisi olmadığını göstermiştir (15).

Testosteronun angina üzerine yararlı olan etkisinin bir mekanizması direkt koroner gevşetici etkisidir. İn vivo değişikliğe yol açan dozlarla in vitro olarak organ banyosunda düz kas gevşemesine yol açan dozlar arasında farklılık olduğu gözlenmiştir (15, 16).

Deneysel in vitro çalışmalarda testosteronun tavşan koroner arterinde direkt gevşeme yapıcı etkisi gösterilmiştir, fakat bugüne kadar herhangi bir in vivo çalışma bildirilmemiştir. Yapılan bir çalışmada testosteronun koroner arter ve rezistans arterlerinde cinsiyetten bağımsız belirgin bir gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. NO sentezinin inhibisyonu, testosteron ile indüklenen epikardiyal ve mikrovasküler gevşemeyi azaltmıştır. ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının farmakolojik antagonizması, epikardiyal arterlerde testosteron ile oluşan gevşemeyi azaltmazken koroner mikrosirkülasyonda azaltmıştır (16).

Estrojen ve testosteronun her ikisinin de koroner gevşeme yapıcı etkisinin olması ve her ikisinin de ortak moleküler yapısal özellikler içermesi ortak nonspesifik etki mekanizması gösterdiğini düşündürmektedir. Gerek in vivo gerekse in vitro çalışmalar indometazinin testosteronla oluşan gevşemeyi etkilemediğini göstermiştir. Böylece gevşeme yapan prostanooidlerin salgılanmasının testosteronla oluşan koroner gevşemede etkili olmadıkları görülmüştür. Tipik olarak steroidlerin hormonal etkisi intrasellüler reseptör familyası aracılığıyla oluşur. Bu genomik etki mekanizmasına bağlıdır. Sonuçta transkripsiyon, translasyon ve protein sentezi oluşur. Steroid hormonlarla oluşan cevaplar tipik olarak 1-2 saat sürede meydana gelir. Yakın zamandaki kanıtlar steroid hormonların etkisinde nongenomik yolların da etkili olduğunu göstermiştir. Aldosteronla yapılan yakın zamandaki çalışmalar bilinen intrasellüler reseptörlerden belirgin olarak farklı olan membran reseptörlerinin bulunduğunu göstermiştir. Sonuç olarak akut testosteron uygulaması in vivo olarak epikardiyal ve rezistans koroner arter gevşemesini  $\geq 0.1$  mmol/L konsantrasyonda sağlanmaktadır. Testosterona bağlı akut koroner gevşeme kısmen endotelden salıverilen NO aracılığı ile gerçekleşir. Buna ilave olarak ATP'ye duyarlı potasyum kanalları da rezistans arterlerdeki etkisinde rol oynar. Estrojen gibi testosteron da

hastalıkta ve sağlıkta koroner tonusun düzenlenmesinde rol oynar. Estrojen ve progesteronun koroner gevşemeye neden olduğu açık olsa da, seks hormonlarının uzun süre uygulanmasının koroner damarlar üzerine etkilerinin genomik mekanizma ile mi yoksa nongenomik mekanizma ile mi olduğu belli değildir (16).

İn vivo olarak da testosteronun koroner arterlerde gevşetici etkisi olduğu gösterilmiştir. Testosteronun akut intrakoroner infüzyonu sonucu koroner arter hastalığı olan erkeklerde koroner arter çapı ve kan akımının arttığı görülmüştür. Ayrıca kan lipid profili ve ateroskleroz plak oluşumu üzerinde de olumlu etkileri gözlemlenmiştir. Jones ve ark.'nın pulmoner arter üzerinde yaptıkları bir çalışmada düz kas hücre membranında testosteron bağlanma bölgesi tespit edilmiştir. Bu çalışmada testosteronun pulmoner arter gevşetici etkisini klasik nükleer androjen reseptöründen bağımsız bir mekanizma ile gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Testosteronun etkisini saniyeler içinde göstermiş olması ve klasik reseptörlerle oluşan genomik etkinin bir saat gibi bir sürede oluşması bu düşüncüyü desteklemektedir. Buna ilave olarak testosteronun pulmoner arter gevşetici etkisinin prostaglandin veya NO salgılanmasına bağlı olmadığı düşünülmektedir. Yine bu çalışmada testosterona bağlı gevşemenin endotelin uzaklaştırılması ile azalmadığı gösterilmiştir (55). Yu ve ark. mikromolar konsantrasyonlarda testosteron uygulanması ile gevşeme cevabı oluştuğu ve bunun flutamid, L-NAME veya indometazinden etkilenmediğini ve ayrıca testosteronun kalsiyum antagonistik etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu cevap nonspesifik potasyum kanal blokeri olan baryum klorür ile de inhibe olmaktadır. Sonuç olarak Yu ve ark. testosteron ile oluşan gevşemenin potasyum kanal aktivasyonu sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir (15).

Teoh ve ark. domuz koroner arterinde yaptıkları bir çalışmada sonuç olarak, suprafizyolojik dozlarda testosteronun endotele bağlı gevşeme cevabı oluştururken düşük oranda erkek seks steroidinin endotele bağlı gevşemeyi düzenlediğini belirlemişlerdir. Testosteronun direkt veya indirekt damar gevşetici etkileri androjen reseptör antagonistlerine duyarsızdır ve kısmen etkisi geri döndürülebilir (56).

## 5. TAMOKSİFEN

Göğüs kanserinin hormonal tedavisinde hem adjuvan tedavi hem de metastatik hastalıkların ilk basamak tedavisinde kullanılır. Tamoksifen sitrat estrogen reseptörü (ER) pozitif olan hastalarda etkili palyatif tedavi sağlamaktadır. Aynı zamanda postmenopozal kadınlarda hastalığın rekürrensini önlemek için de kullanılır.

### 5.1. Etki mekanizması:

Tamoksifen estradiolün estrogen reseptörüne bağlanmasında kompetitif inhibisyona sebep olur. Estrogen reseptörüne bağlandığı zaman reseptörde üç boyutlu şekilde değişmeye neden olur ve DNA'daki estrogen cevap elementine (ERE) bağlanmasını inhibe eder. Normal fizyolojik koşullar, estrogen stimülasyonu tümör hücre ürünü transforming growth faktör  $\beta$ 'yi (TGF- $\beta$ ) artırır. Tamoksifen tümör hücre büyümesinin otokrin inhibitörüdür. Bu yolları bloke eden tamoksifenin net etkisi göğüs kanseri büyümesinin otokrin stimülasyonunu hücreyi G<sub>1</sub> fazında bloke ederek azaltmaktır. Buna ilave olarak insülin benzeri büyüme faktörü 1'in (IGF1) lokal oluşumunu da azaltır. IGF1 göğüs kanseri için parakrin büyüme faktörüdür (57). Tamoksifenin agonistik etkinliği zayıf da olsa vardır; bu nedenle gerçekte parsiyel agonisttir. Agonistik etkinliği, kemiklerde ve lipoprotein metabolizmasında belirgindir (58).

### 5.2. Absorbsiyon, dağılım ve metabolizma:

Tamoksifen oral kullanımdan sonra kısa bir sürede absorbe edilir. Plazma doruk konsantrasyonuna 4-7 saatte ve plazmada kararlı durum seviyesine 4-6 haftada ulaşır. Tamoksifen öncelikle N-desmetiltamoksifen ve minör bir metabolit olan 4-hidroksitamoksifene metabolize edilir. Her iki metabolit de daha sonra 4-hidroksi-N-desmetiltamoksifene dönüşür. Bunun estrogen reseptör afinitesi yüksektir. Tamoksifenin yarılanma ömrü 7 gün iken N-desmetiltamoksifenin yarı ömrü bunun iki katı kadardır. Enterohepatik sirkulasyondan sonra glukronid konjugasyon ürünü ve diğer metabolitler dışkıyla atılır, idrar ile atılım minimaldir.

### 5.3. Tamoksifenin kardiyovasküler sistem üzerindeki fizyolojik ve farmakolojik etkileri:

Selektif estrogen reseptör modölatörleri (SERMs) bazı dokularda estrogen gibi etki gösteren ama diğer dokularda estrogenin etkilerini antagonize eden bileşiklerdir. SERMs için ilk örnek (birinci generasyon bileşik) tamoksifendir. Kemik üzerinde estrogen benzeri etki gösterirken göğüs üzerinde estrogen antagonistik etki gösterir. Tamoksifenin istenmeyen etkisi endometriyum üzerinde estrogen benzeri etki göstermesidir. SERMs'den ikinci generasyon olarak raloksifen sayılabilir. Kemik, lipid metabolizması ve koagülasyon sistemi üzerinde estrogen benzeri etki gösterirken göğüs ve uterus üzerinde antagonistik etkiye sahiptir. Aynı maddenin bir dokuda agonistik başka bir dokuda antagonistik etki göstermesinin nedeni henüz aydınlatılamamıştır. Bir görüş, estrogen reseptörlerinin liganda bağlı olarak farklı konformasyonel değişiklikler göstermesidir. İki farklı estrogen reseptör subtipinin olması da etkili olabilir. Estrogen reseptörlerinin çeşitli altbirimlerinin olması ve doku spesifik steroid reseptör koaktivatör ve koproressörlerinin varlığı bazı dokuya spesifik etki mekanizmalarının altında yatan neden olabilir. SERMs androjen ve progesteron reseptörleri gibi diğer steroid reseptör modölatörlerinin prototipi olabilir (18).

Tamoksifenin kardiyovasküler olaylar üzerine etkisi belirgin değildir. Tamoksifen kullanan kadınlarda plaseboya göre fatal myokard infarktüsü riski daha az görülmüştür ve kardiyovasküler hastalık şikayeti ile hastaneye daha az başvurmuşlardır. Bunun yanında yakın zamanda yapılan bir çalışmada göğüs kanseri tedavisi için tamoksifen kullanan kadınlarda kardiyovasküler mortalitede herhangi bir azalma görülmemiştir. Tamoksifen DDL düzeylerinde, lipoprotein a [Lp(a)] ve fibrinojen düzeylerinde belirgin azalma yapar. Kardiyovasküler risk faktörleri ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalıklar üzerine, kemik mineral dansitesi ve de kırık oluşma riski üzerine estrojene benzer etkiler gösterir. Bu etkilere zıt olarak göğüs üzerine estrogen antagonistik etki gösterirken endometriyum kanseri üzerine estrogen benzeri etki gösterir (18).



Tamoksifenin estrogen reseptörlerine bağlanması estrogenin bağlanmasını kompetitif olarak inhibe eder. In vitro olarak estrogenin kendi reseptörüne bağlanma afinitesi tamoksifenden 100-1000 kat daha fazladır. In vitro çalışmalar bu etkinin sitostatik olduğunu ve böylece uzun süreli kullanılması gerektiğini göstermiştir. Tamoksifen-estrogen reseptör kompleksi DNA ya bağlanır. Ancak gerek estrogenik agonistik mesaj gerekse antagonistik antiestrogenik mesajdan hangisinin etkin olacağı spesifik hücre tiplerinde promoter elementlerden hangisinin mevcut olduğuna bağlıdır. Serum protein değişiklikleri tamoksifenin estrogenik agonistik etkilerini yansıtır. Antitrombin III, kolesterol ve DDL kolesterol azalırken, YDL kolesterol ve SHBG düzeyleri artar. Tamoksifenin estrogenik etkileri, reseptör sentezinin stimülasyonunu, kemikler üzerine estrogen benzeri etki göstermesini, vajinal mukoza ve endometrium üzerine estrogen benzeri etkiler göstermesini içerir (20).

Figtree G.A. ve ark. yaptıkları bir çalışmada koroner arter gevşemesine neden olan tamoksifen konsantrasyonunun tamoksifen ile tedavi edilen hastalardaki plazma konsantrasyonuna yakın olduğunu tespit etmişlerdir. L-NAME ile NO sentezinin blokajı endotelli ve endotelsiz preparatlar arasında tamoksifene bağlı gevşeme cevapları açısından farklılıkları tamamen ortadan kaldırmıştır. Bu da endotelin tamoksifen ile indüklenen gevşemeye katkısının NO'ye bağlı olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada gerek endotelsiz preparatlarda gerekse NO sentezinin oluşumunun bloke edildiği preparatlarda tamoksifen ile oluşan gevşemenin vasküler düz kaslar üzerine direkt gevşetici etki göstermesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Tamoksifenin kalsiyum konsantrasyonuna bağlı kontraksiyon eğrilerine etki göstermemesi düz kaslar üzerine olan bu direkt etkinin kalsiyum kanal blokajından bağımsız olduğunu göstermektedir. Erkek ve dişi tavşanlar arasında tamoksifen ile oluşan gevşeme açısından belirgin bir fark görülmemiştir. Her iki cinste de gevşeme mekanizmasında NO ve estrogen reseptörlerinin mevcut olması belirleyici olmuştur. In vivo ve in vitro konsantrasyonlar etki açısından farklılık gösterir. Bu çalışma modeli dolaşımdaki diğer hormonları, kan hacmini ve de koroner sirkülasyonun etkilerini içermemektedir. Dişi tavşanlardan elde edilen arterler siklusun estrus fazında

yüksek düzeylerde estrojene maruz kalmaktadırlar. Bu da insanla karşılaştırıldığında in vitro olarak seks steroidlerine karşı farklı akut cevaplara neden olabilir. Bu insanlarda estrogen düzeylerinin menstrüel siklus sırasında değişiklik gösterdiğini ve menopozdan sonra azaldığını düşündürmektedir. Sonuç olarak tamoksifenin dişi ve erkek hayvanlarda epikardiyal koroner halka preparatlar üzerinde endotel aracılığıyla veya direkt vasküler düz kaslar üzerine etki ederek gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir. Diğer mekanizmalar, endoteldeki estrogen reseptörleri ile etkileşmesi ve NO salgılanmasına neden olmasıdır (19).

Hutchison ve ark.'nın KCl ile kasılma oluşturulan izole domuz koroner arterinde  $10^{-9}$ - $10^{-5}$  M tamoksifen ve estrogen uygulayarak yaptıkları bir çalışmada her ikisinin de gevşeme cevabı oluşturduğunu belirlemişlerdir. Yine bu çalışmada endotelin uzaklaştırılmasının ya da endotelial NOS enziminin L-NAME ile bloke edilmesinin her iki ajanla oluşturulan gevşeme cevaplarında belirgin bir azalmaya neden olmadığını belirlemişlerdir. ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının glibenclamid ile inhibisyonu ise her iki ajan için de maksimal gevşeme cevabını belirgin olarak azaltmıştır. Tamoksifenle oluşan gevşeme cevabı gerek klasik reseptör antagonisti (ICI 182,780) ve gerekse androjen reseptör antagonisti olan flutamid ile inhibe olurken, estrogen ile oluşan gevşeme cevabı flutamid ile inhibe olmamıştır (59).

Bu bilgilerin ışığı altında çalışmamızda, steroid hormonların koroner arter endoteli veya düz kasında bulunan reseptörleri üzerinde nasıl bir etki gösterdiklerini ve bu etki üzerinde nitrik oksid (NO) in rolünün olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

# GEREÇ VE YÖNTEMLER

## 1. GEREÇLER

### 1.1. Deney hayvanları:

Çalışmada mezbahadan elde edilen 6 ay-1 yaş arasındaki Akkaraman cinsi koyunlardan elde edilen koroner arterler kullanıldı. Materyalin mezbahadan günlük olarak, modifiye Krebs solusyonu içine konularak transportu sağlandı.

### 1.2. Gruplar:

Grup-1: Koroner, erkek, endotelli grup

Grup-2: Koroner, dişi, endotelli grup

Grup-3: Koroner, erkek, endotelsiz grup

Grup-4: Koroner, dişi, endotelsiz grup

### 1.3. Kullanılan kimyasal maddeler:

Nw-Nitro-L-arginine methylester (L-NAME)  $C_7H_{15}N_5O_4.HCL$  (SİGMA)

L-arginine  $C_6H_{14}N_4O_2$  (SİGMA)

Acethylcholine Chloride  $C_7H_{16}NO_2Cl$  (SİGMA)

Dimethylsulfoxid  $C_2H_6O_5$  (MERCK)

Kallium Chloride (KCL) (MERCK)

Distile su

Estradiol propionate (Akrofolline ampul, Türfarma)

Progesteron (Progestan yumuşak kapsül, Koçak)

Testosterone propionate (Organon)

Tamoksifen sitrat (Astra Zeneca )

#### 1.4. Modifiye Krebs Henseleit solüsyonu:

NaCl (MERCK)	6.9 g/l (118.3mM)
KCl (MERCK)	0.35 g/l (4.7 mM)
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (MERCK)	0.29 g/l (1.2 mM)
CaCl <sub>2</sub> (MERCK)	0.28 g/l (2.5 mM)
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Carlo Erba reagenti)	0.21 g/l (1.2 mM)
D(+)-Glukoz monohidrat (Carlo Erba reagenti)	2.2 g/l (11.1 mM)

#### 1.5. Kullanılan aygıtlar:

İzole Organ Banyosu

TDA 96 Transducer Data Acquisition System (May Commat)

Ultrasonik Banyo (Bandelin, Sonorex TK 100)

pH Metre (PH 890, Nel Elektronik)

## 2. YÖNTEM:

### 2.1. Koroner arter preparatlarının hazırlanması:

Mezbahadan alınan koyun kalbi soğuk modifiye Krebs solusyonu (NaCl: 118.3mM, KCl: 4.7 mM, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 1.2 mM, CaCl<sub>2</sub>: 2.5 mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1.2 mM, D(+)-Glukoz monohidrat: 11.1 mM) içine konularak kısa sürede laboratuvara getirildi. Öncelikle koyun kalbi alınarak epikardiyal sol koroner arter diseke edildi ve daha sonra diseke edilen kısım bağ dokusundan temizlendi. Elde edilen materyalden 0.2- 0.3 cm boyunda halka preparatlar hazırlandı. Endotelsiz çalışılan preparatlarda endotel, tahta bir çubuk ile nazikçe damar iç kısmına sürterek uzaklaştırıldı. İki paslanmaz çelik tel birbirine paralel olacak şekilde damar iç yüzünden endotel ile temas ettirilmeden geçirildi ve 10 ml modifiye Krebs solusyonu içeren organ banyosuna asıldı. Organ banyosu 37 °C sıcaklıkta tutuldu ve % 95 O<sub>2</sub> ve % 5 CO<sub>2</sub> ile havalandırıldı. Dişi ve erkek koyunlardan elde edilen endotelli veya endotelsiz preparatlar için 1 g. gerginlikte 15 dakika aralarla yıkanarak, 60-90 dakika bekletildi ve stabilize olması sağlandı.

## 2.2. Maddelerin uygulanması:

Preparatların stabilizasyonu sağlandıktan sonra endotelli veya endotelsiz halkalar kontrol grubunda öncelikle KCl (30 mM) ile kasıldı. KCl ile maksimum kasılma elde edildikten sonra bu değer kaydedildi ve daha sonra maddeler (estrojen, progesteron, testosteron ve tamoksifen  $10^{-7}$ -  $10^{-4}$  M) dozları arasında kümülatif olarak uygulandı. Bir yüksek doz, bir önceki doz verilmesiyle plato oluştuğundan sonra uygulandı ve bu konsantrasyona bağlı cevaplar kaydedildi.

L-NAME veya L-arginin 0.1 mM ( $10^{-4}$  M) dozunda KCl ile kasılmadan 10-15 dak. önce uygulandı. Daha sonra KCl ile kasıldı. KCl ile maksimum kasılma elde edildikten sonra bu değer kaydedildi ve daha sonra maddeler (estrojen, progesteron, testosteron ve tamoksifen  $10^{-7}$ -  $10^{-4}$  M) dozları arasında kümülatif olarak uygulandı. Bir yüksek doz, bir önceki doz verilmesiyle plato oluştuğundan sonra uygulandı ve bu konsantrasyona bağlı cevaplar kaydedildi.

L-NAME ve L-arginin distile suda, estrojen, progesteron, testosteron ve tamoksifen ise 1/5 Dimethylsulfoxid (DMSO) + 4/5 distile su karışımından oluşan solusyonda çözüldü. Her bir grup için 1/5 Dimethylsulfoxid (DMSO) + 4/5 Distile su ile kontrol çalışması yapıldı. Değerler % gevşeme olarak hesaplandı ve bu değerlerden 1/5 Dimethylsulfoxid (DMSO) + 4/5 Distile su ile elde edilen değerlerin % gevşeme değerleri çıkartıldı.

## 2.3. İstatistiksel değerlendirme:

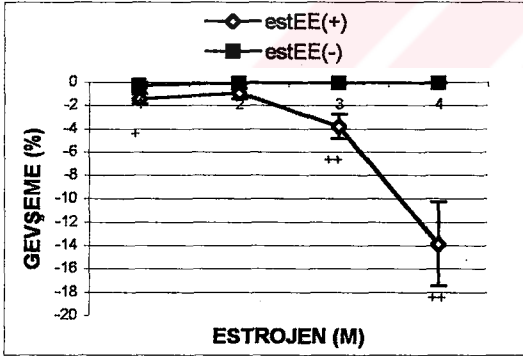
Tüm sonuçlar Ortalama  $\pm$  Standart Sapma olarak verildi. Elde edilen değerler *t* testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanarak değerlendirildi.  $p < 0.05$  farklı kabul edildi.

# BULGULAR

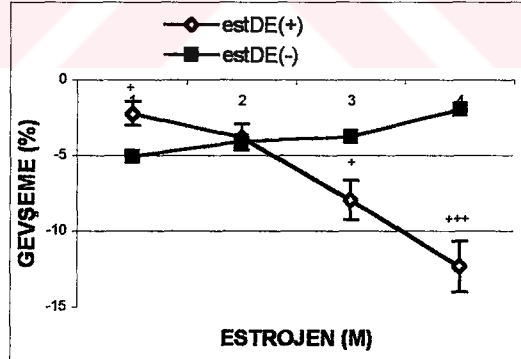
Çalışmada estradiol propiyonat, progesteron, testosteron propiyonat ve tamoksifen sitrat'ın izole organ sisteminde  $10^{-7}, 10^{-5}, 10^{-4}$  M konsantrasyonlarda KCl ile kasılma oluşturulan erkek ve dişi koyun koroner arterlerinde gerek endotelli gerekse endotelsiz preparatlar üzerindeki gevşeme yapıcı etkileri değerlendirildi.

## 1. Estrojen:

Gevşeme cevapları değerlendirildiğinde estrojen, endotelli erkek grupta,  $10^{-7}, 10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, dişi grupta,  $10^{-7}$  M konsantrasyonda endotelsiz grupta endotelli gruba göre,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda ise endotelli grupta endotelsiz gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-1 ve 2).

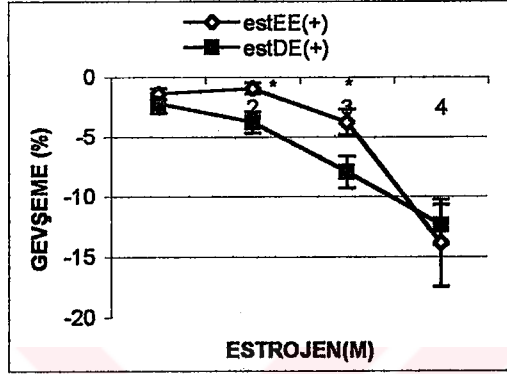


**Şekil-1:** İzole erkek endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde estrojen ile oluşturulan gevşeme cevapları.  
estEE(+): Estrojen erkek endotelli  
estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz  
+  $p < 0.05$ ; ++  $p < 0.01$ ; +++  $p < 0.001$ , *t* test



**Şekil-2:** İzole dişi endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde estrojen ile oluşturulan gevşeme cevapları  
estDE(+): Estrojen dişi endotelli  
estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz  
+  $p < 0.05$ ; ++  $p < 0.01$ ; +++  $p < 0.001$ , *t* test

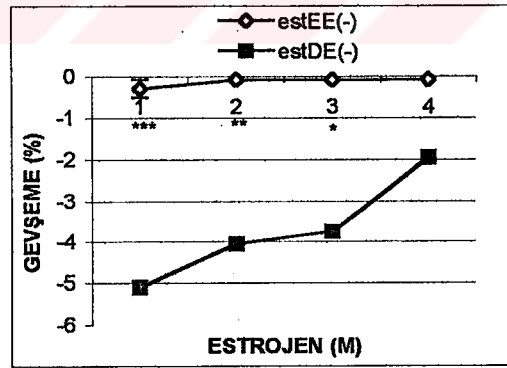
Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin dişi grupta  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda, erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlenirken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda, endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-3 ve 4).



**Şekil-3:** İzole endotelli koyun koroner arterinde, erkek ve dişi gruplarda estrojen ile oluşan gevşeme cevapları.

estEE(+): Estrojen erkek endotelli  
estDE(+): Estrojen dişi endotelli

\*  $p < 0.05$ , *t* test



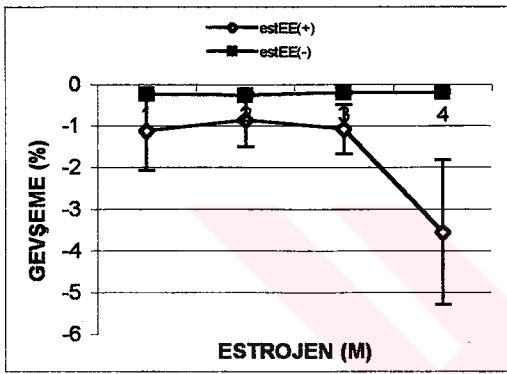
**Şekil-4:** İzole endotelsiz koyun koroner arterinde, erkek ve dişi gruplarda estrojen ile oluşan gevşeme cevapları.

estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz

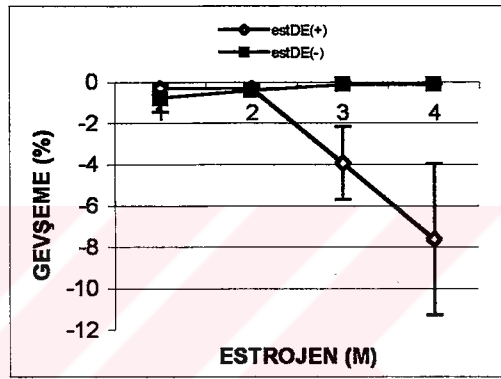
estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz

\*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ , *t* test

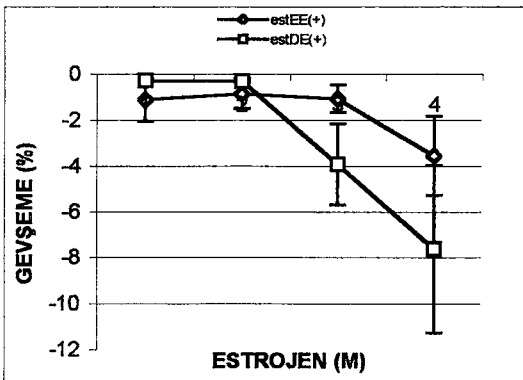
L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin gerek erkek ve gerekse dişi gruplarda endotelli ve endotelsiz gruplar arasında her dört konsantrasyonda da anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi (Şekil-5 ve 6). L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin her dört konsantrasyonda da dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi. Endotelsiz erkek grupta  $10^{-5}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-7 ve 8).



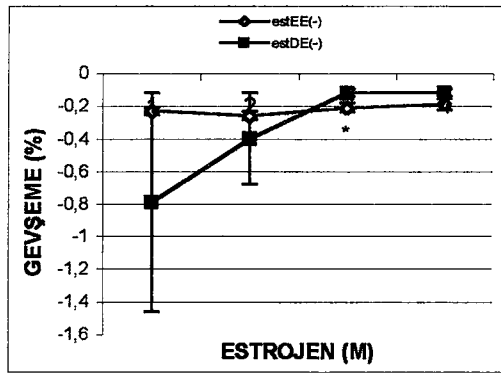
**Şekil-5:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde estrojen cevapları. estEE(+): Estrojen erkek endotelli estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz



**Şekil-6:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde estrojen cevapları. estDE(+): Estrojen dişi endotelli estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz



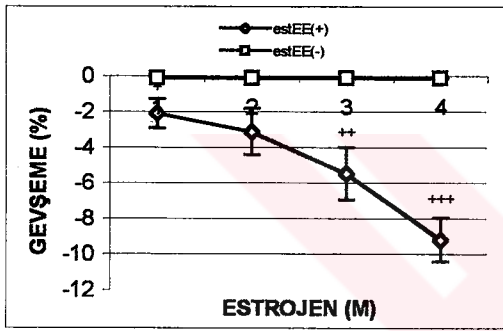
**Şekil-7:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde estrojen cevapları. estEE(+): Estrojen erkek endotelli estDE(+): Estrojen dişi endotelli



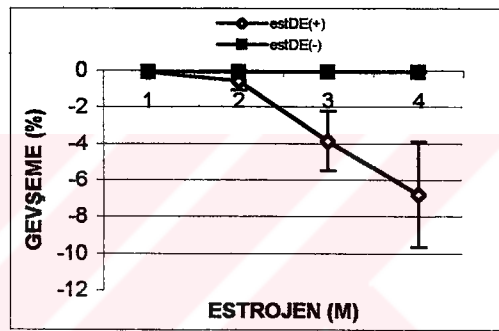
**Şekil-8:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde estrojen cevapları. estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz \*  $p < 0.05$ , *t* test



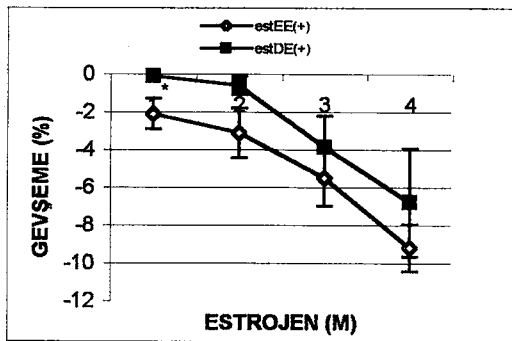
L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelli erkek grupta endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlenirken, dişi grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi (Şekil-9 ve 10). L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli grupta  $10^{-7}$  M konsantrasyonda erkek grupta dişi gruba göre anlamlı derecede gevşeme cevabı olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyonda da dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi (Şekil-11 ve 12).



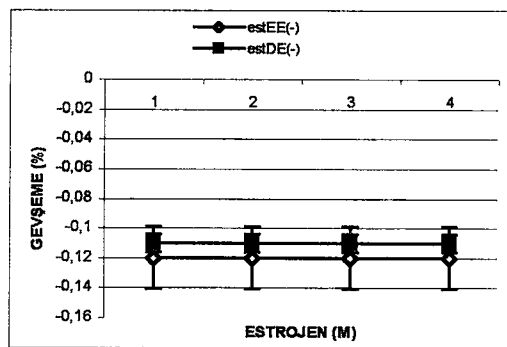
**Şekil-9:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde estrojen cevapları.  
 estEE(+): Estrojen erkek endotelli  
 estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz  
 \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ , *t* test



**Şekil-10:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde estrojen cevapları.  
 estDE(+): Estrojen dişi endotelli  
 estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz

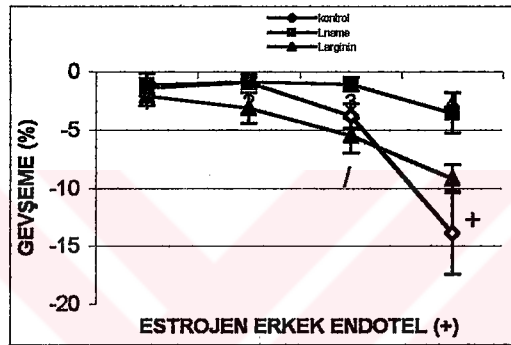


**Şekil-11:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde estrojen cevapları.  
 estEE(+): Estrojen erkek endotelli  
 estDE(+): Estrojen dişi endotelli  
 \*  $p < 0.05$ , *t* test

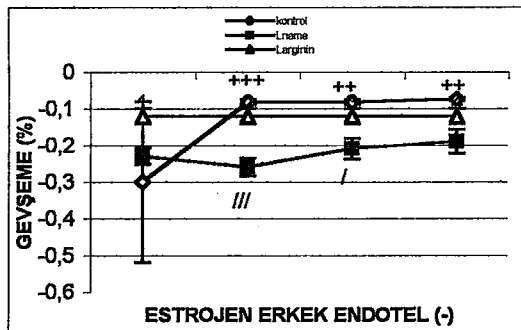


**Şekil-12:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde estrojen cevapları.  
 estEE(-): Estrojen erkek endotelsiz  
 estDE(-): Estrojen dişi endotelsiz

Estrojenin endotelli ve endotelsiz erkek gruplarda, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-5}$  M konsantrasyonda L-NAME ve L-arginin grupları arasında ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ile kontrol grupları arasında ve  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ile L-arginin grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi (Şekil-13 ve 14).

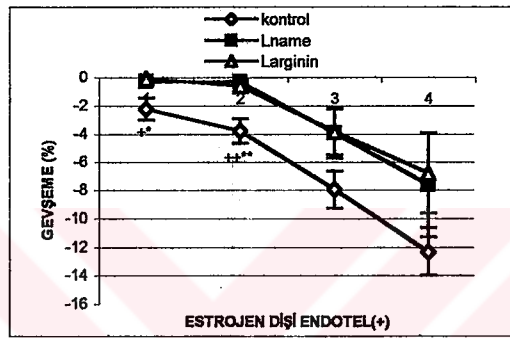


**Şekil-13:** Endotelli erkek izole koyun koroner arterinde estrojen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
+  $p < 0.05$  (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
/  $p < 0.05$  (L-NAME-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

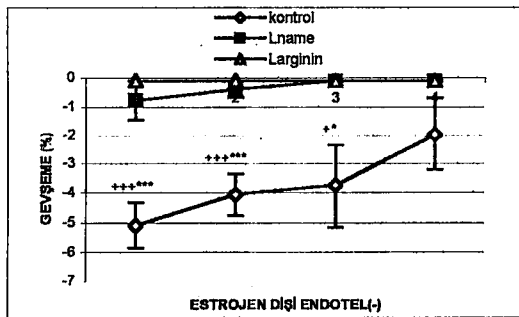


**Şekil-14:** Endotelsiz erkek izole koyun koroner arterinde estrojen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
+  $p < 0.05$ , ++  $p < 0.01$ , +++  $p < 0.001$  (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
/  $p < 0.05$ , ///  $p < 0.001$  (L-NAME-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

Estrojenin endotelli ve endotelsiz dişi gruplarda, kontrol , L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-7}$  ve  $10^{-6}$  M konsantrasyonda gerek L-NAME gerekse L-arginin ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonda gerek L-NAME ile kontrol gerekse L-arginin ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi (Şekil-15 ve 16).



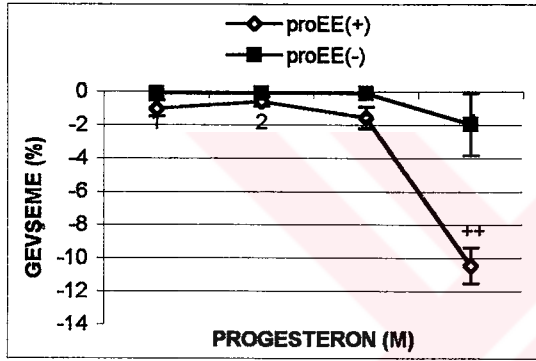
**Şekil-15:** Endotelli dişi izole koyun koroner arterinde estrojen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +  $p < 0.05$ , ++  $p < 0.01$  (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
 \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  (Kontrol-L-arginin arasındaki fark) ANOVA



**Şekil-16:** Endotelsiz dişi izole koyun koroner arterinde estrojen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +  $p < 0.05$ , +++  $p < 0.001$  (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
 \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  (Kontrol-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

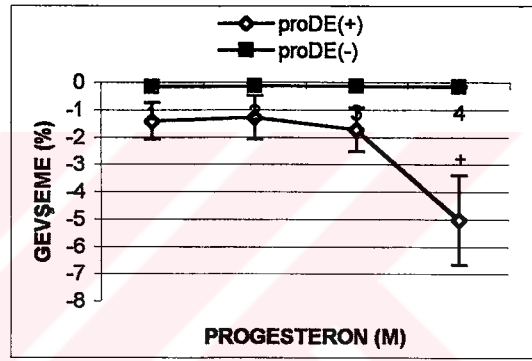
## 2. Progesteron:

Gevşeme cevapları değerlendirildiğinde progesteronun, gerek endotelli erkek grupta gerekse endotelli dişi grupta endotelsiz gruplara göre  $10^{-4}$  M konsantrasyonda anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-17 ve 18). Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı derecede gevşeme cevabı gözlenirken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-19 ve 20).



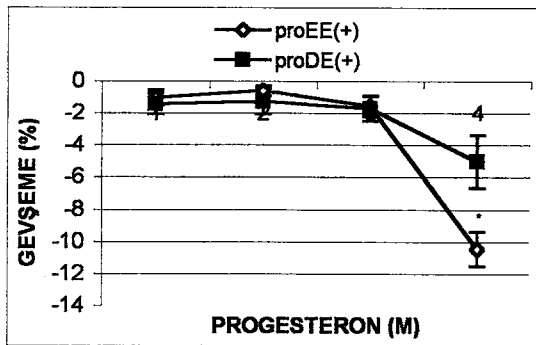
**Şekil-17:** İzole erkek endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde progesteron ile oluşan gevşeme cevapları.

proEE(+): Progesteron erkek endotelli  
proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz  
++ p<0.01, t test



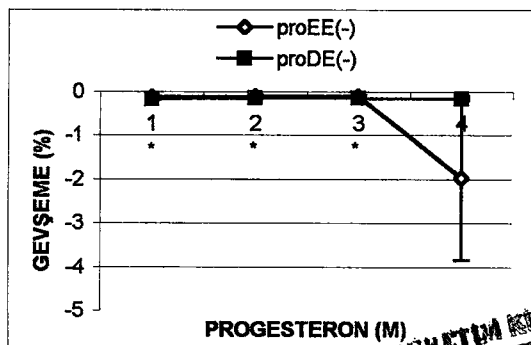
**Şekil-18:** İzole dişi endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde progesteron ile oluşan gevşeme cevapları.

proDE(+): Progesteron dişi endotelli  
proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz  
+ p<0.05, t test



**Şekil-19:** İzole endotelli koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda progesteron ile oluşan gevşeme cevapları.

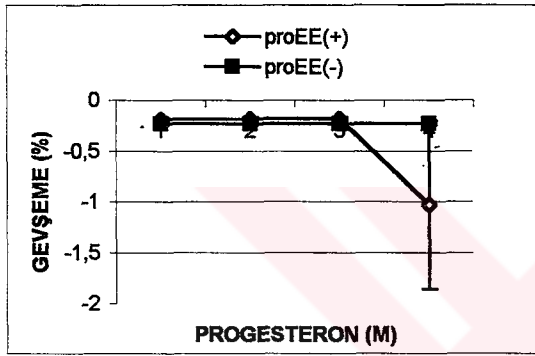
proEE(+): Progesteron erkek endotelli  
proDE(+): Progesteron dişi endotelli  
\* p<0.05, t test



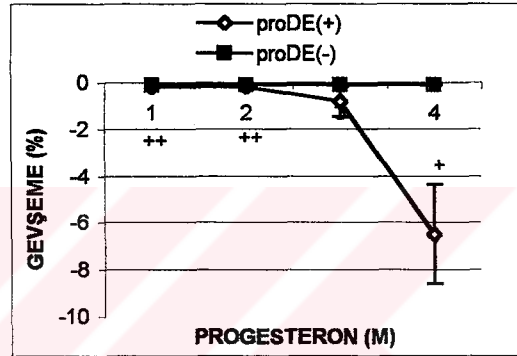
**Şekil-20:** İzole endotelsiz koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda progesteron ile oluşan gevşeme cevapları.

proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz  
proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz  
\* p<0.05, t test

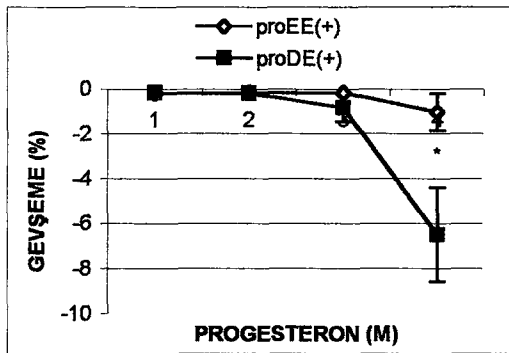
L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde progesteron erkek grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmazken, endotelli dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz gruplara göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-21 ve 22). Endotelli gruplarda, progesteron dişi grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda erkek gruba göre anlamlı bir gevşemeye neden olurken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda da dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-23 ve 24).



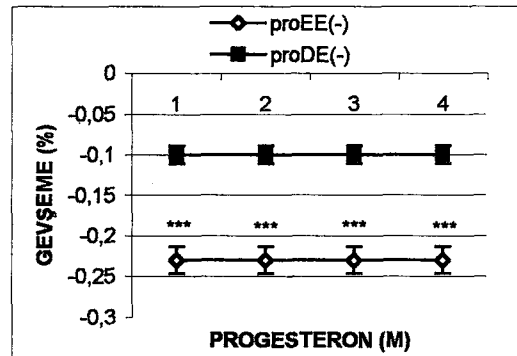
**Şekil-21:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde progesteron cevapları.  
proEE(+): Progesteron erkek endotelli  
proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz



**Şekil-22:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde progesteron cevapları.  
proDE(+): Progesteron dişi endotelli  
proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz  
\*  $p < 0,05$ , *t* test

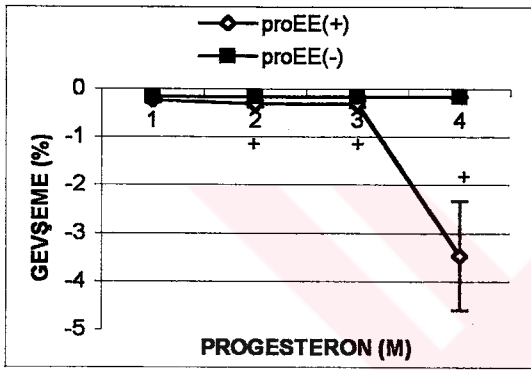


**Şekil-23:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde progesteron cevapları.  
proEE(+): Progesteron erkek endotelli  
proDE(+): Progesteron dişi endotelli  
\*  $p < 0,05$ , *t* test

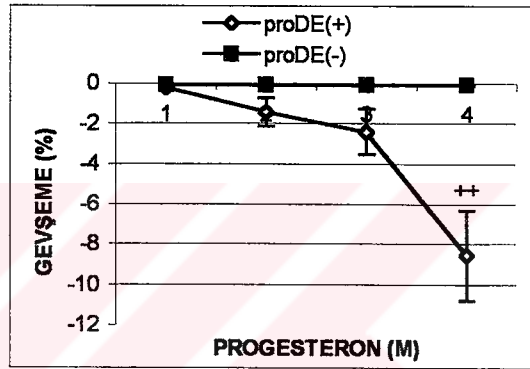


**Şekil-24:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde progesteron cevapları.  
proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz  
proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz  
\*\*\*  $p < 0,001$ , *t* test

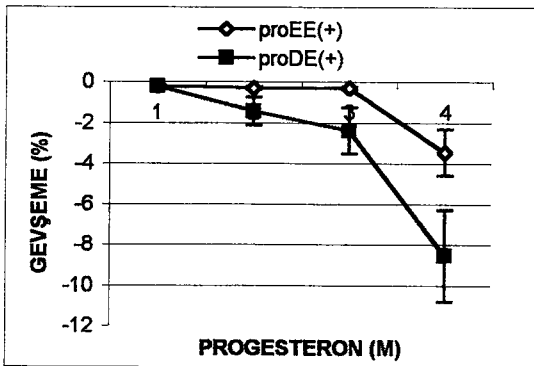
L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, progesteronun endotelli erkek grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda ve endotelli dişi grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda endotelsiz gruplara göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-25 ve 26). Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, progesteron dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir gevşemeye neden olmazken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda da endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-27 ve 28).



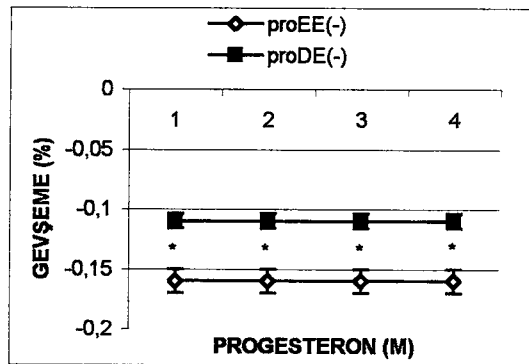
**Şekil-25:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde progesteron cevapları. proEE(+): Progesteron erkek endotelli proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz +  $p < 0.05$ , *t* test



**Şekil-26:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde progesteron cevapları. proDE(+): Progesteron dişi endotelli proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz ++  $p < 0.01$ , *t* test

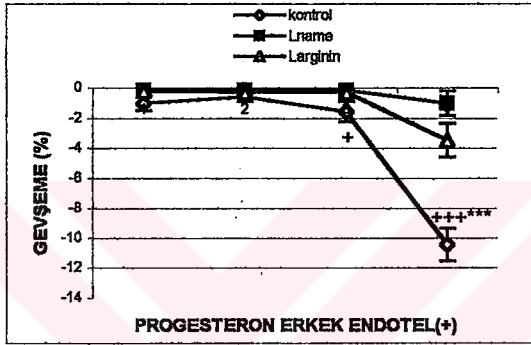


**Şekil-27:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde progesteron cevapları. proEE(+): Progesteron erkek endotelli proDE(+): Progesteron dişi endotelli

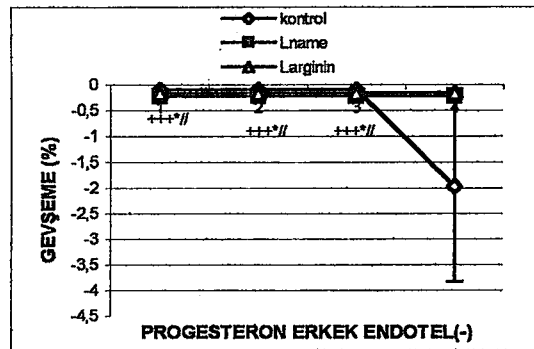


**Şekil-28:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde progesteron cevapları. proEE(-): Progesteron erkek endotelsiz proDE(-): Progesteron dişi endotelsiz \*  $p < 0.05$ , *t* test

Progesteronun endotelli ve endotelsiz erkek grupta, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-5}$  M konsantrasyonda L-NAME ile kontrol grubu arasında ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda L-NAME ve kontrol grupları ve L-arginin ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz erkek grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda her üç grup arasında da anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi (Şekil-29 ve 30).

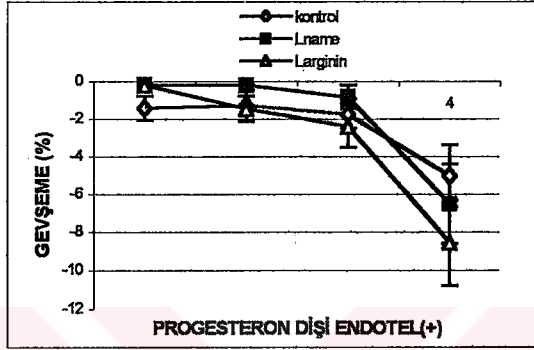


**Şekil-29:** Endotelli erkek izole koyun koroner arterinde progesteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 + p<0.05, +++ p<0.001 (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
 \*\*\* p<0.001 (Kontrol-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

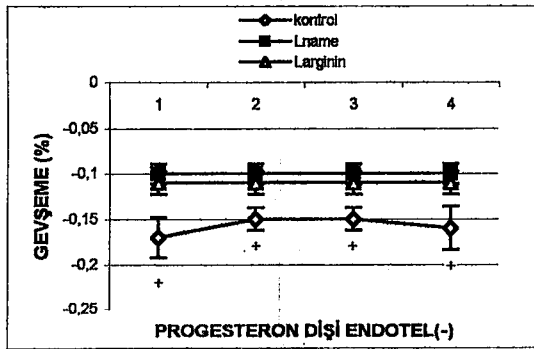


**Şekil-30:** Endotelsiz erkek izole koyun koroner arterinde progesteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +++ p<0.001 (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
 \* p<0.05 (Kontrol-L-arginin arasındaki fark)  
 // p<0.01 (L-NAME-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

Progesteronun endotelli ve endotelsiz dişi grupta, kontrol ve L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta her üç grup arasında da anlamlı derecede fark olmadığı gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyonda da L-NAME ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi (Şekil-31 ve 32).



**Şekil-31:** Endotelli dişi izole koyun koroner arterinde progesteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması

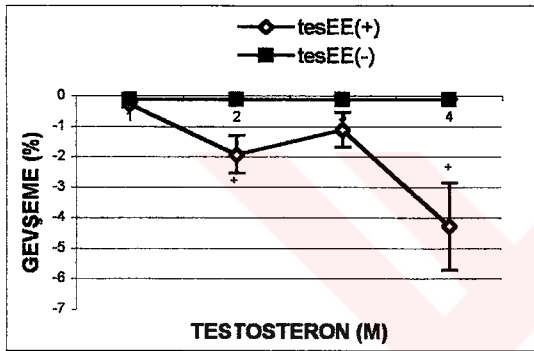


**Şekil-32:** Endotelsiz dişi izole koyun koroner arterinde progesteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
+ p<0.05 (Kontrol-L-NAME arasındaki fark) ANOVA



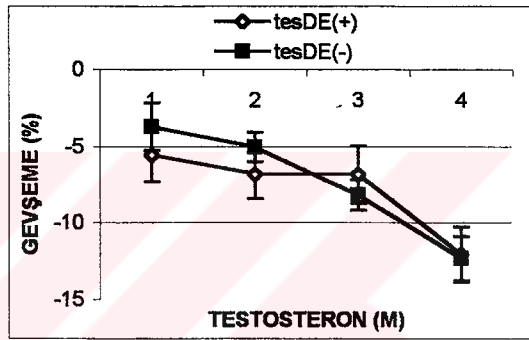
### 3- Testosteron:

Gevşeme cevapları değerlendirildiğinde testosteron, endotelli erkek grupta  $10^{-6}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, dişi grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında her dört konsantrasyonda da anlamlı derecede bir fark olmadığı gözlemlendi (Şekil-33 ve 34). Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteron her dört konsantrasyonda da dişi grupta erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-35 ve 36).



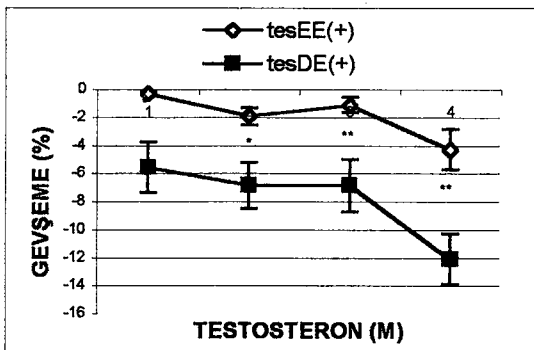
**Şekil-33:** İzole erkek endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde testosteron ile oluşan gevşeme cevapları.

tesEE(+): Testosteron erkek endotelli  
tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz  
+  $p < 0.05$ ,  $t$  test



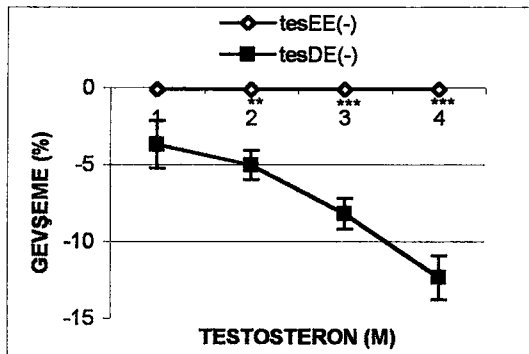
**Şekil-34:** İzole dişi endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde testosteron ile oluşan gevşeme cevapları.

tesDE(+): Testosteron dişi endotelli  
tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz



**Şekil-35:** İzole endotelli koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda testosteron ile oluşan gevşeme cevapları.

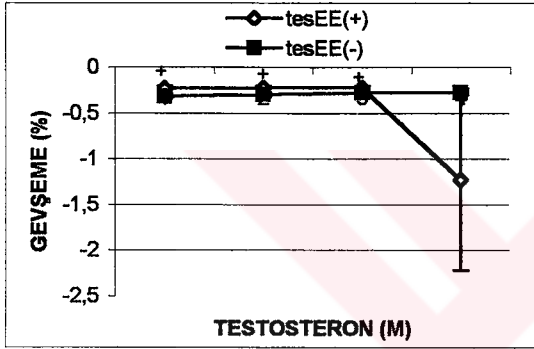
tesEE(+): Testosteron erkek endotelli  
tesDE(+): Testosteron dişi endotelli  
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$   $t$  test



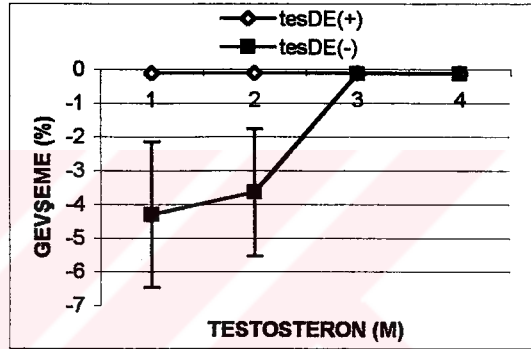
**Şekil-36:** İzole endotelsiz koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda testosteron ile oluşan gevşeme cevapları.

tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz  
tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz  
\*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$   $t$  test

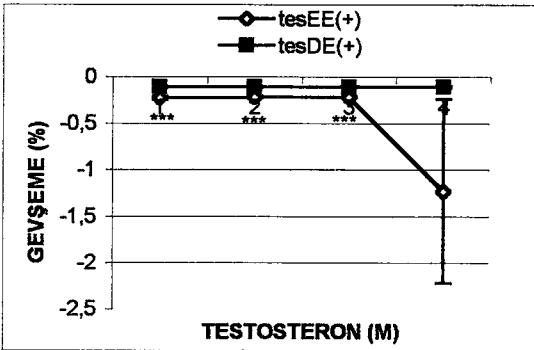
L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteronun endotelsiz erkek grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda endotelli erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, dişi grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında her dört konsantrasyonda da anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil-37 ve 38). L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteron erkek grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı bir gevşeme neden olurken, endotelsiz erkek grupta  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil- 39 ve 40)



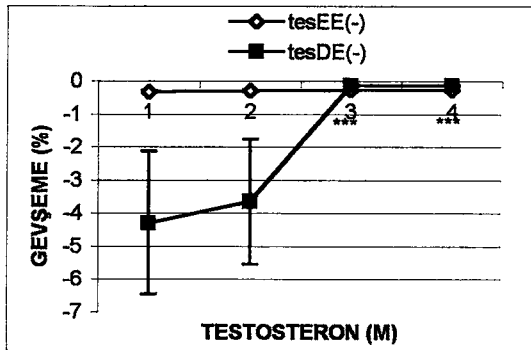
**Şekil-37:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(+): Testosteron erkek endotelli tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz +  $p < 0.05$ , *t* test



**Şekil-38:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesDE(+): Testosteron dişi endotelli tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz

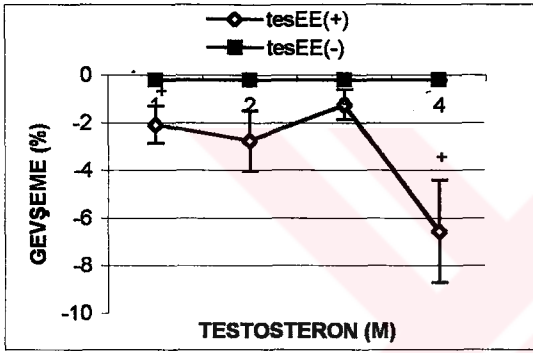


**Şekil-39:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(+): Testosteron erkek endotelli tesDE(+): Testosteron dişi endotelli \*\*\*  $p < 0.001$ , *t* test

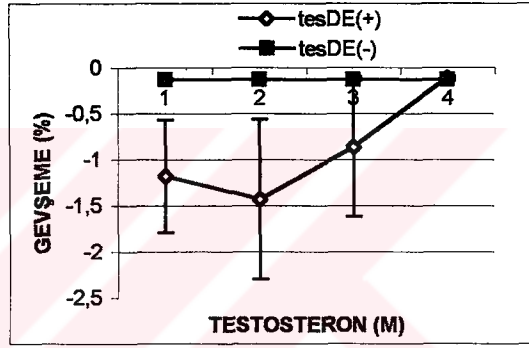


**Şekil-40:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz \*\*\*  $p < 0.001$ , *t* test

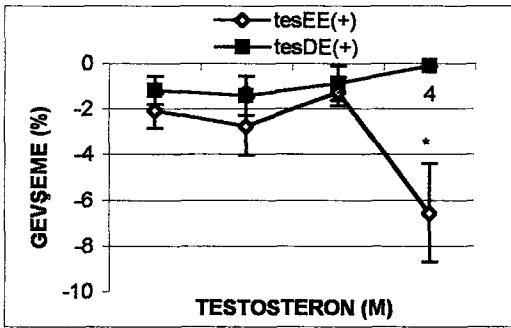
L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteron endotelli erkek grupta  $10^{-7}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı bir gevşeme ye neden olurken, dişi grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil-41 ve 42). L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteron erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı bir gevşemeye neden olurken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda da endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-43 ve 44).



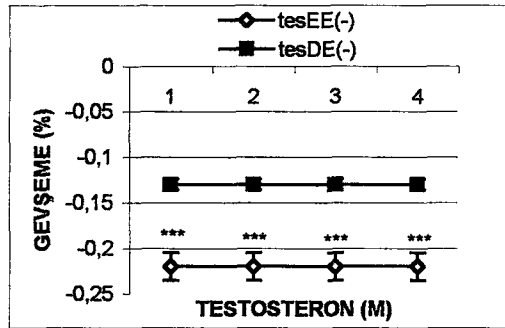
**Şekil-41:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(+): Testosteron erkek endotelli tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz +  $p < 0.05$ , t test



**Şekil-42:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesDE(+): Testosteron dişi endotelli tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz

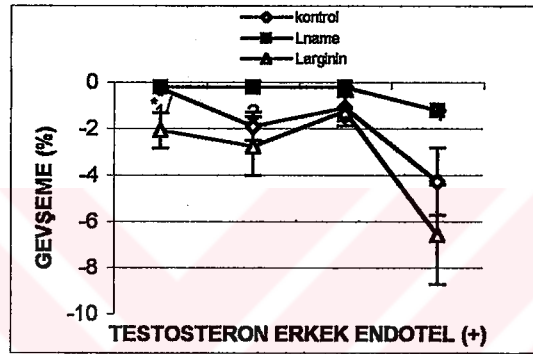


**Şekil-43:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra erkek ve dişi endotelli izole koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(+): Testosteron erkek endotelli tesDE(+): Testosteron dişi endotelli: \*  $p < 0.05$ , t test

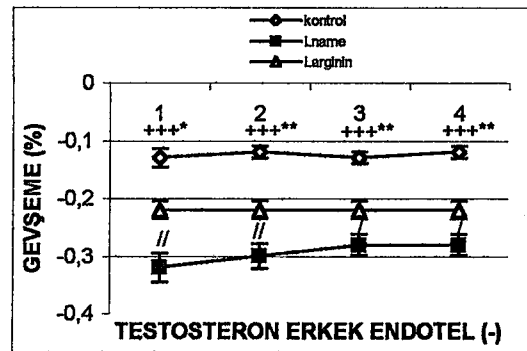


**Şekil-44:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra erkek ve dişi endotelsiz izole koyun koroner arterinde testosteron cevapları. tesEE(-): Testosteron erkek endotelsiz tesDE(-): Testosteron dişi endotelsiz: \*\*\*  $p < 0.001$ , t test

Testosteronun endotelli ve endotelsiz erkek grupta, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-7}$  M konsantrasyonda L-arginin ve kontrol grupları ve L-arginin ve L-NAME grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyondada bütün gruplar arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi (Şekil-45 ve 46).

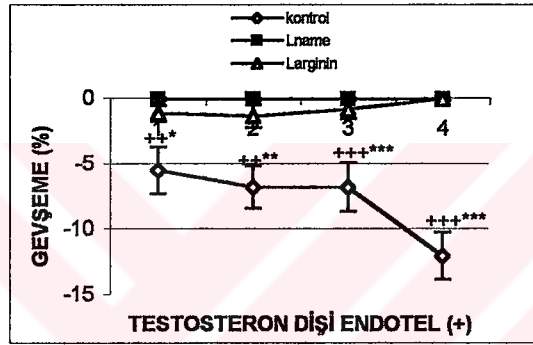


**Şekil-45:** Endotelli erkek izole koyun koroner arterinde testosteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 \*  $p < 0.05$  (Kontrol-L-arginin arasındaki fark)  
 /  $p < 0.05$  (L-NAME-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

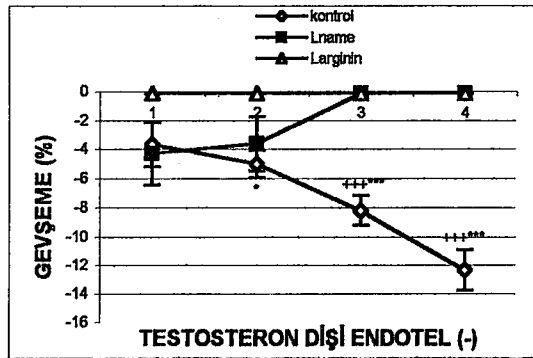


**Şekil-46:** Endotelsiz erkek izole koyun koroner arterinde testosteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +++  $p < 0.001$  (Kontrol- L-NAME arasındaki fark)  
 \*\*  $p < 0.01$  (Kontrol-L-arginin arasındaki fark)  
 /  $p < 0.05$ , //  $p < 0.01$  (L-NAME-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

Testosteronun endotelli ve endotelsiz dişi gruplarda, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta her dört konsantrasyonda da L- NAME ve kontrol grupları arasında ve L-arginin ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-6}$  M konsantrasyonda L- Arginin ve kontrol grupları arasında,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ve kontrol grupları arasında ve L-arginin ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi (Şekil-47 ve 48).



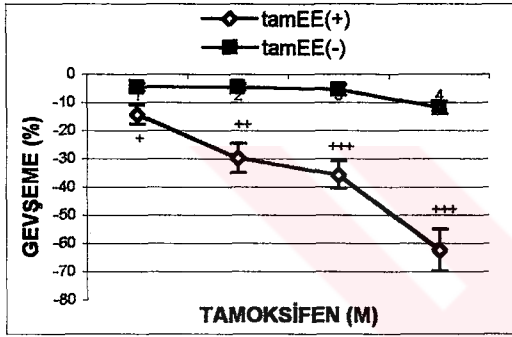
**Şekil-47:** Endotelli dişi izole koyun koroner arterinde testosteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 ++ p<0.01, +++ p<0.001 (Kontrol- L-NAME arasındaki fark)  
 \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 (Kontrol-L-arginin arasındaki fark) ANOVA



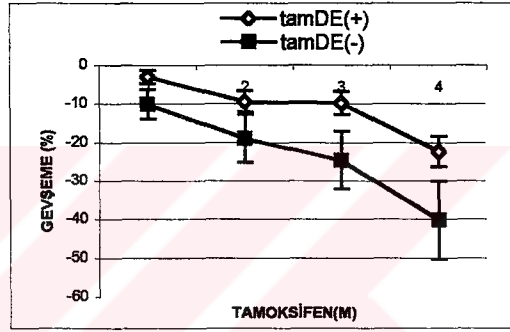
**Şekil-48:** Endotelsiz dişi izole koyun koroner arterinde testosteron uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +++ p<0.001 (Kontrol- L-NAME arasındaki fark)  
 \* p<0.05, \*\*\* p<0.001 (Kontrol-L-arginin arasındaki fark) ANOVA

#### 4. Tamoksifen:

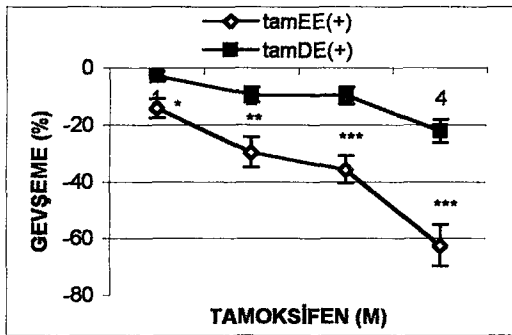
Gevşeme cevapları değerlendirildiğinde tamoksifen, endotelli erkek grupta endotelsiz erkek gruba göre her dört konsantrasyonda da anlamlı derecede gevşeme cevabına neden olduğu gözlemlendi. Dişi grupta ise endotelli ve endotelsiz gruplar arasında anlamlı derecede bir fark olmadığı gözlemlendi (Şekil-49 ve 50). Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, tamoksifen her dört konsantrasyonda da erkek grupta dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-51 ve 52).



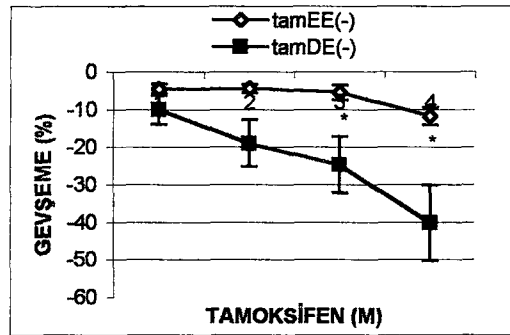
**Şekil-49:** İzole erkek endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde tamoksifen ile oluşturulan gevşeme cevapları.  
tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli  
tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz  
+ p<0.05, ++ p<0.01, +++ p<0.001 t test



**Şekil-50:** İzole dişi endotelli ve endotelsiz koyun koroner arterinde tamoksifen ile oluşturulan gevşeme cevapları  
tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli  
tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz

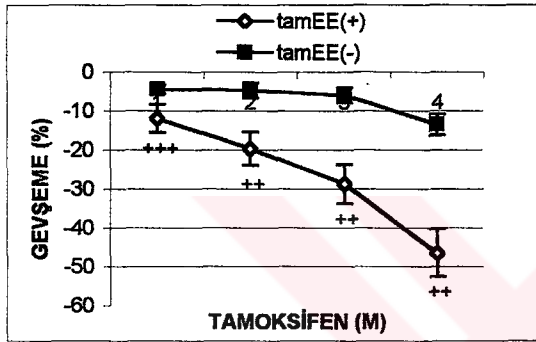


**Şekil-51:** İzole endotelli koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda tamoksifen ile oluşturulan gevşeme cevapları.  
tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli  
tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli  
\* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001 t test

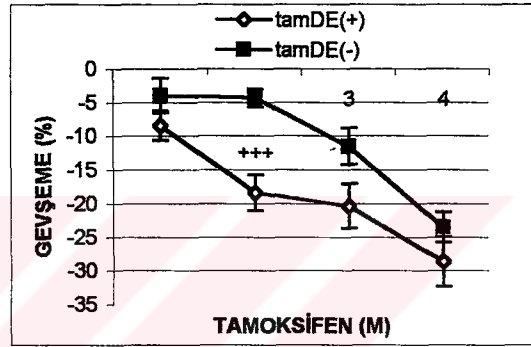


**Şekil-52:** İzole endotelsiz koyun koroner arterinde erkek ve dişi gruplarda tamoksifen ile oluşturulan gevşeme cevapları.  
tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz  
tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz  
\* p<0.05, t test

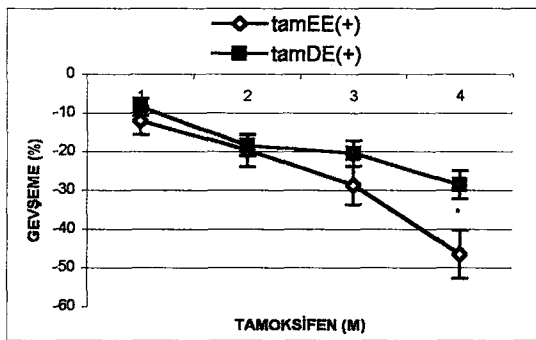
L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, tamoksifen endotelli erkek grupta her dört konsantrasyonda da endotelsiz gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken endotelli dişi grupta  $10^{-6}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-53 ve 54). L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, tamoksifen erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı bir gevşeme neden olurken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-55 ve 56).



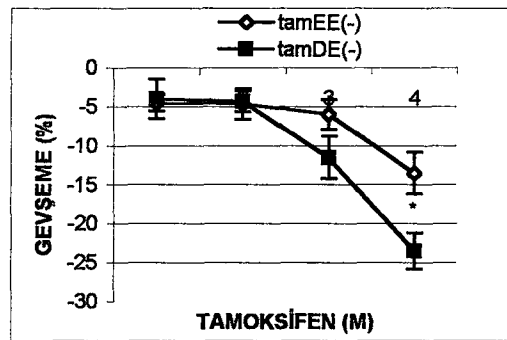
**Şekil-53:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz erkek koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz ++  $p < 0.01$ , +++  $p < 0.001$  *t* test



**Şekil-54:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz dişi koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz +++  $p < 0.001$  *t* test

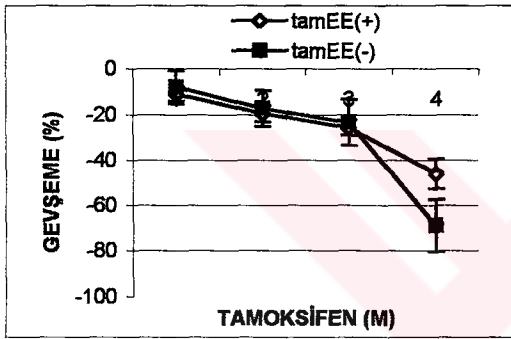


**Şekil-55:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli \*  $p < 0.05$ , *t* test

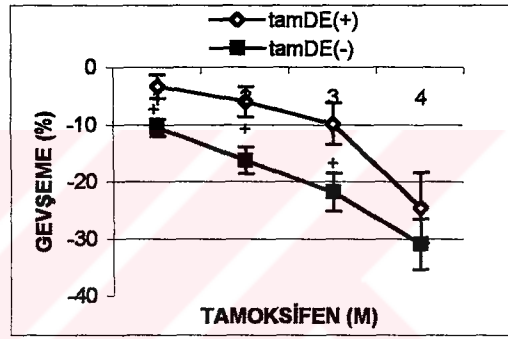


**Şekil-56:** L-NAME ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz \*  $p < 0.05$ , *t* test

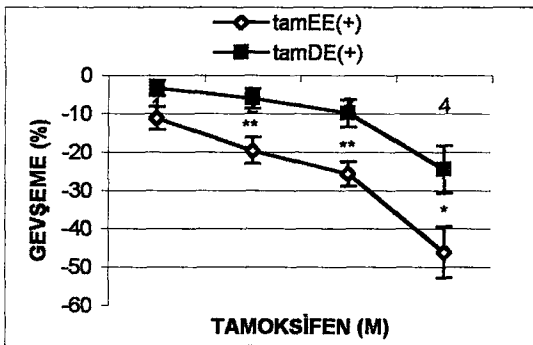
L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, tamoksifen endotelli ve endotelsiz erkek gruplarda anlamlı bir farka neden olmazken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$   $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda endotelli dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-57 ve 58). Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, tamoksifen erkek grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda dişi gruba göre anlamlı bir gevşeme neden olurken, endotelsiz erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi (Şekil-59 ve 60).



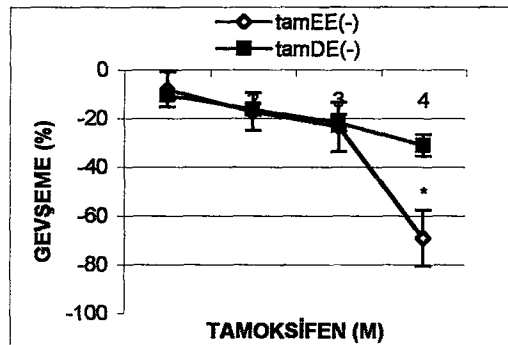
**Şekil-57:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz



**Şekil-58:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra endotelli ve endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz +  $p < 0.05$ ,  $t$  test



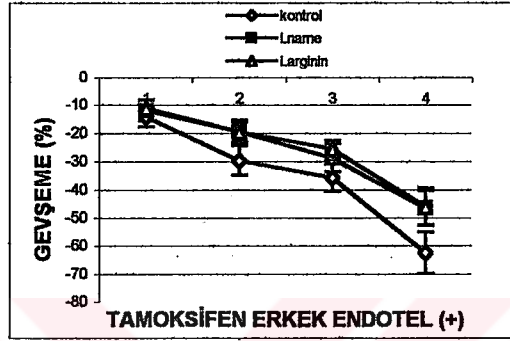
**Şekil-59:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelli izole koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(+): Tamoksifen erkek endotelli tamDE(+): Tamoksifen dişi endotelli: \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$   $t$  test



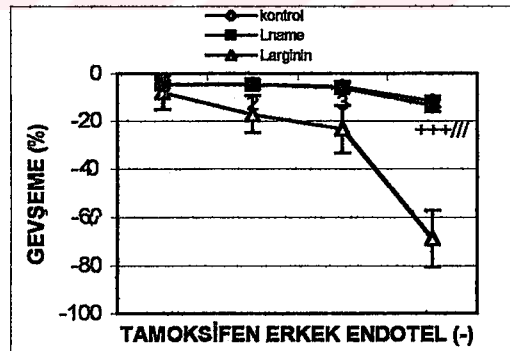
**Şekil-60:** L-arginin ( $10^{-4}$  M) ile preinkübasyondan sonra dişi ve erkek endotelsiz izole koyun koroner arterinde tamoksifen cevapları. tamEE(-): Tamoksifen erkek endotelsiz tamDE(-): Tamoksifen dişi endotelsiz: \*  $p < 0.05$ ,  $t$  test



Tamoksifenin endotelli ve endotelsiz erkek grupta, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta her üç grup arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, endotelsiz grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda L-NAME ile kontrol grupları ve de L-arginin ile L-NAME grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi (Şekil-61 ve 62).

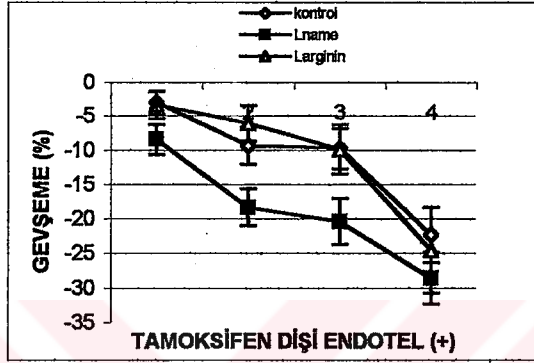


Şekil-61: Endotelli izole erkek koyun koroner arterinde tamoksifen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması

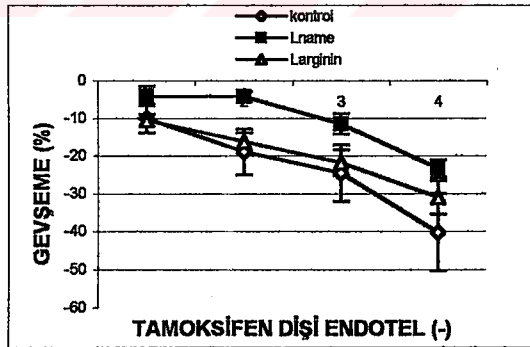


Şekil-62: Endotelsiz izole erkek koyun koroner arterinde tamoksifen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması  
 +++ p<0.001 (Kontrol-L-NAME arasındaki fark)  
 -NAME -L-arginin arasındaki fark) ANOVA

Tamoksifenin endotelli ve endotelsiz dişi grupta, kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, gerek endotelli gerekse endotelsiz gruplarda her dört konsantrasyonda da gruplar arasında anlamlı derecede fark olmadığı gözlemlendi (Şekil-63 ve 64).



Şekil-63: Endotelli izole dişi koyun koroner arterinde tamoksifen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması



Şekil-64: Endotelsiz izole dişi koyun koroner arterinde tamoksifen uygulanması ile oluşan gevşeme cevaplarının kontrol, L-NAME ve L-arginin grupları ile karşılaştırılması

## TARTIŞMA

Estrojenin gerek in vivo gerekse in vitro çalışmalarda kardiyovasküler sistemde iki farklı mekanizma ile etki gösterdikleri bildirilmiştir. Birinci mekanizma; vasküler endotelden nitrik oksit salgılanması (1, 3-6, 9, 24, 26, 27, 41, 43, 44, 60), ikinci mekanizma ise vasküler düz kaslar üzerine etki göstererek; a) Dışa yönelik potasyum akımının artması aracılığı ile oluşan vasküler düz kaslarda meydana gelen hiperpolarizasyon b) L- tipi kalsiyum kanallarından kalsiyum girişinin kompetitif inhibisyonudur (1, 3-6, 8, 9, 27, 41, 43, 60).

Değişik damar preparatları üzerinde yapılan gerek in vivo gerekse in vitro çalışmalarda estrojenin gevşeme cevapları açısından endotelli ve endotelsiz damarlarda benzerlik gösterdiği, koroner arterler üzerindeki akut gevşeme yapıcı etkisinin NO ve endotelden bağımsız olduğu, düz kas hücre membranı üzerine direkt etkisine bağlı olarak geliştiği belirtilmektedir (3, 4, 8, 9, 26, 60). Estrojenin direkt vasküler etki göstermesi veya indirekt olarak endotelden NO salgılanmasına neden olması uygulanan estrojenin dozuna bağlı olarak değişmektedir (5, 6, 24, 27, 41). NO dokularda ve oksijenlenmiş fizyolojik sıvılarda çabuk yıkılır. Dokularda eliminasyon yarılanma ömrü 6-50 saniye arasında bulunmuştur (61).

Yapılan diğer bazı çalışmalarda ise estrojenin dişilerde erkeklere oranla gevşeme cevapları açısından daha fazla etkili olduğu bulunmuştur (6, 8, 10, 24, 62). Bunun nedenleri arasında estrojen reseptör dağılımının ve yoğunluğunun dişilerde daha fazla olması yer alır (8, 62). Estrojenin etkisi açısından dişilerde reseptör dağılımı önemlidir. Uterin arterler üzerinde yapılan bir çalışma ise estrojenin etkisinin, damarın menstrüel fazın hangi döneminde alındığına bağlı olarak değiştiğini bildirmektedir (5, 25). Kardiyovasküler sistem üzerinde estrojenin kısa süreli ve uzun süreli etkilerine aracılık eden farklı reseptörlerin olduğu düşünülmektedir (27). Estrojenin etkilerinin farklı cinslerde, farklı damarlarda, farklı uygulama sürelerine ve farklı konsantrasyonlara bağlı olarak değiştiğini bildiren çalışmalar da vardır (4, 8). Estrojenin vasküler etki göstermesi ya da

indirekt olarak endotelden NO salgılanmasına neden olması estrojenin dozuna bağlı olarak değişiklik gösterir (5, 6, 24, 27, 41). İzole aortik halkalarda yüksek konsantrasyonlarda 17 $\beta$ -estradiolün aortik ve koroner düz kaslarda oluşturduğu direkt gevşeme cevaplarının NO oluşumundan bağımsız olduğu gösterilmiştir (27). İnsan koroner arter düz kas hücrelerinde estrojen reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir (63). NO, gevşeme cevabından önemli derecede, ancak tamamen sorumlu değildir. Pek çok deneysel çalışmada endotelin uzaklaştırılması gevşeme cevaplarını azaltmasına rağmen yine de gevşeme cevabı gözlenmiştir (64). EDRF veya NO endotel ve diğer pek çok hücre tiplerinde L-arginin'den NOS enzimi aracılığıyla sentezlenir. Endotelden NO salgılanmasına neden olan pek çok ajan aynı zamanda hem endotel hem de düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona neden olmaktadır (60). NO sentezi NOS yolağından başka bir yolla da sentez edilebilir (65). Minami ve Toda 5-lipoksijenazın katalizi ile de NO oluşabileceğini bildirmişlerdir (66).

L-NAME uygulanması endotelden NO salgılanmasını bloke etmektedir ve NO salgılanmasına bağlı vasküler yapıda meydana gelen gevşeme cevapları gerçekleşmemektedir (2, 4, 6, 9, 24, 26, 27, 44, 67). L-NAME'in etkileri doku ve organa göre farklılık gösterir. Bu nedenle etkilerini tahmin etmek zordur (68). L-NAME uygulanması sonucu estrojen damar üzerinde endotelden bağımsız olarak direkt vasküler düz kaslar üzerine etki göstermektedir (1, 3, 4, 6, 8, 9, 27, 44). Estrojenin endotele bağlı gevşeme cevaplarının her zaman nitrik oksit sentez inhibitörleri ile ortadan kaldırılmadığı bildirilmiştir (4, 26). Endotelsiz damarlarda estrojen ile oluşan gevşeme cevaplarının endotelli damarlara göre daha az olduğu fakat L-NAME varlığında gözlenen cevapla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (4). Bütün bu bilgilerin ışığı altında yaptığımız çalışmanın sonuçlarını değerlendirecek olursak;

Gerek dişi gerekse erkek, endotelli izole koroner arter halkalarında estrojen uygulaması ile elde ettiğimiz gevşeme cevaplarının endotelsiz halkalardan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Estrojen koroner arterler üzerinde iki farklı mekanizma ile etki göstermektedir. Endotelsiz halkalarda NO ve diğer gevşetici faktörlerin (prostasiklin, endotelden derive olan hiperpolarize edici faktör)

üretimi olmayacağı için gevşeme cevapları endotelli preparatlardan daha az olmuştur. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyum göstermektedir (1, 3-6, 8, 9, 27, 41, 44, 60).

Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin dişi grupta  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlenirken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi.

Bizim elde ettiğimiz bu sonuçlar gerek estrojenin dişilerde erkeklere oranla gevşeme cevapları açısından daha fazla etkili olduğu, gerek estrojen reseptör dağılımı ve yoğunluğunun erkeklere oranla dişilerde daha fazla olduğu ve gerekse estrojenin etkisinin dişilerde damarın menstrüel siklusun hangi fazında alındığına bağlı olarak değiştiğini bildiren daha önceki çalışmalarla uyum göstermektedir (5, 6, 8, 10, 24, 25, 62).

L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde estrojenin gerek erkek ve gerekse dişi gruplarda endotelli ve endotelsiz gruplar arasında her dört konsantrasyonda da anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi. L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, estrojenin her dört konsantrasyonda da dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi. Endotelsiz erkek grupta estrojenin  $10^{-5}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi.

Bu sonuçlar; L-NAME uygulanması ile endotelden NO salgılanmasının inhibe edilmesi sonucu estrojenin etkilerini yalnızca vasküler düz kaslar üzerinde göstermesi gruplar arasında fark görülmemesiyle uyum göstermektedir. Bu etki estrojenin dozuna ve uygulama süresine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dişilerde damar endotel ve düz kas hücrelerindeki estrojen reseptör dağılımı erkeklere oranla daha yoğun olmasına rağmen çalışmamızda kullandığımız

koyun koroner arterlerindeki reseptör dağılımı üzerine bildiğimiz bir çalışmanın olmaması ve uygulanan L-NAME ( $10^{-4}$  M) ve estrogen dozunun farklı damar ve farklı cinsler üzerinde değişik etkiler göstermesi, koyunların menstruel siklusun hangi fazında olduğunu bilmememiz bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların nedenini açıklamamızı güçleştirmektedir (5, 8, 25, 62).

L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta gevşeme cevapları değerlendirildiğinde estrogenin  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelli erkek grupta endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede fazla gevşemeye neden olduğu gözlenirken, dişi grupta endotelli ve endotelsiz gruplar arasında anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlendi. L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli grupta  $10^{-7}$  M konsantrasyonda erkek grupta dişi gruba göre anlamlı derecede gevşeme cevabı olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyonda da dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi.

Endotelli erkek grupta gevşeme cevaplarının endotelsiz erkek gruba göre fazla olması gerek endotelden NO salgılanması ve gerekse estrogenin direkt vasküler düz kaslar üzerinde etkili olması ile açıklanabilir. Endotelsiz gruplar arasında L-arginin uygulanması ile herhangi bir farklılık gözlenmemesi L-arginin'den NOS enzimi aracılığı ile NO oluşumunun gerçekleştirilememesi nedeni ile olabilir (65). Ayrıca koyun koroner arterlerindeki gerek endotel gerekse düz kas hücrelerindeki estrogen reseptör dağılımı ve sıklığı hakkında bilgimizin olmaması da bu sonuçları değerlendirmemizi zorlaştıran en önemli etkenlerdendir. Estrojen farklı cinslerde ve uygulanan damardaki estrogen reseptör dağılımına ve uygulandığı konsantrasyona bağlı olarak değişik yanıtlar oluşturabilir (8, 62). Estrojen bağlandığı estrogen reseptör subtipine bağlı olarak (alfa, beta) farklı cevaplar oluşturabilir (20). Estrogenin vazodilatörlere karşı vasküler düz kas duyarlılığındaki gözlenen akut etki mekanizmaları hakkında bilinen muhtemel vasküler estrogen reseptör subtipleri, ekspresyonları, lokalizasyonları, intrasellüler sinyal mekanizmaları bir sonuca varma konusunda yetersiz kalmaktadır (1).

Estrojenin endotelli ve endotelsiz erkek gruplarda kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-5}$  M konsantrasyonda L-NAME ve L-arginin grupları arasında ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda L-NAME ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ile kontrol grupları arasında ve  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda L-NAME ile L-arginin grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi. Dişi endotelli grupta  $10^{-7}$  ve  $10^{-6}$  M konsantrasyonda gerek L-NAME gerekse L-arginin ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonda gerek L-NAME ile kontrol gerekse L-arginin ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi.

Estrojenin etkilerinin doza ve süreye bağlı olarak direkt veya endotelden NO salgılanması aracılığı ile etkili olması, L-NAME uygulaması ile gevşeme cevaplarının yeterli derecede önlenememesi (4, 26), NO dışında da gevşeme cevabı oluşturan maddelerin (prostasiklin, EDHF) varlığı (26, 27), estrojenin cins, uygulanan damar ve reseptör dağılımına bağlı olarak farklı etkiler oluşturması (4, 8), endotelsiz gruplarda ise bunların yanında NO ve diğer gevşetici faktörlerin sentezlenememesi sonucunda estrojenin sadece vasküler düz kaslar üzerinden etki göstermesi (1, 3, 4, 6, 8, 9, 27, 44), bizim elde ettiğimiz sonuçların farklı olmasını açıklamamızda göz önüne alınması gereken önemli noktalar.

Progesterinler hedef hücrelerdeki spesifik etkilerini progesteron reseptörlerini aktive ederek yaparlar. Çeşitli izole damar preparatlarında yapılan in vitro çalışmalarda progesteronun belirgin gevşemeye yol açtığı gösterilmiştir (12). Endotelin mekanik olarak uzaklaştırılmasının progesteronla oluşturulan gevşemeyi değiştirmediği gözlemlenmiştir. NO inhibitörü kullanılarak yapılan bir çalışmada, progesteronla indüklenen gevşemeyi değiştirmemiştir (12). Prostaglandin sentez inhibitörleri ile yapılan denemelerde bu gevşeme inhibe olmamıştır. Bu da progesteronun gevşetici etkisinde endotelden oluşan prostasiklinin etkili olmadığını göstermektedir. Bunların sonucu olarak progesterona bağlı gevşeme-

menin endotelden bağımsız olduğu ve direkt olarak koroner arter düz kas hücrelerinin etkilenmesinin söz konusu olduğu düşünülmektedir (12). Yapılan çalışmaların sonucu olarak progesteron cGMP'ye bağlı olmayan endotelden bağımsız gevşemeye neden olmaktadır. ATP'ye duyarlı potasyum kanalları bu gevşemede etkili değildir. Progesteron voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ederek kalsiyum influksuna inhibitör etki gösteriyor gibi görünmektedir (11, 12, 14, 46). Honda ve arkadaşları (1998) ise gebe izole sıçan aortasında yaptıkları bir çalışmada progesteronun endotelden NO sentezine kısmen katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (72). Diğer bazı araştırmacılar da yaptıkları in vitro çalışmalarında endotelin uzaklaştırılmasının progesterona bağlı gevşeme cevaplarını önlemediğini bildirmişlerdir (69, 70). Tavşanlarda izole pulmoner arter üzerinde yapılan bir çalışmada, KCl (40 mM) ile kasılma oluşturulan damarda gevşeme cevabı oluşturmuştur ve bu etki progesteron uygulanmasından 5 dakika sonra başlamıştır. Yine bu çalışmada L-NAME ( $10^{-4}$  M) ve metilen mavisi (cGMP sentez inhibitörü) uygulanması veya endotelin uzaklaştırılması ile progesterona bağlı gevşeme cevaplarının kısmen azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmada sonuç olarak progesteronun akut gevşeme cevabı oluşturan etkisinin NO ve cGMP'ye bağlı olduğu ön görülmüştür (13). Bu sonuçlar daha önce Yallampali ve ark. (71), Honda ve ark. (72) tarafından da bildirilmiştir.

Hem immunohistokimyasal hem de fizyolojik veriler progesteronun esas olarak etkilerini damar düz kas hücrelerinde gösterdiğini, endotel hücrelerinin rolünün daha az olduğunu göstermektedir (52).

Çalışmamızda progesteronun kontrol grubunda  $10^{-4}$  M konsantrasyonda dişi ve erkek grupta, L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda ve L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan erkek grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda ve dişi grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda entotelli gruplarda endotelsiz gruplara göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi.



Her ne kadar progesteronun vasküler sistem üzerindeki etkileri endotel ve NO salgılanmasından bağımsız olarak direkt vasküler düz kaslardaki voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ederek kalsiyum influksuna inhibitör etki gösteriyor gibi görünse de yapılan diğer bazı çalışmalarda progesteronun vasküler NO salgılanmasına neden olabileceği ve endotelin uzaklaştırılması ile progesterona bağlı gevşeme cevaplarının azaldığı ve progesteronun akut gevşeme cevabı oluşturan etkisinin NO ve cGMP'ye bağlı olduğu belirtilmektedir (13). Bizim çalışmamızda her üç grupta da endotelli halkalarda gevşeme cevaplarının endotelsiz halkalardan fazla olması progesteronun endotelden NO salgılanmasına neden olabileceğini ya da progesteronun NO dışında diğer bazı gevşetici faktörlerin (EDHF gibi) salgılanmasına neden olabileceğini düşündürmektedir (11, 73).

Çalışmamızda progesteronun endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı derecede gevşeme cevabı gözlenirken, endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi. L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplarda progesteron, dişi grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda erkek gruba göre anlamlı bir gevşemeye neden olurken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda da dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden oldu. L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplarda progesteron, dişi ve erkek gruplar arasında anlamlı bir gevşemeye neden olmazken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda da dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden oldu.

Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, progesteronun endotelli veya endotelsiz gruplarda cinsiyet farkına bağlı olmadan gevşeme cevabı oluşturduğu gözlenmektedir. Progesteronun vasküler fonksiyonlar üzerine olan etkileri tam olarak bilinmemektedir (11). Progesteron ile oluşturulan gevşeme cevaplarında NO veya endotel hücrelerinin etkileri tartışmalıdır. Uygulamanın yapıldığı hayvan türleri, deneysel metodlar, hormonun dozu ve damarın boyutları bu farklı sonuçlara neden olabilir (13). Gonadal steroid hormonların vasküler sistemde

çeşitli nongenomik etkileri olduğu söylenmektedir ve izole damarlarda bu hormonların etkisi hormonların kimyasal yapılarına, cinse, cinsiyete, çalışılan damara ve damarın lokalizasyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla hormonların etkileri açısından büyük farklılıklar gözlenebilmektedir (12, 14). Domuz koroner arter düz kas hücrelerinde progesteron bağlanma bölgesi yakın zamanda klonlanmıştır. Bu da progesteronun kan damarları üzerindeki hızlı etkilerini açıklamada bir dayanak teşkil etmektedir (52). Gerek dişi ve gerekse erkekte, koyun koroner arterlerindeki progesteron reseptör dağılımının tam olarak bilinmemesi de bu sonuçların değerlendirilmesini güçleştirmektedir.

Çalışmamızda progesteronun endotelli ve endotelsiz erkek grupta, kontrol ve L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-5}$  M konsantrasyonda L-NAME ile kontrol grubu arasında ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda L-NAME ve kontrol grupları ve L-arginin ve kontrol grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda her üç grup arasında da anlamlı derecede fark olduğu tespit edildi. Progesteronun endotelli ve endotelsiz dişi grupta, kontrol ve L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta her üç grup arasında da anlamlı derecede fark olmadığı gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyonda da L-NAME ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi.

Vasküler düz kas hücrelerinde klasik nükleer estrogen reseptörleri (ER- $\alpha$ ) ve progesteron reseptörleri (PR) gösterilmiştir. Minshall ve arkadaşları primat koroner arterlerinde yaptıkları çalışmada klasik nükleer progesteron reseptörlerinin dışında yüzeyel membran progesteron reseptörlerinin varlığını göstermişlerdir. Hem immunohistokimyasal hem de fizyolojik veriler progesteronun esas olarak etkilerini damar düz kas hücrelerinde gösterdiğini, endotel hücrelerinin rolünün daha az olduğunu göstermektedir (52).

Progesteronun genel olarak vasküler düz kaslarda voltaj bağımlı kalsiyum kanallarını inhibe ederek kalsiyum influksuna inhibitör etki gösterdiği belirtilmektedir, fakat NO veya diğer bazı faktörlerin de etkili olabildiği gösterilmiştir. Çalışmamızda kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan bütün gruplarda (erkek, dişi, endotelli ve endotelsiz) gevşeme cevaplarının birbirinden farklılık gösterdiği gözlenmektedir. Endotelde oluşan NO'nun gevşeme ve hiperpolarizasyona neden olma nedenleri ileri araştırmayı gerektirmektedir. Potasyum kanallarının endotel aracılı düz kas hücre hiperpolarizasyonuna neden olabileceği ve NO'nun kalsiyuma bağlı potasyum kanallarını direkt olarak veya cGMP'ye bağlı mekanizmalarla aktive edebileceği belirtilmektedir. Ayrıca NO, membran potansiyelini kontrol etmek için  $Na^+/K^+$ -ATPaz gibi diğer iyonik mekanizmalar üzerinde düzenleyici etki gösterebilir. Bu aynı zamanda endotele bağlı hiperpolarizasyona aracılık edebilir (73). Endotelsiz halkalarda progesteron reseptör antagonisti (J867) uygulaması ile de progesteronun gevşeme cevaplarında herhangi bir azalma gözlenmemiştir (14).

Eikozanoidlerin, vasküler cAMP ve cGMP düzeylerinin veya endotelden NO salgılanmasının, ATP-duyarlı potasyum kanallarının progesterona bağlı gevşeme cevaplarında etkili olmadığı söylenmektedir (14). L-NAME ve L-arginin uygulamalarının koyun koroner arter endotelinde NO salgılanması üzerindeki etkileri ve NO'nun koyun koroner vasküler düz kaslarındaki etki mekanizmaları, progesteronun NO'nun vasküler düz kaslardaki etkisi üzerinde nasıl bir mekanizma ile değişikliğe sebep olduğu, aynı zamanda progesteronun vasküler düz kas hücrelerinde kalsiyum influksunu önleyerek mi ya da sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salgılanmasını önleyerek mi yoksa başka bir mekanizma ile mi etkili olduğu (13) ve progesteronun uygulanan dozlarının NO salgılanması üzerine olan etkileri hakkında ileri araştırmalar gerekmektedir.

Testosteronun vasküler yapılar üzerindeki etki mekanizmaları ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur. Tavşan koroner arterinde yapılan bir çalışmada endotelsiz preparatlarda, indometazin (prostaglandin sentez inhibitörü) veya L-NAME uygulanması, metilen mavisi (NO ile indüklenen cGMP artışını inhibe

eder) uygulanması ve de glibenklamid (ATP'ye duyarlı potasyum kanal blokörü) uygulanması ile testosterona bağılı gevşeme cevapları değişmezken, non spesifik potasyum kanal inhibitörü olan ( $BaCl_2$ ) ile endotelsiz tavşan koroner arterlerinde bu gevşeme cevabı inhibe olmuştur. Aminoglutemid ve flutamid ise gevşeme cevaplarını etkilememiştir (15, 16, 55, 57).

Sonuç olarak testosteron tavşan koroner arterinde ve aortasında  $PGI_2$  veya cGMP aracılığı olmadan endotelden bağımsız gevşemeye neden olmaktadır. Testosteronla oluşan gevşemenin mekanizmasında potasyum kanalları (ATP'ye duyarlı olmayan potasyum kanalları) etkili olmaktadır. İn vitro gevşeme cinsiyetten ve klasik bir reseptörden bağımsızdır (15).

Asetilkolin NO salgılanmasına bağılı endotele bağımlı vasküler gevşemeye neden olur. İn vitro çalışmalar testosteronun tavşan koroner arterinde endotelden bağımsız olarak asetilkolinle oluşan gevşemeye benzer bir gevşemeye neden olduğunu göstermiştir (16). Yue ve arkadaşları in vitro olarak ne L-NAME in ne de metilen mavisinin tetosteronla oluşan gevşemeyi etkilemediğini belirtmişlerdir (15). Cou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise hem epikardial ve hem de mikrovasküler seviyede L-NAME uygulamasından sonra testosteron ile oluşan gevşeme cevabının azaldığı gözlenmiştir. Bu çalışmalardaki farklılıkların nedeni tam olarak bilinmemektedir fakat in vivo çevre (kan, dolaşan vazoaktif ajanlar, nöral etkiler) ile izole organ banyosu arasındaki farklılıklara bağılı olabilir (16). Daha önce yapılan bir in vitro çalışmada glibenklamid testosteron ile oluşan değişiklikleri inhibe etmezken bu çalışmada glibenklamid tedavisi, koroner mikrosirkülasyonda testosteronla oluşan gevşeme cevabında azalmaya yol açmıştır. Fakat epikardiyal koroner arterlerde böyle bir etki gözlenmemiştir. İn vivo ve in vitro modeller arasındaki farklılıklar bu iki çalışma arasındaki farklı sonuçları açıklayabilir. Yapılan çalışmada testosteronun rezistans arterlerde birden fazla mekanizma aracılığı ile gevşemeye neden olabileceği bildirilmiştir. Bu mekanizmalar NO salgılanması ve ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının açılmasıdır. Yakın zamandaki kanıtlar steroid hormonların etkisinde nongenomik yolların da etkili olduğunu göstermiştir. Bilinen intrasellüler reseptörlerden

belirgin olarak farklı olan membran reseptörlerinin bulunduğunu gösterilmiştir. Steroid hormonların nongenomik ve genomik etkileri ile ilgili bu iki basamaklı model giderek artan bir şekilde kabul görmektedir. Organ banyosu çalışmaları etkilerini, suprafizyolojik konsantrasyonlarda göstermektedir. Testosterona bağlı akut koroner dilatasyon kısmen endotelden salıverilen NO aracılığı ile gerçekleşir. Buna ilave olarak ATP'ye duyarlı potasyum kanalları da rezistans arterlerdeki etkisinde rol oynar (16).

İn vivo olarak testosteronun koroner arterlerde gevşetici etkisi olduğu gösterilmiştir (55). Bu çalışmada sonuç olarak testosteronun etki mekanizmasının membranda voltaja bağlı kalsiyum kanallarının inhibisyonu ve daha az olarak da intrasellüler depolardan kalsiyum salgılanmasının önlenmesi şeklinde olduğu düşünülmektedir. Crews ve Khalil KCl ve prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ile kasılma oluşturulan koroner arter düz kas hücrelerinde testosteronla indüklenen gevşemenin, düz kas hücre membranında reseptörle aktive edilen veya voltaja bağlı kalsiyum kanallarının inhibisyonuna bağlı olduğunu tespit etmişlerdir (74). Perusquia ve ark. da benzer sonuçları bildirmişlerdir (69). Teoh ve arkadaşları domuz koroner arterinde yaptıkları bir çalışmada sonuç olarak, suprafizyolojik dozlarda testosteronun endotele bağlı olmayan gevşeme cevabı oluştururken düşük oranda erkek seks steroidinin endotele bağlı gevşemeyi düzenlediğini belirlemişlerdir (57).

Yapılan pek çok çalışmada testosterona bağlı gevşeme cevabının cinsiyet ve klasik steroid reseptörlerinden bağımsız olduğu belirtilmiştir (15, 16). Bazı çalışmalarda ise bu gevşeme cevaplarının cinsiyete bağlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (16, 41). Yapılan diğer bazı çalışmalarda ise testosterona bağlı gevşeme cevaplarının kısmen endotelden derive olan NO'ye bağlı olabileceği bildirilmektedir (16).

Çalışmamızda kontrol grubunda testosteron endotelli erkek grupta  $10^{-6}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz gruba göre, L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta ise endotelsiz erkek grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantras-

yonlarda endotelli gruba göre ve L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta endotelli erkek grupta  $10^{-7}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi. Dişi gruplarda endotelli ve endotelsiz gruplar arasında her dört konsantrasyonda da anlamlı derecede bir fark olmadığı tespit edildi. Kontrol grubunda testosteron endotelli grupta her dört konsantrasyonda da dişi grupta erkek gruba göre, endotelsiz dişi grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda endotelsiz erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden oldu.

L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplarda testosteron erkek grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı gevşemeye neden olurken, endotelsiz erkek grupta  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede farklı gevşeme oluşturdu. L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, testosteron erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda, dişi gruba göre anlamlı bir gevşeme neden olurken, endotelsiz erkek grupta her dört konsantrasyonda dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi.

Testosteronun endotelli ve endotelsiz erkek grupta kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta  $10^{-7}$  M konsantrasyonda L-arginin ve kontrol ile L-arginin ve L-NAME grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta her dört konsantrasyonda da bütün gruplar arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi. Testosteronun endotelli ve endotelsiz dişi grupta kontrol, L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli grupta her dört konsantrasyonda da L-NAME ve kontrol ile L-arginin ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlenirken, endotelsiz grupta  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda L-arginin ve kontrol ile L-NAME ve kontrol grupları arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlemlendi.

Testosterona bağlı oluşan gevşeme cevaplarının genel olarak endotel ve cinsiyetten bağımsız olarak oluştuğu ve de NOS inhibitörü kullanmakla da deği-

şiklik göstermediği bildirilmektedir (15-17, 55, 73). Fakat bazı çalışmalarda ise L-NAME uygulamasından sonra testosteron ile oluşan gevşeme cevabının azaldığı ve testosteronun rezistans arterlerde birden fazla mekanizma aracılığı ile gevşemeye neden olabileceği bildirilmiştir. Bu mekanizmalar NO salgılanması ve ATP'ye duyarlı potasyum kanallarının açılmasıdır (16). Bir diğer etki mekanizması testosteronun membranda voltaja bağlı kalsiyum kanallarının inhibisyonu ve daha az olarak da intrasellüler depolardan kalsiyum salgılanmasının önlenmesi şeklinde olduğu düşünülmektedir (55, 57). Diğer bazı çalışmalarda ise gevşeme cevaplarının cinsiyete bağlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (16, 41). Testosteronun etkisinde uygulanan dozun ve de in vivo veya in vitro şartların da etkili olabileceği ve farklı sonuçlara neden olabileceği de bildirilmiştir (57). Damar endoteli pek çok gevşetici veya kasıcı faktörleri salgılayabilir ve altında bulunan düz kas tabakasında lokal düzenleyici etkiye sahiptir. Endotelden salgılanan gevşetici faktörlerden biri EDRF'dir. En iyi tanımlanan EDRF NO'dir (75, 76). EDRF'nin parakrin bir faktör olarak endotel hücrelerinin yakınındaki damar düz kas hücrelerini etkilediği ve yaptığı gevşemenin sitoplazma içindeki solubl guanilat siklazı aktive ederek cGMP düzeyini artırmasına bağlı olduğu sanılmaktadır (75-77). Endotel kaynaklı diğer bir vazodilatör madde endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktördür (EDHF).  $Na^+-K^+$  pompasını stimüle ederek hiperpolarizasyon yapar (78-80). Düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyon yaparak özellikle küçük arterlerde, endotel aracılığıyla oluşturulan gevşemelere  $K^+$  kanallarını açarak katkıda bulunur (75). Endotel çeşitli gevşetici ve kasıcı ajanları salgılayarak vasküler düz kasın tonusunu ayarlarken, prostasiklin, NO, EDHF ve ayrıca endoperoksitler, trombaksan  $A_2$ , süperoksit ajanlar, endotelin gibi ajanları kullanır (80). NO gevşeme cevabı oluşmasından önemli derecede ama tamamen sorumlu değildir. Pek çok deneysel çalışmada endotelin uzaklaştırılması gevşeme cevabını önemli derecede azaltmasına rağmen yine de gevşeme cevabı gözlenmiştir (64). Endotelden NO salgılanmasına neden olan pek çok ajan aynı zamanda hem endotel hem de düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona neden olur (60).

Genel olarak baktığımızda kontrol grubu ve L-arginin uygulanan endotelli erkek gruplarda endotelsiz gruplardan, L-NAME uygulanan endotelsiz erkek grupta endotelli gruptan daha fazla gevşeme cevabı olduğu, L-NAME ve L-arginin uygulanan endotelli ve endotelsiz gruplarda erkekte, kontrol grubunda ise dışında daha fazla gevşeme cevabı olduğu söylenebilir. Endotelli gruplarda testosteronun kısmen NO salgılanmasına neden olduğu ve bunun da gevşeme cevabını artırabileceği düşünülebilir. Ayrıca endotelden diğer bazı gevşetici faktörlerin de salgılanabileceği düşünülebilir. Erkekte gevşeme cevabının fazla olması ise erkekte reseptör dağılımının daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Fakat yine de çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar o gruba özgüydü ve gruplar arasında birbirleriyle uymayan sonuçlar elde edildi.

Koyun koroner arterinde gerek endotelde ve gerek düz kastaki, ya da dışı ve erkekteki testosteron reseptör dağılımının farklılığı bu sonuçlara neden olabilir. Ayrıca endotelli gruplarda testosteronun nasıl NO salgılanmasına neden olduğunun bilinmemesi, NO dışında başka gevşetici ya da kasıcı faktörlerin salgılanmasına neden olabileceği ihtimali farklı sonuçlar elde etmemize neden olabilmektedir.

Epidemiyolojik çalışmalar tamoksifenin bayanlarda fatal myokard enfarktüsü insidansında azalma yaptığını göstermiştir (19). Tamoksifen kardiyovasküler sistem üzerine estrojene benzer şekilde olumlu etki gösterir (19). Yapılan bir çalışmada tamoksifenin kasılmış izole tavşan koroner arterlerinde belirgin gevşemeye neden olduğu bulunmuştur. Bu gevşemenin kısmen endotele bağlı olduğu ve L-NAME ve estrogen reseptör antagonisti ICI 182,780 tarafından inhibe edilebildiği gösterilmiştir. Endoteli tahrip edilmiş preparatlarda oluşan gevşeme cevabı tamoksifenin vasküler miyositler üzerine olan direkt etkisine bağlı olarak oluşur. Bu çalışmada gerek endotelsiz preparatlarda gerekse NO sentezinin oluşumunun bloke edildiği preparatlarda tamoksifen ile oluşan gevşemenin vasküler düz kaslar üzerine direkt gevşetici etki göstermesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Tamoksifenin kalsiyum konsantrasyonuna bağlı kontraksiyon eğrilerine etki göstermemesi düz kaslar üzerine olan bu direkt etkinin kalsiyum



kanal blokajından bağımsız olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada erkek ve dişi tavşanlar arasında tamoksifen ile oluşan gevşeme açısından belirgin bir fark görülmemiştir. Her iki cinste de bu gevşeme mekanizmasında NO ve estrogen reseptörlerinin mevcut olması belirleyici olmuştur (19).

Hutchison ve arkadaşlarının KCl ile kasılma oluşturulan izole domuz koroner arterinde yaptıkları bir diğer çalışmada endotelin uzaklaştırılmasının ya da endotelyal NOS enziminin L-NAME ile bloke edilmesinin her iki ajanla oluşturulan gevşeme cevaplarında belirgin bir azalmaya neden olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada sonuç olarak akut ve nongenomik, tamoksifen ile indüklenen koroner gevşeme cevabının kısmen potasyum kanalına bağlı olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda her iki ajanında endotelin-1 ile oluşturulan düz kas kasılmasını antagonize ettikleri tespit edilmiştir (60).

Tamoksifenin bazı vasküler etkilerinde kalsiyum kanallarının etkili olduğu söylenmektedir (81). Vasküler düz kas hücrelerinin gerek büyümesi (Simpson ve ark.) (82) ve gerekse kasılması (Ram ve ark.) (83) kısmen voltaja bağlı kalsiyum kanallarından kalsiyum akışına bağlıdır. Kalsiyum akışının azalması vasküler kasılabilirliği azaltır ve buna bağlı olarak kardiyovasküler hastalık riski azalır (81). Tamoksifenin  $10^{-4}$  M konsantrasyonda protein kinaz C'yi inhibe ettiği (O'Brian ve ark.) (84) ya da kalmoduline bağladığı ve bu şekilde kalmodulin fonksiyonunun inhibisyonunun protein kinaz II fonksiyonunu azaltarak kalsiyum kanal fonksiyonunu azalttığı ve bu şekilde de düz kaslarda kalsiyum akımını azalttığı tespit edilmiştir (85). Tamoksifen tarafından, kalmodulin ile düzenlenen cAMP'ye bağlı fosfodiesterazın inhibisyonu (86) ve daha sonra hücre sel cAMP düzeylerinin artması (87) kalsiyum kanal fonksiyonlarını etkileyebilir.

Çalışmamızda tamoksifen kontrol ve L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelli erkek grupta endotelsiz erkek gruba göre her dört konsantrasyonda da anlamlı derecede gevşeme cevabına neden olurken, L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan grupta endotelli erkek grupta endotelsiz erkek gruba göre anlamlı bir farka neden olmadı. Dişi kontrol grubunda ise endotelli ve endotelsiz gruplar ara-

sında anlamlı derecede bir fark olmadığı gözlemlendi. L-NAME uygulanan grupta ise endotelli dişi grupta  $10^{-6}$  M konsantrasyonda endotelsiz gruba göre ve L-arginin uygulanan grupta endotelsiz dişi grupta  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-5}$  M konsantrasyonlarda endotelli gruba göre tamoksifenin anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi.

Endotelli gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde kontrol grubunda tamoksifen her dört konsantrasyonda da erkek grupta dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olurken, L-NAME uygulanan gruplarda erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ve L-arginin uygulanan gruplarda erkek grupta  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  ve  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda dişi gruba göre anlamlı bir gevşemeye neden oldu. Kontrol grubunda tamoksifenin endotelsiz dişi grupta  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  M konsantrasyonlarda erkek gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden olduğu gözlemlendi. L-NAME ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelsiz dişi grupta tamoksifen  $10^{-4}$  M konsantrasyonda erkek gruba göre, L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanan endotelsiz erkek grupta  $10^{-4}$  M konsantrasyonda endotelsiz dişi gruba göre anlamlı derecede gevşemeye neden oldu.

Tamoksifenin endotelli ve endotelsiz erkek grupta, kontrol ve L-NAME ve L-arginin uygulanan gruplardaki gevşeme cevapları değerlendirildiğinde, endotelli gruplarda her üç grup arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, endotelsiz grupta sadece  $10^{-4}$  M konsantrasyonda L-NAME ile kontrol ve L-arginin ile L-NAME grupları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. Dişi gruplarda ise gerek endotelli gerekse gruplarda her dört konsantrasyonda gruplar arasında anlamlı derecede fark olmadığı gözlemlendi.

Bu sonuçları değerlendirdiğimizde her üç grupta da (kontrol, L-NAME ve L-arginin) gerek endoteli ve endotelsiz ve gerekse dişi ve erkek gruplar arasında elde edilen sonuçlar birbiriyle uyum göstermemektedir. Tamoksifen etkisinin NO salgılanmasına bağlı olduğu neden olarak gösterebilir. Uygulanan L-NAME in vasküler NO salgılanmasını tam olarak bloke edemediği de bildirilmiştir (60). Endotelden NO dışında diğer bazı gevşetici (prostasiklin, EDHF) veya kasıcı

(endotelin) ajanlarda salgılanmaktadır (78-80). Tamoksifenin bu tip ajan-ların salgılanması üzerinde nasıl bir etki gösterdiği bilinmemektedir. Ayrıca tamoksifen direkt olarak vasküler düz kaslar üzerine etki göstererek potasyum kanalları veya kalsiyum kanallarını bloke ederek gevşeme cevabına neden olabilir (19, 59, 81). Koyun koroner arterlerindeki tamoksifen reseptör dağılımları ve dişi ve erkekler arasında farklı dağılım gösterip göstermedikleri hakkında yeterli bilginin olmaması, uygulanan dozun farklı damarlarda farklı etkilere neden olması ve de uyguladığımız hayvanın cinsine göre farklı sonuçlara neden olabilmesi tamoksifenin izole koyun koroner arteri üzerindeki etkilerinin açıklanmasını güçleştirmektedir. Bu konular ileri araştırma gerektirmektedir.



## SONUÇ

Çalışmamızda sonuç olarak; estradiol propiyonat, testosteron propiyonat, progesteron ve tamoksifen sitrat'ın izole koyun koroner arteri üzerinde genel olarak gevşeme yapıcı etkileri olduğunu gözlemledik. Fakat oluşan bu cevaplar L-NAME ( $10^{-4}$  M) veya L-arginin ( $10^{-4}$  M) uygulanması ya da endotelin var olup olmamasından, cinsiyetten ve uygulanan hormonun dozundan bağımsız olarak oluşmuştur. Bu da koyun koroner arteri üzerinde steroid hormonların etki mekanizmalarını değerlendirmek için daha ileri çalışmaların yapılması gerektiğini göstermektedir.

Koyun koroner arterinin histolojik yapısının ve hormon reseptör dağılımının değerlendirilmesi, damar histolojisi ve reseptör dağılımının cinsiyetler arasında farklılık gösterip göstermediğinin değerlendirilmesi, hormonların endotelden farklı gevşetici veya kasıcı faktörlerin (prostasiklin, EDHF, endotelin vs.) salgılanmasına neden olup olmadığının değerlendirilmesi ya da damar düz kasları üzerinde potasyum veya kalsiyum kanalları dışında farklı bir mekanizma ile mi etki gösterdiğinin agonist ve antagonistler kullanılarak değerlendirilmesi bizim yapmış olduğumuz çalışmamızın sonuçlarını açıklama konusunda bize ışık tutacaktır.

## KAYNAKLAR

- 1- **Jovanovic A., Jovanovic S.** *Estrogen and vascular system: more questions for the future.* Cardiovascular Research. 1999(42), 9-11.
- 2- **Stefano G. B., Prevot V., Beavullian J. D.** *Cell-surface estrogen receptors mediate calcium-dependent nitric oxide release in human endothelia.* Circulation. 2000 April (4),1594-1597.
- 3- **Yang S., Bae L., Zhang L.** *Estrogen increases eNOS and NOx release in human coronary artery endothelium.* Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2000 Aug., 36, 242-247.
- 4- **Otter D., Austin C.** *Effects of 17 $\beta$ - oestradiol on rat isolated coronary and mesenteric artery tone: involvement of nitric oxide.* J. Pharm. Pharmacol. 1998, 50, 531-538.
- 5- **Teoh H., Leung S. W. S., Man R. Y. K.** *Short -term exposure to physiological levels of 17 $\beta$ -estradiol enhances endothelium-independent relaxation in porcine coronary artery.* Cardiovascular Research. 1999 (42), 224-231.
- 6- **Thompson L. P., Weiner C. P.** *Long-term estradiol replacement decreases contractility of guinea pig coronary arteries to the thromboxane mimetic U46619.* Circulation. 1997 Feb., 95 (3), 709-714.
- 7- **Nagao T., Fujishima M., Vanhoutte P. M.** *Hyperpolarization as a mechanism for endothelium-dependent relaxations in the porcine coronary artery.* Baylor College of medicine, Houston, Texas, U.S.A., Kyushu University, Fkuoka, Japan. 342P.
- 8- **Mugge A., Riedel M., Barton M., Kuhn M., Lichtlen P. R.** *Endothelium independent relaxation of human coronary arteries by 17 $\beta$ -oestradiol in vitro.* Cardiovascular Research. 1993, 27, 1939-1942.
- 9- **Collins P., Shay J., Jiang C., Moss J.** *Nitric oxide accounts for dose- dependent estrogen-mediated coronary relaxation after acute estrogen withdrawal.* Circulation. 1994 Oct., 90 (4), 1964-1968.
- 10- **Hayashi T., Yamada K., Esaki T.** *Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor- mediated system.* Biochemical and Biophysical Research Communications. 1995 sep (25), 214(3), 847-855.
- 11- **Vedernikov Y. P., Liao Q. P., Jain V., Saade G. R., Chwalisz K., Garfield R. E.** *Effects of chronic treatment with 17 $\beta$ -estradiol and progesteron on endothelium-dependent and endothelium-independent relaxation in isolated aortic rings from ovariectomized rats.* Am J Obstet Gynecol. 1997 March, 176 (3), 603-608.

- 12- **Jiang C., Sarrel P. M., Lindsay D. C., Poole-Wilson P. A., Collin P.** *Progesteron induces endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery in vitro.* European Journal of Pharmacology. 1992, 211, 163-167.
- 13- **Li H. F., Zheng T. Z., Li W., Qu S. Y., Zhang C. L.** *Effects of progesterone on contractile response of isolated pulmonary artery in rabbits.* Can. J. Physiol. Pharmacol. 2001, 79, 545-550.
- 14- **Glusa E., Graser T., Wagner S., Oettel M.** *Mechanisms of relaxation of rat aorta in response to progesterone and synthetic progestins.* Maturitas. 1997,28,181-191.
- 15- **Yue P., Chatterjee K., Beale C., Poole-Wilson P. A., Collin P.** *Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta.* Circulation. 1995 Feb., 91 (4), 1154-1160.
- 16- **Chou T. M., Sudhir K., Hutchison S. J., Ko E., Amidon T. M., Collins P., Chatterjee K.** *Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo.* Circulation. 1996 Nov., 94 (10), 2614-2619.
- 17- **Webb C. M., McNeill J. G., Hayward C. S., Zeigler D., Collins P.** *Effects of testosterone on coronary vasomotor regulation in men with coronary heart disease.* Circulation. 1999, 100, 1690-1696.
- 18- **Burger G. H.** *Selective oestrogen receptor modulators.* Hormone Research. 2000, 53 (suppl 3), 25-29.
- 19- **Figtree G. A., Carolyn M. Webb, Peter Collins.** *Tamoxifen acutely relaxes coronary arteries by an endothelium-, nitric oxide-, and estrogen receptor-dependent mechanism.* The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics, JPET, 2000, 295,519-523.
- 20- **Speroff L.** *A clinical understanding of the estrogen receptor.* Annals Newyork Academy of Sciences. 2000, 26-39.
- 21- **Kayaalp S. O.,** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 2000 Temmuz, II. Cilt, 9. baskı, 1221-1243.
- 22- **Murray R. K., Mayes P. A., Gramer D. K., Rodwell V. N.** Harper'ın Biyokimyası, çev. Menteş G., Ersöz B., Barış Kitapevi, 1993, 571-594.
- 23- **Kayaalp S. O.,** Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 2000 Temmuz, II. Cilt, 9. baskı, 1379-1392
- 24- **Bell D. R., Rensberger H. J., Koritnik D. R., Koshy A.** *Estrogen pretreatment directly potentiates endothelium-dependent vasorelaxation of porcine coronary arteries.* Am. J. Physiol. 1995 (268), H377-H383.
- 25- **Nelson S. H., Steinsland O. S., Wang Y., Yallampalli C., Dong Y. L., Sanchez J. M.** *Increased nitric oxide synthase activity and expression in the human uterine artery during pregnancy.* Circulation Research. 2000 sep, 406-411.

- 26- **Fernandez N., Sanchez M. A., Martinez M. A., Garcia-Villaon A. L., Monge L., Gomez B., Dieguez G.** *Role of nitric oxide in vascular tone and reactivity to isoproterenol and adenosine in the goat coronary circulation.* European Journal of Pharmacology. 2000, 387, 93-99.
- 27- **Lianmin Ma, Casey P. Robinson, Udho Thadani, Eugene Patterson.** *Effect of 17- $\beta$  Estradiol in the rabbit: Endothelium-Dependent and -Independent mechanisms of vascular relaxation.* Journal of Cardiovascular Pharmacology. 1997 30,130-135.
- 28- **Rosenfeld C. R., Cox B. E., Roy T., Magness R. R.** *Nitric oxide contributes to estrogen-induced vasodilation of the ovine uterine circulation.* J. Clin. Invest. 1996, 98, 2158-2166.
- 29- **Robinson L. J., Morton C. C., Michel T.** *The constitutive endothelial nitric oxide synthase gene: implications for its evolution and cellular regulation.* The Biology of Nitric Oxide, edited by S. Moncada. London: Portland.
- 30- **Magness R. R., Rosenfeld CR., Carr BR.** *Protein kinase C in uterine and systemic arteries during ovarian cycle and pregnancy.* Am. J. Physiol. 1991, 260, e464-70.
- 31- **Jiang C., Sarrel PM., Pool-Wilson PA., Collins P.** *Acute effect of 17 $\beta$ -estradiol on rabbit coronary artery contractile responses to endothelin-1.* Am J Physiol. 1992, 263, H271- H275.
- 32- **Jiang C., Sarrel PM., Linsay DC., Pool-Wilson PA., Collins P.** *Endothelium-independent relaxation of rabbit coronary artery by 17 $\beta$ -estradiol in vitro.* Br J pharmacol. 1991, 104, 1033-1037.
- 33- **Jiang C., Pool-Wilson PA., Sarrel PM., Mochizuki S., Collins P., MacLeod KT.,** *Effect of 17 $\beta$ -estradiol on contractio, Ca<sup>+2</sup> current and intracellular free Ca<sup>+2</sup> in guinea pig isolated cardiac myocytes.* Br J Pharmacol. 1992, 106, 739-745.
- 34- **Barret-Connor E.** *Sex differences in coronary heart disease. Why are women so superior? The 1995 Ancel Keys Lecture.* Circulation. 1997, 95, 252-264.
- 35- **Ettinger N., Friedman G. D., Bush T., Quesenberry J. R.,C.P.** *Reduced mortality associated with long-term postmenopausal estrogen therapy.* Obstet. Gynecol. 1996, 87, 6-12.
- 36- **Stampfer J.M., Colditz F. A., Willet w. C., Manson J. E., Rosner b., Spiezer F. E., Hennekens C. H.** *Postmenopausal estrogen therapy and cardiovascular disease.* N. Eng. J. Med. 1991, 325, 756-762.
- 37- **Lieberman e. H., Gerhard M. D., Uehata a., Walsh B. W., Selwyn A. P., Ganz P., Yeung A. C., Creager M. A.** *Estrogen improves Endothelial-dependent, flow mediated vasodilation in postmenopausal women.* Ann. Intern. Med. 1994, 121, 936-941.

- 38- Gilligan D. M., Badar D. M., Panza J. A., Quyummi A. A., Cannon III R. O. *Acute vascular effects of in postmenopausal women. Circulation.* 1994, 90, 786-791.
- 39- Han S. Z., Karaki H., Ouchi Y., Akishita M., Orimo H. *17 $\beta$ -estradiol inhibites Ca<sup>+2</sup> influx and Ca<sup>+2</sup> release induced by thromboxane A<sub>2</sub> in porcine coronary artery. Circulation.* 1995, 91, 2619-2626.
- 40- Jiang C., Sarrel P. M., Poole-wilson P. A., Collins P. *Acute effects of 17 $\beta$ -estradiol on rabbit coronary artery contractile responses to endothelin-1. Am. J. Physiol.* 1992, 263, H271- H275.
- 41- Teoh H., Quan A., Leung Susan W. S., Man Ricky Y. K. *Differential effects of 17 $\beta$ -estradiol and testosterone on the contractile responses of porcine coronary arteries. British Journal of Pharmacology.* 2000, 129, 1301-1308.
- 42- Colburn P., Nad Buonassisi V. *Estrogen-binding sites in endothelial cell cultures. Science ( Wash. DC).* 1978, 201, 817-819.
- 43- Gisclard V., Miller V. M., Vanhoutte P. M. *Effect of 17 $\beta$ -estradiol on endothelium-dependent responses in rabbit. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1987 Sep., 244 (1), 19-22.
- 44- Schulze S. K., McGowan K. A., Hubchak S. C., Cid M. C., Martin M. B., Kleinman H. K., Greene G. L., Schnaper H. W. *Expression of an estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. Circulation.* 1996 Sep., 94 (6), 1402-1407.
- 45- Gilman A. G., Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> edition, 1996, 1411-1457.
- 46- Teoh H., Man R. Y. K. *Progesterone modulates estradiol actions: acute effects at physiological concentrations. European Journal of Pharmacology.* 1999, 378, 57-62.
- 47- Murphy J. G. And Khalil R. A. *Decreased [Ca (2+)] (i) during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17 $\beta$ -estradiol, progesteron and testosterone. J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999, 291, 44-52.
- 48- Mukerji M S., Leathard H. L. And Huddart H. *The effect of progesterone on spontaneous and agents-evoked contractions of the rat aorta and portal vein. J. Pharm. Pharmacol.* 2000, 52, 843-849.
- 49- Me Donal I. F., Pelzer S., Trautwein W. And Perzer D. J., *Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal and smooth muscle cell. Physiol. Rev.* 1994, 74, 365-461.
- 50- Kawasaki C., Hirano K., Nishimura J., Fujishima M. and Kanaide H., *Mechanisms of vasorelaxation induced by troglitazone, a novel antidiabetic drug, in the porcine coronary artery. Circulation.* 1998, 98, 2446-2452.



- 51- Lan L., Vinci J. M., Melendez J. A., Jeffrey J. J. and Wilcox B. D., *Progesterone mediates decreases in uterine smooth muscle cell interleukin-alpha by a mechanism involving decreased stability of IL-alpha Mrna*. Mol. Cell. Endocrinol.1999, 155, 123-133.
- 52- Minshall r. D., Pavcnik D., Browne D. L., Hermsmeyer K. *Nongenomic vasodilator action progesterone on primate coronary arteries*. J. Appl Physiol. 2002, 92, 701-708.
- 53- Kayaalp S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 2000 Temmuz, II. Cilt, 9. baskı, 1364-1367.
- 54- Gilman A. G., Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> edition, 1996, 1441-1455.
- 55- Jones r. D., Kate M., Pugh P. J., Morice A. H., Jones T. H., Channer K. S. *Pulmonary vasodilatory action of testosterone: Evidence of a calcium antagonistic action*. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2002, 39, 814-823.
- 56- Teoh H., Quan A., Man R. Y. K. *Acute impairment of relaxation by low levels of testosterone in porcine coronary arteries*. Cardiovascular Research. 200, 45, 1010-1018.
- 57- Gilman A. G., Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9<sup>th</sup> edition, 1996, sayfa 1275.
- 58- Kayaalp S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 2000 Temmuz, II. Cilt, 9. baskı, sayfa 1400.
- 59- Hutchison S. J., Chou T. M., Chatterjee K., Sudhir K. *Tamoxifen is an acute, estrogen-like, coronary vasodilator of porcine coronary arteries in vitro*. Journal of Cardiovascular Pharmacology. 2001 July, 38, 657-665.
- 60- Kilpatrick E. V., Cocks T. M. *Evidence of differential role of nitric oxide (NO) and hyperpolarization in endothelium-dependent relaxation of pig isolated coronary artery*. Br. J. Pharmacol. 1994, 112, 557-565.
- 61- Kayaalp S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 2000 Temmuz, II. Cilt, 9. baskı, sayfa 1534.
- 62- Collins P., Rosano G. M. C., Sarrel P. M., Ulrich L., Adamopoulos S., Beale C. M., McNeill J. G., Poole-Wilson P. A. *17 $\beta$ -estradiol attenuates acetylcholine-induced coronary arterial constriction in women but not men with coronary heart disease*. Circulation. 1995 Jul., 92 (1), 24-30.
- 63- Losordo D. W., Kearney M., Kim E. A., Jekanowski J., Isner J. M. *Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women*. Circulation, 1994 April, 89 (4), 1501-1510.

- 64- **Vequaud P., Pourageaud F., Freslon J. L.** *Role of nitric oxide and endothelium in the flow-induced dilation of rat coronary arteries under two precontraction conditions.* *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 1999, 26, 470-476.
- 65- **Matsumoto T., Kinoshita M., Toda N.** *Mechanisms of endothelium-dependent responses to vasoactive agents in isolated porcine coronary arteries.* *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 1993, 22, 228-234.
- 66- **Minami Y., Toda N.** *Possible involvement of 5-lipoxygenase products in the generation of endothelium-derived relaxing factor.* *J Pharmacol exp. Ther.* 1989, 250, 1055-60.
- 67- **Huang A., sun d., Koller A., Kaley G.** *17 $\beta$ - estradiol restores endothelial nitric oxide release to shear stress in arterioles of male hypertensive rats.* *Circulation.* 2000, 101, 94-100.
- 68- **Miura M.** *Regulation and failure of coronary circulation.* *Jpn Heart J.* September 1996, 37(5), 585-602.
- 69- **Perusquia M., Hernandez R., Morales M. A., Campos M. G. And Villalon C. M.** *Role of endothelium in the vasodilating effect of progestins and androgens in the rat thoracic aorta.* *Gen. Pharmacol.* 1996, 27, 181-185.
- 70- **Vedernikov Y. P., Liac Q. P., Jain V., Saade G. R., ChwalisK. and Garfield R. E.** *Effect of chronic treatment with 17 $\beta$ - estradiol and progesterone on endothelium-dependent and endothelium-independent relaxation in isolated aortic rings from ovariectomized rats.* *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997, 176, 603-608.
- 71- **Yallampali C., Izumi H., Byran-smith M. and Gardfield R. E.** *An L-arginin nitric oxide cyclic guanosine monophosphate system exists in the uterus and inhibits contractility during pregnancy.* *Am. J. Obstet. Gynecol* 1994, 170, 175-185.
- 72- **Honda H., Ishihara H. And Kogo H.** *A variation in acetylcholine-induced relaxation of rat aorta in pregnancy.* *Physiol Behav.* 1998, 65, 409-412.
- 73- **Cohen R. A., Plane F., Najibi S., Huk I., Malinski T., Garland C. J.** *Nitric oxide is the mediator of both endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization of the rabbit carotid artery.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997 April, 94 (8), 4193-4198.
- 74- **Crews JK., Khalil R. A.** *Antagonistic effects of 17 $\beta$ -estradiol, progesterone and testosterone on Ca<sup>2+</sup> entry mechanisms of coronary vasoconstriction.* *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999, 19, 1034-40.
- 75- **Vanhoutte P. M., Boulanger C. M., Illiano S. C., Nagao T., Vidalan M., Momboulli J. V.** *Endothelium-dependent effects of converting-enzyme inhibitors.* *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 1993, 22 (suppl 5), S10-S16.

- 76- Rudi B., Ingrid F. *Pulsatile stretch and shear stress. Physical stimuli determining the production of endothelium-derived relaxing factors.* Journal of Vascular Research. 1998, 35, 73-84.
- 77- Qing L., Yasuteru M., Ikuji H., Hikaru U., Akira O. *Stretch-induced collagen synthesis in cultured smooth muscle cells from rabbit aortic media and a possible involvement of angiotensin II and transforming growth factor- $\beta$ .* Journal of Vascular Research. 1998, 35, 93-103.
- 78- Thomas F. L. *The endothelium target and promotor of hypertension.* Hypertension. 1990, 15, 482-484.
- 79- Kayaalp S. O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., 1995, II. Cilt, 7. baskı, 1115-1125.
- 80- Paul M. V. *Endothelial dysfunction in hypertension.* Journal of Hypertension. 1996. vol 14 (suppl 5).
- 81- Song J., Standley P. R., Zhang F., Joshi D., Gappy S., Sowers J. R., Ram J. L. *Tamoxifen (estrogen antagonist) inhibits voltage-gated calcium current and contractility in vascular smooth muscle from rats.* The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 1996 Feb., 277 (3), 1444-1453.
- 82- Simpson L. L., Zhang F., Standley P. R., Ram J. L., Weir M. R. and Sowers J. R. *Antiproliferative effects of verapamil enantiomer on vascular smooth muscle cells.* J. Vasc. Med. Biol. 1994, 5, 46-53.
- 83- Ram J. L., Standley P. R. and Sowers J. R. *Calcium function in vascular smooth muscle and its relationship in hypertension .* An Calcium Antagonists in Clinical Medicine, ed. By M. Epstein, pp. 29-48, Hanley and Belfus Inc. Philadelphia, PA, 1992.
- 84- O' Brian C. A., Liskamp r. M., Solomon D. H. And Weinstein I. B. *Inhibition of protein kinase C by tamoxifen.* Cancer Research. 1985, 47, 70-74.
- 85- Mc Carren J. G., Mc Geown J. G., Rearden S., Ikebe M., Fay F. S. And Walsh Jr. J. V. *Calcium-dependent enhancement of calcium current in smooth muscle by calmodulin-dependent protein kinase II.* Nature. 1992, 357, 74-77.
- 86- Lam P. H. Y. *Tamoxifen is a calmodulin antagonist in the activation of cAMP phosphodiesterase.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 1984, 118, 27-32.
- 87- Fanidi A., Ahnadi C., Fayard J. M. Pageaux J. F. and Laugier C. *Opposite regulation of cAMP concentration in the quail oviduct and the mouse uterus by tamoxifen. Correlation with estrogen-antagonist and estrogen-agonist activity.* Steroid. Biochem. Molec. Biol. 1992, 41, 571-577.

## ÖZGEÇMİŞ

1970 yılında Diyarbakır'da doğdum. Ortaokul ve lise eğitimimi Eskişehir Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1987-88 öğretim yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitimime başladım. 1994 yılında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden mezun oldum. 1995-96 yılları arasında Isparta'nın Yenişarbademli İlçesi Merkez Sağlık Ocağı'nda ve 1997 yılında Eskişehir Sarıcakaya ilçesi Sağlık Merkezi'nde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 1997 yılı nisan TUS sınavında Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nı kazanarak uzmanlık eğitimime başladım. Halen aynı anabilim dalında araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

**İ.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA MERKEZİ**