



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DIABETİK OVARIEKTOMİZE SIÇANLARDA OLUŞAN  
VASKÜLER DİSFONKSİYONDA ÖSTROJEN  
RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ VE  
ÖSTROJEN TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**Tamila AKHAYEVA**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gülgün OZANSOY**

**2010- ANKARA**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DIABETİK OVARIEKTOMİZE SIÇANLARDA OLUŞAN  
VASKÜLER DİSFONKSİYONDA ÖSTROJEN  
RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ VE  
ÖSTROJEN TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**Tamila AKHAYEVA**

**FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gülgün OZANSOY**

**BAP№201.08.03.031, 20070803004HP  
veTÜBİTAK bursu ile desteklenmiştir  
2010- ANKARA**

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
**Farmakoloji Doktora** Programı

Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
**Doktora Tezi** olarak KABUL EDİLMİŞTİR

Tez Savunma Tarihi: 15/09/ 2010

Prof. Dr. V. Melih ALTAN  
Ankara Üniversitesi  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Nuray ARI  
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Gülgün OZANSOY  
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Fatma AKAR  
Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Çimen KARASU  
Gazi Üniversitesi

## İÇİNDEKİLER

<b>Kabul ve Onay</b>	ii
<b>İçindekiler</b>	iii
<b>Önsöz</b>	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	x
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Östrojen	3
1.1.1. Östrojenlerin yapısı ve sentezi	3
1.1.2. Östrojenin metabolizması	4
1.1.3. Gelişimsel etkileri	5
1.1.4. Östrojenin metabolik etkileri	6
1.1.5. Östrojenin etki mekanizması	7
1.2. Östrojen reseptörleri	8
1.2.1. Östrojen reseptörlerinin dokulardaki dağılımı	8
1.2.2. Östrojen reseptörlerinin yapısı	10
1.2.3. ER genomik etki mekanizması ve fonksiyonu	12
1.2.4. ER'lerin non-genomik etki mekanizması	14
1.2.5. Östrojen agonist ve antogonistleri	15
1.2.6. Östrojenin vasküler etkileri	19
1.2.6.1. Östrojenin endotel üzerindeki etkileri	208
1.2.7. Östrojenin vasküler düz kas üzerindeki etkileri	24
1.2.8. Östrojenin vasküler inflamasyon üzerindeki etkisi	25
1.3. Menopoz 25	
1.3.1. Menopozun klinik etkileri	26
1.3.2. Osteoporoz ve menopoz	28
1.3.3. Kardiyovasküler hastalıklar ve menopoz	28
1.3.4. Santral sinir sistemi ve menopoz	30
1.3.5. Menopoz ve kanser	30

1.4. Hormon yerine koyma tedavisi (HYT)	31
1.4.1. HYT'nin tarihçesi	32
1.4.2. Kanser	34
1.4.3. HYT ve kalp hastalıkları	36
1.5. Diabetes Mellitus	37
1.5.1. Diabetteki mikro- ve makrovasküler hastalıklar	39
1.5.2. Diabetes mellitusta gözlenen endotel disfonksiyon	40
1.6. Menopoz diabet ve kardiyovasküler hastalıklar ve HYT	48
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>51</b>
2.1. Gereçler	51
2.1.1. Deneysel araç ve gereçler	51
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	52
2.2. Yöntemler	52
2.2.1. Overlerin çıkarılması	53
2.2.2. Diabet oluşturulması	53
2.2.3. Deney grupları	53
2.2.4. Plazma örneklerinin alınması	54
2.2.5. Biyokimyasal deneyler	55
2.2.5.1. Plazma total kolesterol ve trigliserid konsantrasyonları	55
2.2.6. Sıçan torakik aortasının izolasyonu	55
2.2.7. Sıçan mezenterik arterinin izolasyonu	56
2.3. Deneysel Protokol	58
2.3.1. Kasılma yanıtlarıyla ilgili deneyler	58
2.3.2. Gevşeme yanıtlarıyla ilgili deneyler	58
2.4. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analizler	59
<b>3. BULGULAR</b>	<b>60</b>
3.1. Beden ve Organ Ağırlıkları	60
3.1.1. Beden ağırlığı	60
3.1.2. Uterus ağırlığı	61
3.1.3. Kalp ağırlığı	62
3.1.4. Karaciğer ağırlığı	63

3.2. Biyokimyasal Bulgular	64
3.2.1. Plazma glukoz düzeyi	64
3.2.2. Plazma östrojen düzeyi	65
3.2.3. Plazma trigliserid düzeyi	66
3.2.4. Plazma YDL-kolesterol düzeyi	67
3.2.5. Plazma total kolesterol düzeyi	68
3.3. İzole Sıçan Aort Preparatındaki Doz-Yanıtverirlik Deneyleri	69
3.3.1. ER $\alpha$ -reseptör agonisti PPT ve ER $\beta$ -reseptör agonisti DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	69
3.3.1.1. Kontrol gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	70
3.3.1.2. Ovariectomize gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	71
3.3.1.3. Diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	72
3.3.1.4. Ovariectomize diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	73
3.3.1.5. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariectomize gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları	74
3.3.1.6. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariectomize diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırmalı gevşeme yanıtları	75
3.3.2. ER'ler agonistleri 17 $\beta$ estradiol, PPT, DPN aracılı gevşemeler	76
3.3.3. Kontrol grubunda L-NAME varlığında 17 $\beta$ estradiol gevşemeleri	78
3.3.4. Kontrol grubunda L-NAME varlığında PPT gevşemeleri	79
3.3.5. Kontrol grubunda L-NAME varlığında DPN gevşemeleri	80
3.4. İzole Sıçan Mezenterik Arter Preparatındaki Doz -Yanıtverirlik Deneyleri	81
3.4.1. Mezenterik arterde fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri	81
3.4.1.1. Kontrol grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri	82

3.4.1.2. Ovariectomize grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz yanıt verirlilikleri	83
3.4.1.3. Diabetik grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri	84
3.4.1.4. Ovariectomize diabetik grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz yanıt verirlilikleri	85
3.4.1.5. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariectomize grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıtverirlilikleri	86
3.4.1.6. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariectomize diabetik grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıtverirlilikleri.	87
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>88</b>
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>95</b>
<b>ÖZET</b>	<b>96</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>97</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>98</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>114</b>

## ÖNSÖZ

Sanki devam etmek, Yaşamak; ciddiyetle yaşamaksa, doğal olarak insan oğlunda tanrı bulunmakta ise, duygulara boğulmak, acımak ve mutluluk, hiç olmayan basitlere en çok önem veren karışım, bu karışımında kendilerini kaybetmemeye çalışarak kalplerinde ve damarlarında mutsuz sona kapılıp amaçlarına ulaşamayanlar, hem şanslı hem de kahrolmuşlar . Bazıları dünyayı tanrının kadın yüzünün oluşturduğuna inanırlar ve yeryüzünün de anne olduğuna. Güzel çiçekli bitkileri ilaç olarak kullanıp, hastalıklı kalpleri güzelliğin gücüyle kurtarmaya çalışırlar. Acaba güzelliği biraz daha uzatabilsek hastalıklardan daha çabuk kurtulabilir miydik? Kadınlar güzeldir. Ancak güzellik bir zaman sonra kaybolmaya başlayınca, onları da kaybetmekteyiz. Kadınların güzelliklerini biraz daha uzatabilsek, menopozla birlikte ortaya çıkan hastalıklardan daha uzak kalabilir miydik? Bu sırrın çözümü belki de diyabetle oluşan kalp damar hastalıklarına da çözüm olabilecektir.

Tek gerçek olan bilimi kullanarak, içindeki tanrısal güçle birlikte ve umudederek çalışmamıza başladık. Menopozu, tanrı verdiyse bir sebebi mutlaka olmalıdır. Östrojen eksikliğini menopozun komplikasyonu olarak görüp yanlış bir değerlendirmeye tedavi ettiğimiz ve bu nedenle hastalıklardan arındırmak yerine kirletmiş olduğumuz. Doğa, aradığımız cevabı, kadınlık hormonunda göstermekte, östrojenin sahip olduğu etkilere daha seçici bakarsak, sağlığı koruyup, kardiyovasküler hastalıkların önünden karşılayacak olsak, sadece yararını ayırabilirsek ne güzel olurdu.

Gözleri açık olsa da mutluluğu göremeyen körler, bir soğuk duman içinde yaşamın ne olduğunu unutarak yaşadığını zannedenler için üzgünüm.

Herşeyi yapabilecek iken hiç olmayı isteyen, bakışlarında sert bir yargı, olgunluk ve şeffaflık olan- acı verir bu gözleri taşımak-, yaşama olan susuzluklarını yaşama gücü ve isteğiyle dolduran. Bununla oluşan insanlara dolu sevgi. Kalpleri aşkla dolu, aşkın varlığıyla, sınırları kaldırıp, zamanı eritmiş, bütünlüğü oluşturan, kiyamet kadar büyük bir güçle kendilerini ortaya koyanlar. Hiç olsalar da kendilerini sadece insanların gözlerinde görmekten bile vazgeçebilenler. Aşk için kendilerinden vazgeçenler. Bir gülen yüze ve mutluluğa herşeyi feda edenler. Etrafa çiçekler açtırıp baharı getirenler. Kızdığım da da sanki uçup gidenler. Işıklı kanatlarıyla, gökkuşağının renklerini karıştıran, uçup giderken bile bizi aydınlığında bırakanlar. Özür diliyorum, lütfen hiç gitmeyin, hayatın mutluluğu sizleri tanımakta Mom, Sen, Lee Tanya, Pisagor ve ark., ∞.

Bu dünya ikametimi Kazakistan' da, bilim dünyasının' da ki ikametimi ise her bitkisi her canlısı hayat içeren Ankara Üniversitesi' nde sahip oldum. ) Ankara' da doktora yapmak zor iki gözüm olsa da. Türkiye'ye ve Türk halkına saygı ve sevgim daima kalbimde. Yaşamın getirdiği bu güzel ve aydınlık parça için tanrıya şükranlarımı sunarım.



## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>[Ca<sup>2+</sup>]</b>	Hücre içi serbest Ca <sup>2+</sup>
<b>A</b>	Agonist
<b>AA</b>	Araşidonik asit
<b>AC</b>	Adenilat siklaz
<b>ACh</b>	Asetilkolin
<b>AGE</b>	İleri glikozillenmiş sonürünler türevleri
<b>Ang</b>	Anjiotensin
<b>AP-1</b>	Aktivatör protein 1
<b>AT-1</b>	Anjiotensin 1
<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>BH<sub>2</sub></b>	Duo hidro biopterin
<b>BH<sub>3</sub></b>	Trio hidro biopterin
<b>BH<sub>4</sub></b>	Tetra hidro biopterin
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Kalsiyum klorür
<b>CaD</b>	Kaldesmon
<b>CAM</b>	Kalmodulin
<b>cAMP</b>	Siklik Adenozin Monofosfat
<b>CaP</b>	Kalponin
<b>ÇDDL</b>	Çok Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>cGK-1</b>	cGMP bağımlı kinaz
<b>cGMP</b>	Siklik Guanidin monofosfat
<b>CO<sub>2</sub></b>	Karbondioksit
<b>COX</b>	siklooksijenaz
<b>D</b>	Diabet
<b>DAG</b>	Diasilgliserol
<b>DBD</b>	DNA Bağlanma Bölgesi
<b>DDL</b>	Düşük Dansiteli Lipoprotein
<b>DM</b>	Diabetes Melitus
<b>DNA</b>	Dezoksi nükleit asit
<b>DPN</b>	2,3-bis(4-Hydroxyphenyl)-propionitrile

<b>E2</b>	17β-Estradiol	
<b>EC<sub>60</sub></b>	Maksimum Yanıtın %60'ını Oluşturan Doz	
<b>EDHF</b>	Endotel Aracılı Hiperpolarize edici Faktör	
<b>eNOS</b>	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz	
<b>ER</b>	Östrojen Reseptörleri	
<b>ERα</b>	Östrojen Reseptör Alfa	
<b>ERβ</b>	Östrojen Reseptör Beta	
<b>ET</b>	Endotelin	
<b>ET-1</b>	Endotelin1	
<b>EYT</b>	Östrojen Yerine Koyma Tedavisi	
<b>FSH</b>	Folikül Stimüle Edici Hormon	
<b>GC</b>	Guanilat siklaz	
<b>GNRH</b>	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon	
<b>GPR30</b>	G protein kenetli reseptör 30	
<b>GRP</b>	C-reaktif protein	
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Su	
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen Peroksit	
<b>HERS</b>	Estrogen-Progestin Replacement Study	
<b>HERS2</b>	Estrogen-Progestin Replacement Study 2	
<b>HOPE</b>	Heart Outcomes Prevention Evaluation	
<b>HRE</b>	Hormon Duyarlı Elementleri	
<b>HYT</b>	Hormon Yerine Koyma Tedavisi	
<b>ICI182780</b>	7a,17b-[9-[(4,4,5,5,5-Pentafluoropentyl)sulfinyl]nonyl] 1,3,5(10)-triene-3,17-diol	estra-
<b>IDDM</b>	İnsulin bağımlı DM	
<b>IFNγ</b>	İnterferon γ	
<b>IGF-1</b>	İnsulin Benzer Büyüme Faktörü-1	
<b>IL6</b>	İnterlökin 6	
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz	
<b>IP3</b>	İnositol 1,4,5-trifosfat	
<b>KCl</b>	Potasyum Klorür	
<b>KVH</b>	Kardiyovasküler Hastalıklar	
<b>L-arg</b>	L-arjinin	
<b>LBD</b>	Ligand Bağlanma Bölgesi	

<b>L-citr</b>	L-citrulin
<b>LH</b>	Luteinleştirici Hormon
<b>L-NAME</b>	L-Nitro Arginin Metil Ester
<b>LOOH<sup>□</sup></b>	Lipid Hidroperoksitleri
<b>M</b>	Muskarinik
<b>MAPK</b>	Mitojen aktive edici protein kinaz
<b>MDA</b>	Malon Dialdehit
<b>MEK</b>	MAPK kinaz
<b>MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	Magnezyum Sülfat, Yedi Su
<b>MLC</b>	Miyozin hafif zincir
<b>MLCK</b>	MLC kinaz
<b>MLC-P</b>	Fosforilenmiş MLC
<b>MLCP</b>	MLC fosfataz
<b>mm</b>	Milimolar
<b>mRNA</b>	Messenjer RNA
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorür
<b>NADPH</b>	İndirgenmiş Nikotin Amid Adenin Dinükleotit Fosfat
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Sodyum Dihidrojenfosfat
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Sodyum Bikarbonat
<b>NIDDM</b>	İnsulin bağımlı olmayan DM
<b>NIH</b>	National Institutes of Health
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NOS</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>NTG</b>	Nitorgliserin
<b>O</b>	Ovariektomi
<b>O<sub>2</sub></b>	Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>□-</sup></b>	Süperoksit Radikal Anyonu
<b>OD</b>	Ovariektomize Diabetik Grup
<b>ODE</b>	Östrojen Tedavili Ovariektomize Diabetik Grup
<b>OE</b>	Östrojen Tedavili Ovariektomize Grup
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroksinitrit
<b>PAI-1</b>	Plazminojen aktivatör inhibitör-1
<b>pD<sub>2</sub></b>	Maksimum Yanıtın %50'sini oluşturan dozun -logaritmik değeri

<b>PEPI</b>	The Postmenopausal Estrogen/Progestin Intervention Trial
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostasiklin
<b>PGI<sub>2</sub></b>	Prostoglandin
<b>PGI<sub>2</sub>-S</b>	Prostasiklin sentaz
<b>PHE</b>	L-Fenilefrin
<b>PI<sub>2</sub></b>	Prostosiklin
<b>PI3K</b>	Fosfoinositol-3-kinaz
<b>PIP<sub>2</sub></b>	Fosfotidil inositol 4,5- bifosfat
<b>PKC</b>	Protein kinaz C
<b>PLC</b>	Fosfolipaz C
<b>PPT</b>	4,4',4''-(4-Propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl)trisphenol
<b>R</b>	Reseptör
<b>RNA</b>	Riboksi nükleit asit
<b>RNS</b>	Reaktif nitrojen türevleri
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türevleri
<b>SEM</b>	Standart hata ortalaması (Standart Error Meaning)
<b>SERCA</b>	Sarko/Endoplazmik Retikulum
<b>SERMS</b>	Selektif Östrojen reseptör modulatorleri
<b>sGC</b>	Soluble Guanilat siklaz
<b>SHBG</b>	Seks Hormonu bağlayan globulin
<b>SHR</b>	Spontan Hipertensif dişi sıçanlar
<b>SP-1</b>	Spesifik Protein 1
<b>SR</b>	Sarkoplazmik Retikulum
<b>SYA</b>	Serbest yağ asit
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Tümör nekrozis faktör $\alpha$
<b>VDK</b>	Vasküler düz kas
<b>WHI</b>	Women Health Initiative
<b>YDL</b>	Yüksek Dansiteli Lipoprotein

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	17β-estradiol.	3
Şekil 1.2.	Gpr30 aracılığı ile hücrel aktivasyon ve klasik östrojen reseptörler.	8
Şekil 1.3.	İnsan ER'lerinin şematik diagramı,	11
Şekil 1.4.	Seksüel steroidler, hipertansiyon ve yaşlanmadaki vasküler yanıtlar.	13
Şekil 1.5.	Östrojen reseptör agonistleri ve antagonistleri	16
Şekil 1.6.	Östrojenin vasküler non-genomik etkileri.	23
Şekil 1.7.	HYT'nin tarihçesi. Tablo barrett connor 2003 tarafından yapılmıştır.	33
Şekil 1.8.	Endotel disfonksiyonu mekanizması.	41
Şekil 1.9.	Diabetes mellitus'ta endotel disfonksiyon.	43
Şekil 1.10.	Vasküler tonusunun endotelle regüle edilmesi.	45
Şekil1.11.	Vasküler hastalıklardaki endotelial disfonksiyonun altında yatan mekanizmalar.	46
Şekil 1.12.	Diabetes mellitustaki asıl endotel disfonksiyon.	47
Şekil 2.1.	Myograf sisteminin genel yapısı.	52
Şekil 3.1.	Tüm grupların 8 ve 16 hafta sonundaki beden ağırlığı ortalalamaları.	60
Şekil 3.2.	8 hafta sonunda tüm grupların ua/ba ortalalamaları.	61
Şekil 3.3.	Tüm grupların 8 hafta sonundaki ka/ba ortalalamaları	62
Şekil 3.4.	Tüm grupların 8 hafta sonundaki kca/ba ortalalamaları	63
Şekil 3.5.	Tüm grupların plazma glukoz düzeyleri	64
Şekil 3.6.	Tüm grupların plazma estradiol düzeyleri	65
Şekil 3.7.	Tüm grupların plazma trigliserid düzeyleri	66
Şekil 3.8.	Tüm grupların plazma ydl düzeyleri	67
Şekil 3.9.	Tüm grupların plazma total kolesterol düzeyleri	68
Şekil 3.10.	Kontrol aort preparatında 17β estradiolle göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri.	70
Şekil 3.11.	Ovariectomize grubun aort preparatında 17β estradiolle göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri.	71
Şekil 3.12.	Diabetik aort preparatında 17β estradiolle göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri.	72
Şekil3.13.	Ovariectomize diabetik grupların aort preparatında 17β estradiolle göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri	73

Şekil 3.14.	17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize grubun aort preparatında 17 $\beta$ estradiole göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri	74
Şekil 3.15.	17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize diabetik grubun aort preparatında 17 $\beta$ estradiole göre ppt ve dpn ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri	75
Şekil3.16.	Tüm gruplardan alınan aortik preparatları $\alpha_1$ reseptör agonisti fenilefrinle kastırılarak er $\alpha$ ve $\beta$ --reseptör agonisti 17 $\beta$ estradiol, er $\alpha$ agonisti -ppt ve er $\beta$ - reseptör agonisti -- dpn (0.1 pmol-0.1 $\mu$ m) gevşemeleri incelenmiştir.	77
Şekil3.17.	Kontrol aortik preparatlarda 17 $\beta$ estradiolle l-name inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler.	78
Şekil3.18.	Kontrol aortik preparatlarda ppt ile l-name inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler.	79
Şekil3.19.	Kontrol aortik preparatlarda dpn l-name inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler.	80
Şekil3.20.	Mezenter arter preparatında $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri.	81
Şekil3.21.	Kontrol mezenter arter preparatında 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	82
Şekil3.22.	Ovariektomize mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ m' ar 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	83
Şekil3.23.	Diabetik mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ m' ar 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	84
Şekil3.24.	Diabetik-ovariektomize mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ m' ar 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	85
Şekil3.25.	17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ m' ar 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	86
Şekil3.26.	17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize diabetik mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ m' ar 17 $\beta$ estradiol, ppt ve dpn inkübasyonu ardından $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri	87
Şekil 4.1.	G proteine bağlı reseptörün $\alpha_{1b}$ -ar fosforilasyon etkisi.	94

## 1. GİRİŞ

Günümüzde, kardiyovasküler hastalıklar (KVH), ölüm nedenleri arasında en önde gelen faktörlerden biridir (American Diabetes Association, 2005). Son yapılan klinik çalışmalarda cinsiyet ve yaşın kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde büyük bir rol oynadığı gösterilmiştir. Postmenopozal kadınlarda, overleri fonksiyonel olarak çalışan premenopozal kadınlara oranla KVH'ın görülme sıklığında bir artış saptanmıştır. Buna ek olarak doğal veya cerrahi yolla menopoza giren kadınlarda östrojen tedavisinin, KVH görülme riskini azaltığının bazı klinik çalışmalarda gösterilmesi, cinsiyet hormonlarının, östrojenin, kardiyovasküler sistemde koruyucu etkinliğinin olduğu görüşünü oluşturmuştur. Premenopozal kadınlarda östrojenin kardiyoprotektif etkileri arasında lipoproteinlerin bileşiminde modülasyon (düşük dansiteli lipoproteinlerde azalma, yüksek dansiteli lipoproteinlerde artma), koagülasyon mekanizmasında değişiklik, intravasküler dokuda kollajen birikiminin inhibisyonu, vasküler düz kas hücrelerinde antiproliferatif etki, vazodilatasyon etkisi gibi farklı mekanizmalarla rolü olabileceği ileri sürülmektedir (Mangelsdorf ve ark., 1995). Ancak, diabetik premenopozal kadınlarda postmenopozal kadınlarda olduğu gibi kardiyovasküler hastalık riskinin artması, diabetik kadınlarda östrojenin kardiyoprotektif mekanizmalardaki etkinliğinin değişikliğe uğradığını göstermektedir (Barret-Connor ve ark., 2004). Buna ek olarak sağlıklı postmenopozal kadınlarda östrojen tedavisinin kardiyovasküler hastalık insidensini azalttığı, diabetik postmenopozal kadınlarda ise çok etkili olmadığı ve östrojen tedavisinin endotel bağımlı gevşeme yanıtlarında sağlıklı gruba oranla daha az etkin olduğu bazı araştırmalarda gösterilmiştir (Yamauchi ve ark., 1990, Kasetta ve ark., 1999). Ayrıca ovariectomize ve intakt hayvanlarda östrojen tedavisi diabet gelişimini yaklaşık %75 oranında azaltmıştır (Godsland, 2005). Bu gözlemler dişi cinsiyet hormonlarının ve/veya reseptör aracılı fonksiyonlarının, diabetik bireylerde sağlıklı bireylere göre farklı olduğunu göstermektedir. Östrojenin, diabetik postmenopozal kadınlarda kardiyovasküler sistem üzerindeki etkinliğinin değişmesine neden olan mekanizmaları araştıran çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bilindiği gibi östrojen, biyolojik etkilerini östrojen reseptörleri (ER) aracılığı ile oluşturmaktadır. ER'nin  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki genotipi bulunmakta ve dokularda farklı dağılım göstermektedir.

Dokuların östrojene duyarlılığını etkileyen iki ana faktör, reseptörlerin yapısı ve ko-regülatörlerle etkileşmesidir (Gustafsson, 2003). Ancak östrojen reseptörlerinin fizyolojik ligantı  $17\beta$  estradiolün her iki reseptöre aynı afinite ile bağlanması dokularda östrojen reseptörlerinin yanıtlarının incelenmesini zorlaştırmıştır. Son yıllarda ER $\alpha$  agonisti PPT ve ER $\beta$  agonisti DPN'nin bulunmasından sonra bu reseptörlerin fonksiyonları daha detaylı olarak araştırılmaya başlanmıştır (Montgomery ve ark., 2003). ER agonistlerinin farmakolojik dozlarda önceden kastırılmış mezenter arterlerde gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (Shaw L ve ark., 2001). Ancak gevşemenin farmakolojik dozlarda oluşması biyolojik rolleri hakkında şüphe yaratmıştır. Yanıtverirliliğin, hormonal duruma bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir. Östrojenin vasküler ve diğer dokularda, ER ekspresyonunu modüle ettiği, ER bağımlı yanıtların ise hormonal durumla çok yakından ilgili olduğu saptanmıştır (Ihioonkhan ve ark., 2002). Östrojenin vasküler doku üzerindeki etkilerinde, fosfoinositol-3-kinaz (PI(3)K) Akt-kinaz yolağının aracılık ederek, nitrik oksit (NO) salınması ile birlikte gevşemeye neden olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark., 2006). Bunun ötesinde ER'lerin Adrenerjik reseptörleri fosforile ederek kastırıcı ajanların kontraktıl yanıtları üzerinde etkisi olduğu saptanmıştır (Gonzalez-Arenas ve arkç, 2006).

Çalışmamızda, östrojen bağımlı vasküler yanıtların hormonal duruma göre değişebildiğini gözönüne alarak intakt, ovariektomize ve diabetik ve östrojen tedavili sıçanlarda östrojen reseptör aracılı etkilerinin, direkt NO ve (PI(3)K)-Akt-kinaz , indirekt olan Ar- $\alpha_{1b}$  desensitizasyon yolaklarının rollerinin akut ve uzun dönemdeki etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla;

1. Deney hayvanları kontrol, ovariektomi, diabet olmak üzere üç ayrı gruba ayrılmıştır.

2. Ovariektomi ve diabet grupları kendi içinde östrojen tedavili ve kontrol olmak üzere ikiye ayrılmıştır.

3. Her deney grubunda ER'lerin selektif ve non-selektif agonistlerinin, izole edilen aortta endotel bağımlı gevşeme yanıtları araştırılmıştır.

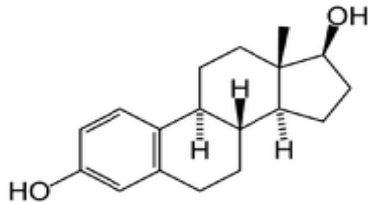
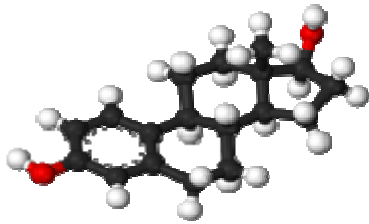
4. Her deney grubunda ER'lerin seletif ve non-selektif agonistlerinin izole edilen mezenterik arterde fenilefrin gibi kastırıcı ajanların kontraktıl yanıtlarını desensitize edebilme gücü araştırılmıştır



## 1.1. Östrojen

### 1.1.1. Östrojenlerin yapısı ve sentezi

Kadınlarda östrojenik etkinlikten sorumlu asıl hormon estradioldür (estradiol-17 $\beta$ ). 18 karbonlu bir steroiddir ve A halkası aromatiktir (fenolik niteliktedir); 3 numaralı karbondaki bir  $\beta$ -OH grubu içerir (Şekil 1.1). Estradiol, gravimetrik etki gücü en yüksek olan doğal östrojendir. Vücutta kısmen estrona dönüşür. Dönüşüm iki yönlüdür; bu nedenle estron aynı zamanda estradiolün öncülüdür (prekürsörü). Estronun östrojenik etki gücü, kitlesine göre estradiolünkinin yarısı kadardır. Diğer östrojenik hormon estriolün östrojenik etkisi daha zayıftır; estradiol ve östrojenden oluşur (Kayaalp, 2009).



(17 $\beta$ )-estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol

**Şekil 1.1.** 17 $\beta$ -estradiol (scn Life Science Inc.Wuhan. 2009) (<http://www.uscnk.com/pic/20091218204616.jpg>)

Kadınlarda çoğunlukla overlerde graaf foliküllerinin granuloza hücrelerinde sentez edilirler. Sentezi başlatan prekürsör maddeler teka hücrelerinde yapılan granuloza hücrelerine sunulan androjenik maddelerdir. Androstenedion, overlerde estrona ve kısmen de testesterona dönüştürülür. Testesteron ise ya 5- $\alpha$ -redüktaz ile

5- $\alpha$ -hidrotosterona ya da aromataz ile 17 $\beta$ -estradiol (E2)'e (Şekil 1.1) çevrilir (Nussey ve Whitehead, 2001). Plasenta, adrenal korteks, testislerde de östrojen sentezi yapılmaktadır. Başta yağ dokusu olmak üzere karaciğer, böbrek, akciğer, deri, beyin gibi bazı dokularda, adrenal korteks kaynaklı androstenedion, testesterondan, estron ve estradiol sentezlenmektedir (Beato Mö Klug J 2000).

Östrojenler diğer steroid hormonlara göre çok daha etkin bileşiklerdir, ufak miktarları ile etki oluşturlar. Salgılanma, puberteden sonra ön hipofiz tarafından salgılanan folikül stimüle edeci hormon (FSH), lüteinleştirici hormon (LH), prolaktin, hamilelik süresinde koryonik gonadotropin hormon kontrolü altındadır. Çocukluk döneminde estradiol salgılanması az miktarda iken puberte döneminde artmaktadır. Gebelik sırasında estradiol konsantrasyonu doğuma kadar yükselip, doğumdan sonra dördüncü gün normal seviyelerine geri dönmektedir. Yaşlanma ile estradiol seviyesinde azalma gözlenmektedir. Menopoz sonrasında ise estradiol konsantrasyonu erkeklerde gözlenen düzeye kadar azalma gösterir(Saruhan ve ark., 2010).

Bir günde sentezlenen ve salgılanan estradiol miktarı 0,5 mg'dan azdır. Bu östrojenin hemen hemen tamamı over kaynaklıdır; salgılanma menstrual siklusa paralel olarak siklik bir özellik gösterir. Salgılanmanın biri ovulasyondan hemen önce, diğeri luteal evrenin ortasında olmak üzere iki tepe değeri vardır (Ganong, 2002). Menstrual siklusun erken foliküler döneminde 36 mg/gün, ovulasyondan hemen önce 380  $\mu$ g/gün, luteal evrenin ortasında 250  $\mu$ g/gün olduğu saptanmıştır. Östrojenik bir hormon olan estronun salgılanması genel olarak estradiolün salgılanmasına benzer bir özellik gösterir (Ganong, 2002; Kayayalp, 2009).

### 1.1.2. Östrojenin metabolizması

Östrojenik hormonlar genellikle plazmada albumine ve seks hormonu bağlayan globulin (SHBG) adı verilen bir beta-globuline bağlı olarak taşınmaktadır. Estradiolün yaklaşık %70'ten fazlası plazmada bağlı durumdadır. Östrojenin SHBG'ye yüksek affinitesi olmasına karşın albuminin taşıma kapasitesi çok daha fazladır(Ropponen ve ark., 2005). Karaciğer hücrelerinde estradiol ve estron

birbirine iki yönlü bir reaksiyonla dönüştürürler. Estradiolün estrona dönüşümünü yapan enzim 17- $\beta$ -hidroksi-steroid dehidrojenaz enzimidir. Estron ve estradiolün karaciğer ve diğer bazı dokularda oluşan ilk ve en önemli metaboliti estrioldür. Estriol oluşumunda rol alan enzim 16- alfa-hidroksilaz enzimidir. Bu dönüşüm östrojenik etkinliğin önemli ölçüde azalmasına neden olur (Itaaho ve ark., 2008). Östrojenik hormonlar karaciğerde sülfüronik asit ve glukuronik asite konjüge edilerek inaktif duruma getirilirler (Delafrogo ve ark., 2005). Bu konjüгатların bir kısmı safra içinde bağırsağa atılır, enterik hepatik sıklusa girerek tekrar karaciğere geçerler. Konjüгатların kalan kısmı ise böbreklerden idrarla atılır. İdrarla bir günde atılan total östrojen miktarı iki menstrual siklus dönemi arasında 20-80  $\mu$ g konsantrasyonlarında bulunmaktadır (Kayaalp, 2009).

### 1.1.3. Gelişimsel etkileri

Östrojen, kadınlarda projesteron ile birlikte, menopoza kadar, puberte sırasında kadına özgü sekonder seks karakteristiklerinin gelişmesi ve daha sonra gelişmenin sürdürülmesi için gereklidir. Bu iki etkiye gelişimsel etkiler denir. Ayrıca menstrual siklusun nöroendokrin kontrolünde projesteron ile birlikte rol oynarlar. Ek olarak, östrojene özgü çok sayıda etkileri vardır (Kayaalp, 2009). Gelişimsel etkilerin bir kısmı puberte sırasında kadın genital kanalındaki yapıların gelişip büyümesi ve kadına özgü diğer sekonder seks karakteristiklerinin gelişmesi ile ilgilidir. Pubertede uterusun büyümesinden östrojenler sorumludur. Uterus kan akımının, uterus kasının ve kasılma ile ilgili proteinlerin içeriğinin artmasına yol açarlar. Östrojenlerin etkisi altında uterus kası daha hareketli ve daha kolay uyarılabilir hale gelir. Östrojenler meme kanallarında gelişmeye neden olur. Puberte sırasında gözlenen meme büyümesinden ve ayrıca meme başlarının pigmentasyonundan büyük ölçüde östrojenler sorumludur (Colub ve ark., 2003). Kadınlara özgü vücut şeklinin oluşumunda östrojenler rol alır. Ayrıca östrojenler yağ dokusunun dağılımında, sesin, vücut kıllanmasının kadına özgü özellikler göstermesinde rol alırlar. Östrojenler kadınlarda libidoyu artırır, ayrıca östrojenler deney hayvanlarında nöronlar üzerindeki proliferasyonu ve kavşak sayılarını arttırarak impulsun iletimini kolaylaştırırlar. İnsanda alzheimer hastalığının ilerlemesini yavaşlattığı bildirilmiştir (Ganong, 2002) .

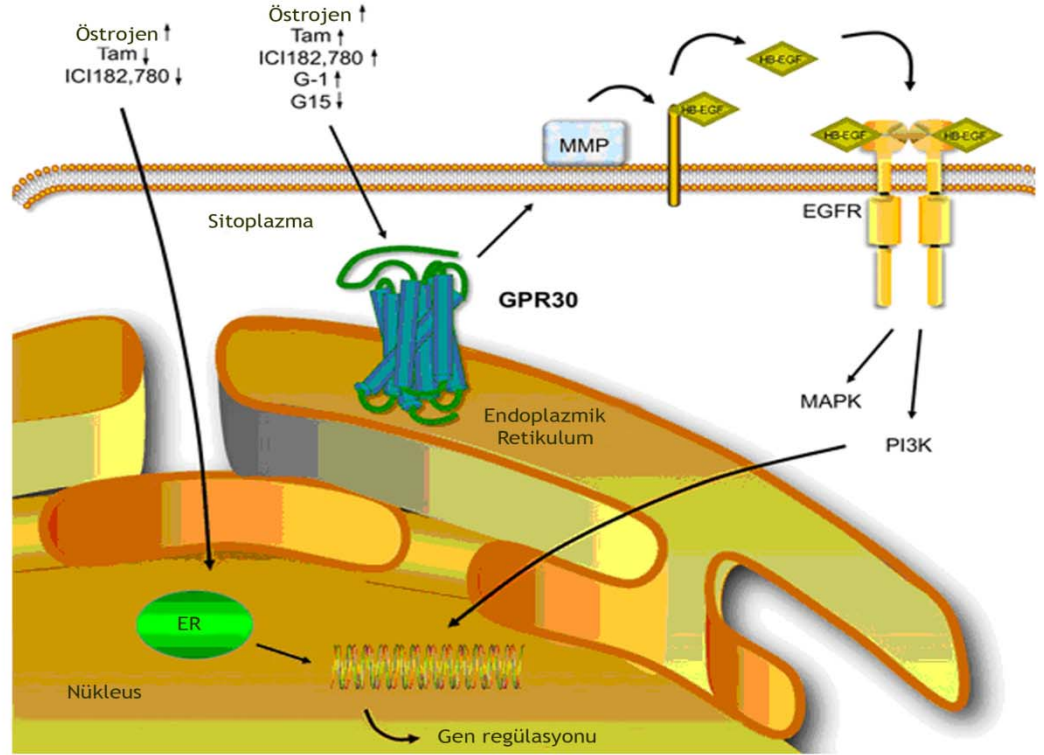
#### 1.1.4. Östrojenin metabolik etkileri

Karaciğerde lipoproteinlerin sentezini etkilerler. Antiaterosklerotik etkinlik gösteren yüksek dansiteli lipoprotein (YDL)'in ve ayrıca çok düşük dansiteli lipoprotein (ÇDDL)'in sentezini ve plazma düzeyini artırır. ÇDDL düzeyinin artması kanda trigliserid düzeyini yükseltir. Öte yandan, östrojenler aterojenik nitelikli olan düşük dansiteli lipoprotein (DDL) sentezini ve onun plazma düzeyini azaltırlar ve buna bağlı olarak plazmanın genel kolesterol düzeyini düşürürler. Plazmada YDL/DDL oranı testosteron tarafından azaltıldığı halde, östrojenler tarafından artırılır ve bu etki, östrojenin antiaterosklerotik etkisini oluşturur. Bu olayda östrojenlerin damar endotelinde, nitrik oksit (NO) sentezi ve NO salıverilmesini arttırmalarının da katkısı olabilir (Kayaalp, 2009). Östrojenler, YDL düzeyini artırmaları sonucu dokulardan karaciğere kolesterol taşınmasını arttırmaları nedeniyle safra içerisinde kolesterol itrahını hızlandırır. Sonuç olarak, safra kolesterol doyumunu artırır ve kolesistopatiye zemin hazırlar. Uzun süre östrojenlerle tedavi edilen kadınlarda kolesistektomi oluşma insidensi 2.5 kez artmış bulunmuştur. Östrojenler hücrelerde protein sentezini artırır yani anabolik etki yaparlar. Üreme organlarının östrojenik hormonlar tarafından büyütülmesinde, hücre çoğalmasının artması yanında protein sentezindeki artmaya bağlı olarak hücre büyüklüğündeki artmanın da katkısı vardır. Östrojenler bazal büyüme hormonu salgılanmasını ve karaciğer İGF-1 (insülin benzer büyüme faktörü-1) sentezini artırabilirler. Karaciğerde, çeşitli hormonları taşıyan  $\alpha$ -ve  $\beta$ -globülinlerin (transkörtin, TBG, SHBG gibi), İGF-1 bağlayan proteinler, metal taşıyan globulinler (seruloplazmin gibi) ve anjiotensinojenin sentezini artırır. Buna karşılık albümin ve hepatoglobülin sentezini azaltırlar. Karaciğerde faktör II, VII, IX ve X gibi koagülasyon faktörlerinin sentezini artırır. Antitrombin-III sentezini azaltırlar ve plazma düzeyini düşürürler. Kanın pıhtılaşmasını kolaylaştırır. Hücrede, anti-insülinik etkileri nedeniyle glukoz utilizasyonunu inhibe ederler, diabetik hastalarda insüline duyarlılığı azaltırlar (Segner ve ark., 1994). Böbrek tubuslarında sodyum ve su reabsorpsiyonunu artırır, su ve sodyum retansiyonu sonucu vücutta ödem eğilimi oluştururlar. Böbreklerde renin sentezini artırabilirler. Östrojenlerin ön hipofizi direkt olarak inhibe edebildikleri gibi hipotalamustaki nöronlarda kendilerine özgü reseptörleri aktive ederek indirekt yoldan da inhibisyon yaptıkları saptanmıştır. Hipotalamustaki

nöronların bu şekilde etkilenmesi ile, gonadotropin saliverici hormon salgılanması azalır, hipotalamusun ön hipofizinde FSH ve LH sentez eden hücreler üzerinde yaptığı stimülasyon azalır. Kemik dokusunun metabolizmasına etkisi vardır ve kızlarda linear olarak boyun uzamasını hızlandırır, kemik resorpsiyonunu azaltır(Shaw ve ark., 2010).

### 1.1.5. Östrojenin etki mekanizması

Östrojenler biyolojik etkilerini ER $\alpha$  ve ER $\beta$  olarak adlandırılan iki farklı nükleer hormon reseptör aracılığıyla gerçekleştirirler. Bu iki farklı östrojen reseptör alt tipleri ligand bağımlı transkripsiyon faktörü gibi hareket eder, östrojenin etkisine aracılık eden spesifik genlerin östrojen yanıt elementi denilen DNA segmentine bağlanarak transkripsiyonunu (mRNA üretim) hızlandırır. Buna ek olarak her iki reseptör izoformu, indirekt olarak aktivatör protein 'response' elementlerine bağlanarak c-Jun c-Fos faktörleri ile gen ekspresyonunu düzenleyebilirler(Safe, S ve Kim, K., 2008). Ayrıca ER aktiviteleri non-kardiyovasküler hücrelerde büyüme hormonları tarafından da kontrol edilebilirler. Son olarak ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'nın hücre membranında da yerleştiği gösterilmiştir. Kemik dokusunda c-SRc gibi membran ilişkili proteinler aracılığıyla fosforilasyon kaskatını başlatması ve endotel hücrelerinde PI3K aktivasyonuna neden olduğunun saptanması bu görüşü destekleyen bulgulardır(Galluzzo ve ark., 2009, Arnal ve ark 2010). Östrojenlerin bu mekanizmalar dışında hücre membranında bulunan G protein kenetli reseptör 30'a (GPR30) (Şekil 1.2) bağlandığı ileri sürülmektedir. Östrojenlerin hücre fonksiyonlarının GPR30 aracılığıyla düzenlendiğine ilişkin görüşler olmasına karşın, bu proteinin östrojen reseptörleri ile ilişkisi tam olarak açıklanamamıştır (Teng ve ark., 2008).



**Şekil 1.2.** GPR30 aracılığı ile hücresel aktivasyon ve klasik östrojen reseptörleri. Reseptör agonisleri ve antagonistleri (yukarı ve aşağıya doğru oklarla sırasıyla gösterilmiştir). Belirtilen reseptörler Tam, Tamoksifen; G-1, GPR30-selektif agonist için gösterilmiştir. Nükleer östrojen reseptörleri klasik olarak gen regülasyonunda aracılık etmekle birlikte kinazlar aracılığı ile hızlı sinyal vermesinde aracılık etmektedir. GPR30 predominant olarak endoplazmik retikulumda bulunmakta, hücre aktivasyonuna aracılık etmektedir. EGFR başlangıçtaki transaktivasyonunda MAPK, PI3K ve diğer bazı hızlı hücresel olayların stimülasyonunda etkilidir. Bu etki, transkripsiyonel aktivasyonun sonucu olabilir (Prossnitz, 2009).

## 1.2. Östrojen reseptörleri

### 1.2.1. Östrojen reseptörlerinin dokulardaki dağılımı

ER $\alpha$  ve ER $\beta$  dokulardaki dağılımı belirgin bir şekilde farklılık göstermektedir. İlk kez sıçan dokularında ER $\alpha$  ve ER $\beta$  mRNA'larının farklı dağılımı gösterilmiştir.

Epididimis, testis, over, böbrek ve adrenal bezlerde ER $\alpha$  mRNA'larının çok fazla miktarda eksprese edildiği saptanmıştır (Kuiper ve ark., 1997, Hejmej ve ark., 2005). Daha az olmakla birlikte prostat bezi, mesane, karaciğer, timusta da ER $\alpha$ 'ların varlığı saptanmıştır. ER $\beta$  mRNA'larının en fazla eksprese edildiği dokular prostat bezi ve overlerdir. Sıçan overlerinde ER $\beta$ 'lar en çok granuloza hücrelerinde, ER $\alpha$  ise tekal ve interstisyel hücrelerde bulunmaktadır. ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'ların dağılımı aynı dokuda gelişim sürecine göre değişiklik göstermektedir. Buna örnek olarak, gelişme sürecinde uterus ve hipofiz bezinde ER $\beta$ 'ların, yetişkinlerin dokularında ise ER $\alpha$ 'nın ekspresyonunun daha fazla olması verilebilir (Hiroi ve ark., 1999, Juengel ve ark., 2006). Kalp dokusunda ER'lerin dağılımı hakkında çelişkili veriler vardır. Yenidoğan neonatal kardiyomyosit hücrelerinin nükleuslarında ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'lerin ekspresyonu, ancak 17 $\beta$ estradiolün ilavesinden sonra saptanmıştır (Grohe ve ark., 1997). Bazı çalışmalarda yetişkin kalpte ER $\beta$ 'nin saptanamamasına karşın diğer çalışmalarda özellikle nükleusta ER $\beta$ 'nin yaygın olarak bulunduğu daha az sayıda çalışmada ise sadece mitokondride bulunduğu bildirilmiştir (Jankowski ve ark., 2001; Savolainen ve ark., 2001; Yang ve ark., 2004). ER reseptörleri, östrojenin non-genomik ve genomik kardiyovasküler etkilerine aracılık ederler. ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'lerin protein ekspresyonlarının genç ve yaşlı sıçanların karotid arterlerinde aynı düzeyde olduğu saptanmıştır. Bununla beraber insan aterosklerotik arterlerinde ER ekspresyonlarının azaldığı gösterilmiştir (Nakamura ve ark., 2003). ER $\alpha$  ve ER $\beta$  düzeyleri, östrojen tarafından farklı olarak düzenlenmektedir. Bununla beraber östrojen tedavisiyle, östrojen reseptörlerinin düzenlenmesi dokuya ve tedavi süresine bağlı olabilir. Koyun endotel hücre kültürlerinde kısa süreli 2 saatlik inkübasyon ER $\alpha$ 'nın downregülasyonuna, 6 saatlik uzun süreli inkübasyon ise ER $\alpha$ 'ların ekspresyonuna neden olmuştur (Ihionkhan ve ark., 2002). Uzun süreli tedavi, ER $\beta$ 'lerin downregülasyonuna neden olmuştur. Serebral kan damarlarında ER $\alpha$  proteinleri fizyolojik düzeyde, 17 $\beta$ estradiol ile uzun süreli *in vivo* tedavisi ile upregüle olmuştur. Kan damarlarında ER $\alpha$  izoformlarının, ovariektomize sıçanlarda, dişi ve ovariektomi ardından östrojen ile tedavi edilen sıçanlara göre ekspresyonunun daha az olduğu görülmüştür (Stirone ve ark., 2003). ER'ler endotel hücrelerinde bulunmaktadır. İnsan aterosklerotik, endoteli hasarlanmış damarlarda 17 $\beta$  estradiol ile ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'nin azaldığı görülmüştür. Ve bu etki venlerde saptanamamıştır (Haas ve ark., 2007).

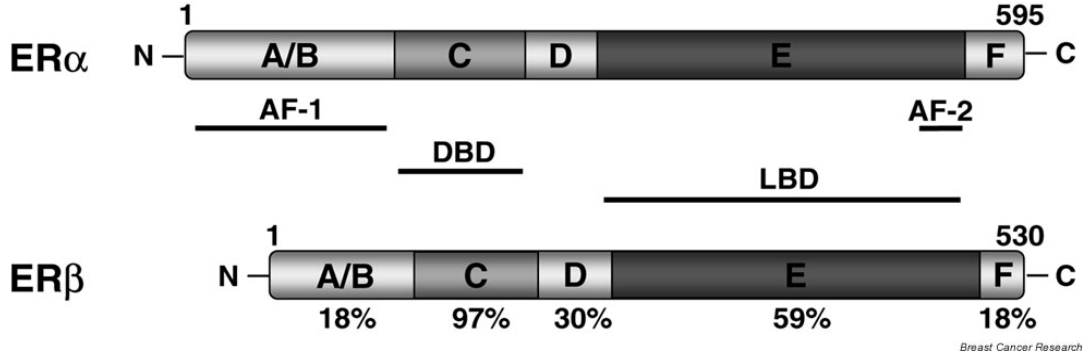
Ovariektomi sonrasında domuz endotel hücrelerinde ER $\alpha$ 'nın up-regüle olduğu ve oral östrojenik ürünler ile tedavi sonrasında downregülasyona uğradığı gösterilmiştir. ER $\beta$ 'larda herhangi bir değişiklik görülmemiştir (Okano ve ark., 2006). Kadınlarda, koroner arter hastalığı gelişimi ER $\alpha$  düzeylerindeki azalma ile birlikte görülmesine karşın pre-ve-postmenopozal kadınlardan alınan koroner arter örneklerinde ER $\alpha$  ekspresyonu daha fazladır (Losordo ve ark., 1994). Kardiyovasküler hastalıklara ER'deki polimorfizmin eşlik ettiği gösterilmiştir. ER $\alpha$ 'daki polimorfizm, erkeklerde sistolik kan basıncında artışa neden olmaktadır. ER $\beta$ 'daki polimorfizm ise hipertansiyonlu kadınlarda sol ventriküler duvarın kalınlaşmasına yol açmaktadır (Ellis ve ark., 2004). ER $\beta$ 'ları çıkarılmış farelerde hipertansiyonun gelişmesi ve vasküler fonksiyonun bozulması bu görüşü desteklemektedir (Zhu ve ark., 2002). Deneysel ve klinik çalışmalarda elde edilen sonuçlar, lipid ve kolesterol düzeylerinin kontrolünde, vasküler hücrelerin fonksiyonunda östrojenin koruyucu rolü olduğunu göstermektedir ve bu rolde ER $\alpha$ 'nın etkisi baskındır. ER $\alpha$  gen polimorfizmi koroner hastalığı olan postmenopozal kadınlarda hormon yerine koyma tedavisi (HYT), YDL düzeylerinin artmasına neden olmaktadır. Buna ek olarak ER $\beta$  gen polimorfizmi olan premenopozal ve postmenopozal kadınlarda HYT, LDL kolesterol düzeylerinin azalmasına neden olmaktadır (Herrington ve ark., 2002)

### 1.2.2. Östrojen reseptörlerinin yapısı

Nükleer reseptörler ligantların bağlandığı (LBD) C-ucu, merkezde ve yüksek ölçüde korunmuş olan DNA-bağlanma bölgesi (DBD) ve N-ucundan oluşan düzenleyici proteinlerdir. Bu farklı bölge içinde en az iki tane transkripsiyon aktivasyonu yapan alt bölge ya da fonksiyonel bölge (AF-s) vardır. AF-1, N-ucunda AF-2 ise ligand bağlanma bölgesi olan LBD de bulunur. Nükleer reseptörlerin LBD ve DBD'leri, yüksek oranda korunan bölgelerken, N-ucu hem uzunluk hem de reseptörün tam transkripsiyonel aktivitesi için önemli olan primer dizilimi açısından çeşitlilik göstermektedir (Mangelsdorf ve ark., 1995; Beato ve ark., 2000; Edwards, 1999; McKenna, O'Malley, 2002; Kumar ve Thompson, 2003). N-ucu değişik protein kinazlar tarafından fosforillenen çeşitli Ser/Thr bölgeleri içermektedir. Fosforilasyonların fizyolojik rolleri çok iyi tanımlanmış olmamasına karşın başka



sinyal ileti yollarıyla etkileştikleri ve AF-1 aktivitesini düzenledikleri öne sürülmektedir (Weigel,1996; Lange ve ark., 2000; Rochette-Egly, 2003).



**Şekil 1.3.** İnsan ER'lerinin şematik diagramı,ERα ve ERβ. İki reseptör de altı fonksiyonel domen içermektedir, DNA- bağlı domen (DBD), ligand-bağlı domen (LBD), ligand- bağımsız fonksiyon aktivasyon AF-1 ve ligand- bağımlı fonksiyon aktivasyon AF-2. İki reseptör arasındaki benzerlik yüzde olarak gösterilmiştir (Shao ve Brown, 2004).

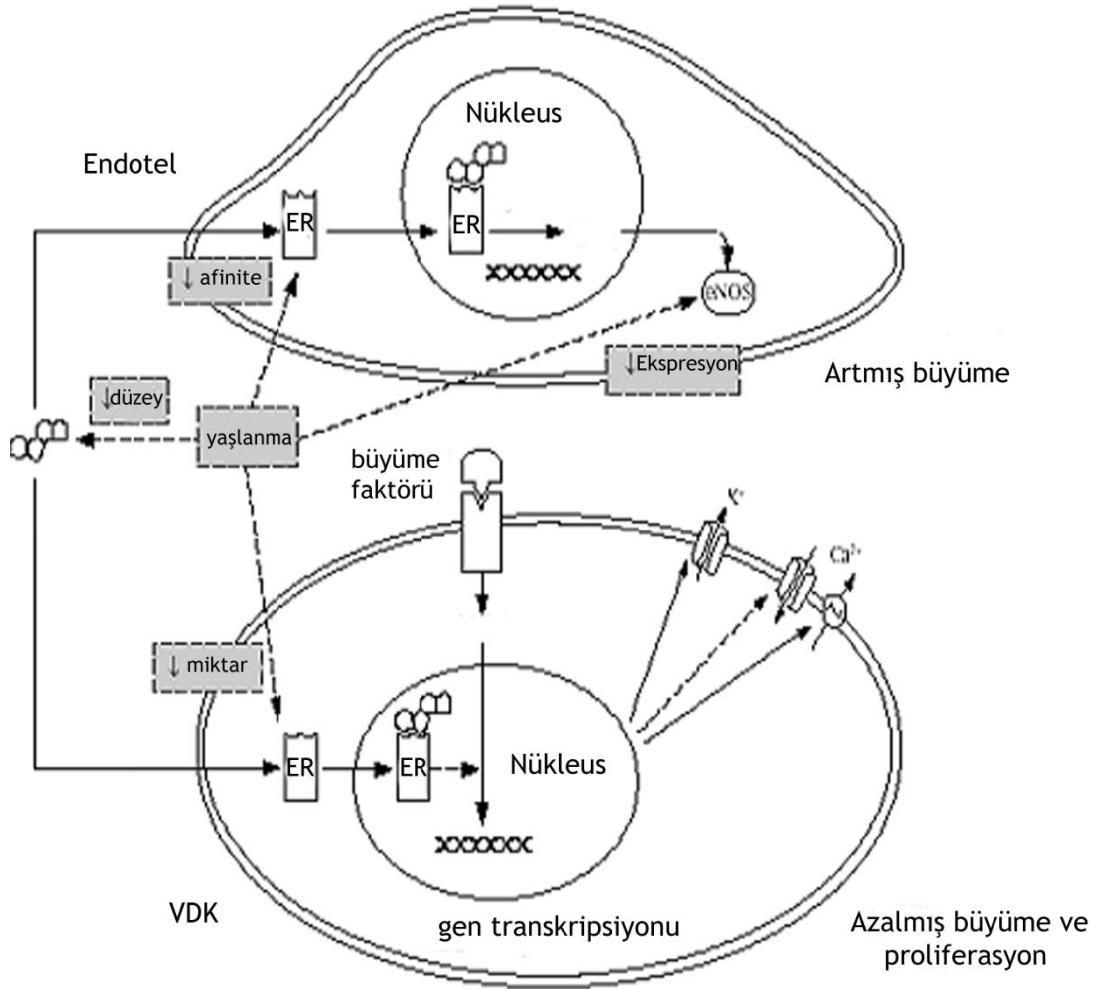
Nükleer reseptörler, karakteristik olarak hedeflenen genin başlangıç bölgesinde bulunan ve cis pozisyonunda aktif olan “hormon duyarlı elementleri” (HRE) tanıyan dizilere-spesifik DNA-bağlayan proteinlerdendir (Freedman, 1992; Glass, 1994, Gronemeyer ve ark., 1995; Khorasanizadeh ve Rastinejad, 2001;). Nükleer reseptörlerin en önemli özelliği, ligand ya da başka sinyallerin aktivasyonlarına yanıt olarak gerçekleşen hedef genlerin ekspresyonlarını kontrol etmektir. Omurgalıların çoğunda ERα ve ERβ olmak üzere iki tip östrojen reseptörü vardır. ER'ler iki farklı gen tarafından kodlanırlar (Kuiper ve ark.,1996;).

Bazı ER'lerin, fizyolojik rolleri tam olarak anlaşılammıştır. İki ER alt tipindeki DBD ve LBD'ler hem aminoasit dizilim düzeyinde hem de yapısal olarak çok iyi korunmuş olmalarına karşın iki reseptör alt tipi arasındaki farklılık çok az homoloji gösteren N-uçlarından kaynaklanmaktadır ( Şekil 1.3). Farmakolojik ligandlar için DNA-bağlama afiniteleri ve seçicilikleri farklı olsa da her iki ER alt tipi de 17βestradiole benzer yanıt vererek aynı hedef DNA dizilerini tanıyarak bağlanırlar. Bilinen hedef dokularda ERα ve ERβ birlikte oluşmasına karşın, bu alt tipler farklı dokularda farklı dağılım ve fonksiyonel olarak farklılık gösterirler. Her iki alt tipin

birlikte bulunduğu yerlerde ER $\alpha$ , ER $\beta$ 'ye göre daha güçlü bir transkripsiyonel aktivasyon oluşturur. ER $\beta$ 'nin, ER $\alpha$ 'nın fonksiyonunu yavaşlatıcı bir rolü olduğu öne sürülmektedir (McInerney ve ark., 1998; Cowley ve Parker, 1999; Weihua ve ark., 2000; Hall ve McDonnell, 1999).

### 1.2.3. ER genomik etki mekanizması ve fonksiyonu

Steroid hormonların gen transkripsiyonuna aracılık ettiği düşünülen temel yolak yoğun olarak araştırılmaktadır. Steroid bağlanması, reseptörlerin hedef hücrelerde protein şaperonların ayrılmasıyla, konformasyonel değişikliklerle, dimerizasyon ve hedef genlerdeki HRE'lere bağlanma yoluyla aktive edilmektedir (Tsai ve O'Malley, 1994; Mangelsdorf ve ark., 1995; Beato ve ark., 2000; Edwards, 1999; McKenna, O'Malley, 2002; Kumar ve Thompson, 2003). Hücre tipine ya da reseptör sınıfına bağlı olarak, apo-reseptörler sitoplazmada ya da bağlanan liganda yanıt olarak hücre çekirdeğine doğru translokasyonda ya da ligandın neden olduğu çekirdek içi yerleşimindeki bir değişiklik sonucu yoğun oranda çekirdekte bulunurlar. Bütün durumlarda steroid hormonun reseptörün hedef genin promoter bölgesine bağlanmasını uyardığı düşünülmektedir. DNA-bağlanmış reseptörler hedef genlerin transkripsiyon hızlarını ko-aktivatör ya da ko-represör proteinler yardımıyla değiştirirler. Ko-aktivatörlerin kendilerinin DNA bağlama aktivitesi yoktur ve reseptör yüzeyindeki AF-1 ve AF-2 ile protein-protein etkileşimlerine neden olarak, kromatinin yeniden yapılanmasını sağlayan enzimatik protein komplekslerini oluşturabilme ya da RNA polimeraz II'nin prosedürünü başlatan kompleksin birleşmesini kolaylaştıran bir protein köprüsü faktörü olabilme fonksiyonları vardır (Şekil 1.4) (Edwards, 1999; McKenna, O'Malley, 2002; Glass ve Rosenfeld, 2000; Feng ve ark., 1998; Heery ve ark., 1997; Steinmetz ve ark., 2001).



**Şekil 1.4.** Seksüel steroidler, hipertansiyon ve yaşlanmadaki vasküler yanıtlar (Qiao X ve ark., 2008). Östrojenin vasküler genomik etkisi. Dişilerde, östrojen sitozolik ve nükleer östrojen reseptörleri endotel hücrelere bağlanırlar. Mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) aktifleşir, gen transkripsiyonunu, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonunu ve endotel hücre büyüme faktörünü stimüle eder. Buna ek olarak östrojen vasküler düz kasındaki sitozolik ve nükleer ER'leri aktive eder, MAPK aktivasyonunu oluşturan büyüme faktörünü inhibe eder. Yaşlı dişilerde, plazma östrojen miktarının ya da ER'lerin afinitesinin azalması endotel hücredeki eNOS ekspresyonunu azaltır, vasküler düz kasın büyümesini tetikler ve kardiyovasküler hastalık riskini artırır.

#### 1.2.4. ER'lerin non-genomik etki mekanizması

ER'lerin plazma membranının lipid ve lipid olmayan farklı yapıları arasında eşit miktarda olduğu öne sürülmektedir (Kim ve ark.,1999). Östrojenin izole edilmiş plazma membranlarında ve kaveola da hızlı bir şekilde eNOS'u aktive edebildiği ve ER'nin hücre çekirdeği ya da sitoplazması olmaksızın östrojenin bu etkisine aracılık ettiği ileri sürülmüştür. Fizyolojik konsantrasyonlarda östrojen doza bağımlı bir şekilde eNOS'u aktive etmektedir. Bu etki ER antagonisti ICI 182780 (ve tamoksifen tarafından bloke (Şekil 1.5) edilebilmektedir.

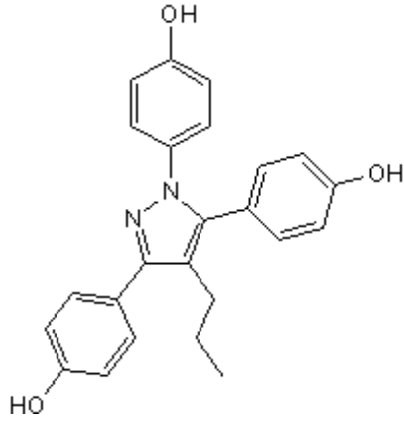
ER ve eNOS'u olmayan (negatif) hücrelerde yapılan deneylerde, eNOS aktivasyonu için ER'lerin bulunması gerektiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra ER'lerin LBD bölgesinin bu etki için gerekli ve yeterli olduğu da gösterilmiştir (Russell ve ark., 2000a; Goetz ve ark., 1999; Kim ve ark.,1999; Simoncini ve ark., 2002; Simoncini ve ark., 2003; Chen ve ark.,1999; Wyckoff ve ark., 2001). Bu sonuçlar, ER'lerde bulunan LBD bölgesinin plazma membran lokalizasyonu ve başka hücre tiplerindeki sinyal yolaklarının aktivasyonuna aracılık eden hızlı östrojen etkisi için gerekli ve yeterli olduğunu gösteren bulgularla uyumludur.

Östrojenin endotel hücrelerindeki eNOS aktivasyonuna ve NO oluşumuna PI-3 kinaz/Akt sinyal yolağı aracılık eder (Clarkson ve ark., 1998; Adams ve ark., 1997, Hodis ve ark., 2001). Fosfotidilinositol-3 kinaz (PI3K), p110 katalitik ve p85 $\alpha$  regülatör alt ünitelerinden oluşan bir kinazdır ve membran lipidlerinden ikincil ulak olan fosfotidilinositol-3-fosfat (IP3)'ı oluşturmaktadır. Çeşitli deneysel uygulamalarda ER $\alpha$ 'nın PIP3K enziminin regülatör alt ünitesi olan p85 $\alpha$ 'e direkt olarak bağlandığı ve agonist bağımlı olarak etki gösterdiği belirlenmiştir. PI3K/Akt sinyal yolağına yönelik olarak yapılan deneylerde de bu etkileşimin PI3K aktivasyonuna neden olduğu ve Ser/Thr kinaz-Akt aracılı olarak eNOS'u fosforileyip aktive ettiği gösterilmiştir. ER $\alpha$  ve p85 $\alpha$  arasındaki etkileşime aracılık eden protein topografyası (yüzey şekli), biçimi ve PI3K aktivasyonuna yol açan mekanizmaları net olarak bilinmemektedir (Simoncini ve ark., 2000; Simoncini ve ark., 2002; Simoncini ve ark., 2003;). Src -/- farelerden elde edilen fibroblastlarda östrojenin eNOS'u aktive

edebilmesinde bozukluk olduğunun gösterilmesi endotel hücrelerin membranlarında reseptör olmayan Src tirozin kinazın ER $\alpha$ /Src/PI3K kompleksinde düzenleyici bir rolü olduğunu göstermiştir. İskemi/ reperfüzyon hasarı oluşturulduktan sonra, farelerden alınan kremaster kasların damarlarından elde edilen endotel hücrelerine doğru olan lökosit adezyonunda azalma gözlenmesi, östrojenin *in vivo* şartlardaki koruyucu etkilerinde eNOS'u PI3K/Akt aracılığıyla uyarmasının rolü olduğu belirlenmiştir. Östrojenin bu etkisinin PI3K ve eNOS inhibitörleriyle geri çevrilebilmesi ve eNOS/-farelerde kendi kontrollerine göre östrojenin lökosit adezyonu üzerinde daha az etkili olması bunu kanıtlamaktadır (Prorock ve ark., 2003).

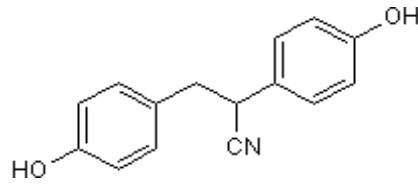
### 1.2.5. Östrojen agonist ve antogonistleri

Bir çok farklı tipte ER antagonistleri bulunmaktadır (Hall ve McDonnel, 2005). Kimyasal yapısı Şekil 1.5'de gösterilen ICI182780 bütün dokularda östrojen etkilerini antagonize etmekte ve her iki östrojen reseptör alt tipine aynı güçte etki göstermektedir. Buna karşın selektif östrojen reseptör modülatörleri (SERMS) dokuya özgü etki göstermekte, doku tipine bağlı olarak ya antagonist ya da agonist olarak etki etmektedir. Buna örnek olarak tamoksifenin östrojen bağımlı meme kanseri tedavisinde kullanılması gösterilebilir. Meme kanser hücrelerinde östrojen reseptör antagonisti olarak etki ederken, kemik yoğunluğunu artırarak kemik dokusunda östrojen agonisti olarak rol oynar (Love ve ark., 1992). Buna karşın 17 $\beta$ -estradiol gibi agonistler, ligand bağlanma domende şekil değiştirerek ko-aktivatör bağlanmasını hızlandırırlar. Buna karşın SERMS'lerin büyük yan zincirleri agonistlerle bağlanmayı engeller. Bu yüzden SERMS'lerin antagonist olarak etki etmesi AF2'nin bloke edilmesine bağlıdır. Bazı dokularda AF1 aktif hale gelerek SERMS'ler agonist olarak etki ederler. Bunlara ek olarak, östrojen reseptör ligandların dokudan dokuya farklı etki göstermesinde ko-aktivatör olarak adlandırılan, ER'lerle etkileşen proteinlerin de rolü vardır (Hall ve McDonnel, 2005).



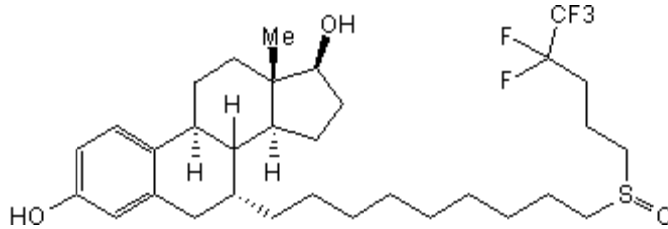
Adı: PPT , ER $\alpha$  agonisti

Kimyasal adı: 4,4',4''-(4-Propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl)trisphenol



Adı: Diarylpropionitrile . DPN, ER $\beta$  agonisti

Kimyasal adı: 2,3-bis(4-Hydroxyphenyl)-propionitrile



Adı: ICI182780 ER antagonisti

Kimyasal adı: 7a,17b-[9-[(4,4,5,5,5-Pentafluoropentyl)sulfinyl]nonyl] estra-1,3,5(10)-triene-3,17-diol

**Şekil 1.5.** Östrojen reseptör agonistleri ve antagonisti

Non-selektif ER agonist 17 $\beta$ -estradiolün yanı sıra sentetik agonistler, 4,4',4''-(4-Propyl-[1H]-pyrazole-1,3,5-triyl)trisphenol (PPT) ve 2,3-bis(4-Hydroxyphenyl)-propionitrile (DPN) geliştirilmiştir. Bu bileşikler ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'nin fonksiyonlarının ve dağılımlarının incelenmesinde önem taşımaktadır. PPT maddesi ER $\alpha$ 'ya bağlanmada 410 kat daha fazla selektivite göstermektedir (Stauffer ve ark., 2000). DPN ise ER $\beta$ 'ye daha fazla selektivite gösterir. Ancak bu selektivite, PPT kadar

yüksek değildir (Meyers ve ark., 2001). Bu selektif agonistleri kullanarak östrojen reseptörlerinin vasküler etkilerini araştıran araştırmalar çok az sayıdadır (Bolego ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda bu agonistlerin nanomolar konsantrasyonda kullanılması gerçekten selektif olduklarını göstermektedir (Harrington ve ark., 2003). Sadece selektif ER $\alpha$  agonist PPT, akut NO bağımlı vazodilatasyon meydana getirmiştir. Benzer olarak dişi fare mezenterik arterlerinde PPT gevşemeyi arttırmasına karşın, erkek mezenter arterlerde bir etki görülmemiştir (Douglas ve ark., 2008). Bu çalışmalar vasküler fonksiyonda östrojenin etkilerinde esas etkinin ER $\alpha$  aracılığı olduğunu göstermektedir. Ancak östrojenin vasküler etkilerinin detaylıca incelenmesi için ER alt tipleri ile ilgili daha fazla sayıda araştırma yapılması gerekmektedir.

Ovariektomili rodentlerde, koroner ve serebral damar yataklarında, aortada kronik östrojenin varlığında, endojen ya da östrojen yerine koyma tedavisi, endotel bağımlı olarak vasküler tonusta azalmaya neden olmuştur. Bu azalmanın östrojenin endotel NO sentaz düzeylerini genomik olarak arttırması ve bunun sonucunda NO üretiminin artmasından kaynaklandığı gösterilmiştir. Aynı zamanda NO yapımının artışına bağlı olarak östrojenin akut etkilerinin önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir (Stirone ve ark., 2005; McNeill ve ark., 1999). Östrojenin vasküler reaktivite ve eNOS düzeylerini arttırıcı etkisi, ER $\alpha$  çıkarılmış farelerde olmaması östrojenin bu etkilerine büyük ölçüde ER $\alpha$ 'nın aracılık ettiğini göstermektedir (Witter ve ark., 2003). Benzer bulgular çizgili kas arteriollerinde de gösterilmiştir. Akımla indüklenen vazodilatasyon dişi ratlarda erkek ratlara oranla daha fazla oluşmuş ve ovariektomili sıçanlarda östrojen tedavisi ile artmıştır. Östrojenin bu etkisinin, endotel NO salımını artmasına bağlı olduğu deneysel olarak gösterilmiştir.

Östrojenin vasküler reaktivite üzerindeki en önemli etkisi endotel fonksiyona direkt olarak aracılık etmesidir. Ancak yapılan çalışmaların çoğu yüksek konsantrasyonlardaki östrojenlerle yapıldığı için fizyolojik olmayan etkilerini göstermektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalar, endotel nitrik oksik sentaz bağımlı mekanizma ile vazodilatasyonu arttırdığını açıkça göstermiştir. Östrojenin plazma NO konsantrasyonlarında artışa neden olduğu, östrojen tedavisinden sonra reaktif pipereminin artması ve benzer etkilerin menstrual siklus sırasında görülmesi bu

etkilerin östrojenik etki olduğunu doğrulamaktadır. Postmenopozal kadınlara uygulanan akut östrojen ve kronik östrojen tedavilerinin akış aracılı vazodilatasyonu arttırdığı, fakat bu artışın postmenopozal dönemin ilk beş yılındaki kadınlarda daha fazla olduğu gösterilmiştir (Vitale ve ark., 2008; Sherwood ve ark., 2007). Buna ek olarak önceden östrojen tedavisi alan ve postmenopozal dönemi 5 yıldan fazla olan kadınlarda östrojen tedavisinin, vazodilatasyonu, östrojen tedavisi almayan kadınlara oranla daha fazla arttırdığı saptanmıştır. Bu bulgular endotel bağımlı NO salınımında östrojene gereksinim olduğunu göstermektedir (Vitale ve ark., 2008).

Sinyal yolları üzerindeki etkilere, steroid reseptörlerin veya başka membran reseptörlerinden hangilerinin aracılık ettiğini açığa çıkarmak için ER genleri çıkarılmış fareler kullanılmaktadır. ER $\alpha$  ve ER $\beta$ 'leri çıkarılmış fareler, östrojenin damar dokusundaki akut koruyucu etkilerini araştırmak için kullanılmaktadır. Ne var ki, bu farelerden alınan sonuçların, farklı bir model olan ERKO<sub>CH</sub> Chapel Hill farelerden (ER $\alpha$ 'ları çıkarılmış) elde edilen sonuçlarla paralel olmaması bu farelerde tam ER $\alpha$ 'ların çıkarılmamasından kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. ERKO<sub>CH</sub>'ler N-ucundaki AF-1 bölgesi olmayan ancak DBD ve LBD (Şekil 1.3) bölgelerine sahip ER $\alpha$  taşıyan özel farelerdir. Transfeksiyon deneylerinde östrojen aracılı kan damarlarında NO oluşumuna ER $\alpha$ 'nın bu özel formunun aracılık ettiği gösterilmiştir (Pendaries, ve ark., 2002). ERKO<sub>CH</sub> farelerde östrojenin üreme ve uterus üzerindeki etkilerinin büyük bölümü ortadan kaybolurken damar hasarlanmaları üzerindeki etkileri ise kısmen korunmuştur. Karotit arter hasarı oluşturulmuş farelerde östrojenin damar düz kas hücrelerinin kalınlaşmasını ve çoğalmasını inhibe ettiği ve endotelin yeniden oluşumunu uyardığı gösterilmiştir. ERKO<sub>CH</sub> farelerde östrojenin damarın yeniden yapılanması üzerindeki inhibitör etkisi ortadan kaybolurken damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki etkileri ise korunmaktadır (Pendaries ve ark., 2002). Bu sonuçlar ER $\beta$ 'lerin östrojenin damar hasarlanması üzerindeki koruyucu etkilerine aracılık ettiğini göstermektedir. Östrojenin, ER $\beta$ 'ları tamamen çıkarılmış farelerde ve kontrol farelerde karotit hasarlanması üzerinde benzer etkiler oluşturmasına karşın, ERKO<sub>CH</sub> ve ER $\beta$ 'ları birlikte çıkarılmış farelerin, ERKO<sub>CH</sub> farelerdekine benzer fenotipte olmaları bu sonuçlarla çelişkilidir. ER $\alpha$ 'ları tamamen çıkarılmış ERKO<sub>ST</sub> farelerde oluşturulan karotit hasarlanmasında östrojenin hem damar yapılanması üzerindeki hem de



damar düz kas hücrelerinin proliferasyonu üzerindeki inhibitör etkileri tamamen ortadan kaybolmuştur (Pare ve ark., 2002). Sonuç olarak östrojenin damar hasarlanmasındaki koruyucu etkisine ER $\alpha$ 'ların tek başlarına aracılık ettiği gösterilmektedir. Ancak östrojen ER $\beta$ 'leri çıkarılmış fareler, vasküler damar düz kas hücrelerinin vazokonstriksiyonunu azaltıcı bir fenotip oluşturur (Zhu ve ark., 2002b; Abraham ve ark., 2003). Östrojenin ER $\beta$ 'ler aracılı olarak oluşan hızlı etkisine sinyal yolaklardaki değişikliklerden veya genomik etkilerden hangilerinin aracılık ettiği bilinmemektedir. Endotel hücre kültürlerindeki ER $\beta$ 'ların, östrojenin eNOS aktivasyonu aracılı gerçekleşen genomik olmayan hızlı etkilerine aracılık edebildiği ve ER $\alpha$ 'lar gibi ER $\beta$ 'ların da plazma membranından izole edilen kaveolada bulunduğu ve östrojenin eNOS'u aktive etmesine destek olduğu gösterilmiştir (Chambliss ve ark., 2002). ER $\beta$ 'ların eNOS aktivasyonuna aracılık eden destek mekanizması henüz karakterize edilmemiştir. ER $\beta$ 'nin, PI3K/Akt sinyal yolağını aktive eden PI3K'in alt ünitesi p85  $\alpha$ 'ya bağlanamaması östrojenin eNOS aktivasyonuna ikinci bir yol olan MAP kinaz sinyal yolağının aracılık ettiğini göstermektedir. ER alt tiplerinin ve östrojenin vasküler dokudaki koruyucu etkisinin tam olarak belirlenebilmesi için daha fazla çalışma gerekmektedir (Park ve ark 2010).

Östrojenin membrandaki ER $\alpha$  aracılığıyla endotel hücre fonksiyonlarına MAP kinaz yolaklarının aracılık ettiği anlaşılmıştır. Endotel hücre kültürlerinde östrojenin MAP kinaz ailesinin antiapoptotik bir üyesi olan p38 $\beta$ 'i hızlı bir şekilde aktive ettiği gösterilmiştir. Östrojenin p38 $\beta$  MAP kinazı aktive etmesi ile, MAPKAP-2 kinaz ve hsp27'yi uyararak hücreleri, hipoksinin neden olduğu apoptozise karşı korumuş olur ve metabolik stresle uyarılan aktin iskelet ağının bütünlüğünü devam ettirir (Razandi ve ark., 2000).

### 1.2.6. Östrojenin vasküler etkileri

HYT, vasküler ER'lerin bağlanma özellikleri ve sayısını etkilediği gibi, ER'lerin post-reseptör sinyal mekanizmalarını da değiştirmektedir. Menopozda, ER'lerin sinyal mekanizmasında değişiklikler meydana gelmekte ve bu değişiklikler östrojen ER

etkileşimini etkileyerek östrojenin vasküler etkilerini önlemektedir. Deneysel çalışmalar östrojenin vasküler fonksiyonunda cinseyete bağlı farklılıkların olduğunu göstermektedir. Erkek sıçanlarda, dişi sıçanlara göre daha fazla vazokonstriksiyon görülmesi bu görüşü desteklemektedir. Vazokonstriksiyon, ovariektomize sıçanlarda dişi sıçanlara oranla daha yüksektir, ovariektomize sıçanlara östrojen yerine koyma tedavisi ise vasküler kontraksiyon düzeylerini, dişi sıçanlar düzeyine düşürmesi nedeniyle vasküler fonksiyonda östrojenin direkt etkisi olabileceği düşündürmektedir (Orshal ve Khalil, 2004).

Östrojen vasküler etkilerini genomik ve non-genomik olarak oluşturmaktadır. 17 $\beta$ -estradiol (E2) endotel hücrelerdeki sitozolik-nükleer ER'leri aktive ederek MAPK'nin fosforilasyonuna ve aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu aktivasyon genomik etkileri başlatarak endotel hücrelerde büyüme ve proliferasyonu stimüle etmektedir. Buna karşın E2 vasküler düz kas hücrelerinde MAPK aktivitesini inhibe etmekte ve bu hücrelerin büyümesini ve proliferasyonu azaltmaktadır ( Barchiesi F ve ark., 2002) (Şekil 1.4). E2 aynı zamanda endotel ve vasküler düz kas hücre membranındaki ER'leri aktive ederek non-genomik etkilerin başlamasına neden olmakta ve vazodilatasyon meydana gelmektedir (Crews ve Khalil, 1999).

#### **1.2.6.1. Östrojenin endotel üzerindeki etkileri**

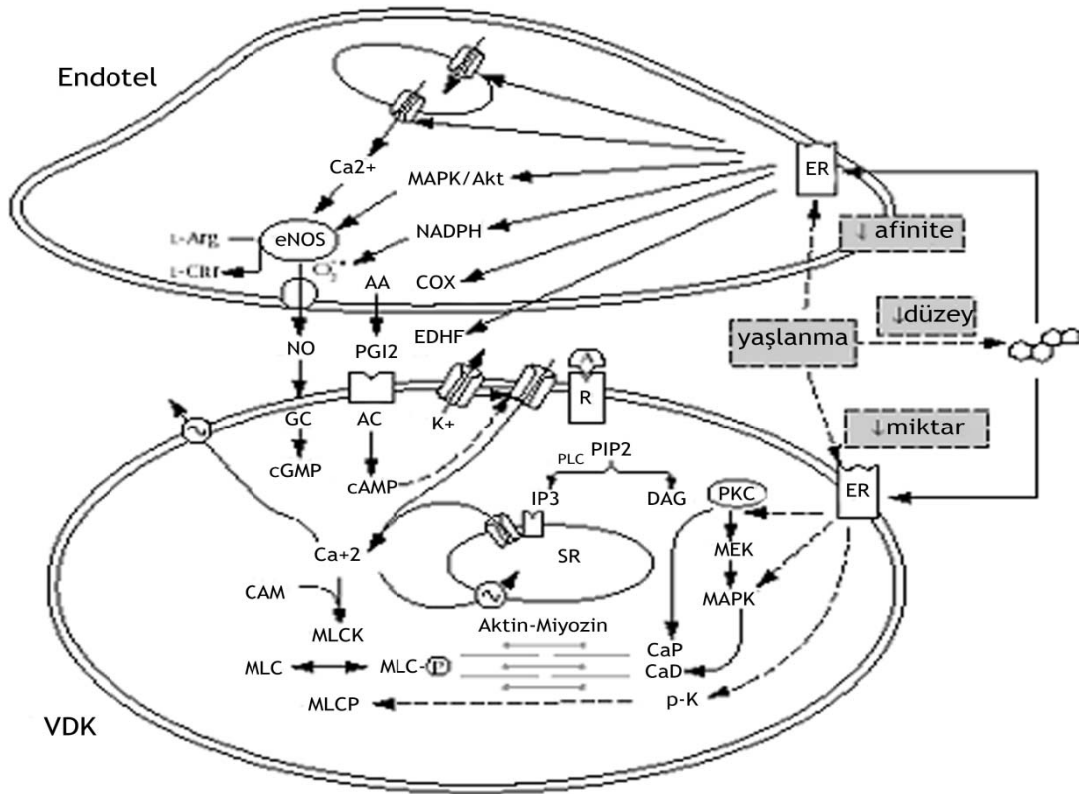
E2 bağımlı vazodilatasyonun büyük bir kısmına endotel aracılık etmektedir. E2 postmenopozal kadınların brakial arterlerinde akım aracılığı vazodilatasyonu stimüle etmektedir (Bolego ve ark 2005). Spontan hipertansif dişi sıçanlarda (SHR) endotel bağımlı vasküler gevşemeler, erkek sıçanlara oranla daha yüksektir (Santos ve ark., 2010). Non-genomik vazodilatasyon olmak üzere östrojenin vasküler koruyucu etkileri, ER $\alpha$  aracılığıyla meydana gelmektedir (Luksha ve ark., 2005). Östrojen tedavisi aortadaki bazal nitrik oksit üretiminin artışına neden olmakta ve sadece fonksiyonel ER $\alpha$ 'ların ekspresyonunda artışa neden olmaktadır (Darblade ve ark., 2002). ER $\beta$ 'ların çıkarıldığı farelerde E2 bağımlı vasküler gevşeme daha fazladır. Buna ek olarak selektif ER $\alpha$  agonistleri, SHR ovariektomili sıçanlarda endotel disfonksiyonunu düzeltmektedir (Widder ve ark., 2003, Pelzer ve ark.,

2005.). ER $\beta$ 'ların endotel hücre kaveolalarında non-genomik etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Chambliss ve ark., 2002). Östrojenin neden olduğu endotel bağımlı vasküler etkiler NO, prostasiklin, hiperpolarize edici faktörler gibi gevşetici faktörlerde, bununla beraber endotelin gibi konstriktör faktörlerin sentezi/ salgılanması/ biyoaktivitesinde değişikliklere neden olur.

Premenopozal kadınlarda erkeklere oranla toplam NO üretiminin daha fazla olduğu görülmüştür. Benzer şekildeki sonuçlar, deneysel hayvanlarda da gösterilmiştir. Östrojenin neden olduğu NO üretimi, kısmen ER aracılı genomik yolağın aktivasyonunda endotel nitrik oksit sentazın (eNOS) up-regülasyonundan kaynaklanmaktadır(Duckles ve Miller 2010). ER $\alpha$  geni endotel hücrelerine transfer edildiğinde eNOS gen ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Tan ve ark., 1999). Endotel hücrelerinde E2, ER'lerine bağlanması hücre içi [Ca<sup>2+</sup>]'nın, eNOS aktivitesine, NO salgılanmasının artmasına neden olmaktadır. E2'nin neden olduğu [Ca<sup>2+</sup>]'nin artışı eNOS'un plazma membranında nükleusun yakınındaki hücre içi bölgelerinde geçici translokasyonuna neden olmaktadır. Uzun süreli E2 tedavisi ise eNOS'un plazma membranına geri dönmesini sağlamaktadır. E2 aynı zamanda MAPK (ERK/2) ve PI<sub>3</sub>-kinaz-Akt yolağının (Şekil 1.6) aktivasyonuna yol açar, bu ise eNOS'un fosforilasyonunu ve aktivasyonunu tetiklemektedir (Haynes ve ark., 2000).

Östrojen antioksidant özellik taşır, bu özellik NO biyoyararlanımının artmasına neden olmaktadır. E2'nin antioksidant etkisi NADPH oksidaz enziminin ekspresyonunun inhibe edilmesine, süperoksit, peroksinitrit ve peroksit gibi serbest radikallerin oluşumunun azalmasına neden olmaktadır. Bu yüzden östrojen eksikliği NO biyoyararlanımını azaltmakta ve kan basıncındaki artışa yol açmaktadır. Ovariectomili sıçanlarla yapılan çalışmalarda, kan basıncındaki artışa, plazma antioksidant düzeylerindeki azalma ve plazma lipoperoksitler ve vasküler serbest radikallerin artışının eşlik ettiği görülmüştür. Bu etkiler E2 yerine koyma tedavisi ile önlenmiştir. Erkek sıçanlardaki süperoksit düzeylerinin dişi sıçanlarla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunun saptanması östrojenin antioksidant etkilerinin başka bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Soylemez ve ark, 2008). Prostaglandin (PGI<sub>2</sub>) endotelden salınan bir vazodilatator maddedir ve araşidonik asidin siklooksijenazlar (COX) tarafından yıkılmasıyla meydana gelmektedir.

İndometazin güçlü bir COX inhibitörüdür, endotel bağımlı vazodilatasyonun azalmasına neden olmaktadır. İndometazin duyarlı vasküler gevşeme yanıtları cinsiyete bağlı olarak farklılık göstermektedir ve bu farklılığın değişik COX ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmektedir. Endotel hücrelerinde östrojen COX<sub>1</sub> ekspresyonunun up-regülasyonuna neden olmakta ve prostasiklin sentezinin artışına neden olmaktadır (Egan ve ark., 2004). Östrojen aynı zamanda sadece ERβ'ları çıkarılmış farelerde COX<sub>2</sub> kaynaklı prostasiklin metabolitlerinin idrarla atılımını arttırmıştır. E2 aracılı vazodilatasyon, endotel hiperpolarize faktör salgılanmasıyla da oluşabilmektedir. Mezenterik arterde, K<sup>+</sup> kanal blokerleri ile ortadan kalkan etkili hiperpolarizasyon ve gevşeme, dişi sıçanlarda daha fazla elde edilmektedir. Bunun ötesinde ACh ile oluşan hiperpolarizasyon yanıtı, ovariektomize hayvanlarda E2 yerine koyma tedavisi ile geri dönmektedir. Bu da E2 azalması, hiperpolarize faktörünün, vasküler gevşeme etkisinin E2 yetmezliği ile zayıfladığını göstermektedir. Buna ek olarak E2, insanlarda endotel hücredeki ekspresyonunu değiştirmekte ve endotel hücreler tarafından TNF-α, TGF-β1, anjiyotensin II etkisi sonucu endotelin1 (ET-1) sentezini inhibe etmektedir. SHR dişi sıçanlarda erkeklere oranla endotel hücrelerinde daha az miktarda ET1 salgılanmaktadır. ET-1 endotel ET1 reseptörlerini aktive ederek gevşetici faktörlerin salınımını stimule ederek vazodilatasyona neden olmaktadır(Liu ve ark 2002). ET-1 vasküler düz kas hücrelerindeki ET<sub>a</sub> ve ET<sub>b</sub> reseptörlerini stimule ederek vazokonstriksiyon oluşturmaktadır. Deoksikortikosteroid asetat (DOCA) tuzu, hipertansif sıçanlarda ET-1 mesenterik arterlerde erkek sıçanlarda dişilere oranla daha fazla vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Ovariektomili dişi sıçanların mezenterik arterlerinde ET-1 ve ET<sub>b</sub> reseptörlerin mRNA ekspresyonunda artış saptanmıştır. Ve E2 tedavisi ile bu etki geri çevrilmiştir. Buna ek olarak ET<sub>b</sub> agonisti IRL-1620, ovariektomili sıçanlarda, intakt ve östrojen tedavisi yapılmış ovariektomili sıçanlara oranla mezenterik arterlerde daha fazla vazokonstriksiyona neden olmuştur. DOCA tuzunun, hipertansif sıçanlarda östrojenin ET-1 ve ET<sub>b</sub> ekspresyonuna ve bu reseptörlerin oluşturduğu vasküler yanıtların azalmasına neden gösterilmiştir (David ve ark., 2001; Dubei ve ark., 2001). Bu etkinin bir bölümü L-tipi kalsiyum kanallarının ve hücre içindeki serbest kalsiyumun düzenlenmesine bağlıdır (Barbagallo ve ark., 2001; Minshall ve ark., 2002; Townsend ve ark., 2010).



**Şekil 1.6.** Östrojenin vasküler non-genomik etkileri (Qiao ve ark., 2008). Yetişkin dişilerde, östrojen endotel hücrelerdeki östrojen reseptör (ER'ler) membran yüzeyine bağlanarak  $Ca^{2+}$ 'ın endoplazmatik retikulumdan salınımını, mitojen aktive edici protein kinaz (MAPK)/Akt yolağını, endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) aktivitesini ve nitrik oksit (NO) üretimini stimule etmektedir. NO guanilat siklazı (GC) aktive eder ve siklik guanozin monofosfatı artırır (cGMP) bu da  $Ca^{2+}$ 'ın inhibisyonu ile  $Ca^{2+}$ 'ın ekstrüzyonunun artmasına, vasküler düz kasın (VDK) gevşemesine neden olmaktadır. Nikotinamid dinukleotid adenin fosfat (NADPH), super oksit ( $O_2^-$ )'lerin üretiminin azalması ve NO biyoyaktivitesinin artması östrojenin antioksidant etkisi sonucudur. Buna ek olarak östrojen siklooksijenazları aktive eder (COX<sub>s</sub>) ve prostasiklin ( $PGI_2$ ) üretimini artırır ve sırası ile adenil siklaz aktive olur (AC) ve siklik adenosin monofosfat artar (cAMP) ve cGMP'e benzeyen mekanizma aracılığı ile VDK relaksasyonu gerçekleşir. ER'ler endotel aracılı hiperpolarize edici faktör (EDHF) salınımını artırır,  $K^+$  kanallarını aktive eder ve  $Ca^{2+}$  kanalları aracılığı ile  $Ca^{2+}$ 'ın girişini inhibe eder. Östrojen VDK'daki ER'lere bağlanarak hücre içi serbest  $Ca^{2+}$  [ $Ca^{2+}$ ]<sub>i</sub> azaltır,  $Ca^{2+}$  bağımlı miyozin hafif zincir fosforilasyonunu ve VDK kontraksiyonunu inhibe eder. Buna ek olarak östrojen MAPK, protein kinaz C (PKC),  $\alpha$ -kinazı ( $\gamma$ -K) inhibe eder, bunun sonucu,  $Ca^{2+}$  miyofilament duyarlı gücünün azalmasıdır. Yaşlanmış dişilerde plazma östrojeninin azalması, endotel ve VDK ER'lerinin afinitesinin azalması vasküler relaksasyonun azalmasına ve konstriksiyonu tetiklemesine, sonuç olarak da kardiyovasküler hastalık riskinin artmasına neden olur. Kesikli oklar inhibisyonu işaretlemektedir. L-arg=L-arjinin; L-Citr=L-Citrulin; AA=araşidonik asit; A=agonist; R=reseptör, PLC=fosfolipaz C;  $PIP_2$ =fosfotidilinositol 4,5 bifosfat;  $IP_3$ =inositol 1,4,5-trifosfat; DAG=diasilgliserol; MEK=MAPKkinaz; SR=sarkoplazmik retikulum; CAM=kalmodulin; MLCK=MLCKinaz; CaP=kalponin; MLC-P= fosforillenmiş MLC; CaD=kaldesmon; MLCP=MLC fosfataz

### 1.2.7. Östrojenin vasküler düz kas üzerindeki etkileri

Kadınlarda vazokonstriksiyonun erkeklere göre daha düşük olmasının nedeni, kısmen plazma östrojen düzeylerinin daha yüksek olmasıyla ilişkilidir. Ayrıca ER miktarlarının kadın arterlerinde daha fazla, vasküler anjiotensin 1 reseptör mRNA proteinlerinin daha az sayıda olmasından ve reseptör aktivasyonundan sonrasındaki kontraksiyon sinyal yolağında farklı olmasından kaynaklanabilmektedir (Brosnihan ve ark., 2008). Vasküler düz kas kasılmasında  $[Ca^{2+}]$ 'nda artış, kalsiyum bağımlı miyozin hafif zincir fosforilasyonu ile tetiklenir ve Rho-kinaz, MAPK, protein kinaz C aktivasyonu ile artmaktadır. Düz kas hücrelerinde, fenilefrin (Phe),  $[Ca^{2+}]$ 'un başlangıçta intrasellüler depolardan çıkmasını ve ekstrasellüler ortamdan  $[Ca^{2+}]$ 'un hücre içine girmesine neden olmaktadır. Fenilefrinin sebep olduğu düz kas kontraksiyonunda gonadoektomize erkek sıçanlar ile dişi sıçanlar arasında fark olmaması, buna bağlı olarak düz kas kontraksiyonunda  $[Ca^{2+}]$  salgılanma mekanizması arasında cinsiyet farkı olmadığını göstermektedir (Crews ve Khalil, 1999). Buna ek olarak bazal fenilefrin aracılığıyla sağlanan  $[Ca^{2+}]$ , ovariektomili sıçanlara oranla intakt dişi sıçanlarda daha fazladır ve bu fark östrojen tedavisi görmüş ovariektomili sıçanlarda ortadan kalkmaktadır (Simonicini ve ark., 2002). Bu da, büyük olasılıkla östrojenin düz kas  $Ca^{2+}$  kanallarının plazma membranının yoğunluğuna/ geçirgenliğine etki etmesine bağlıdır.  $E_2$ ,  $K^+$  kanallarının aktivasyonunu ve hiperpolarizasyonunu etkileyen  $Ca^{2+}$ 'un, voltaj bağımlı kanallardan girmesini azaltmakta ya da direkt olarak  $Ca^{2+}$  kanalları üzerinde etki etmektedir (Ma ve ark., 2010). Buna ek olarak östrojen,  $[Ca^{2+}]$  seviyesini  $Ca^{2+}$ 'un plazmalemmal  $Ca^{2+}$  pompasıyla dışarıya pompalanmasını azaltabilir (Okabe ve ark., 1999).

RhoA ve onların downstream efektörü Rho-kinaz, düz kas kontraksiyonunu artırabilmektedir. Buna ek olarak Rho-kinaz, düz kas hücrelerinin migrasyonunu ve proliferasyonunu stimüle edebilmektedir (Nuno ve ark., 2007). Bazı deneylerde, Rho-kinaz inhibitörü Y27632'nin, erkek sıçanlarda dişilere göre, aynı şekilde ovariektomili sıçanlarda, intakt dişi sıçanlara göre ve ovariektomili sıçanlarda, HYT alan sıçanlara göre daha fazla gevşettiğini göstermişlerdir. Bu da, östrojenin Rho-kinazların vasküler fonksiyonu üzerinde kadınlarda baskılayıcı bir rolü olduğunu göstermektedir. PKC'nin düz kas damarlarda ekspresyonu/aktivitesi üzerindeki

vasküler kontraksiyon değişikliklerinde, cinsiyetin katkısı olabileceği gösterilmektedir. Forbol esterleri erkek sıçanlarda dişilere oranla daha fazla kasılma oluşturmaktadır. Buna ek olarak  $\alpha$  ve  $\gamma$ -PKC lerin erkek düz kas damarlarında dişilere göre daha fazla bulunduğu ve daha fazla vasküler kontraksiyona neden olduğu saptanmıştır (Sovershayev ve ark., 2006).

### 1.2.8. Östrojenin vasküler inflamasyon üzerindeki etkisi

Östrojen, vasküler inflamasyonu kontrol ederek vasküler hastalıkların prognozunu değiştirebilmektedir. Östrojen, ovariectomili sıçanlarda inflamasyonla ilişkili genin vasküler ekspresyonunu, aorta segmentinde endotelde monosit adezyonunu azaltmaktadır (Gao H ve ark., 2006). Buna ek olarak E2, ER $\alpha$  aracılığıyla interferon- $\gamma$ 'ı (IFN- $\gamma$ ) bloke ederek CD40 ve CD40L proteinlerinin eksprese edilmesini ve domuz aort endotel hücrelerinde adezyonu önlemektedir (Gerald P ve ark., 2006). Bazı çalışmalarda ovariectomili yaşlı dişi sıçanlarda östrojen ile tedavi edilmiş sıçanlara göre TNF $\alpha$ 'nın düzeyinin ve fenilefrinle oluşan mezenterik arterin duyarlılığının arttığı gözlenmiştir. Buna ek olarak TNF- $\alpha$  antagonisti etanersept ya da E2 uygulandığında anjiotensin-II, anjiotensin dönüştürücü enzim ve AT1 reseptörlerinin vasküler ekspresyonu azalmaktadır. Bu da, TNF- $\alpha$ 'nın östrojen eksikliğinde up-regüle olduğunu ve vasküler anjiotensin-II sistemini etkileyerek vazokonstriksiyonu artırdığını göstermektedir (Arenas ve ark., 2006). Ancak östrojenin farklı türevleri inflamatuvar prosese farklı şekilde etki etmektedir. Başka bir çalışma da E2'nin inflamatuvar bağışıklık yönündeki yanıtını Th1'i ve beraberindeki IFN- $\gamma$  üretimini artırarak tetikleyebileceği, bunun da aterom plaklarının stabilitesini bozabileceği ve HYT ile kardiyovasküler hasarların artmasında önemli bir rolü olabileceği ileri sürülmüştür (Simonicini ve ark.,2003).

### 1.3. Menopoz

Menopoz, kadınlarda üreme sisteminde yaşlanma ile mensturasyonun artık görülmediği, geri dönüşümsüz fizyolojik bir süreçtir. Klimakterik ise menopozun başlangıcından, menopoz oluştuktan sonraki 1 seneyi de kapsayan dönemdir. Bu

dönem premenopozal, menopozal, postmenopozal dönem olmak üzere üç ayrı döneme ayrılabilir. Premenopozal dönem, menopozdan 5-10 yıl önce vazomotor semptomlar ve düzensiz menstruasyonla kendini göstermektedir. Menopoz, son menstrasyondan sonraki 12 ayı kapsamaktadır ve vazomotor semptomlar devam etmektedir, vajinal kuruluk ve dispronia gibi ürogenital semptomlar meydana gelmektedir (Indhavivadhana ve ark., 2010). Günümüzde yaşam süresinin uzamasına bağlı olarak kadınlar hayatlarının büyük bir kısmını (yaklaşık 1/3) menopozal dönemde yani hipoöstrojenik olarak sürdürmektedirler. Menopoz girme yaşı ortalama olarak 50-51 yaşlarıdır. Menopoz giriş belirtileri ise 45 ve 47 yaşlar arasında görülmektedir. Menopoz giriş yaşı sigara içme, histerektomi, otoimmün hastalıklar, yüksek yerlerde yaşama, kemoterapi ve radyasyon tedavisi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak düşmektedir (Sowers ve ark., 2010).

### **1.3.1. Menopozun klinik etkileri**

Menopoz overlerin gonadotropin stimülasyonuna duyarlılığının kaybolmasının ardından foliküler fonksiyonun bozulması ve azalmasıyla ilişkili bir sonuçtur. Overdeki oositler kadınların yaşamı boyunca atreziye uğramaktadır. Foliküller hem yapısal hem de sayısal olarak menaştan 20-25 yıl sonra önemli bir azalmaya uğramaktadırlar. Bu olay premenopoz döneminde menstrual siklus uzunluğunun anovulasyon, foliküllerin düzensiz olgunlaşmasına bağlı olarak değişmesine neden olmaktadır. Bu süreçte, hormonal değişiklik bütün düzensiz kanamaların sebebi değildir. Pelvik patolojileri (uterus polipi, fibroidi, endometriyal hiperplazi, endometriyal kanser) bu dönemde baskın olarak görülen olaylardır, bu yüzden endometriyal örnekler alınarak bu olasılıkların olup olmadığı araştırılmalıdır (Mossa ve ark., 2010).

50 yaş kadınlar menopoz dönemine yakın oldukları için, hamilelik olasılığını gözardı etmektedirler. Ancak fertilité azalmasına karşın gebelik hala görülebilmekte ve 40-44 yaşlarındaki kadınlarda istenmeyen gebelik oranının oldukça yüksek olduğu gösterilmektedir. Bu yüzden bu yaş grubu kadınların kontraseptif yöntemleri kullanmaya devam etmesi gerekmektedir (Orshal ve Khalil, 2004).



Pelvik patolojisi olmayan ve ovulasyonu devam eden premenopozal süreçteki kadınlarda menstrual siklus süresinin kısalması en sık rastlanan değişikliktir. Menstrual siklusün foliküler fazı fonksiyonel foliküllerinin sayısının azalmasına bağlı olarak kısalmaktadır. Menstrual siklusün FSH'un stimüle ettiği, siklusun ilk döneminde folikül sayısı azaldığı için bu süre kısalmakta, buna karşın ovulasyon meydana geldikten sonra luteal faz 14 gün olarak sabit kalmaktadır (Kaas ve ark., 2010).

Daha sonra foliküller gonadotropin stimülasyonuna daha dirençli hale geldiklerinde FSH ve LH düzeyleri yükselmektedir. Sonrasında overlerde stromal stimülasyon oluşmakta, estron düzeylerinde artış, estradiol düzeylerinde azalma meydana gelmektedir. İnhibin düzeyleri de yükselen FSH düzeylerine bağlı olarak negatif geri bildirim mekanizması ile azalmaktadır, bunun sonucunda menopoz döneminde foliküllerin fonksiyonel kaybı ve plazma östrojen düzeylerinde dramatik azalma görülmektedir. Postmenopozal dönemde plazma östrojenin kaynağı over stroması ve androstenodionun adrenal bezlerden sekresyonudur ve bu periferik dolaşımda estrona dönüştürülmektedir. Menopozda testosteron düzeylerinde de azalma görülmektedir ancak bu azalma  $17\beta$ -estradiolde görülen azalma gibi değildir. Premenopozal ve menopozal kadınlarda uzun süreli östrojen salgılanması endometriyal kanserin bir öncüsü olan endometriyal hiperplaziye neden olmaktadır (Kayaalp 2009).

Androjenlerden östrojenlerin sentezlenmesi, yağ dokusu, kas, karaciğer, kemik, kemik iliği, fibroblast, kıl kökü gibi çeşitli dokularda meydana gelmektedir. Androjenlerden östrojenlerin dönüşümü adipoz dokuda meydana gelmektedir. Bu olay, özellikle plazma östrojen düzeyleri yüksek olan obez kadınlarda daha fazladır ve bu kadınlarda vazomotor semptom şikayetleri zayıf kadınlara oranla daha az meydana gelmektedir (Monninkhof ve ark., 2009).

Menopozda en fazla görülen semptom sıcak basmasıdır. Sıcak basmaları premenopozal ve postmenopozal kadınların yaklaşık %75'inde meydana gelmektedir. Bazı durumlarda bir kaç yıldan fazla sürebilmektedir. Genellikle bir kaç dakika içerisinde sona ermekte, frekansı ise saatte birden, bir kaç güne kadar

değişiklik göstermektedir Menopoz, uyku bozuklukları, duygusal değişiklikler, hafıza boşluklukları gibi hayat kalitesini etkileyen bozukluklara da neden olmaktadır. Sıcak basması umbilikal alanda başlayıp başa doğru hareket eden, sıcaklık hissi, ve sonrasında vücudun üst kısmı ve başta terlemenin meydana gelmesi olarak tarif edilmektedir. Diğer kardiyolojik veya nörolojik semptomlar (palpitasyon, sersemlik, vertigo) sıcak basmasıyla birlikte olabilir, bu yüzden klimakterik semptomları sınıflandırmak çok zordur(Tuomikoski ve ark., 2010).

### **1.3.2. Osteoporoz ve menopoz**

Menopozda kemik mineral dansitesi hızlı bir şekilde, kemik rezorbsiyonunun azalmasına bağlı olarak düşmektedir. Bu düşüş, trabeküler kemikte kortikal kemiklere göre daha fazladır, özellikle vertebra koksial ve radial kısımlarda meydana gelmektedir. Kemik kaybı menopoz oluştuktan sonra bir kaç yıl içerisinde, %20 oranında yükselmektedir (Lyritis ve ark., 2010). Menopozda kemik gerginliğinde azalma meydana gelmekte, kırık riski artmaktadır. Menopozda girerken kemik kitlesi düşük olan kadınlarda meydana gelen osteoporoz daha şiddetli olmaktadır. Osteoporozun şiddetini etkileyen faktörler arasında koyu ten, sigara içme, hareketsiz yaşam sayılabilir. Osteoklastlar östrojen reseptörleri içerdiği için östrojen tedavisinin osteoporozu karşı koruyucu etkinliği olduğu ileri sürülmektedir. Kemik yoğunluk ölçümü osteoporozun çok kullanılan klinik bir belirteçidir. Eğer kemik yoğunluk ölçümü normal değerlerden düşük ise kırık riski artar. Kırık riskini düşük östrojen düzeyleri, dişi cinsiyette düşük androjen düzeyleri, sigara içme, fiziksel hareketsizlik, düşük beden ağırlığı, güneş ışığına az maruz kalma arttırmaktadır. Bütün postmenopozal kadınlarda kemik yoğunluk ölçümünün belli aralıklarla yapılması gerekmektedir (Ahn ve ark., 2010).

### **1.3.3. Kardiyovasküler hastalıklar ve menopoz**

Menopoz döneminde ateroskleroz ve tromboza yol açan metabolik değişiklikler meydana gelmektedir. Lipid ve lipoproteinlerin yapısında menopozla birlikte aterosklerotik yönde değişiklikler meydana gelmektedir (Godsland ve Stevenson, 1995). Düşük dansiteli lipoprotein (DDL), total kolesterol, trigliserit konsantrasyonlarında artış oluşmaktadır. DDL kolestrol düzeylerinde ise belirgin bir

azalma vardır. Özellikle kardiyovasküler hastalık risk faktörlerinden biri olan YDL2 fraksiyonunda azalma çok daha fazladır (Kayaalp, 2009).

Kardiyovasküler hastalıkların patojenezinde önemli bir risk faktörü olan insülin rezistansı, menopoz döneminde over fonksiyonlarının azalmasına bağlı olarak görülmektedir (Walton ve ark., 1993). Menopozun erken döneminde plazma insülin konsantrasyonu ve insülin duyarlılığında hemen bir değişiklik görünmemesine karşın, insülin sekresyonu ve eliminasyonunda önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Pankreatik insülin salgılanmasında bir azalma oluşmasına karşın plazma yarılanma ömrünün artmasına bağlı olarak insülin eliminasyonunda da azalma ile dengelenmektedir. İnsulin duyarlılığında zamana bağlı olarak azalma meydana gelmektedir (Prouder ve ark., 1992). Glukoz testlerinde insülin yanıtlarının artması ile paraleldir. Kardiyovasküler hastalıkların diğer önemli bir risk faktörü olan, santral tipte obezite de menopozla birlikte sıklıkla görülmektedir. Santral abdominal bölgede android yağ depolanması genellikle yağ glukoz insülin metabolizmasındaki metabolik bozukluklara bağlıdır. Menopoz oluştuktan yıllar sonra insülin rezistansı göreceli olarak artarak lipid ve lipoproteinlerde ek değişikliklere neden olmakta ve aterosklerozun ilerlemesine yol açmaktadır. Kısaca menopoz kendi metabolik sendromunun oluşmasına neden olmaktadır (Spencer ve ark., 1997).

Serum fibrinojen, antitrombin ve plazminojen aktivator inhibitor-1 (PAI-1) gibi koagülasyon faktörleri menopozdan sonra anlamlı bir şekilde artmaktadır. Postmenopozal kadınlarda ayrıca kardiyovasküler riskin artmasına eşlik eden faktör VII aktivitesinde artış gözlenmektedir. Menopozu takiben fibrinolitik aktivitede bir azalma gözlenirken koagülasyon aktivitede, çok az bir artış ya da hiç bir değişiklik gözlenmemektedir. Bu yüzden postmenopozal kadınlarda koagülasyon ve fibrinolizis arasındaki denge koagülasyona doğru kayar (Winkler, 1992).

Vasküler disfonksiyon aterosklerozun erken göstergelerinden biridir. Menopoz sırasında vasküler endotel fonksiyonu bozulduğu bir çok çalışma ile gösterilmiştir. Premenopozal dönemde östrojen eNOS düzeylerini ve sonrasında NO salgılanmasını artırarak damarlarda vazodilatasyona neden olur. NO aynı zamanda östrojen vazokonstriktör etkili endotelin-1 salınımını azaltmakta ve kan basıncı,

platelet fonksiyonlarının düzenlenmesinde, vasküler düz kas proliferasyonu ve adezyon moleküllerinin ekspresyonunun inhibisyonunda rol almaktadır. Menopoz döneminde ise östrojen eksikliğine bağlı olarak bu etkiler azalmaktadır (Stevenson ve ark., 2009).

#### **1.3.4. Santral sinir sistemi ve menopoz**

Östrojen ile hafıza arasındaki ilişki çok ilginç bir konudur. Yaşlanmaya bağlı olarak bazı hafıza yeteneklerinde azalma oluşmaktadır ve östrojen eksikliği de bu olaya katkıda bulunmaktadır (Sherwin, 1997; Resnick ve ark., 1997). Bu yüzden postmenopozal östrojen tedavisinin hafıza yeteneklerini önleyebileceği ya da yavaşlatabileceği görüşü bazı araştırmacılarca savunulmaktadır (Rossouw ve ark., 2002; Anderson ve ark., 2004). Ancak bu alandaki çalışmalarda hafıza yeteneklerinin test edilmesinde bazı zorlukların olması östrojenin etkilerinin açıkça belirlenmesini zorlaştırmaktadır (Andersen ve ark., 1999). Önceki yıllarda hafıza testlerindeki performanslarda östrojen tedavisinin daha önceden östrojen tedavisi almayan postmenopozal kadınlara göre daha iyi olduğu gösterilmiştir. İleri yaşlarda görülme sıklığı artan alzheimer hastalığı kadınlarda daha fazla görülmektedir. Önceki çalışmalarda östrojen tedavisinin alzheimer hastalığının gelişme riskini azalttığı gösterilmiştir. Ancak östrojen tedavisinin alzheimer hastalığı gelişmiş hastalarda hafıza fonksiyonlarda herhangi bir iyileşme sağladığı gösterilememiştir. Premenopoz döneminde hormon düzeylerindeki direkt etkiler ve östrojen ilişkili uyku bozuklukları vazomotor semptomlara bağlı olarak sık sık depresif semptomlar görülmektedir. Ancak bu yaş döneminde görülen major depresyonun sebebinin menopozun etkilerinden meydana gelip gelmediğini objektif olarak saptamak mümkün olmamaktadır (Tang ve ark., 1996; Kawas ve ark., 1997).

#### **1.3.5. Menopoz ve kanser**

Premenopozal ve erken postmenopozal kadınlarda endometriyal kanser görülme riski artmaktadır. Bunun nedeni polikistik over sendromu, kısırlık gibi endojen östrojen düzeylerinin yüksek olması gibi durumlar ve buna bağlı olarak gelişen endometriyal hiperplazidir. Bir çok olayda histerektomi sırasında, histolojik derece

düşük ve minimal miyometriyal invazyon görülmektedir. Endometriyal kanser 1000 postmenopozal kadının yaklaşık olarak 6'sında görülmektedir. Postmenopozal kadınlarda endometriyal kansere göre daha sık görülen kanser tipi, meme kanseridir. Meme kanseri ile östrojen arasında bir ilişki olduğu düşünülmektedir (Simonicini ve ark., 2003).

Erken yaştaki gebelik ve menstrual hormonal değişikliklerin durdurması ile meme kanseri riskinin azaldığı gözlenmiştir (Diana, 2009). Batı yaşam tarzı sürdüren toplumlarda, kolon kanseri erkek ve kadınlarda kanserin yol açtığı ölümlerin 1/3'ünü oluşturmaktadır. Kolon kanser riski hareketsiz yaşam tarzı, doymuş yağ asit ağırlıklı beslenme, alkol tüketimi, sigara içme gibi faktörlerle artmaktadır. Östrojenin kolon kanseri gelişiminde koruyucu rolü olduğu bildirilmektedir, ancak henüz bu görüş kesinlik kazanmamıştır. Bu görüşü destekleyen bulgular, normal kolon kanserinde her iki cinsiyette ER $\beta$  baskın olmak üzere her iki ER'lerin saptanması ve kolon kanseri olan kadınlarda ER $\beta$  düzeylerinin azalması olarak gösterilebilir. Ayrıca klinik çalışmalarla da bu görüş desteklenmiştir, WHI klinik çalışmasında devamlı HYT, kolon kanser riskini azaltmıştır (Gambaciani ve ark., 2003).

#### **1.4. Hormon yerine koyma tedavisi (HYT)**

HYT oral, transdermal, enjektabl ve vajinal olmak üzere farklı uygulama yollarıyla kullanılmaktadır. Transdermal uygulama yolu pet, jel, sprej, losyonlar, vajinal ürünler ise ovül, krem ve halkaları içermektedir. Yüksek doz oral preparatların potansiyel risklerinin daha fazla olduğu göz önüne alınarak düşük doz ve farklı yollardan kullanılan preparatlar günümüzde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Örnek olarak vajinal yoldan kullanılan estradiol asetat halkası sistemik yoldan kullanılan estradiol dozunu sağlamaktadır. Oral yoldan kullanılmayan preparatlarda östrojenler karaciğerde ilk geçiş etkisine uğramamaktadırlar. Bu yüzden lipid pıhtılaşma faktörleri inflamasyon belirteçlerinde değişiklik oluşturmamaktadır. Bu yüzden de bu tip kullanımda östrojen ile oluşan olası riskler ve yan etkiler daha az meydana gelmektedir. Son bulgular transdermal preparatlarda oral östrojen

kullanımında görülen venöz tromboembolizm risk artışının olmadığını göstermiştir (Koledova ve Khalil, 2007).

HYT'nde sürekli (günlük olarak östrojen ve progesteron alınması) ya da ardışık (günlük olarak östrojen ve belli bazı günlerde progesteron alınması) olarak iki farklı kullanım şekli bulunmaktadır (Simonicini ve ark., 2000).

Bu tedaviye başlamadan önce her hastanın mamogram, kolonoskopi, smear, kemik yoğunluğu gibi tetkiklerinin yapılması gereklidir. HYT kullanımına başlamadan önce hastanın geçmişinde kardiyovasküler hastalık (hipertansiyon, koroner arter hastalığı, inme, tromboflebit, tromboembolizm) koagülasyon bozuklukları ve ailesinde ya da kendisinde meme ve over kanseri olup olmadığı mutlaka araştırılmalıdır (Koledova ve Khalil, 2007).

#### 1.4.1. HYT'nin tarihçesi

Östrojen ve etkilerinin bulunması, menopoz ile ilgili semptom ve hastalıkların tedavisinde kullanmasının tarihçesi aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Süreç	Olay
1920-1939	Östrojen etkilerinin bulunması (1928) Estradiolün sentezlenmesi (1938)
1940-1949	Premarinin keşfi (1942) Östrojen ve osteoporoz arasındaki ilişkinin saptanması
1950-1959	Menopozda görülen sıcak basması tedavisinde östrojen kullanılması (yaygın değildi)
1960-1969	Wilsonlar HYT'nin 'menopoz trajedisini' önlediğini öne sürdü Oral kontraseptiflerin menstruasyon düzenlenmesinde ve gebelikten korunmada kullanılması Östrojenin erkeklerdeki kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu etkisinin klinik olarak araştırılmaya başlanması
1970-1979	Erkekler üzerindeki denemelerin pıhtılaşma ve kardiyovasküler hastalıklar nedeni ile durdurulması HYT'nin, pıhtılaşma, inme gibi yan etkilerinin saptanması Östrojenin endometriyal kanser riskini arttırdığının saptanması

1980-1989	HYT'nin kardiyovasküler hastalıkları önlediğine yönelik epidemiyolojik bir çok çalışmanın yapılması
1990-1994	Bir çok grup kalp hastalıklarının önlemesi için her kadına HYT uygulanmasını tavsiye etti FDA uzman danışma komitesi rakipsiz HYT'nin kalp hastalıklarını önlemek için kullanmasını oybirliğiyle onayladı (hiç harekete geçmedi) PEPI HYT ve kalp hastalıkları riski çalışmalarını başlattı Hulley HERS çalışmaları için finansman elde etti (ilk katılımcılar 1993) WHI çalışmasına NIH sponsorluk etti Premarin ABD'de en yaygın şekilde reçete edilen ilaç oldu (1990-1995)
1995-1999	PromPro adlı ilk kombine HYT pilli tanıtıldı PEPI sonuçları LDL ve YDL kolesterol gelişimlerini kabul etti HERS (1998) HYT'nin, erken dönemde kalp hastalıklarını arttırdığını açıkladı
2002-2003	WHI rakipsiz östrojene ulaşımın sağlanmasını devam ettirmekte FDA her postmenopozal östrojen türüne, projestinle kombine ya da projestinsiz siyah kutu etiketlendirmesini emretti.
2004-2006	WHI rakipsiz östrojene ulaşımının sağlanmasından vazgeçti

**Şekil 1.7.** HYT'nin tarihçesi. Tablo Barrett connor 2003 tarafından yapılmıştır (Kanaya, A.M.,ve ark., 2003)Son yıllarda östrojen eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkan postmenopozal kadınlara, azalan hormon düzeylerini tamamlamak üzere genellikle östrojen yerine koyma tedavisi ve hormon yerine koyma tedavisi (Östrojen+Projesteron) gibi tedaviler sık reçete edilmekteydi. HYT, menopozla ilişkili olan semptomları tedavi etme amacıyla 1940-1960 yılları arasında çok sık olarak kullanılan bir tedavi yöntemidir (Michalowski, Nelson, 2002; Beer, 2007; Stearns ve ark., 2002 The Writing Group for the PEPI Trial. 1995). Önceleri HYT postmenopozal semptomları kısa süreli tedavi etmek için reçetelendirilmeye başlanmıştı (Şekil 1.7), bununla birlikte bazı koruyucu yararları olduğu gösterilmeye başlandı (Stearns ve ark.,2002). Kadınlarda yükselen osteoporoz riskinin, kalp hastalıklarının ve yaşa bağlı başka rahatsızlıkların önlendiği görüldü. HYT daha iyi anlaşılınca, menopoza girmemiş kadınlarda da kullanılmaya başlandı. Bu yaygın kullanılma sebebi ile National Institutes of Health (NIH) 1993'te Women's Health Initiative (WHI) araştırmalarını başlattı. Kurul, 2002'de HYT'sini, gelişen over kanseri, CHRT'le gelişen bir takım meme kanseri, kalp krizi, felç ve kan pıhtılaşması

gibi risklerin artması, riskin yararı aştığı düşüncesiyle durdurdu. Sonrasında HYT, postmenopozal kadınlara daha az reçete edilmeye başlandı. Günümüzde menopozun semptomları ve menopozla ilişkili hastalıkların tedavisinde HYT'nin rolü hakkında çelişkili düşünceler öne sürülmektedir. Deneysel prelinik çalışmalar HYT'nin kardiyovasküler hastalık, osteoporoz ve hafıza fonksiyonları ile ilgili koruyucu etkinliği olduğunu gösterirken çok ölçekli WHI ve HERS gibi büyük ölçekli klinik çalışmalarda sözü edilen koruyucu etkinlikler tam olarak saptanamamıştır. Buna ek olarak HYT tedavisinin özellikle meme kanseri ve endometriyal kanser olmak üzere over, kolon, karaciğer gibi bazı kanser riskini arttırdığı saptanmıştır. Ancak menopozda çok yaygın olarak görülen yaşam kalitesini çok ciddi bir şekilde bozulmasına neden olan vazomotor semptomların tedavisinde HYT'nin koruyucu etkinliği FDA tarafından da 2003 yılında kabul edilerek HYT endikasyonu olarak onaylanmıştır. Bu endikasyon çerçevesinde HYT, menopoz başlangıcından itibaren alınmalı ve semptomlar kontrol altına alınıncaya kadar kullanılmalıdır. Vazomotor semptomların tedavisinde bütün sistemik preparatlar kullanılabilir (Koledova ve Khalil, 2007). Sistemik ve lokal preparatları ile uygulanan östrojen tedavisi vajinal semptomları ve vajinal atrofinin (vajinal kuruluk, atrofik vajinit, disparoni) tedavisinde kullanılmaktadır. Eğer vajinal semptomlar hafif ise lokal preparatların kullanılması tercih edilmelidir. HRT aynı zamanda disparoniden kaynaklanan seksüel disfonksiyon tedavisinde de kullanılabilir. Libidonun azalmasından kaynaklanan seksüel disfonksiyonun tedavisinde HYT önerilmemelidir. Östrojen tedavisi osteoporozun önlenmesinde onaylanmasına karşın ilk seçenek olarak önerilmemektedir. Uzun süreli kullanım (5 yıldan fazla), menopoz semptomlarının yanında kemik kitlesinde azalma olan kadınlarda bir seçenek olabilir. Ancak östrojen tedavisinin uzun süre kullanımının yan etkileri arttıracığı da göz önüne alınmalıdır. Osteoporoz tedavisinde HYT, bifosfonatlar gibi osteoporoz tedavisinde kullanılan ilaçlarla etkin bir cevap elde edilmemiş olması durumunda tercih edilmelidir (Kanaya, A.M., ve ark., 2003)

#### **1.4.2. Kanser**

0,625 mg/kg östrojen standart dozunda 3 seneden uzun tedavi, uterus kanser riski insidensini 5 kat arttırdığı, 10 sene kullanılırsa bu insidensin 10 kat arttığı



gösterilmiştir. Eğer tedavi kesilirse risk artışı birkaç yıl daha devam etmektedir (Koledova ve Khalil, 2007). Bu yüzden östrojen tedavisi, uterusu bulunan postmenopozal kadınlarda önerilmemektedir. Uterusu bulunan kadınlarda östrojen tedavisinin, progesteron tedavisi ile kombinasyonu önerilmesine karşın, tedavinin yararı tam olarak gösterilememiştir. Esterojen ve progesteron tedavisi 3-5 yıl arasında devam edecek olursa meme kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir. Özellikle östrojen reseptör pozitif meme kanseri hikayesi olan kadınlarda kesinlikle HYT kullanılmamaktadır (Kayalp, 2009).

Premenstrual depresif bozukluğu olan kadınlarda HYT, depresyonun daha da derinleşmesine neden olmaktadır. 65 yaş üzeri kadınlarda HYT'ne başlanması unutkanlık riskini arttırmaktadır, bu yüzden unutkanlığı azaltmak ya da önlemek için önerilmemektedir(Koledova ve Khalil, 2007).

HYT'ne menopozun erken dönemlerinde başlanırsa mortalitenin % 10 oranında azaldığı WHI çalışmasında gösterilmiştir. Ancak 60 yaş üzeri kadınlarda ya da menopoz geçtikten birkaç sene sonra HYT'nin başlandığı durumlarda mortalitenin arttığı gösterilmiştir. Bu yüzden HYT, premenopozal kadınlarda önerilmektedir, 60 yaş üzerine önerilmemektedir (Holcomb, 2009).

WHI ve HERS klinik çalışmaları östrojen kullananlarda tip 2 diyabet gelişme riskinin azaldığını göstermiştir. Plasebo ile karşılaştırıldığında tip 2 diyabet görülme sıklığının %21 oranında azaldığı saptanmıştır. Yine bu araştırmalarının sonucuna bağlı olarak HYT kullanan tip 2 diyabetli kadınlarda glisemik kontrolü sağlamak için daha düşük dozlarda antidiyabetik ilaç kullanımı önerilmektedir. Bununla beraber HYT'nin tip 2 diyabet riskini azaltmak için uygun bir tedavi olmadığı özellikle vurgulanmaktadır ve tip 2 diyabetik kadınlarda kardiyovasküler hastalık riski daha fazla olduğu için bu tip hastalarda HYT kullanımında çok dikkatli olunmalıdır. Erken yaşta menopoza giren kadınlarda meme kanseri riski aynı yaştaki menopoza girmeyen kadınlara göre daha az olmasına karşın, osteoporoz ve kardiyovasküler hastalık riskini arttırdığı gösterilmiştir. Bu tip kadınlarda HYT, osteoporoz ve koroner hastalıkları önlemede koruyucu etkilerinin olduğu düşünülerek, başka tedavi

yöntemleri uygun değilse ortalama menopoz yaşından 5 yıl sonraya kadar devam edilebilir (Utian ve Boggs, 1999).

### 1.4.3. HYT ve kalp hastalıkları

Manson ve Martin çalışmalarında östrojenin menopoza giren kadınlarda kardiyovasküler hastalık riskini % 35-50 aralığında azalttığını göstermişlerdir. Ama tersine Grady ve arkadaşlarının yaptıkları klinik çalışmanın sonuçlarının, bu bulgularla çelişkili olduğu görülmüştür (Grady ve ark., 1995). Roussouw ve arkadaşları, 1 yıl süreyle estrogen ve projestin replasman tedavisi uygulanmasının, öncesinde altta yatan kalp ve damar hastalığı olan, menopoza giren hastalarda non-fatal miyokardiyal infarkt riskinin artmasıyla ilişkisi olduğunu ispatlamıştır (Roussouw ve ark.,2002). Araştırma sonucunda projestin ve östrojen kombinasyonunun, kalp ve damar hastalıklarında yararlı olmadığı gösterilmiştir. Aynı durum, alzheimerli hastalarda belirtilmiş ve sadece östrojen tedavili kadınlarda kognitif fonksiyonun arttığı saptanmıştır.

Son çalışmalar östrojenin göğüs, uterus, testis, kemik, böbrek kanserlerinin nedeni olabileceğini kanıtlamıştır. Gebelik sırasında, östrojenlerin reproduktif organlar üzerindeki toksitesi nedeniyle uygulanmaması vurgulanmıştır. Menopoza giren kadınlarda östrojen uygulandıktan sonra riskin 5-15 kat arttığı saptanmıştır. Bu riski azaltmak için, projestinle kombine verilen östrojen miktarının azaltılarak 3 yıl süreyle verilmesi, kadınların bazılarında meme kanserini %24 oranında arttırdığını Rossow ve ark., 2002'de, belirtmiştir. Uterusu çıkartılan kadınlarda ise sadece östrojen terapisi uygulandıktan sonra bu riskin %23 oranında azaldığı saptanmıştır.

Östrojenin asıl kullanım alanı menopoz ve oral kontraseptif kombinasyonlarıdır. Kemik dokusunun dağılmasında koruyuculuk, ürogenital sistemin atrofisinin önlenmesi, vazomotor belirtilerin kaldırılması östrojenin menopoz tedavisindeki endikasyonlarıdır (Kayaalp, 2009).

Üşümeyle değişen sıcak basması, uygunsuz yerde terleme, parestezi vazomotor belirtilerdir. Belchetz'in 1994'teki araştırmasına göre en etkin tedavi östrojen tedavisidir. Yine de yan etkileri nedeniyle tartışılması gereken bir tedavidir (Belchetz ve ark., 1994).

Osteoporoz, kemik kaybı ile birlikte görülen bir hastalıktır. Özellikle bilek ve kalça bölgelerindeki kemikler daha çok hasara duyarlıdır, kemik fraksiyonlanması, kemiklerin incilmesi, hasara daha duyarlı olması söz konusudur. Östrojenle birlikte yardımcı olarak Ca ve D vitaminlerinin verilmesi, genç kadınlarda egzersiz yapılması kemik ağırlığını arttırmada yardımcı olmaktadır (Belchetz ve ark., 1994).

Vajinal kuruma, ürogenital atrofi: Menopoza giren kadınların çoğunda yaşam kalitesini bozan disparoni, genital bölgede ödem ve şişme, ağrılı idrar yapma, idrar kaçırma, daha sık işeme isteği gibi ürogenital bozukluklarda östrojen, kullanılabilen ve tek tercih edilen ilaçtır (Kayaalp, 2007).

Östrojen yerine koyma tedavisinin (EYT) tanımlanamayan vajinal kanamalar, aktif karaciğer hastalıklar, kronik karaciğer fonksiyon bozukluğu, embolili ya da embolisiz venöz trombus, meme ve endometriyum kanseri gibi önemli yan etkileri görünmektedir. Nöbetli hastalıklar, hipertansiyon, uterus leiomyoma (uterus miyomu), ailesel hiperkolesterolemi migren tromboflebit endometriyozis safra kesesi hastalıkları östrojen yerine koyma tedavisinin uygulanamayacağı durumlardır (Isık ve ark., 2010):

En çok kullanılan ilaçlar arasında konjuge östrojen preparatları yer almaktadır; bunlara genellikle kalsiyum preparatları da eklenmektedir. Östrojen, döngüsel olarak kullanılsa da, fizyolojik yararının olmaması ile birlikte, hastanın da uyum sorununu gündeme getirmektedir. Progestin de döngüsel ya da sürekli olarak kullanılabilir (Koledova ve Khalil, 2007).

## 1.5. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) hiperglisemi, yağ karbonhidrat metabolizmasında değişiklikler ve vasküler hastalık komplikasyonlarında risk artışı ile karakterize bir sendromlar topluluğudur. Diabet klinik açıdan tip 1 DM (insülin bağımlı; IDDM) ve tip 2 DM olarak ikiye ayrılmaktadır (insülin bağımlı olmayan diabet; NIDDM) (Alberti ve Zimmet, 1998;). Yeni verilerle, diabetik hasta sayısı 125 milyondan fazladır. Ve 2010 yılında bu sayının 220 milyona yaklaşacağı tahmin edilmektedir. Bazı araştırmacılar 2025 yılında görülme sıklığının ikiye katlanacağını beklemektedirler. Bu artışın

özellikle tip 2 diabette olacağı düşünülmektedir. Tip 2 diabetes sayısındaki artışın sadece genetik nedenlerden kaynaklanmaması, yaşam süresinin artması, obezite, hareketsiz yaşam, düşük doğum ağırlığı gibi bazı faktörlerin rolünün bulunduğunu düşündürmektedir.

Diabetin en önemli nedenlerden biri dolaşımdaki insülin eksikliği ya da periferik dokuların insüline yanıt verme yeteneğinin (insülin rezistansı) azalmasıdır (Davis ve ark., 2002). Bu hormonal bozukluk karbonhidrat, yağ, aminoasit ve keton metabolizmasında bir takım değişikliklere yol açmaktadır. Diabetin en belirgin özelliği ise hiperglisemi oluşmasıdır. Hipergliseminin düşürülmesi tip 1 ve tip 2 diabetes tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Tip 2 diabetes tedavisinde ilk olarak çoğunlukla oral hipoglisemik ilaçlar tercih edilmektedir. Ancak diabetes süresi uzadıkça hipergliseminin kontrol altına alınabilmesi için insülin kullanılması gerekebilir (Kayaalp, 2009).

Klinikte diabetiklerde kan şekerinin optimal düzeyde kontrol altına alındığı hastalarda bile diabete bağlı çeşitli komplikasyonlar görülebilmektedir. Bu komplikasyonları nörolojik (periferik ve otonomik nöropati), kardiovasküler (mikro ve makroanjyopati, ateroskleroz, konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon), gastrointestinal (gastropati), ürolojik (nefropati), oftalmik (retinopati), hematolojik (platelet agregasyonu, glikozilenmiş hemoglobin düzeyinin artması) ve üreme sistemi (impotens) bozuklukları şeklinde sınıflara ayırmak mümkündür (Kayaalp 2009) Diabetiklerde uzun dönemde çıkan komplikasyonların patolojisinin araştırılmasında deneysel hayvan modellerinden sıklıkla yararlanılmaktadır. Bu amaçla streptozotosin ya da aloksan gibi kimyasal maddeler deneysel diabetes oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu kimyasalların yetişkin sıçan ya da farelere enjeksiyonu klinikte insüline bağımlı tip 1 diabetes taklik ederken, yeni rodentlere uygulanması insüline bağımlı olmayan tip 2 diabetes oluşumunu sağlamaktadır.

### 1.5.1. Diabetteki mikro- ve makrovasküler hastalıklar

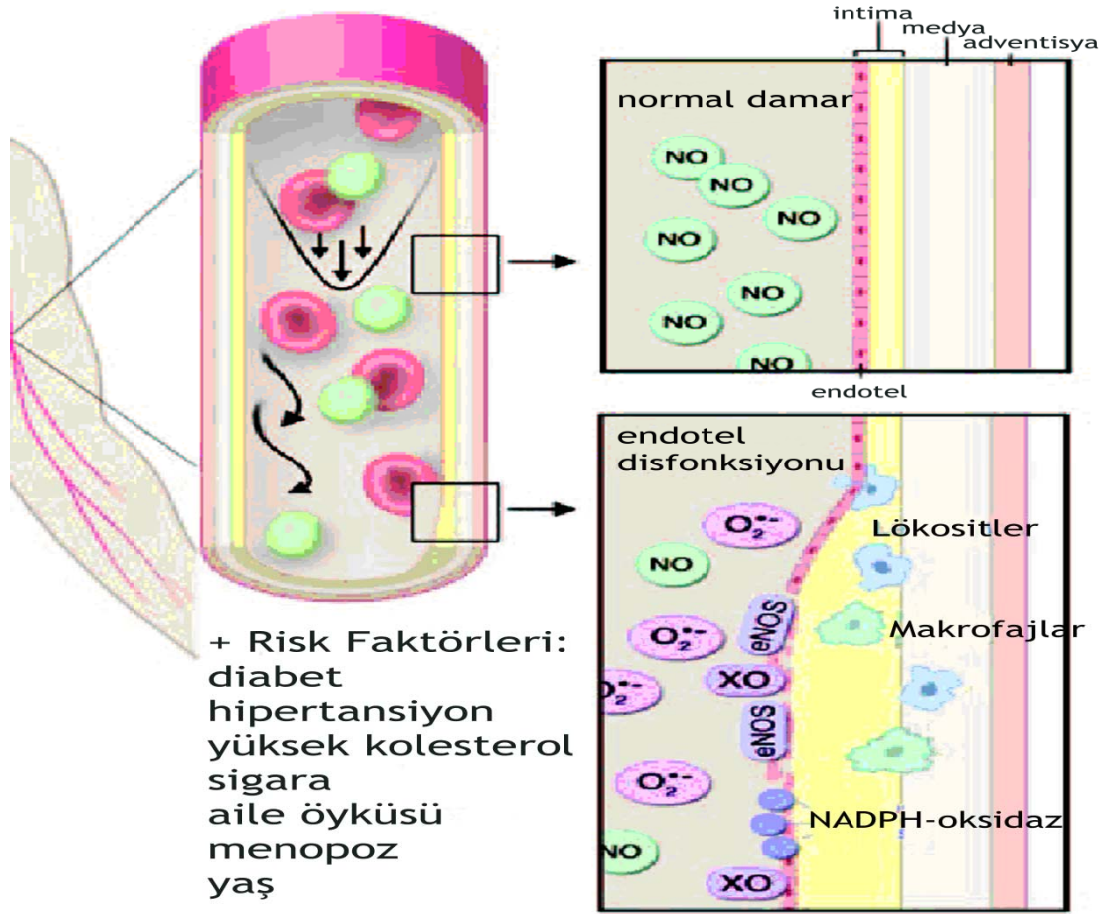
Diabet ve eşlik eden komplikasyonlar, günümüzün en büyük sağlık problemlerinden biridir. Kardiyovasküler hastalıklar diabetik bireylerde yoğun glisemik kontrol altında bile önemli bir risk faktörüdür. Diabetik hastalarının %75'i kardiyovasküler hastalıklarından ölmektedir. Tip 1 ve tip 2 diabetik hastalarda koroner kalp hastalıkları, periferik vasküler hastalıklar ve inme olarak üzere makrovasküler hastalıkların oluşma riski artmaktadır. Diabetik kardiyovasküler komplikasyonlar ateroskleroz gelişimini hızlandırmaktadır ve diabetik olmayanlara göre daha yoğun ve daha erken yaşta aterosklerozun oluşmasına neden olmaktadır. Diabetik hastalarda aterosklerozun gelişiminde klinik ve deneysel çalışmalarda saptanıldığı gibi ilk basamak olan endotel disfonksiyon daha kolay oluşmaktadır. Endotel disfonksiyon (Şekil 1.12) endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının bozulması ve proliferatif prokoagülasyon, proinflamatuvar faktörlerin artması ile eşlik eden endotel aktivasyon ile karakterize bir durumdur. Endotel disfonksiyonun insülin rezistans ile çok yakın ilişkisi olduğunun saptanması diabetik hastalarda hiperglisemiye bağlı olarak oluştuğunu göstermektedir. Ancak endotel disfonksiyon ile hiperglisemi arasındaki biyokimyasal ve hücresele bağlantılar tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Diabette endotel disfonksiyonda rol alan mediyatörler arasında NO, reaktif oksijen türleri, prostasiklin yetersizliği, endotelin sayılabilir (Nathan ve ark., 2001).

Diabetik mikrovasküler komplikasyonlar polyol yolağı, enzimatik glikozilasyon ve non-enzimatik glikozilasyon olarak üç farklı mekanizma ile oluşmaktadır. Vasküler dokular insülin varlığına ihtiyaç duymadan glukozu hücre içerisine alabilme yeteneğine sahiptirler. Bu dokulardaki glukoz konsantrasyonu tam olarak plazma konsantrasyonuna eşittir. Hücrelerdeki yükselen glukoz seviyesi elimine edilerek hücre hasarını oluşturur (Munzel ve ark., 2008). İnsülin yokluğunda veya fazla glukoz varlığında bozularak enzimatik glikozilasyon oluşur. Sağlıklı bireylerde hücre içine giren glukoz Krebs siklusu aracılığı ile enerjiye (ATP), karbondioksit ve suya dönüştürülür. Bu reaksiyondaki ilk adım glukozun 6 numaralı karbon atomuna heksokinaz aracılığı ile fosfat bağlanarak glukoz-6-fosfat bağlanmasıdır. İnsülin eksikliğinde bu enzim aktive olamadığı için hücre içinde biriken fazla glukoz farklı

yollardan metabolize edilmeye çalışılır. Bu yollardan bir tanesi enzimatik glikasyondur. Bu yolda glukoz insülin bağımsız olarak işlev gören iki farklı enzim aktive olmaktadır. Bunlardan birincisi farklı bir hekzokinaz enzimi ile glukoz, 1 nolu karbon atomu üzerinden fosforillenerek, glukoz-1-fosfat haline getirilir. İkinci enzim ise kan damarlarını oluşturan bazal membran hücrelerindeki proteinlerin aminoasit zincirlerine glukoz-6- fosfatı transfer eden glikozil transferaz enzimidir (Ganong, 2002).

### **1.5.2. Diabetes mellitusta gözlenen endotel disfonksiyon**

Tip 1 ve tip 2 diabetik hastalarda sıklıkla rastlanan diabetik mikrovasküler hastalıklar ile endotel disfonksiyon arasında yakın bir ilişki olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Schalkwijk ve ark., 2000). Endotel fonksiyonunun çok farklı yöntemlerle farklı damar yataklarında ölçülmesinden dolayı, diabette gözlenen endotel disfonksiyonu ile ilgili veriler çok karmaşıktır (Şekil 1.8, ). Ayrıca diabetik endotel disfonksiyon diabette mikro albuminemi olup olmadığı, hipergliseminin derecesi ve süresi gibi faktörlere de bağlı olarak değişmektedir (Münzel T. Ve ark., 2008). Diabette ortaya çıkan endotel disfonksiyonunun farklı mekanizmaları ile ortaya çıktığı ileriye sürülmektedir (Kayaalp 2009). Bunlardan birincisi hiperglisemidir. Hiperglisemiye uzun süre maruz kalmanın diabetik komplikasyonların gelişiminde en önemli faktör olduğu saptanmıştır. Hiperglisemi damar dokusunda çok sayıda hücresel değişikliğe neden olmaktadır (Brownlee ve ark., 2001). Deneysel çalışmalar en azından beş farklı (Şekil 1.9) mekanizmanın hipergliseminin neden olduğu patolojik değişiklikten sorumlu olduğunu göstermiştir (Nathan ve ark., 2001; Brownlee ve ark., 2001).



**Şekil 1.8** Endotel disfonksiyonu mekanizması(Münzel T. Ve ark., 2008)

Endotel disfonksiyonun temelini oluşturan mekanizma, vasküler NO biyoyararlanımının azalmasıdır. Kardiyovasküler risk faktörleri olarak sayılan hipertansiyon, diabetes mellitus, sigara içme, yaş, menopoz, ailenin kardiyovasküler öyküsü, hiperkolesterolemi, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz (XO) gibi vasküler süperoksit enzimlerin üretimi, bağılı olmayan nitrik oksit sentaz (eNOS) çok fazla miktarda NO'yu metabolize edecek süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) üretir. Sonucunda da inflamatuvar hücreleri olan makrofajlar, nötrofiller ve buna ek olan intima proliferasyonu, vasküler duvarın adezyonu ve infiltrasyonu söz konusu olur.

1. Protein ve lipitlerin non-enzimatik glikozilasyonu: Bu ürünler proteinlerin şeker, aldehitlerinin karbonil gruplarının proteinlerdeki serbest aminoasitlerin N-terminalleri ile kondensasyon reaksiyonuna girmesiyle meydana gelmektedir. Böylelikle protein shift bazı haline geçmekte ve fruktozaminde olduğu gibi Amadori ürünleri haline çevrilmektedir. Buna örnek olarak glikozillenmiş hemoglobin verilebilir. Oluşan glikozillenmiş ürünlerin geri dönüşümsüz kimyasal bir reaksiyona girmesi ile AGE (advanced glycosylation end-products) denilen ürünler meydana gelmektedir. Bu ürünler, glikozillenmiş ara ürünlerle doğrudan ya da ileri çapraz bağlanmaya yol açan serbest radikallerle reaksiyona girerek hücresel fonksiyonları

bozmaktadırlar. Hipergliseminin düzeyi ve süresi bu reaksiyonların en önemli belirleyicilerdir. Yavaş 'turnover' hızları olan proteinler glikozillenmeye adaydırlar.

2. Protein kinaz C (PKC) aktivasyonu: Büyüme faktörlerinin ekspresyonlarını değiştirmektedir. PKC aktivasyonu, doğrudan ya da dolaylı olarak vasküler geçirgenliğinin artması, endotelin 1 sentezinin artması ya da endotel eNOS aktivitesi azalması, kan akımında meydana gelen değişiklikler, tip IV kolojen ve fibrinonektin üretimindeki artış ve sonrasında bazal membranda incelme, fibrinolizisin bozulması ve bir NADPH oksidaz enzimi ile oksidatif stresin artması sayılabilir. En az 11 izoforma sahip olan enzim ailesinden, vasküler dokuda PKC- $\beta$  II izoformu yaygın olarak bulunmaktadır. Diabetik hayvanlarda oral yoldan verilen bir PKC- $\beta$  inhibitörünün diabetle indüklenen anormalliklerden TGF- $\beta$ 1 tip 4 kollajen ve fibrinolitik mRNA seviyelerindeki artışı önlediği, glomeruler filtrasyon hızını arttırdığı ve albumin atılımını kısmen azalttığı gösterilmesi, bu bulgularla paralellik göstermektedir (İshii ve ark., 1996).

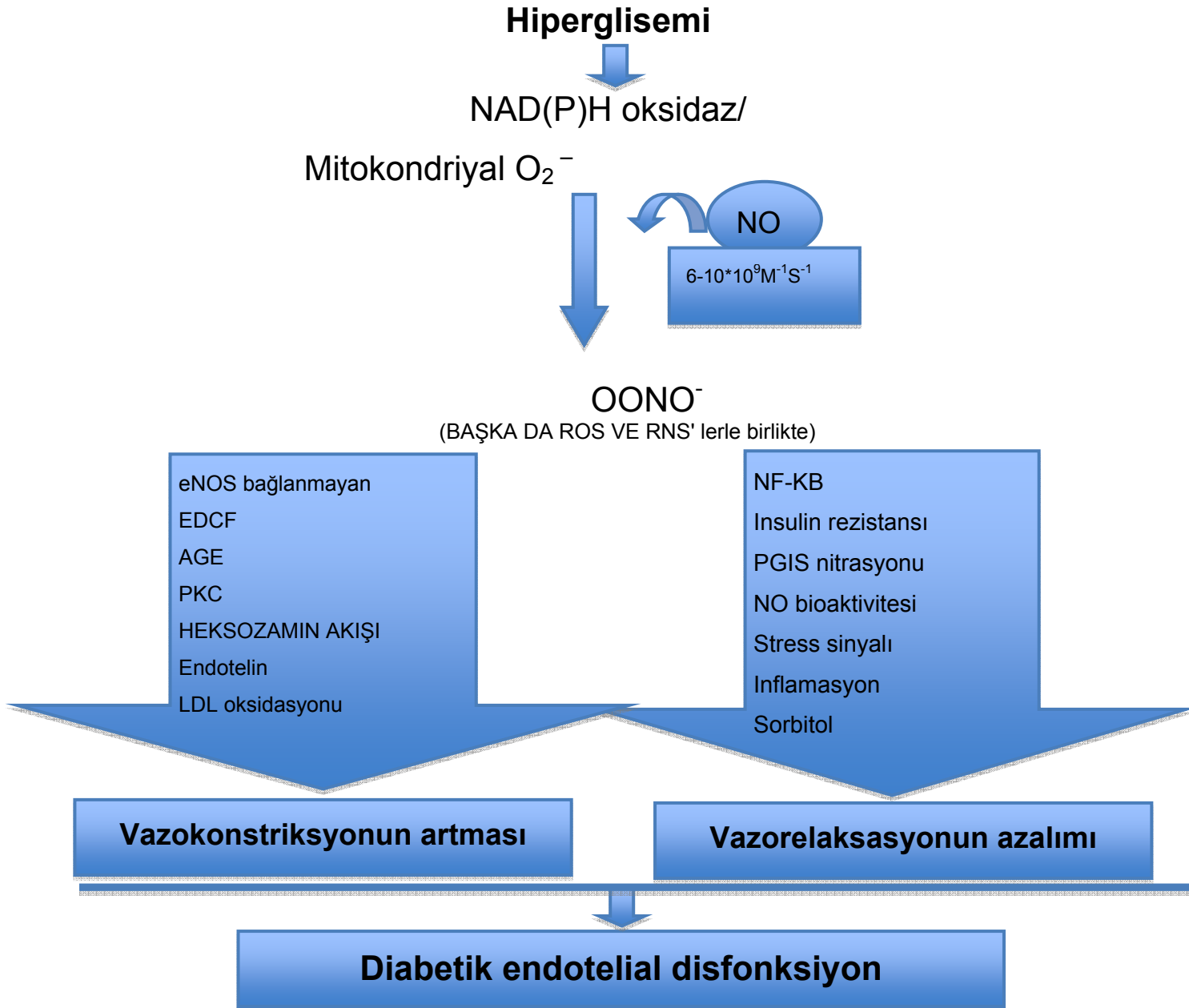
1. Hekzamin yolağı: İntraselüler glukozun aşırı artması, glukoz hekzamin yolağının aktive olmasına yol açmaktadır. Hekzamin yolağının vasküler sistem üzerindeki etkileri, fruktoz-6-fosfatın, glukozamin ve glukoz-6-fosfat aminotransferaz enzimleri ile glukozamin-6-fosfata dönüşmesi ile bağlantılıdır (Nerlich ve ark., 1998). Hipergliseminin aorta endotel hücrelerinde hekzamin-6-fosfat miktarlarında bir artışa yol açtığı, bunun da hücre içinde N-asetilglukozaminin glukoz konsantrasyonlarını arttırdığı gösterilmiştir(Nerlich ve ark., 1998).

2. Hiperglisemi çeşitli yollar aracılığı ile oksidatif stresi arttırmaktadır. Oksidatif stres oluşumunda en önemli mekanizmalarından biri, mitokondriyal taşıma zincirini etkileyerek süperoksit radikalının aşırı yapımına neden olmasıdır(Nerlich ve ark., 1998).

3. Hiperglisemi monosit, adiposit gibi çeşitli hücre tiplerinden sitokin salgılanmasını artırarak inflamasyonun hızlanmasına neden



olmaktadır. Hipergliseminin neden olduğu oksidatif stres de inflamasyonun artmasını kolaylaştırmaktadır (Nerlich ve ark., 1998).

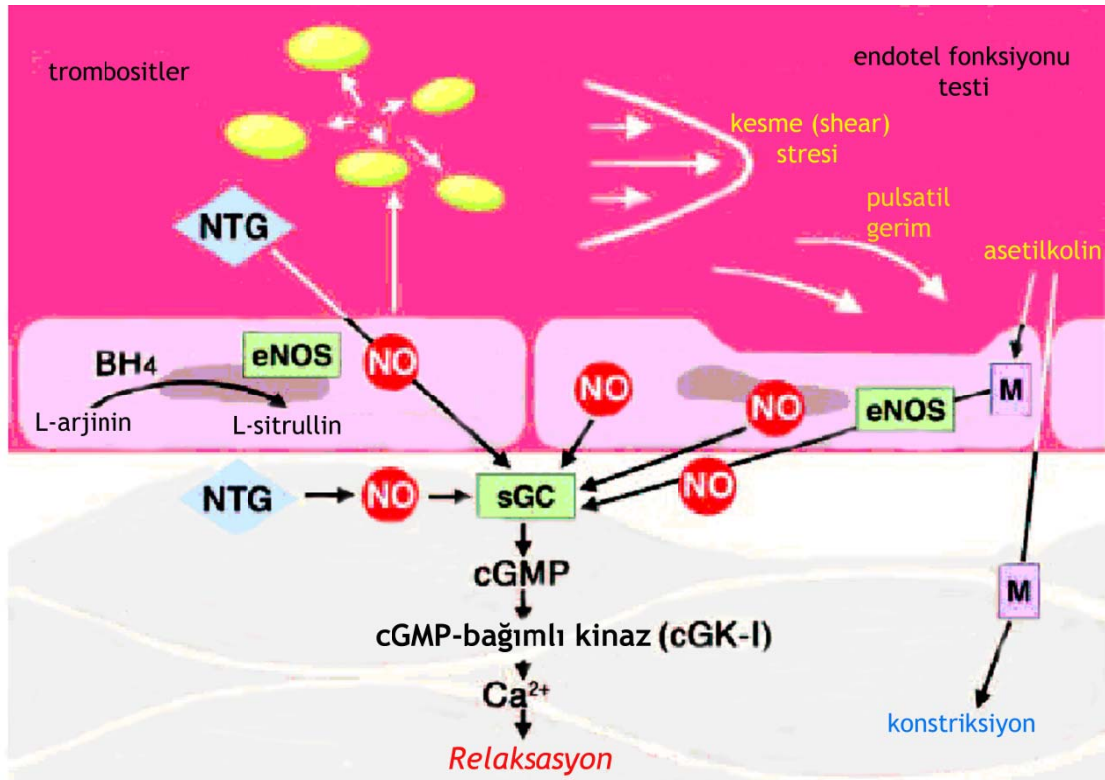


**Şekil 1.9** Diabetes Mellitus'ta endotel disfonksiyon (Xu ve ark., 2001;) (1) Hiperglisemi, (2) yağ asitleri, (3) inflamasyon ve (4) insülin rezistansı tek başına ya da birlikte diabetteki endotelial disfonksiyona neden olabilmektedir. Aterosklerozis, enzimatik ve non-enzimatik protein/lipid glikozilasyon, protein kinaz C aktivasyonu, inflamasyon ve ROS üretimi içeren diabetik komplikasyonlar, hiperglisemiye uzun süre maruz kalmanın yarattığı major sonuçlardır. Dislipidemi, artmış serbest yağ asitleri, inflamasyon ve insülin rezistansı gibi diğer faktörler endotel disfonksiyonun sebebidir. RNS reaktif nitrojen türevlerini işaretlemektedir; EDCF endotel oluşturan COX- bağımlı vazokonstriktör faktör; AGE, ileri glikozillenmiş son ürünler ve PKC: Protein kinaz C.

Diabette görülen endotel disfonksiyondan sadece hipergliseminin sorumlu olmadığı gösterilmiştir. Serbest yağ asitlerinin (SYA) artması, inflamasyon, insülin rezistansı gibi diğer faktörler de endotel disfonksiyona neden olmaktadır. Tip 1 ve tip 2 diabetes mellitusta SYA miktarlarında bir artış görülmektedir (Alexandersen ve ark.,2006). SYA'lerinin artışının insülin rezistansına yol açtığı ve vasküler disfonksiyon ile sıkı bir bağlantısı olduğu gösterilmiştir. İnsülin rezistansı olan, obez ve tip 2 diabetes mellitusta artan serbest yağ asitlerinin fosfotidilinositol-3-kinaz aracılı bir mekanizma ile NO salınımını azalttığı gösterilmiştir. SYA'leri NO biyoyararlanımını da azaltmaktadır. Diabetes mellitusta oksidatif stresin artması, NO biyoyararlanımını azaltarak, reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu arttırarak, lipid protein aminoasit ve DNA'ya bağlanarak, oksidatif hasara yol açmaktadır. Özellikle süperoksit radikallerin NO'e bağlanarak peroksinitrit oluşturması önemli bir basamaktır. Peroksinitrit toksik bir madde olup, vazokonstriktör etkiye sahiptir. Gerek *in vivo* gerek *in vitro* modellerde SYA infüzyonunun insülin rezistansı ve endotel disfonksiyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Bu büyük bir olasılıkla SYA'lerinin serbest oksijen radikallerinin yapımını arttırması ve bu radikallerin NO biyoyararlanımını baskılamasından kaynaklanmaktadır (Alexandersen ve ark.,2006). Tip 2 diabet ve obezite gibi metabolik bozukluklar, inflamasyon ile birlikte görülmektedir. Diabetik bireylerde proinflamatuvar sitokinlerden tümör nekrozis faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), C-reaktif protein (CRP), interlökin-6 (IL-6), plazminojen aktivatör inhibitor-1 (PAI-1) gibi faktörlerin plazmada arttığı gösterilmiştir (Clarke ve ark., 2002, Hsia ve ark 2006). İnflamasyonun artmasına neden olan mekanizmalardan biri, uzun süreli aşırı beslenmenin oksidatif strese yol açması ve TNF- $\alpha$ , IL-6 gibi sitokinlerin, insülinin metabolik sinyal iletimini baskılayarak inflamasyonu arttırmasıdır(Clarke ve ark., 2002, Hsia ve ark 2006).

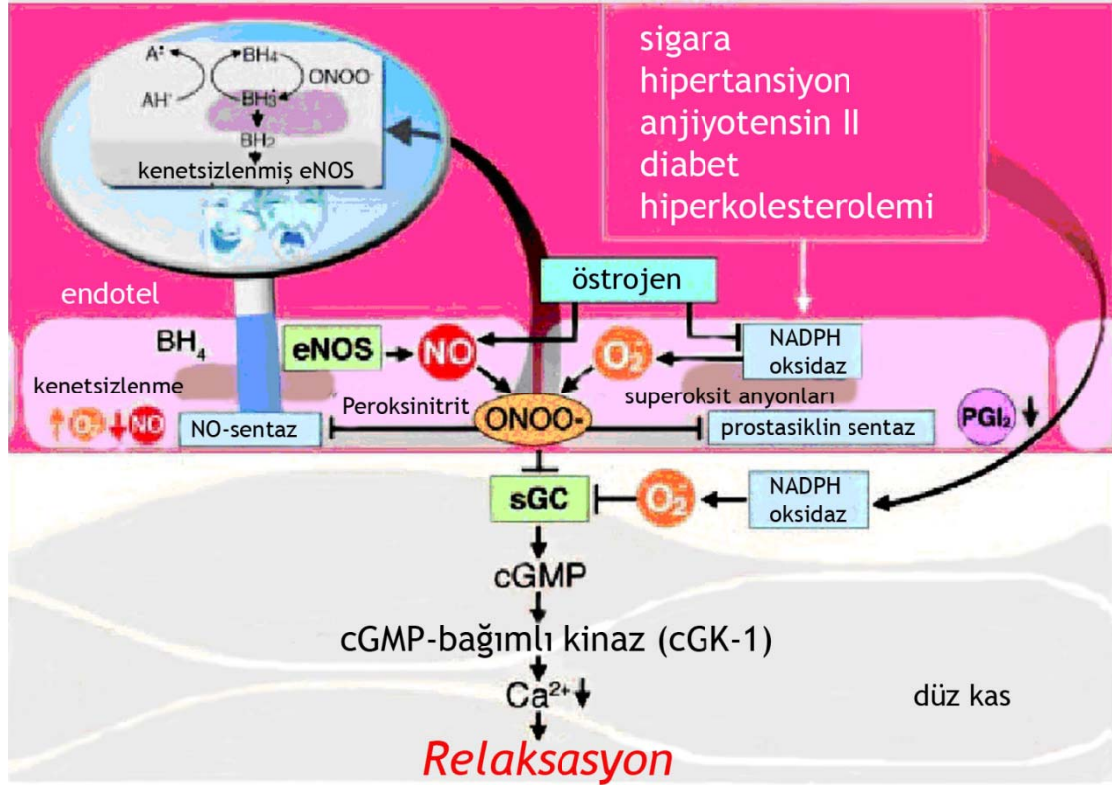
Endotel hücrelerde insülin reseptörleri eksprese edilmektedir. İnsülin reseptörleri membrana bağlı reseptör ailesine ait olup intrinsik tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. İnsülin, endotel fonksiyonların fizyolojik olarak düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Daha önce belirtildiği gibi NO salgılanmasını PI<sub>3</sub>K Akt yolağını aktive ederek ve eNOS'un serin fosforilasyonunu stimüle ederek arttırmaktadır. Buna ek olarak NO bağımlı vazodilatatör etki insülinin vazokonstriktör etkili endotelin-1 salınımını arttırması ile kontrol edilmektedir (Münzel ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda endotelin-1 reseptör blokajını insülinin vazodilatatör etkisinin arttırdığının gösterilmesi bu bulguları desteklemektedir. İnsülin rezistansında  $PI_3$ kinaz sinyal yolağı bozulmasına karşın diğer insülin sinyal yolaklarında Ras/mitojen aktive protein kinaz bağımlı yolaklar etkilenmemektedir. Buna ek olarak metabolik insülin rezistansında normoglisemiye sağlamak için insülin salgılanmasında artış meydana gelmektedir. Bunun sonucunda  $PI_3K$  sinyal yolağı azalmasına karşın Ras/mitojen aktive protein kinaz yolağında aşırı bir artış meydana gelmekte ve endotelin-1 salgılanmasını artırarak endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. İnsülin rezistansı ve hiperinsülinemi olan hastalarda endotelin-1 sekresyonunun azalması bu bulgularla paralellik göstermektedir (Xu ve ark., 2001, Hsia ve ark 2006).



**Şekil 1.10** Vasküler tonusunun endotelle regüle edilmesi. (Münzel ve ark., 2008).

Endotel nitrik oksit sentaz (eNOS) iki basamaklı olarak, L-arginin amino asit oksidasyonu sonucu L-sitrullin formasyonu ile NO'yu sentezlemektedir. NO'nun kan akımına salınımı sonucu vazokonstriktör faktörler olan serotonin ve tromboksan salınımını ve platelet agregasyonunu inhibe etmektedir. NO ortama diffüze eder ve soluble Guanilat siklazı (sGC) aktive eder. Sonuçta ikinci ulak cGMP, cGMP-bağımlı kinazı aktive eder, o da intrasellüler Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonunda azalmaya neden olup, sonucu vazorelaksasyondur. NO salınımının fizyolojik stimülasyonu stresi azaltır ve gerginliği kontrol eder. Klinikte intraarterial infüzyon endotel fonksiyonunu değerlendirmek amacı ile uygulanır. Brakial artere infüze edilen asetilkolin (ACh) doza-bağımlı gevşemeye neden olur. Koroner arterdeki yanıt (vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon versiyonu) endotelin fonksiyonel integritesine güçlü bağlıdır. Kardiyovasküler risk faktörü ve endotel disfonksiyon belirtisi olarak ACh ortamdaki muskarinik (M) reseptörleri stimüle eder ve vazokonstriksiyona neden olur, Nitrogliserin (NTG).

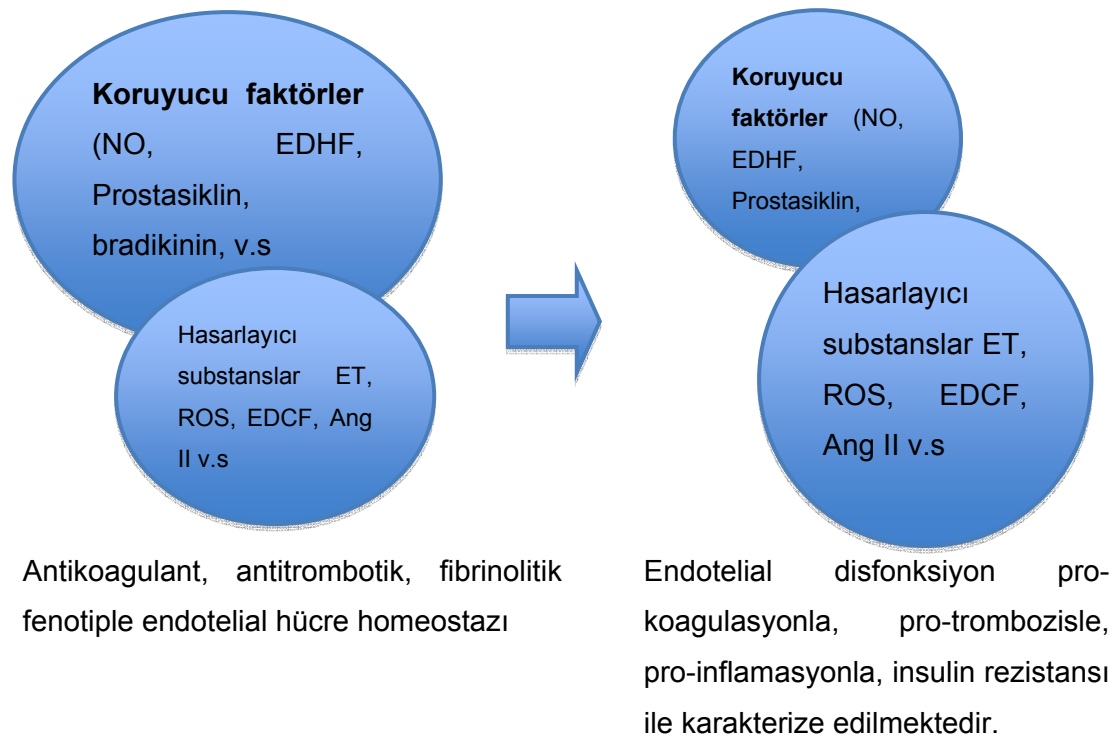


**Şekil 1.11** Vasküler hastalıklardaki endotelial disfonksiyonun altında yatan mekanizmalar (Münzel ve ark.,2008).

İlk risk faktörü olarak büyük miktarda süperoksit (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) üreten NADPH oksidaz enziminin süperoksit tarafından üretilmesi. Süperoksit hızlı bir şekilde, yüksek reaktifli peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) oluşması ile sonlanan NO etkileşimi. Peroksinitrit bir kaç farklı yolla vasküler disfonksiyona neden olmaktadır. Prostaglandin sentazın (PGI<sub>2</sub>-S) tirozin nitrasyonuna, sonuç olarak da PGI<sub>2</sub>'ın üretimini azaltmasına sebep olmaktadır. Buna ek olarak peroksinitrit çözünebilir guanilat siklazın (sGC) güçlü inhibitörüdür, bunun sonucu olarak NO sinyalinin inhibisyonuna neden olmaktadır. ONOO<sup>-</sup> BH<sub>4</sub>'ü BH<sub>3</sub> radikali olarak adlandırılan okside etmektedir. Bu da BH<sub>2</sub> azalması sonucu eNOS'un bağlı olmamasına neden olmaktadır. Bu da antiaterosklerotik eNOS'un NO'nun üretmesi süperoksit-üreten proaterosklerotik enzimin üretilmesine dönüşebilir. Askorbik asit de BH<sub>3</sub> ve BH<sub>4</sub> dönüşümünü azaltarak eNOS'un tekrar bağlanmasını sağlamaktadır.

Vasküler endotel fonksiyonun düzenlenmesinde en önemli faktör NO'dur. NO, gaz formunda bir preradikal moleküldür ve eNOS (Şekil 1.11) aracılığı ile sentezlenmektedir. Endotel hücrelerinde süperoksit radikalleri tarafından inaktive edilmektedir. Bu yüzden NO biyoaktivitesinin NOS tarafından NO üretimi ile süperoksit üretimi arasındaki oran belirlemektedir (Borissova ve ark., 2002, Munzel ve ark., 2008).

Hiperglisemi ve diyabetin NO salınımı ve sentezi üzerindeki etkileri pek çok çalışmayla araştırılmıştır. NO biyoaktivitesinin NOS aktivitesindeki bozukluk ya da salgılanan NO'nun yıkımının artmasına bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Endotel bağımlı gevşemenin azaldığı bir çok diyabet modelinde gösterilmiştir. Protein kinaz yolağının aktivasyonu eNOS'un posttranslasyon modifikasyonun, NO ekspresyonunun downregulasyonu, eNOS'un S-nitrolizasyonu diyabetik endotel disfonksiyonundan sorumlu tutulan mekanizmalardır (Munzel ve ark.,2008).



**Şekil 1.12** Diyabetes mellitustaki asıl endotel disfonksiyon (Xu ve ark., 2001;) Endotel endokrin ve parakrin kompleks organı, vasküler homeostazında önemli bir rolü vardır. Kan ve vasküler duvar arasındaki basit fizik bariyer rolünün ötesinde, antikoagülan, antiplatelet, vasküler hücrelerinin fibrinolitik fenotipine devam ettirmeye aracılık etmekle, endotel artık, normal vasküler homeostazının önemli bir komponenti olarak tanımlanmaktadır. Endotel kaynaklı homeostaz vazoprotektif faktörlerin (örneğin NO/endotel oluşturan gevşetici faktör, prostasin, bradikinin ve endotel kökenli hiperpolarize edici faktör {EDHF}) ve hasar oluşturan maddelerin (örneğin, endotelin [ET], ROS, endotel kökenli COX-bağımlı vazokonstriktör faktör [EDCF], anjiotensin II [AngII] ) salınması ile bağdaşmaktadır. Endotele saldırı, vazoprotektif ve hasar oluşturan faktörler arasındaki dengeyi bozar, endotel geçirgenliğini artırması ile, platelet agregasyonu, lökosit adezyonu ve sitokin üretiminin artması ile prosesleri tetikler ya da ateroskleroza kötüleştirir.

## 1.6. Menopoz diabet ve kardiyovasküler hastalıklar ve HYT

Menopoz, uzamış hayat beklentisiyle beraber, orta yaş olayı olarak algılanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, önümüzdeki 25 yılda diabetik insan sayısının 130 milyondan 300 milyona çıkacağını ileri sürmektedir. DM, postmenopozal dönemde en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Menopoz, fizyolojik bir olay olsa da östrojen yokluğu belirtileri hayat kalitesini düşürebilmektedir. Vazomotor semptomlar, ürogenital semptomlar, seksüel disfonksiyon, psikolojik semptomlar, dermatolojik değişimler hormon replasman tedavisi ile ortadan kalkabilmektedir. Bununla beraber HYT meme kanseri, endometriyal kanser, inme, venöz tromboz riskini artırabilmektedir. Salpeter ve arkadaşlarının yaptığı bir klinik çalışmada, HYT'nin diabetik olmayan kadınlarda insülin rezistansı, abdominal obezite, kan basıncı, adezyon molekülleri ve prokoagülan faktörleri azalttığı, diabetik kadınlarda ise açlık glukozu ve insülin rezistansını azalttığı sonucuna varılmıştır. Bu da, non-diabetik hastaların, diabetiklere göre HYT'den daha fazla yarar sağladığını göstermektedir. Diabet, kardiyovasküler hastalıklar için major risk faktörüdür. Ayrıca diabetik kadınlarda menopoz sonrası koroner kalp hastalığı insidansı anlamlı şekilde artmaktadır. Diabetik menopozal kadınlarda HYT'nin önerilmesinde seçici olunmalıdır.

Endotelial  $ER\alpha$  protein düzeylerinde glukoz seviyesinin değişiminin katkısı bulunmamaktadır. Normal glukoz seviyesinde fizyolojik konsantrasyondaki dışarıdan uygulanan estradiol endotelial  $ER\alpha$  seviyesini arttırmaktadır. İlginç olarak, yüksek glukoz (30,5 mM) konsantrasyonunda dışarıdan estradiol uygulanması  $ER\alpha$  seviyesini düşürmektedir.  $ER\alpha$ 'lardaki etki gibi dışarıdan uygulanan estradiol fizyolojik konsantrasyonda  $ER\beta$  seviyesini değiştirip değişmediği bilinmemektedir. Yüksek glukoz konsantrasyonu  $ER\beta$  seviyesini arttırmaktadır.  $ER\alpha$  ve  $ER\beta$  yüksek glukoz ortamında fizyolojik glukoz ortamındakine ters olarak estradiolden etkilenmektedir (Chakrabarti ve Davidge, 2009).

Östrojen eksikliği, menopozun klimakterik semptomlara neden olan birincil sebebidir. Aynı zamanda androjenin de postmenopozal diabetik kadınlarda koroner

arter hastalığı riskinin artmasına katkı sağladığı gösterilmiştir (Korytkowski ve ark., 2005).

Menopoz pankreatik insülin salgılanması, eliminasyonun azalması, sonuç olarak insülin seviyelerinin değişmesiyle karakterizedir. İnsülin rezistansı yaşla beraber doğru orantılı olarak artsa da postmenopozal kadınlarda tip 2 diabet gelişmesinde öncüdür. Tip 2 DM insidansı HYT tedavili kadınlarda tedavi almayanlara göre kısmen daha azdır (Kanaya ve ark., 2003). Kernohan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, düşük doz (günlük 1 mg 17beta estradiol ve 0,5 mg noretisteron) kombine tedavisinin, tip 2 diabetik kadınlarda glukoz hemostazi üzerine etkileri test edilmiş ve glukoz klirensinin değil, açlık glukozunun azaldığı sonucuna varılmıştır (Kernohan ve ark., 2007). Bir çok çalışmada, oral, transdermal ya da subkutan yolla verilen estradiolün insülin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (Cagnacci ve ark., 1992; Mazess ve ark., 1987) . Düşük doz estradiolün, insülin duyarlılığı üzerinde yararlı etkisi varken günlük 0,625 mg konjüge östrojenin etkisi nötrdür (Lobo ve ark., 1994). Bir çok çalışmada günlük 1,25 mg yüksek doz östrojen kullanımının insülin duyarlılığı üzerinde hasar verici etkisi vardır (Ajabar ve ark., 1972; Notelovitz ve ark., 1974). Kısa dönem östrojen alımını, daha belirgin olarak yüksek dozlarda, insülin sekresyonun azalması, insülin rezistansının oluşması, glukoz toleransının bozulması, glukagon antagonizmini anlamını kapsar. Asıl uzun dönem etkisi ise glukozu verilen pankreatik insülin cevabının korunmasıdır (Gotzland 2005). Kombine tedavilerde progesteron çeşidi insülin duyarlılığına etki etmektedir. Medroksiprogesteron asetat, levonogesterol insülin rezistansını bozmaktadır (Lindheim ve ark., 1993; Godsland ve ark., 1993.). Noretisteron nötral etkilidir. Ama didrogesteron ve estradiol kombine tedavisi menopoza bağlı insülin sekresyon, eliminasyon ve duyarlılığındaki değişiklikleri geriye çevirmektedir (Godsland ve ark., 2004; Dansuk ve ark., 2005). Borisova ve ark didrogesteron ve transdermal östrojen tedavisini tip 2 diabette önermektedirler (Borissova ve ark., 2002). 2001'de yapılan Glasgow Üniversitesinde yapılan çalışmada tip 2 diabetik postmenopozal kadınlarda trigliserit seviyesindeki %22'lik düşüşü transdermal estradiol ve oral noretisteron kombine tedavisi ile sağlamışlardır (Perera ve ark., 2001). Buna karşın, tek başına oral konjüge östrojen replasmanı trigliserit

seviyesinde %25'lik artışla sonuçlanacaktır (Women's Health Initiative Steering Committee, 2004).

Postmenopozal östrojen eksikliği, osteoporoz için risk faktörüdür. HYT non-diabetiklerde osteoporozu önlemektedir. Buna karşın özellikle tip 2 diabetikler için kesin bir veri yoktur. HERS HYT'nin kardiyovasküler hastalıklarda ikincil koruma üzerindeki etkilerini araştırmıştır ve araştırmalarının sonucunda koroner kalp hastalığı olan postmenopozal kadınlarda tedavinin kardiyovasküler hastalık riskini tamamen azaltmadığı görülmüştür (Petitti.). Bunlar arasında en çok kabul gören görüşler östrojenin iki yönlü etkisinin olması ve yaşa göre etkilerinin değişmesidir. HYTedavisi alan kadınlarda kardiyovasküler hastalıkların daha erken meydana gelmesinde HYT'nin prokoagülan etkilerinin de rolü olabileceği düşünülmelidir (Kaseta ve ark., 1999). 2002'de Glasgow Üniversitesinde yapılan bir çalışmada, HYT'nin tip 2 diabetik postmenopozal kadınlarda vasküler relaksasyonda yararlı olduğu söylenirken ( Perera ve Khoo, 2005), Howard ve arkadaşlarına göre postmenopozal abnormal glukoz toleransı olan kadınlarda HYT'nin aterosklerozu kötüleştirdiği gösterilmiştir (Margolis ve ark., 2004). HYT'nin diabetik kadınlarda kardiyovasküler korumada etkisiz olduğunu gösteren başka çalışmalar da vardır (Cunha ve ark., 2001; Scott ve ark., 2004). İnme diabetiklerde sik görülen bir durumdur. Batı ülkelerinde serebrovasküler hastalıklar en yüksek ikinci ölüm sebebidir. Postmenopozal HYT, inme için, iyi tanımlanmış, bağımsız bir risk faktörüdür (Rossouw ve ark., 2007). Hem diabet hem HYT trombo-embolizm riskini artırmaktadır (Perera ve ark., 2001; Tsai ve ark., 2002; Canonico ve ark 2008). Transdermal HYT daha az riskli olabilir (Canonico ve ark 2008).

Östrojenin çeşidi, veriliş yolu, dozu ve veriliş süresi altta yatan risk faktörleri, tedavi hedefleri ve hasta istekleri düşünülerek ayarlanmalı, tartışılmalı ve karar verilmelidir. Endojen östrojen premenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalığa karşı korur, buna karşın HYT'nin KVH'tan korunmadaki rolü henüz kesinleşmemiştir (Rees ve ark., 2009).



## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Gereçler

#### 2.1.1. Deneysel araç ve gereçler

- %95 O<sub>2</sub>, %5 CO<sub>2</sub> gaz karışımı içeren tüpler
- 10 ml hacimli, çift duvarlı, izole organ banyosu
- Accu-Chek Go (Roche), kan glukoz ölçücüsü
- Apendorf tüpler
- Bilgisayar kontrollü data kaydedici
- Cerrahi makaslar ve pensler
- Çeşitli hacimdeki otomatik mikropipetler (P5, P10, P20, P200, P1000 )
- Duyarlı terazi (Mettler H10)
- Glukofilm, trigliserid ve kolesterol ölçüm çubukları (Roche)
- İzometrik "transduser" (Force Displacement)
- K<sub>3</sub>EDTA'lı kan tüpleri
- Kronometre
- Kurutma kağıtları ve gazlı bez
- Manyetik karıştırıcılar
- Multi myograf (610M, Danish Myo Technology, Aarhus, Danimarka)
- Pipet uçları
- Polietilen enjektör (5 ml)
- Santrifüj aleti (Sorvall, SS-3 Auto)
- Soğuk ışıklı Lup (Leica)
- Şeker ölçüm cihazı (Accutrend)
- Trigliserid ve Kolesterol ölçme aleti (Accutrend)
- Tüberkülin enjektörü
- Üstten kefeli terazi
- Vorteks
- Biopac Systems, Inc. Model MP30 , kayıt cihazı
- May GTA 0303 General Transducer Amplifier

- Reflotron Plus (Roche Diagnostic GMBH Mannheim)
- Mettler Toledo MD220 ph meter
- Reflotron Triglycerides Tests (Roche)
- Reflotron HDL Tests (Roche)
- Reflotron Cholesterol Tests (Roche)
- Eliza Reader
- Estradiol EIA kit (Cayman Chemical)

### 2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Streptozotosin (SIGMA)
- L-Fenilefrin hidroklorür (SIGMA)
- Asetilkolin hidroklorür (SIGMA)
- Potasyum klorür (MERCK)
- 17 $\beta$ -estradiol (SIGMA)
- PPT(Tokris)
- DPN (Tokris)
- EDTA (SIGMA)
- L-Nitro Arjinin Metil Ester (SIGMA)
- Askorbik asit (SIGMA)
- Krebs Çözeltisi

Deney sırasında kullanılan kimyasal maddeler, stok çözeltileri biçiminde saklanmış ve bu çözeltiler distile suda çözümlenerek hazırlanmıştır.

Krebs Çözeltisi; NaCl 118(mM/l), KCl 4.7(mM/l), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2(mM/l), NaHCO<sub>3</sub> 25(mM/l), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 1.2(mM/l), Glukoz11.2 (mM/l), CaCl<sub>2</sub> 2.5 (mM/l).

## 2.2. Yöntemler

Deney hayvanı yetiştirme ünitesinden elde edilen Wistar dişi ve erkek sıçanlar, çiftleştirilmek üzere kafeslere yerleştirilmiş ve doğan yavrulardan dişi olanları, deneye alınmak üzere diğerlerinden ayrılmıştır. Bu hayvanlardan 12-13 haftalık olanlar (yaklaşık 200 g ağırlığında) deney gruplarını oluşturmak üzere alınmıştır. Bu

çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulu kararı no 1052745, 8ocak 2007 izini ile yapılmıştır.

### **2.2.1. Overlerin çıkarılması**

Ketamin+ksilazin (40 ve 20 mg/kg i.p.) (Bolego *et al.*, 1999) anestezisi altındaki dişi sıçanların operasyon bölgesindeki tüyleri temizlenerek batikonlanmış ve yan yatırılan sıçanlar “palpasyon sonrası”nda over hizası belirlenerek 0,5 santimetre boyutunda yan abdominal kavite açılmış ve over ve tübüller saptanmıştır. Tübüllerin proksimal ve distal uçları klamplenip overler izole edilmiştir (O). Açıkta kalan tübül uçları ise 4/0 kromik katgut ile ligate edilmiştir. Ameliyat bilateral olarak yapılmıştır. Operasyon sonrasında, yan abdominal kavite ve cilt dokusu dikilmiştir, enfeksiyonu önlemek amacıyla batikon uygulaması yapılmıştır. Operasyon sırasında kullanılan tüm cerrahi malzeme, operasyon öncesinde ve sonrasında sterilize edilmiştir.

### **2.2.2. Diabet oluşturulması**

Ovariektomi uygulamasından 1 hafta sonra, sıçanlardan bazılarında sitrat tamponunda (pH 4,5 HCl) çözülmüş 45 mg/kg dozunda streptozotosin (STZ) kuyruk veninden intravenöz olarak uygulanmıştır. STZ enjeksiyonunu izleyen 3. günde, sıçanların kuyruk venlerinden alınan kan örneklerinde kan glukoz düzeyleri glukometre (Accutrend) kullanılarak ölçülmüştür. Kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl üzerinde olan sıçanlar diabetik kabul edilmiştir.

### **2.2.3. Deney grupları**

Deneyler için sıçanlar 8 haftalık ve 16 haftalık olarak altı gruba ayrılmıştır:

### 8 haftalık deney gruplar

1. Kontrol grup (K; n=10)
2. Ovariectomize grup (O; n=13)
3. Diabetik grup (D; n=7)
4. Ovariectomize diabetik grup (OD; n=8)
5. Östrojen tedavili ovariectomize grup (OE; n=11)
6. Östrojen tedavili ovariectomize diabetik grup (ODE; n=7)

### 16 haftalık deney gruplar

1. Kontrol grup (K; n=6)
2. Ovariectomize grup (O; n=5)
3. Diabetik grup (D; n=7)
4. Ovariectomize diabetik grup (OD; n=7)
5. Östrojen tedavili ovariectomize grup (OE; n=5)
6. Östrojen tedavili ovariectomize diabetik grup (ODE; n=5)

Toplam hayvan sayısı=91

Yem ya da su kısıtlaması yapılmaksızın, 8-16 hafta süreyle sıçanların haftalık yem ve su tüketimleri ve beden ağırlıkları ölçülmüştür. Sıçanların kan glukoz düzeyleri iki haftada bir ölçülmüştür.

17 $\beta$ -estradiol (E2) tedavisi, sabah 9.00-10.00 saatleri arasında intramusküler olarak uygulanmıştır (0,625 mg/kg). Gruplara uygulanan 17 $\beta$ -estradiol (E2) tedavisi, OVX operasyonunun ardından her iki haftada bir olmak üzere deney süresi sonuna kadar devam edilmiştir. Deney süresi sonunda, sıçanların beden ağırlıkları ve kan şekerleri kuyruk veninden ölçülüp, sakrifiye edilmeden önce ketamin ile anestezi uygulanmıştır.

#### 2.2.4. Plazma örneklerinin alınması

Anestezi uygulanan sıçanların göğüs kafesleri açılarak, kalplerinden alınan yaklaşık 5'er ml'lik kan, K<sub>3</sub>EDTA'lı tüplerde toplanmış ve tüpler 5000 rpm hızda 5 dakika

boyunca santrifuj edilerek, plazmaları ependorflara alınmıştır. Eşit miktarlarda ependorflara alınan plazmalar, sıvı nitrojende dondurulan ve biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar bekletilen plazmalar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'lik derin dondurucuda saklanmıştır.

## **2.2.5. Biyokimyasal deneyler**

### **2.2.5.2. Plazma total kolesterol ve trigliserid estradiol konsantrasyonları**

Plazma total kolesterol ve trigliserid YDL konsantrasyonları, Reflotron ölçüm çubukları kullanılarak, "Accutrend" cihazıyla ölçülmüştür. Kan glukozkonsantrasyonu Accu-Chek Go cihazıyla ölçülmüştür. Plazma total östrojen, Estradiol EIA kit kullanılarak, "Elisa reader" aletiyle ölçümlenmiştir

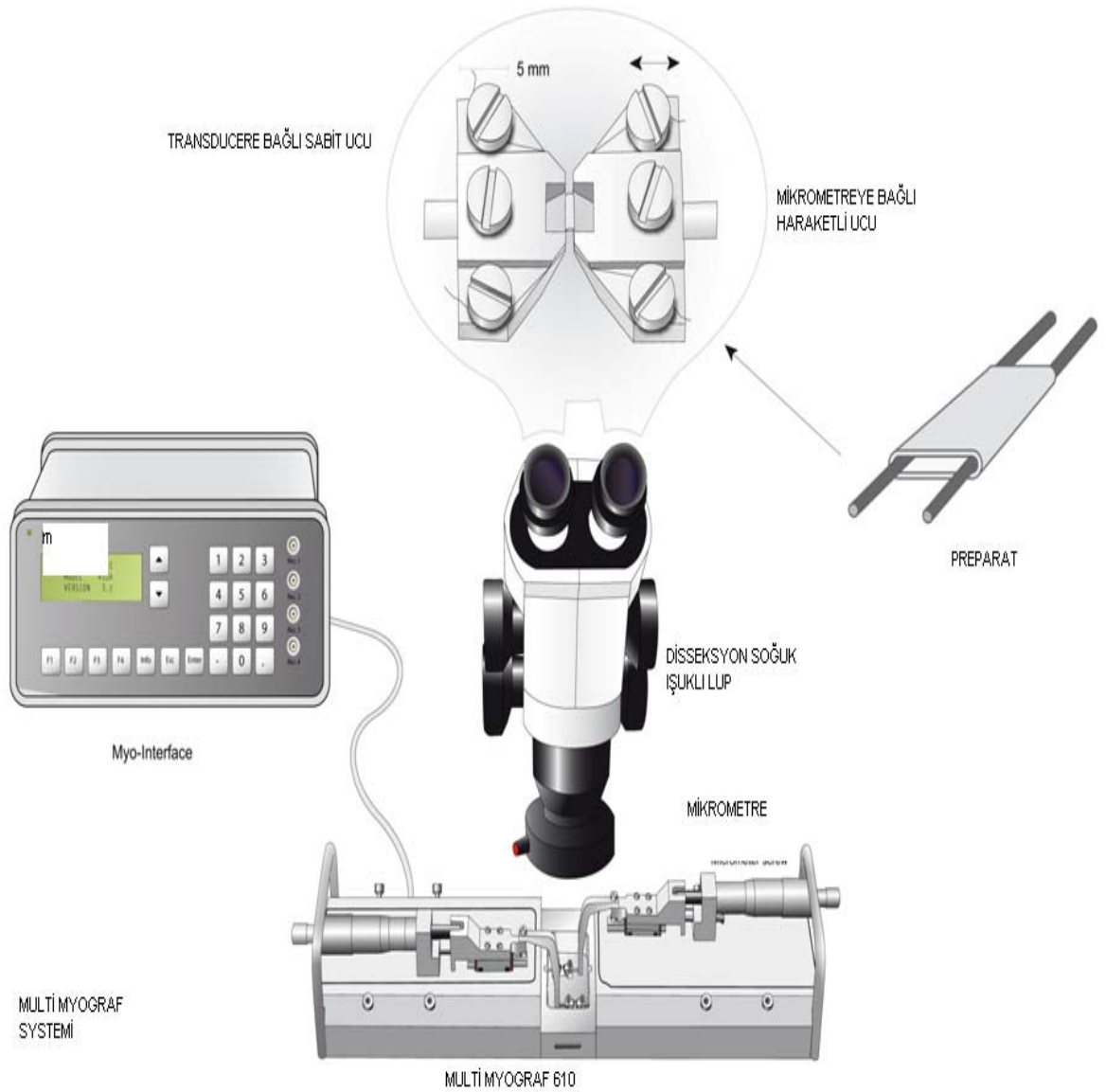
### **2.2.6. Sıçan torakik aortasının izolasyonu**

Göğüs kafesleri açılan sıçanların kanları alındıktan sonra, kalpleri çıkarılmış ve torakik aortaları izole edilmiştir. İzole aortalar, oksijenlendirilmiş Krebs Çözeltisi'nin bulunduğu petri içine alınarak yağ ve bağ dokularından temizlenmiştir. 4 mm'lik halkalar halinde kesilen aortaların her deneyde aynı segment kullanılmasına dikkat edilmiştir. Aortaların bir bölümü biyokimyasal analizler için ayrıldıktan sonra kalan kısımlar, bir ucu önceden 2 g'lık ağırlık asılarak bu ağırlığın oluşturduğu gerimin saptandığı "izometrik transducer"a, bir ucu da doku tutucu kancaya tespit edilecek biçimde, içinde Standart Krebs Çözeltisi bulunan, organ banyosu içine konmuştur. Deney süresince organ banyosunun sıcaklığının  $37^{\circ}\text{C}$  olması sağlanmış ve çözelti %95  $\text{O}_2$  - %5  $\text{CO}_2$  içeren gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Preparat, ortama uyum sağlaması için, 2 g'lık ağırlığın oluşturduğu gerim düzeyine kadar kastırılmış ve 1 saat boyunca, her 15 dakikada bir ortam sıvısı yenilenecek biçimde inkübasyona bırakılmıştır. Tüm ölçümler Biopac Systems, Inc. Model MP30 kayıt cihazı ve May GTA 0303 General Transducer Amplifier cihazı aracılığı ile bilgisayarlı sisteme kayıt edilmiştir. Bu çalışmalar 8 haftalık deney gruplarında yapılmıştır.

### 2.2.7. Sıçan mezenterik arterinin izolasyonu

Sıçanlar karbon dioksit ile sakrifiye edilerek göğüs kafesleri açılmış ve kanları alınmıştır. Mezenterik arter dallanmasını saptayabilmek ve bununla birlikte mezenterik arterleri venlerden ayrılabilmesi için torakik-abdominal inen aorta hattı izlenmiştir. Böylece mezenterik dallanmanın başlangıç yeri saptanmıştır. Tüm mezenterler barsak dokusu alınmaksızın izole edilmiştir. Oksijenlendirilmiş Standart Krebs Çözeltisi'nin bulunduğu petri içine alınan mezenterik dokunun yağ ve bağ dokularından izolasyonu "Soğuk Işıklı Lup (Leica)" altında yapılmıştır. Parafinli petrideki mezenterik doku sürekli olarak her 10 dakikada bir %95 O<sub>2</sub>-%5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı ile havalandırılan taze Krebs çözeltisi ile değiştirilmiştir. Yaklaşık olarak 1.7 mm uzunluğundaki mezenter preparatı içinden 40 µm çapındaki 1. Tel geçirilerek multi myograf(610M, Danish Myo Technology, Aarhus, Danimarka) banyo içine alınarak sabitlenir. Daha sonra 1. tele paralel olacak şekilde 2. bir tel de geçirilerek banyonun "transducer" tarafına sabitlenir. Ardından mikrometrik vida yardımıyla sabitlenmiş iki telin birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Deney süresince organ banyosunun sıcaklığı 37<sup>0</sup> C olması sağlanarak ve çözelti sürekli olarak %95 O<sub>2</sub> - %5 CO<sub>2</sub> içeren gaz karışımı ile havalandırılmıştır. Damarlara gerekli gerim uygulanmadan önce dokunun temiz

leme ve sisteme takılma süresinde maruz kaldığı stresi en aza indirmek için preparatlar 40 dakika inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda preparatlar 100 mmHg'lık basınca karşılık gelen gerime toplam 2'şer dakikalık 4 adımda kastırılmıştır. 20 dakika boyunca, her 10 dakikada bir Krebs solusyonu değiştirilerek inkübasyona bırakılmıştır. Preparatlar stabilize olduktan sonra KCl (80 mM) ve fenilefrin (1 µM) karışımıyla uyandırılmıştır. Her deney sonrası preparatlar, bazal değere ulaştıktan sonra 10 dakika süre ile dinlenmeye bırakılmıştır. Tüm ölçümler Biopac Systems, Inc. Model MP30 kayıt cihazı aracılığı ile bilgisayarlı sisteme kayıt edilmiştir. Bu çalışmalar 16 haftalık deney gruplarında yapılmıştır.



**Şekil 2.1** Miyograf sisteminin genel yapısı.

## 2.3. Deneysel Protokol

### 2.3.1. Kasılma yanıtlarıyla ilgili deneyler

Bir saatlik inkübasyon süresinin ardından, tek doz fenilefrinle (1 $\mu$ M) aortik doku uyandırılmıştır. Uyandırma dozunun ardından doku bazal seviye gelene kadar beklenerek kümülatif fenilefrin doz-yanıt (0.01-10  $\mu$ M) verirliliği incelenmiştir. Elde edilen doz-yanıt eğrilerinden maksimum kasılmanın %60'ının gerçekleştiği doz (EC<sub>60</sub>) saptanmış ve bu doz, sonraki deneylerde, ön kasılma sağlamak amacıyla kullanılmıştır. Deney sonunda, yarım saatlik dinlenme süresi boyunca, her 10 dakikada bir dokunun içinde bulunduğu çözelti değiştirilerek, bazal tonus sağlanmıştır.

Mezenterik arter doku bir saatlik inkübasyon süresinin ardından preparatlar stabilize olduktan sonra, tek doz KCl (80 mM) ve fenilefrin (1  $\mu$ M) karışımıyla uyandırılmıştır. Uyandırma dozunun ardından doku bazal seviye gelene kadar beklenerek kümülatif fenilefrin doz-yanıt (0.01-10  $\mu$ M) verirliliği incelenmiştir.

Mezenterik arterde ER agonistlerin fenilefrinle elde edilen kasılma sinyal-ileti mekanizmasındaki oluşturduğu değişiklikleri saptamak için damar preparatları selektif olmayan ER agonistleri 17 $\beta$ -estradiol (0.1  $\mu$ M), ER  $\alpha$ -agonisti PPT (0.1 $\mu$ M) ve ER $\beta$ - agonisti DPN (.1 $\mu$ M) ile 15 dakika inkübe edilmiştir. Ardından preparatlarda kümülatif fenilefrin doz-yanıt (0.01-10  $\mu$ M) verirliliği incelenmiştir.

### 2.3.2. Gevşeme yanıtlarıyla ilgili deneyler

Aortik preparatlarda endotel varlığını saptamak için tek doz fenilefrin (EC<sub>60</sub> dozu) ile kastırılan damarlara tek doz ACh (1 $\mu$ M) uygulanarak damar gevşemeleri kontrol edilmiştir. ACh gevşemelerinin %70 olduğu preparatlar endotel hasarının olmadığı kabul edilerek "endotel bağımlı yanıtverirlik" deneylerine alınmıştır.



17 $\beta$ -estradiolün endotel aracılı gevşeme yanıtverirliliğini incelemek için endotel hasarı olmayan preparatlar tek doz fenilefrin (EC<sub>60</sub>) ile kastırılmıştır. Ardından 17 $\beta$ -estradiolle (0.1 pmol- 0.11 $\mu$ M) kümülatif doz- yanıt verirlilikler değerlendirilmiştir.

17 $\beta$ -estradiolle elde edilen endotel bağımlı gevşemelerin sinyal-ileti mekanizmasındaki değişiklikleri saptamak için damar preparatları selektif olmayan NOS inhibitörü L-NAME (0.1  $\mu$ M) ile 20 dakika inkübe edilmiştir. Ardından preparatlar fenilefrinin EC<sub>60</sub> dozu ile kastırılarak 17 $\beta$ -estradiolle (0.1 pmol- 0.01 $\mu$ M) kümülatif doz-yanıt verirlilikler incelenmiştir. Aorta preparatında farklı östrojen reseptör agonistleri (PPT ve DPN) kullanılarak endotel bağımlı gevşemeleri ve sinyal ileti mekanizmalarındaki değişiklikler de değerlendirilmiştir. Tek doz fenilefrin (EC<sub>60</sub>) ile kastırılan preparatlar ER  $\alpha$ -agonisti PPT (0.1 pmol- 0.1 $\mu$ M) ve ER $\beta$ -agonisti DPN (0.1 pmol- 0.1 $\mu$ M) ile elde edilen gevşeme yanıtları incelenmiştir.

#### 2.4. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analizler

Grup isimleri, kontrol (K), ovariektomize (O) diabetik (D), diabetik ovariektomize (OD), östrojen tedavili ovariektomize (OE), östrojen tedavili diabetik ovariektomize (ODE) olarak kısaltılmıştır. Çalışma sonucu elde edilen bulgular ortalamalar  $\pm$  standart hatalarıyla birlikte gösterilmiştir. Damar yanıtlarının değerlendirilmesinde deney gruplarının birbirinden farklarının istatistiksel analizi, tekrarlanan ölçümler için iki yönlü ANOVA ve sonrasında Student Newman-Keuls ya da Bonferroni-posttestleri uygulanmıştır. İstatistiksel analizler \*P<0.05, \*\*P<0.01 ve \*\*\*P<0.001 anlamlılık düzeylerinde değerlendirilmiştir.

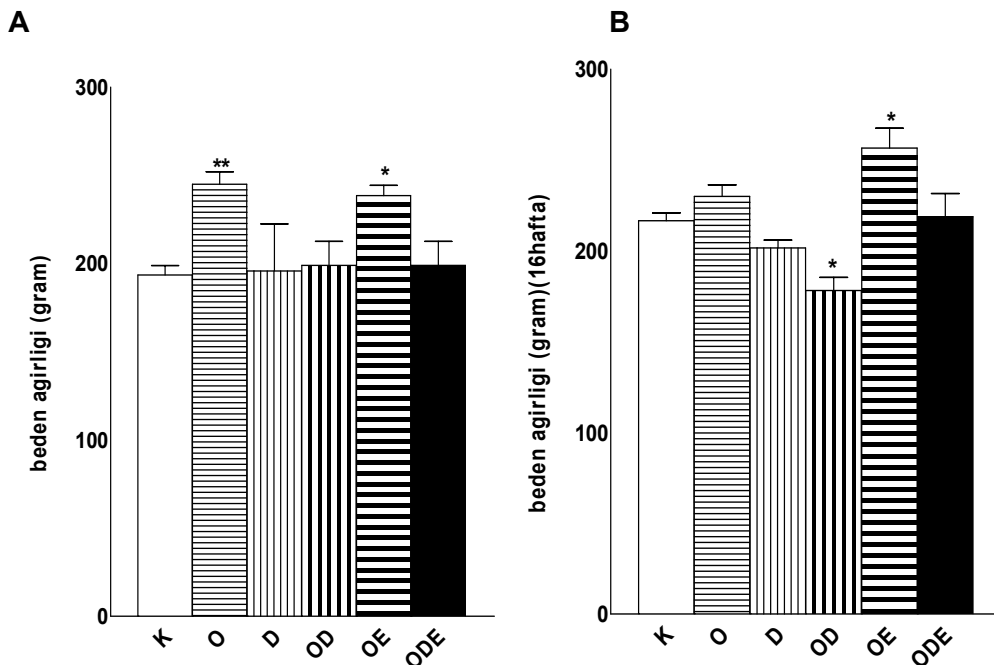
Dokuların, kullanılan agoniste karşı duyarlılığının belirlenmesi amacıyla kümülatif konsantrasyon-yanıt eğrilerine uygulanan doğrusal regresyon analizlerinden pD<sub>2</sub> değerleri hesaplanmıştır. Agonistlerin maksimal gevşeme yanıtları ve agonistlerin pD<sub>2</sub> değerleri arasındaki farkın anlamlılık derecesinin belirlenmesi için tek yönlü ANOVA ve sonrasında Bonferroni-post testi uygulanmıştır. Deney sonuçları istatistiksel analiz ve grafik gösterimleri için Graphpad Prism 5 Demo programı kullanılmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Beden ve Organ Ağırlıkları

##### 3.1.1. Beden ağırlığı

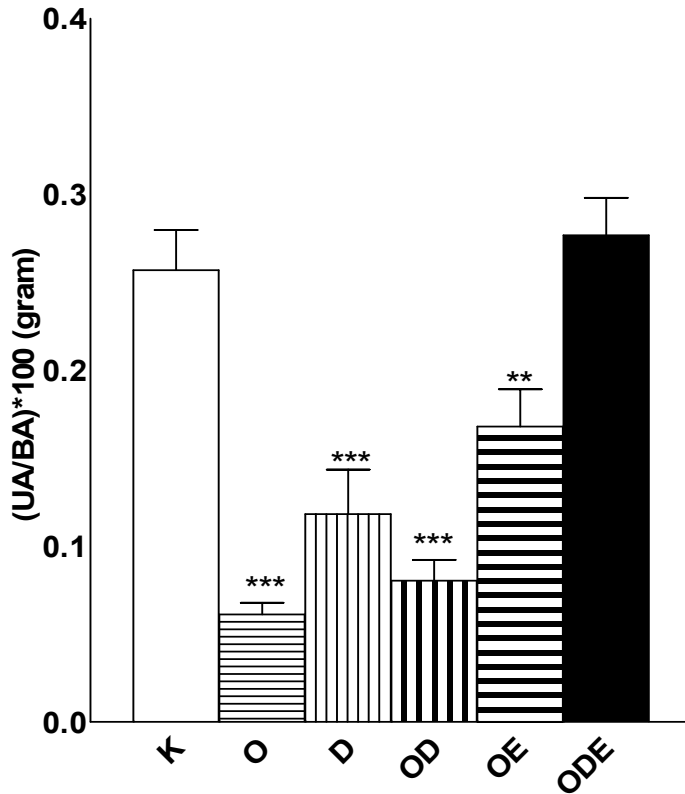
8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve östrojen tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan beden ağırlığı değerleri Şekil 3.2 de gösterilmiştir. K,  $193 \pm 5,5$  (9); O,  $244 \pm 7,2$  (13); D,  $200 \pm 27$  (5); OD,  $199 \pm 14$  (7); OE,  $238 \pm 5,9$  (10); ODE,  $199 \pm 14$  (7). 8 hafta sonunda. ovariectomize ve östrojen tedavili grupların diğer gruplara göre belirgin oranda arttığı saptanmıştır. 16 hafta sonunda ise K,  $216,7 \pm 4,22$  (6); O,  $230 \pm 6,32$  (5); D  $201,6 \pm 4,35$  (7); OD  $178,2 \pm 7,2$  (6); OE  $256,7 \pm 10,85$  (6); ODE  $218,8 \pm 12,91$  (4) 16 hafta sonunda östrojen tedavili ovariectomizeli grubun diğer gruplara göre belirgin oranda arttığı ve ovariectomizeli diabetik grubun diğer gruplara göre belirgin oranda azaldığı saptanmıştır.



**Şekil 3.2** Tüm grupların 8(A) ve 16 (B) hafta sonundaki beden ağırlığı ortalamaları± standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre istatistiksel farklılıklar \*,  $p < 0,5$ , \*\* $p < 0,01$ , derecesinde gösterilmiştir.

### 3.1.2. Uterus ağırlığı

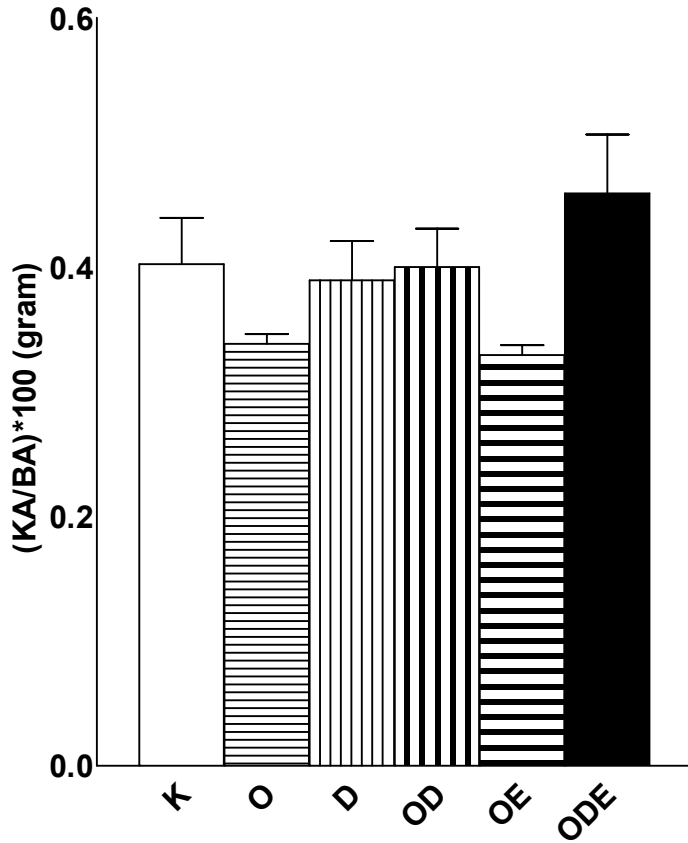
8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve östrojen tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan uterus ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanmasıyla (UA/BA) elde edilen değerler Şekil 3.3 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $0,25 \pm 0,02$  (9); O,  $0,06 \pm 0,005$  (12); D,  $0,09 \pm 0,03$  (5); OD,  $0,08 \pm 0,016$  (7); OE,  $0,1 \pm 0,02$  (10); ODE,  $0,1 \pm 0,05$  (7). 8 hafta sonunda ovariectomize ve östrojen tedavili grupların diğer gruplara göre belirgin oranda arttığı saptanmıştır. Beklendiği gibi ovariectomi yapılan bütün gruplarda UA/BA oranı kontrol gruba göre belirgin olarak azalmıştır. Ancak östrojen tedavili gruplarda UA/BA oranı kontrollere bir ölçüde yaklaşmış olsa da tedavi uterus büyüklüğünü kısmen düzeltmiştir.



**Şekil 3.3** 8 hafta sonunda tüm grupların UA/BA (uterus ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanması) ortalamaları  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre istatistiksel farklılıklar \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  derecesinde gösterilmiştir.

### 3.1.3. Kalp ağırlığı

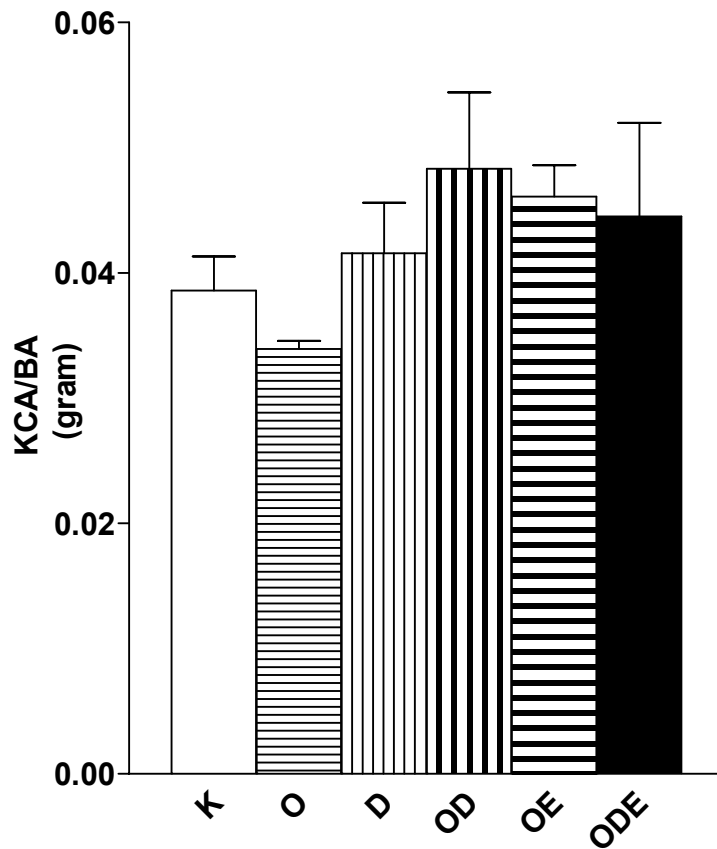
8 hafta sonunda kontrol (K), ovariektomize (O), diabetik (D), ovariektomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariektomize (OE) ve östrojen tedavili ovariektomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kalp ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanmasıyla (KA/BA) elde edilen değerler Şekil 3.4 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $0,40 \pm 0,03(4)$ ; O,  $0,33 \pm 0,005(12)$ ; D,  $0,38 \pm 0,03(5)$ ; OD,  $0,40 \pm 0,016(7)$ ; OE,  $0,33 \pm 0,005(10)$ ; ODE,  $0,46 \pm 0,04(5)$ .



**Şekil 3.4** Tüm grupların 8 hafta sonundaki KA/BA (kalp ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanması)ortalalamaları  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre herhangi bir istatistiksel farklılık gözlenmemiştir.

### 3.1.4. Karaciğer ağırlığı

8 hafta sonunda kontrol (K), ovariektomize (O), diabetik (D), ovariektomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariektomize (OE) ve östrojen tedavili ovariektomize diabetik (ODE) gruplardan alınan karaciğer ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanmasıyla (KCA/BA) elde edilen değerler Şekil 3.5 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $0,03861 \pm 0,0027$  (9); O,  $0,034 \pm 0,00065$  (11); D,  $0,042 \pm 0,0040$  (4); OD,  $0,048 \pm 0,0061$  (6); OE,  $0,046 \pm 0,0025$  (10); ODE,  $0,044 \pm 0,0075$  (7). Gruplar arasında KCA/BA oranlarında istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

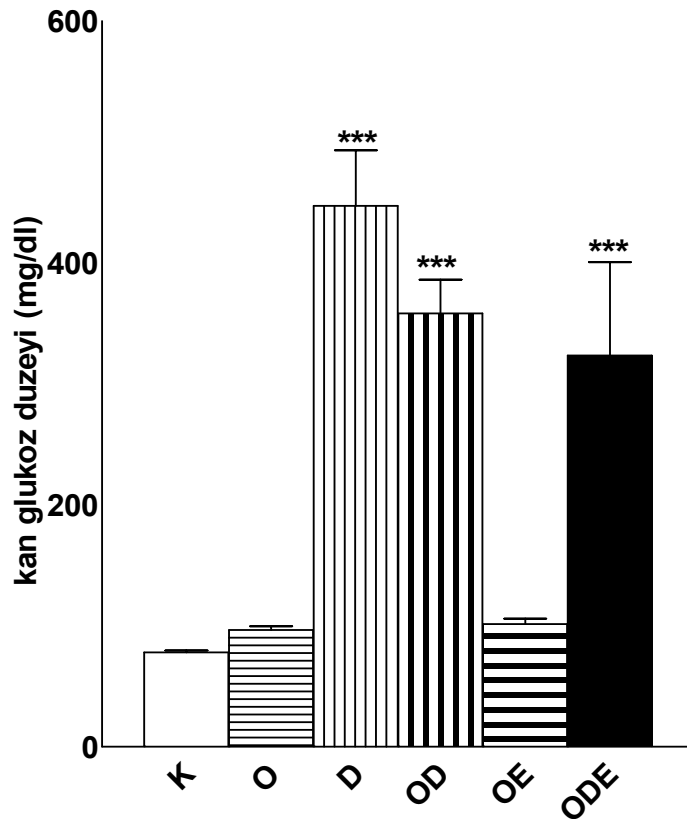


**Şekil 3.5** Tüm grupların 8 hafta sonundaki KCA/BA (karaciğer ağırlıklarının beden ağırlığına oranlanması) ortalamaları  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

## 3.2. Biyokimyasal Bulgular

### 3.2.1. Plazma glukoz düzeyi

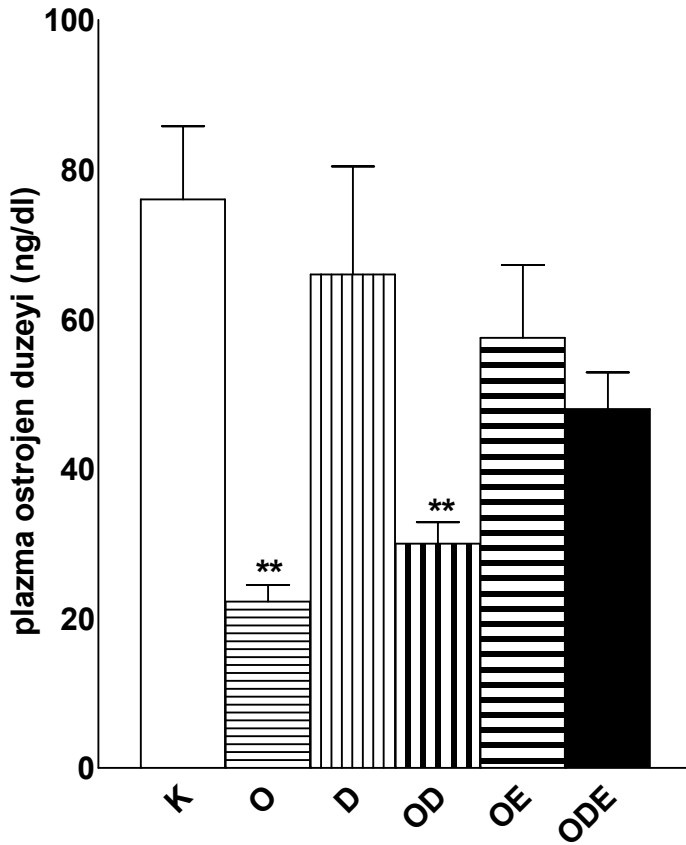
8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve östrojen tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kanlarda Şekil 3.6 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $78 \pm 1.4$  (7); O,  $97 \pm 3.2$  (13); D,  $450 \pm 46$  (5); OD,  $360 \pm 28$  (8); OE,  $100 \pm 4.4$  (10); ODE,  $320 \pm 77$  (6). Diabetik, Ovariectomize diabetik ve östrojen tedavili ovariectomize diabetik grupların plazma glukoz düzeyleri diğer gruplara göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur.



**Şekil 3.6** Tüm grupların plazma glukoz düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre istatistiksel farklılıklar, \*\*\* $p < 0.001$  düzeylerinde gösterilmiştir.

### 3.2.2. Plazma östrojen düzeyi

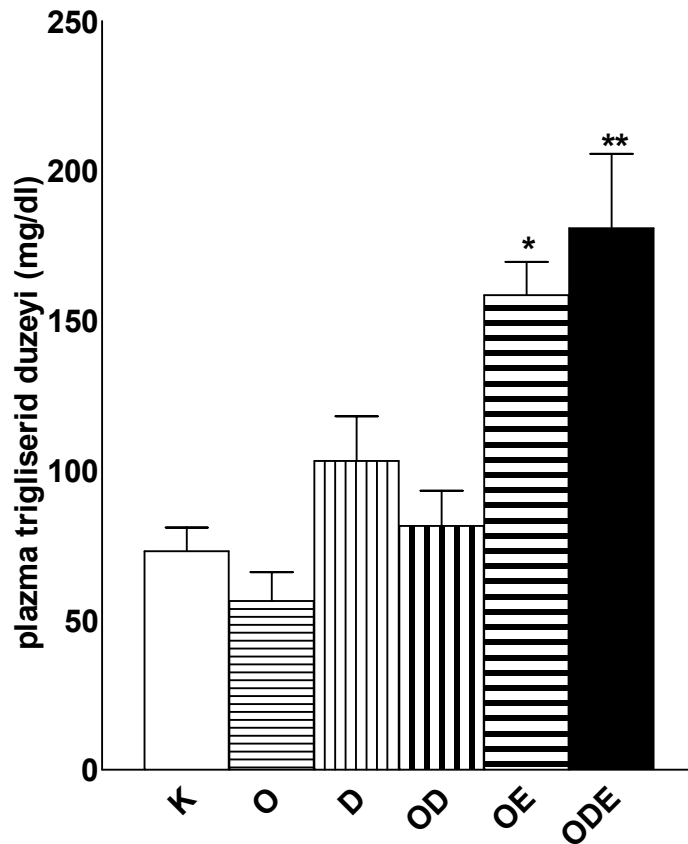
8 hafta sonunda Kontrol (K), Overektomize (O), Diabetik (D), Overektomize diabetik (OD), östrojen tedavili overektomize (OE) ve östrojen tedavili overektomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kanlardan ölçülen östrojen düzeyleri Şekil 3.7 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $76,8 \pm 9,8$  (4); O,  $22,25 \pm 2,25$  (4); D,  $66,0 \pm 14,43$  (4); OD,  $30,0 \pm 2,88$  (5); OE,  $57,5 \pm 9,77$  (4); ODE,  $48 \pm 4,89$  (5). Kontrol, Diabetik ve östrojen tedavili ovariektomize grupların plazma östrojen düzeyleri diğer gruplara göre belirgin olarak yüksek bulunmuştur.



**Şekil 3.7** Tüm grupların plazma estradiol düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre olan istatistiksel farklılıklar  $**p < 0,01$ , düzeylerinde gösterilmiştir.

### 3.2.3. Plazma trigliserid düzeyi

8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve estradiol tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kanlardan ölçülen trigliserid düzeyleri Şekil 3.8 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $73 \pm 7,93(3)$ ; O,  $56,4 \pm 9, (13)$ ; D,  $103,2 \pm 14,89(4)$ ; OD,  $81,4 \pm 11,83(5)$ ; OE,  $158,5 \pm 11,06(4)$ ; ODE,  $180,8 \pm 24,86(5)$ . Östrojen tedavili ovariectomili diabetik grubun plazma trigliserid düzeyleri östrojen tedavisi almayan diğer tüm gruplardan yüksek bulunmuştur. Östrojen tedavili ovariectomili (OE) grubun trigliserid düzeyleri de ovariectomili (O) gruba göre anlamlı olarak artmıştır. Östrojen tedavisi trigliserid düzeylerini arttırmaktadır.

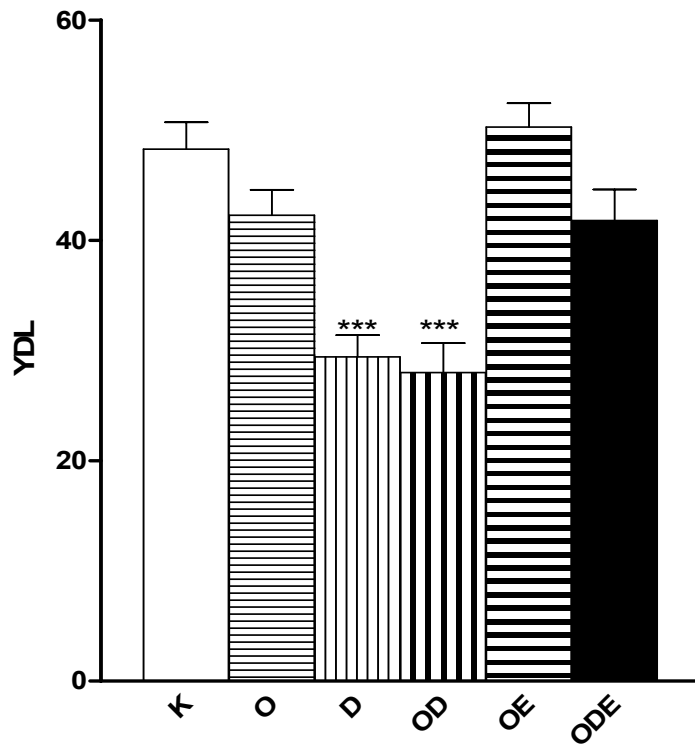


**Şekil 3.8** Tüm grupların plazma trigliserid düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre olan istatistiksel farklılıklar \* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$  düzeylerinde gösterilmiştir



### 3.2.4. Plazma YDL-kolesterol düzeyi

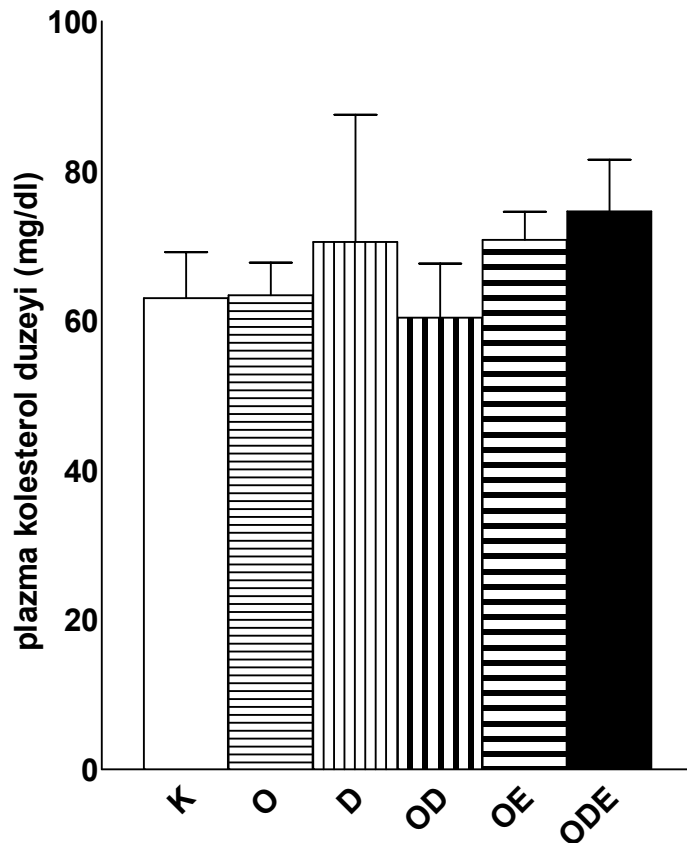
8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve estradiol tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kanlardan ölçülen YDL-kolesteroltrigiliserid düzeyleri Şekil 3.9 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $48.2 \pm 2.42(7)$ ; O,  $42.3 \pm 2.3(7)$ ; D,  $29.4 \pm 1.9(7)$ ; OD,  $28 \pm 2.67(4)$ ; OE,  $50.3 \pm 2.15(7)$ ; ODE,  $41.8 \pm 2.82(7)$ . Östrojen tedavisi almayan diabetik gruplarda (D ve OD grupları) YDL kolesterol düzeyleri diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Ovariectomi YDL-kolesterol düzeyleri üzerinde etkisizdir ve östrodiol tedavisi diabetin neden olduğu YDL-kolesteroldeki düşmeyi hemen hemen kontrol düzeylere getirmektedir.



**Şekil 3.9** Tüm grupların plazma YDL düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre olan istatistiksel farklılıklar  $***p < 0.001$  düzeyinde gösterilmiştir

### 3.2.5. Plazma total kolesterol düzeyi

8 hafta sonunda kontrol (K), ovariectomize (O), diabetik (D), ovariectomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariectomize (OE) ve estradiol tedavili ovariectomize diabetik (ODE) gruplardan alınan kanlardan ölçülen YDL-kolesteroltrigiliserid düzeyleri Şekil 3.10 de gösterilmiştir. Oranlar, Ortalama  $\pm$  SD olarak tanımlanmış ve n sayıları parantez içinde verilmiştir. K,  $63 \pm 6,2(5)$ ; O,  $63 \pm 4,4(5)$ ; D,  $70,50 \pm 17,03(4)$ ; OD,  $60 \pm 7,2(5)$ ; OE,  $71 \pm 3,8(5)$ ; ODE,  $75 \pm 6,9(5)$ . Total kolesterol düzeyleri gruplar arasında istatistiksel farklılık göstermemektedir.



**Şekil 3.10** Tüm grupların plazma total kolesterol düzeyleri ortalama  $\pm$  standart hata olarak gösterilmiştir. Kontrol gruba göre istatistiksel farklılık bulunmamıştır.

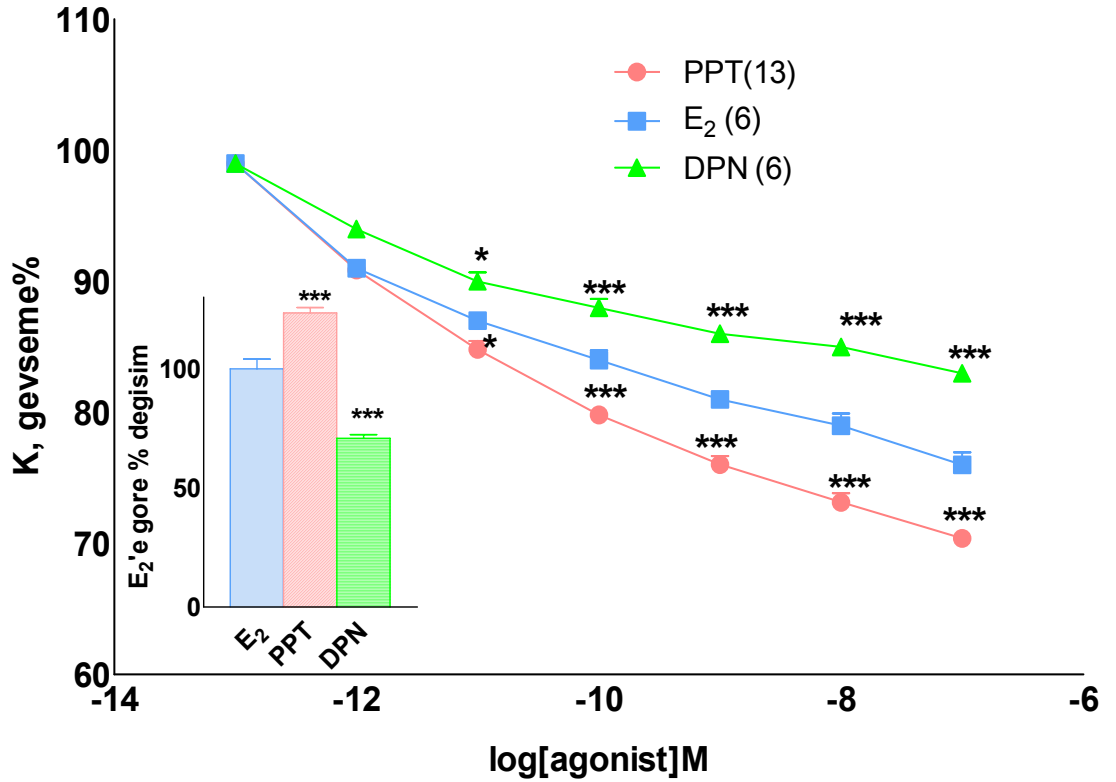
### **3.3. İzole Sıçan Aort Preparatındaki Doz-Yanıtverirlik Deneyleri**

#### **3.3.1. ER $\alpha$ -reseptör agonisti PPT ve ER $\beta$ -reseptör agonisti DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları**

Kontrol (K), ovariektomize (O), diabetik (D), ovariektomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariektomize (OE) ve östrojen tedavili ovariektomize diabetik (ODE) sıçanlardan alınan aortik preparatlarda tek doz fenilefrinle kastırılıp PPT ve DPN ile gevsetilmiştir. PPT ve DPN' nin gevşeme yanıtları 17 $\beta$  estradiolle birlikte verilerek doğal agoniste göre üstünlüklerinin olup olmadığı değerlendirilmiştir. Her grupta 3 agonistin gevşeme profillerinin istatistikleri 17 $\beta$  estradiol ve PPT'ye göre karşılaştırılmıştır. Öte yandan 17 $\beta$  estradiol tedavisinin değişen yanıtverirlikleri ne ölçüde etkilediği de değerlendirilmiştir. Böylece hem tedavinin etkinliği hem de agonistlerin üstünlüğü ile ilgili sonuçlar birbirlerine veya doğal agoniste göre üstünlükleri değerlendirebileceğimiz veriler elde edilmiştir.

### 3.3.1.1. Kontrol gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları

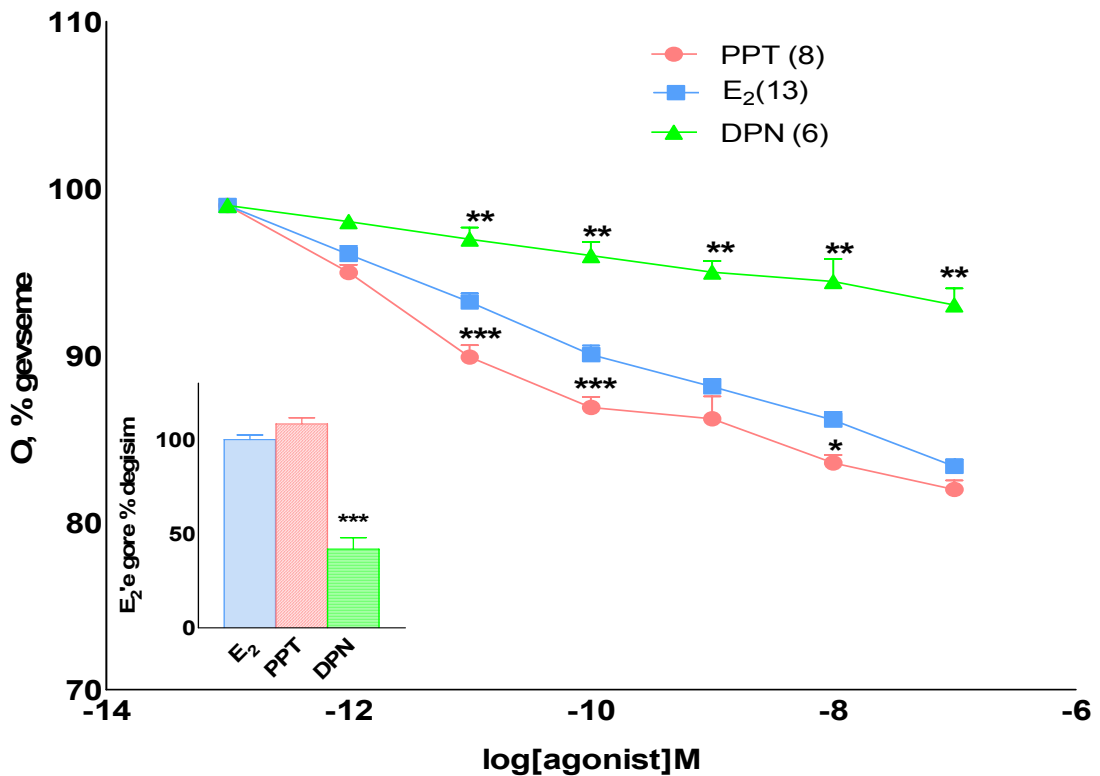
Fenilefrinle kastırılan aort preparatında ER $\alpha$ - agonisti PPT ve ER $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.11' de gösterilmiştir Sırasıyla % maksimal yanıt verirlilik olarak bulunmuştur. Değerleri K, 24 $\pm$ 0,96, K-PPT 29,62 $\pm$ 0,54 ve K-DPN 17 $\pm$ 0.36. Doğal agonistin verdiği maksimal yanıtı göre diğer agonistlerin oluşturduğu yanıtverirlilikler doz-yanıt grafiğine gömülmüştür (bar grafikleri). Birçok dozda PPT ile elde edilen gevşemenin hem doğal agoniste hem de DPN'ye göre belirgin olarak daha fazla olduğu bulunmuştur. Kontrol aortasında PPT'nin en fazla (% 123.4 $\pm$  3) DPN'nin (%70.83 $\pm$ 1.52) ise en az yanıt oluşturan agonist olduğu saptanmıştır.



**Şekil 3.11** Kontrol aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri. Grup isimlerinin yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. \*p< 0.5, \*\*\* p<0.001; Kontrol gruba göre farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.1.2. Ovariectomize gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları

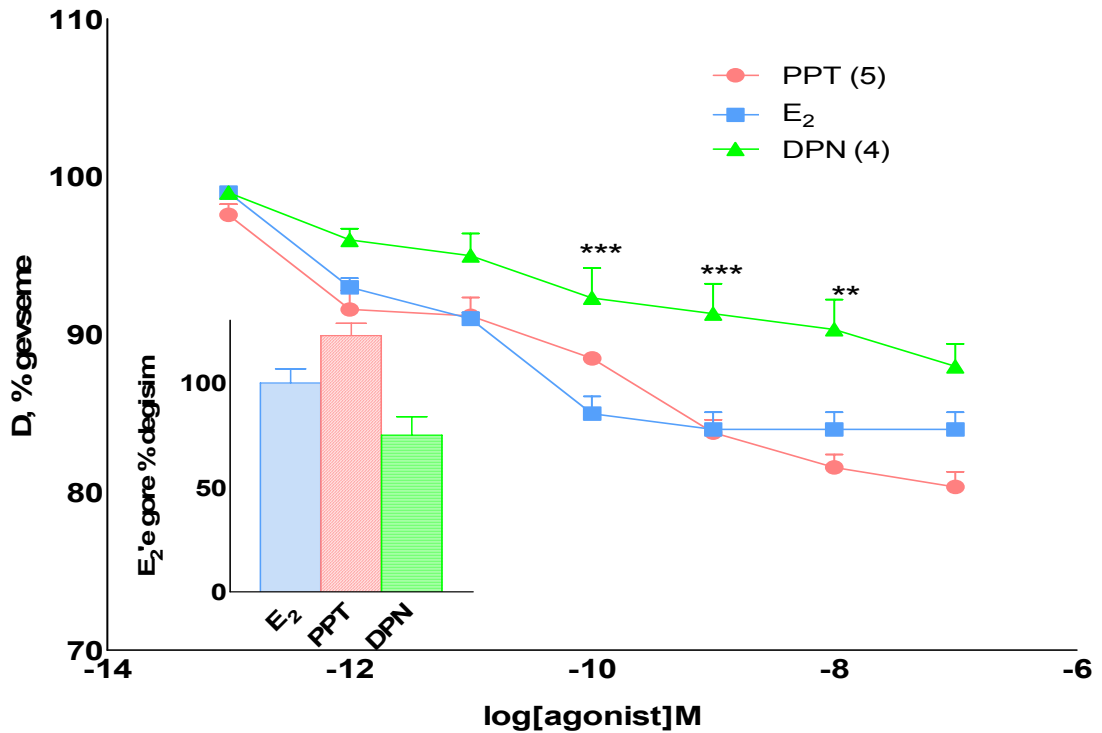
Fenilefrinle kastırılan ovariectomize aort preparatında ER $\alpha$ - agonisti PPT ve ER $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.12' de gösterilmiştir. Sırasıyla % maksimal yanıt verirlilik değerleri, O, 16,6 $\pm$ 0,42, O-PPT 18 $\pm$ 0,53 ve O-DPN 6,7 $\pm$ 1.0. Doğal agonistin verdiği maksimal yanıtla göre diğer agonsitlerin oluşturduğu yanıtverirlilikler doz-yanıt grafiğine gömülmüştür (bar grafikleri). Beklendiği gibi ovariectomize gruptan elde edilen maksimal gevşeme yanıtlarının kontrollere göre yarı yarıya azaldığı belirlenmiştir. Öte yandan, PPT (% 108.3 $\pm$ 3.23) ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtları doğal agoniste göre belirgin farklılık göstermemektedir. DPN (%58,17 $\pm$ 6.02) ile elde edilen maksimal yanıt ise doğal agoniste göre belirgin oranda azalmıştır.



**Şekil 3.12** Ovariectomize grubun aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri. Grup isimleri yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001; Kontrol gruba göre farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.1.3. Diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları

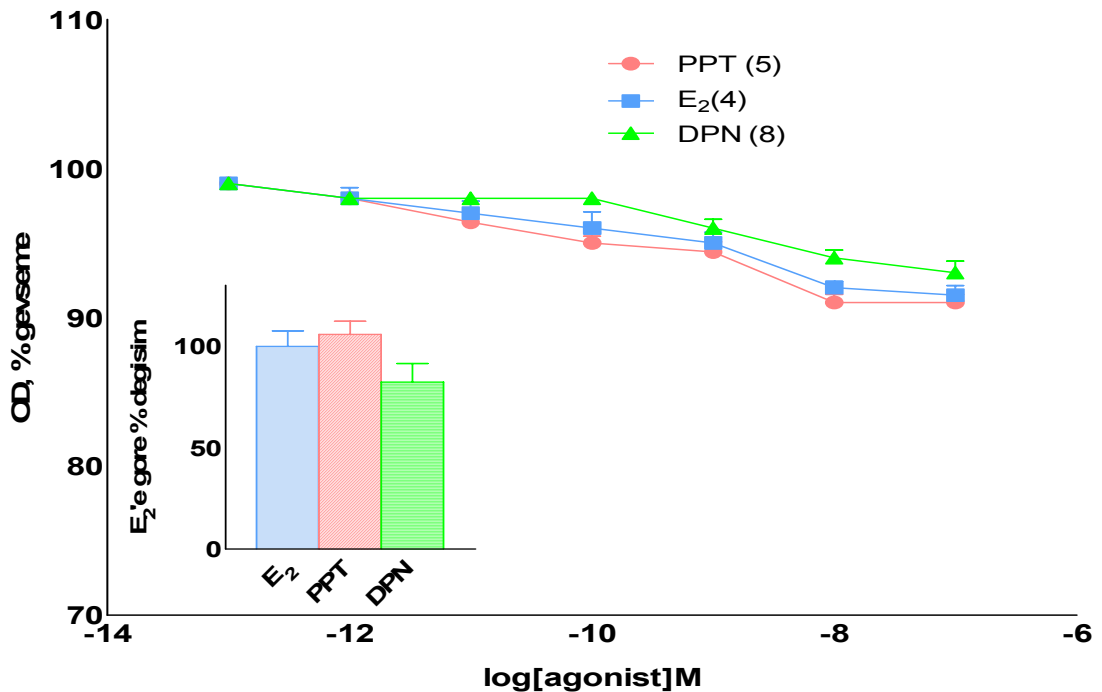
Fenilefrinle kastırılan diabetik preparatlarda ER $\alpha$ - agonisti PPT ve Er $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.13' de gösterilmiştir. Sırasıyla % maksimal yanıt verirlilik değerleri, D, 16,0 $\pm$ 1.08, D-PPT 19,64 $\pm$ 0,94 ve D-DPN 12,0 $\pm$ 1.41. Doğal agonistin verdiği maksimal yanıtı göre diğer agonistlerin oluşturduğu yanıtverirlilikler olarak doz-yanıt grafiğine gömülmüştür (bar grafikleri). Diabetik grupta da maksimal gevşeme yanıtları kontrollere oranla yarı yarıya azalmıştır. Öte yandan, PPT (%122.7 $\pm$  5.89) ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtları doğal agoniste göre bir ölçüde artmış görünse de bu artış istatistiksel bir anlamlılık göstermemektedir. DPN' nin (%75 $\pm$ 8.84) bu grupta da en az gevşeme oluşturan agonist olduğu saptanmıştır.



**Şekil 3.13** Diabetik aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri. Grup isimlerinin yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. \*\*p<0.01, \*\*\* p<0.001; Kontrol gruba göre farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.1.4. Ovariectomize diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları

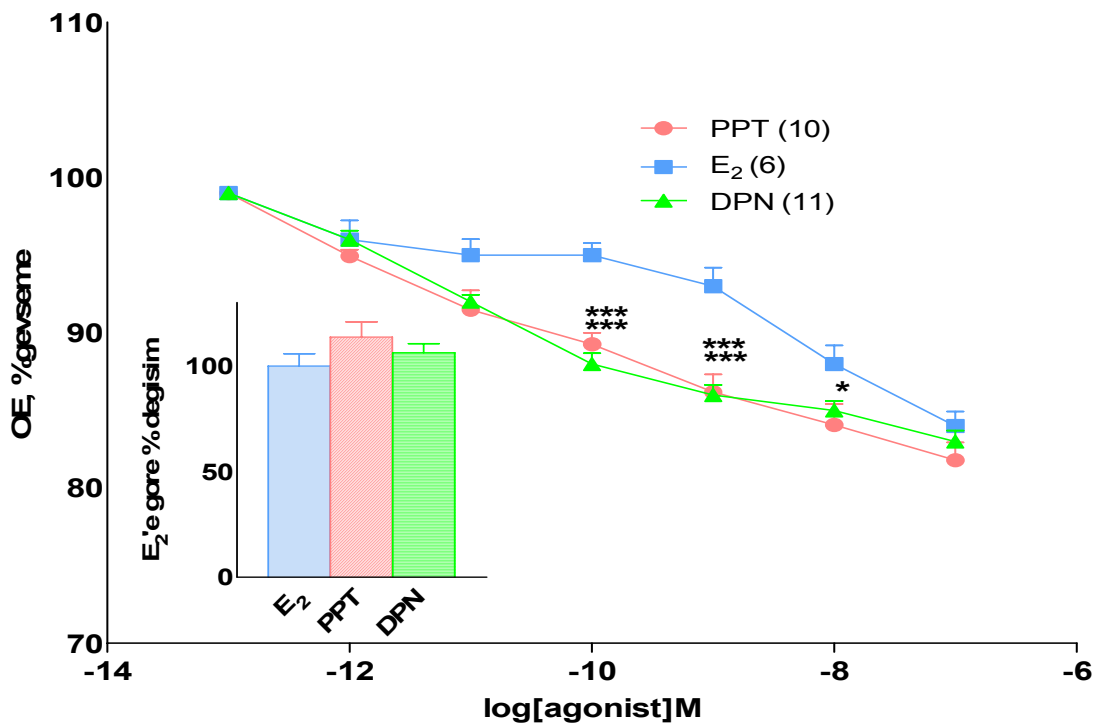
Fenilefrinle kastırılan ovariectomize diabetik grubun aort preparatında ER $\alpha$ - agonisti PPT ve ER $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.14' de gösterilmiştir Sırasıyla %maksimal yanıt verirlilik değerleri, OD, 8,5 $\pm$ 0.64 , OD-PPT 9,0 $\pm$ 0,5 ve OD-DPN 7,0 $\pm$ 0.78. Doğal agonistin verdiği maksimal yanıtı göre diğer agonistlerin oluşturduğu yanıtverirlilikler doz-yanıt grafiğine gömülmüştür (bar grafikleri). OD grupta maksimal gevşeme yanıtları K' ye oranla belirgin olarak; O ya da D grubuna göre ise yarı yarıya azaldığı saptanarak ovariectomi ve diabetin birlikte bulunması gevşeme yanıtlarının bozulması açısından sinerjistik bir etki oluşturmuştur. Öte yandan, DPN ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtları PPT' ye göre bazı dozlarda istatistiksel olarak farklı bulunsa da her üç agonistin birbirlerine göre belirgin bir üstünlüğü bulunmamaktadır. PPT (105.9 $\pm$ 6.44) ve DPN (82.35 $\pm$ 9.17)).



**Şekil 3.14** Ovariectomize Diabetik grupların aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri. Grup isimlerinin yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. K- grubuna göre farklılıklar bulunmamaktadır

### 3.3.1.5. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırılan gevşeme yanıtları

Fenilefrinle kastırılan 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize grubun aort preparatında ER $\alpha$ - agonisti PPT ve ER $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.15 de gösterilmiştir Sırasıyla % maksimal yanıt verirlilik değerleri, OD, 16 $\pm$ 0.93, OD-PPT 18,20 $\pm$ 1,14 ve OD-DPN 17,0 $\pm$ 0.71. PPT (113.8 $\pm$ 7.16) ve DPN (106.3 $\pm$ 4.46) maksimal yanıtları doğal agoniste göre farklılık göstermemektedir (Bar grafikleri). Tedaviden sonra PPT ve 17 $\beta$  estradiol yanıt verirliliklerinin tedavi edilmemiş O grubuna göre neredeyse aynı düzeyde olduğu bulunmuştur. Öte yandan DPN ile elde edilen maksimal gevşeme yanıtı, kontrollerde DPN ile elde edilen yanıtlar aynı düzeydedir. Ne var ki, DPN kontrollerde en az yanıtı oluşturan agonist olduğundan tedavi edilen ovariektomize grupta DPN yanıtındaki düzelme diğer agonistler gözönüne alındığında önemli bir etkinlik oluşturmamaktadır.

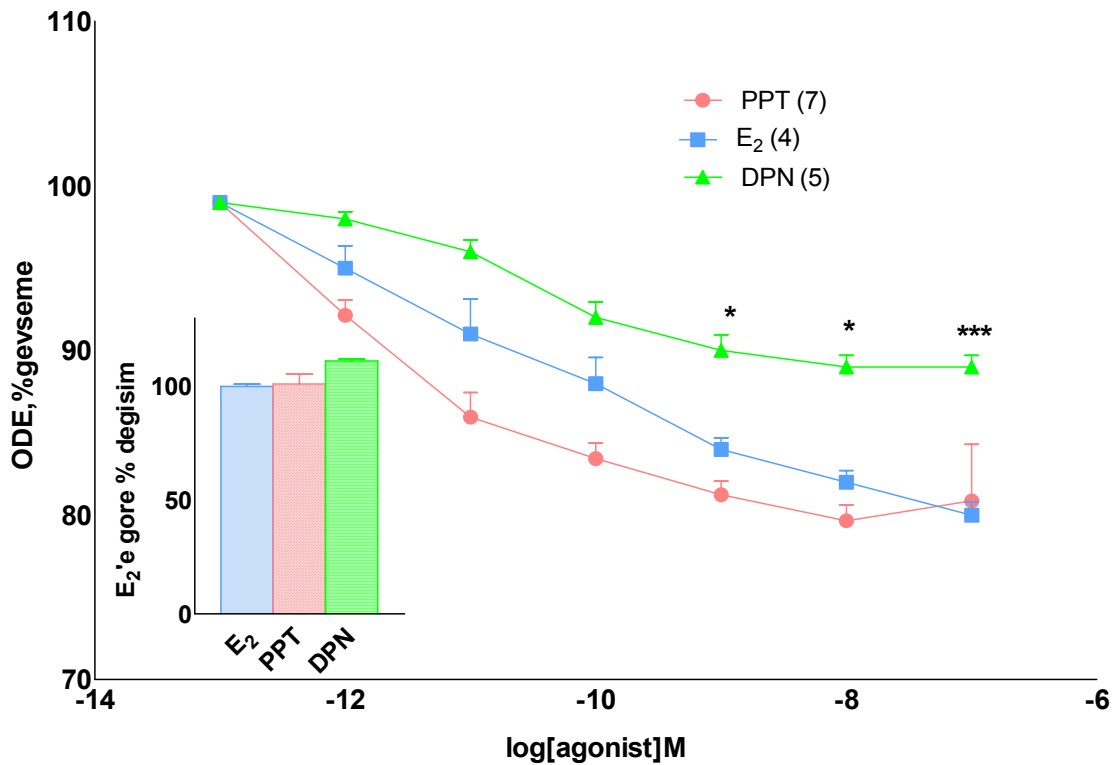


**Şekil 3.15** 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize grubun aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri. Grup isimlerinin yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. \*\*\*p<0.001; Kontrol gruba göre farklılıkları göstermektedir.



### 3.3.1.6. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize diabetik gruplarda PPT ve DPN'nin 17 $\beta$ estradiolle karşılaştırmalı gevşeme yanıtları

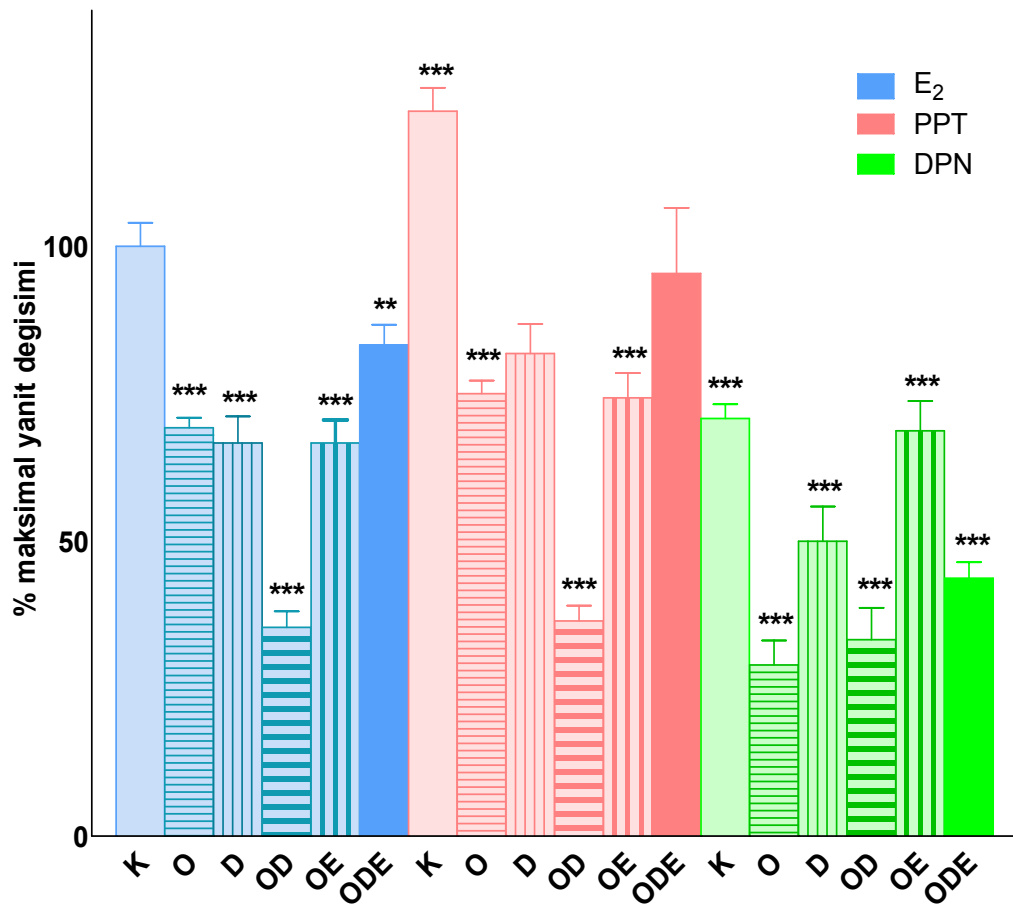
Fenilefrinle kastırılan 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize diabetik grubun aort preparatında ER $\alpha$ -agonisti PPT ve Er $\beta$ - agonisti DPN ile elde edilen kümülatif doz-yanıt eğrileri Şekil 3.16' da gösterilmiştir Sırasıyla maksimal yanıt verirlilikler, ODE 20 $\pm$ 0.816, ODE-PPT 19,14 $\pm$ 3,4 ve ODE-DPN 10,6 $\pm$ 1.22. Doğal agoniste göre PPT (101.1 $\pm$ 4.29) ve DPN (113.1 $\pm$ 0.88)'nin oluşturduğu maksimal yanıtverirlikler arasında farklılık yoktur (bar grafikleri). Tedavi sonrasında ODE grubunda 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN ile elde edilen yanıtverirlikler tedavi edilmeyen O ve D gruplarına göre belirgin farklılık göstermemektedir.



**Şekil 3.16** 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize diabetik grubun aort preparatında 17 $\beta$  estradiolle göre PPT ve DPN ile elde edilen gevşemelere ilişkin doz-yanıt eğrileri Grup isimlerinin yanındaki parantezler (n) sayısını göstermektedir. \*p< 0.5, \*\*\*p<0.001; Kontrol gruba göre farklılıkları göstermektedir.

### 3.3.2. ER'ler agonistleri 17 $\beta$ estradiol, PPT, DPN aracılı gevşemeler

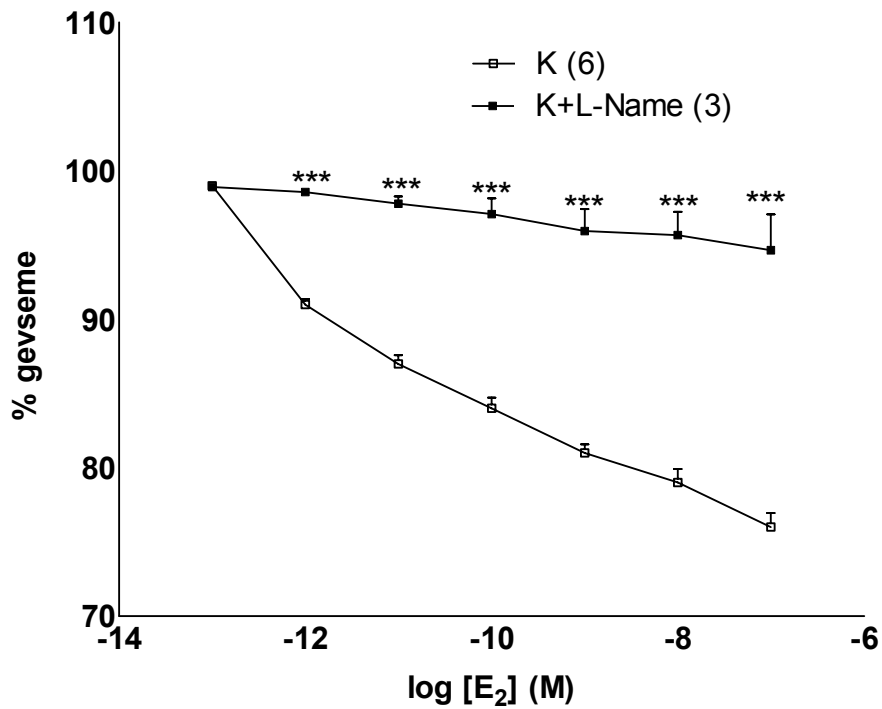
Kontrol (K), ovariektomize (O), diabetik (D), ovariektomize diabetik (OD), östrojen tedavili ovariektomize (OE) ve östrojen tedavili ovariektomize diabetik (ODE) sıçanlardan alınan aortik preparatlarda tek doz fenilefrinle kastırılıp Er $\alpha$  $\beta$  agonisti 17 $\beta$ -estradiol, Er $\alpha$  agonisti-PPT ve Er $\beta$  agonisti DPN ile gevşetilmiştir. Er $\alpha$  $\beta$  agonisti 17 $\beta$ -estradiol oluşturan yüzde maksimal aortik gevşemeler yüz olarak kabul edilmiştir. PPT ve DPN oluşturan yüzde maksimal aortik gevşemeler 17 $\beta$ -estradiole göre oranlanarak Şekil 3.17'de gösterilmiştir. Her grup kendisi içerisinde karşılaştırılmıştır. Yüzde maksimal aortik gevşemeler ortalama  $\pm$  standart hata olarak sırasıyla K;; % 24 $\pm$ 0.96, O; %16.6 $\pm$ 0.42; D; %16 $\pm$ 1.08, %OD; 8.5 $\pm$ 0.44, OE, %16 $\pm$ 0.93, ODE, %20 $\pm$ 0.82. K grubunda PPT oluşturan gevşeme 17 $\beta$ -estradiolle oluşturulan gevşemeye göre %20 oranında daha fazla, DPN de %15 oranında az oluşmuştur. O grubunda PPT ve 17 $\beta$ -estradiol yaklaşık K 17 $\beta$ -estradiol grubuna göre %30 azalmada benzerlik göstermiştir ve DPN ile oluşan gevşeme %65 oranında azalmıştır. D grubunun maksimal gevşemeleri 17 $\beta$ -estradiol K'ye oranla yaklaşık % 25; PPT, 17 $\beta$ -estradiol ve DPN ile %50 oranında azalmıştır. OD grubunda K'e oranla 17 $\beta$ -estradiol, PPT ve DPN ile %65 oranda maksimal azalma gözlenmiştir. Ovariektomize dişi sıçanlarına uygulanan östrojen tedavisinden sonra yanitlar K düzeyine dönmemiştir, selektif ve non selektif agonistler kendi aralarında benzerlik göstermiştir. ODE K'ye göre %10;17 $\beta$ -estradiol, %5; PPT %50 DPN oranında azalmıştır.



**Şekil 3.17** Tüm gruplardan alınan aortik preparatları  $\alpha_1$  reseptör agonisti fenilefrinle kastırılarak ER  $\alpha$  ve  $\beta$ -reseptör agonisti  $17\beta$  estradiol, ER  $\alpha$  agonisti -PPT ve ER $\beta$ - reseptör agonisti -- DPN (0.1 pmol-0.1  $\mu$ M) gevşemeleri incelenmiştir. Maksimal bir doza verilen gevşeme yanıtı ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiştir.  $17\beta$  estradiol göre her grupta kendi içerisinde oluşan istatistiksel farklılıklar \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  düzeylerinde gösterilmiştir.

### 3.3.3. Kontrol grubunda L-NAME varlığında 17 $\beta$ estradiol gevşemeleri

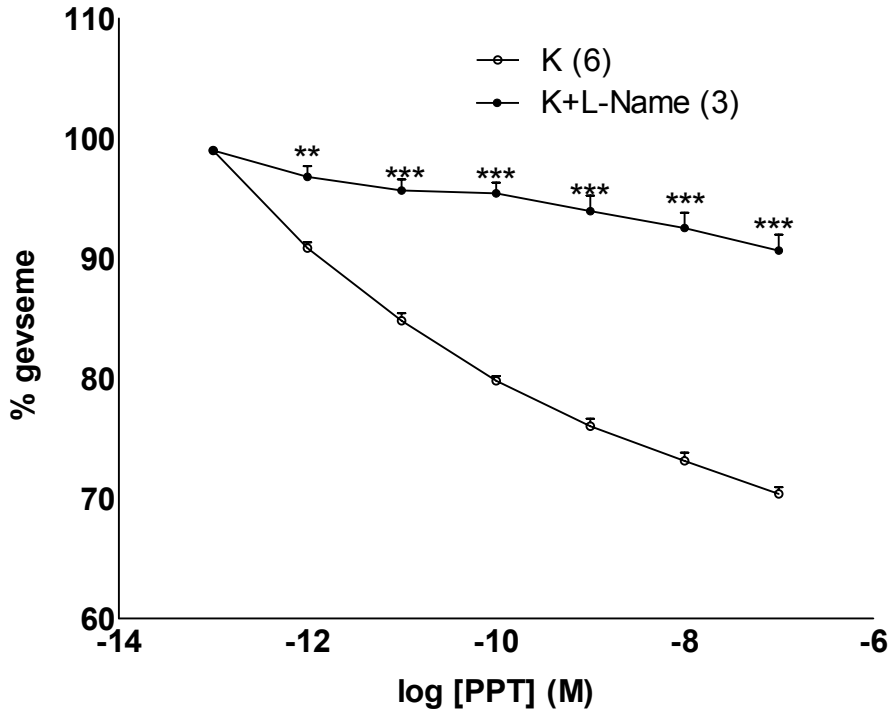
17 $\beta$  estradiolün damar endotelinde nitrik oksit aracılı gevşeme mekanizmasını gösterebilmek için kontrol sıçan aortik preparatları 20 dakika L-NAME (0.1  $\mu$ M) ile inkübe edilmiş ve tek doz fenilefrinle kastırılıp 17 $\beta$  estradiolle gevsetilmiştir. Maksimal aortik gevşemeler sırasıyla K; % 24  $\pm$  0.96, K-L-NAME, %5.26  $\pm$  2.033. L-NAME inkübasyonu sonrasında kontrol gruplardaki gevşemelerin yaklaşık %80 inin ortadan kaybolması 17 $\beta$  estradiolün gevşemelerinin aortik preparatlarda NO aracılı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir.



**Şekil 3.18** Kontrol aortik preparatlarda 17 $\beta$  estradiolle L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar \*\*\*p<0.001 düzeyinde gösterilmiştir.

### 3.3.4. Kontrol grubunda L-NAME varlığında PPT gevşemeleri

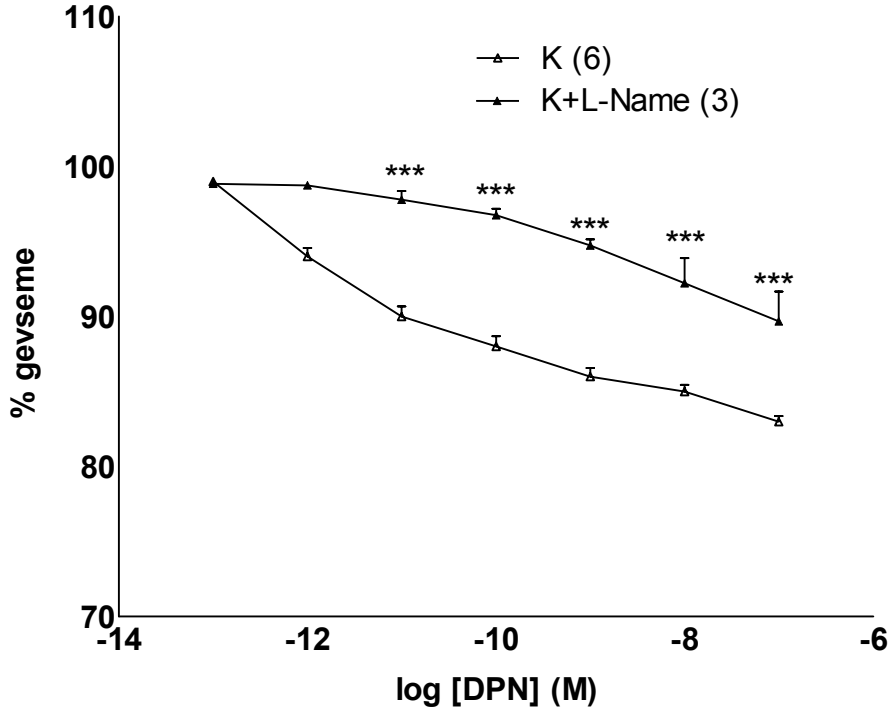
PPT damar endotelinde nitrik oksit aracılı gevşeme mekanizmasını gösterebilmek için kontrol sıçan aortik preparatları 20 dakika L-NAME (0.1  $\mu$ M) ile inkübe edilmiş ve tek doz fenilefrinle kastırılıp PPT ile gevşetilmiştir. Maksimal aortik gevşemeler sırasıyla K; % 29.22  $\pm$  0.96, K-L-NAME, %9.57  $\pm$  1.70 L-NAME inkübasyonu sonrasında kontrol gruplardaki gevşemelerin yaklaşık %80 inin ortadan kaybolması PPT gevşemelerinin aortik preparatlarda NO aracılı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir.



**Şekil 3.19** Kontrol aortik preparatlarda PPT ile L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  düzeylerinde gösterilmiştir.

### 3.3.5. Kontrol grubunda L-NAME varlığında DPN gevşemeleri

DPNnin damar endotelinde nitrik oksit aracılı gevşeme mekanizmasını gösterebilmek için kontrol sıçan aortik preparatları 20 dakika L-NAME (0.1  $\mu$ M) ile inkübe edilmiş ve tek doz fenilefrinle kastırılıp DPN ile gevsetilmiştir. Maksimal aortik gevşemeler sırasıyla K; %  $17.00 \pm 0.36$ , K-L-NAME, %  $10.32 \pm 1.99$  L-NAME inkübasyonu sonrasında kontrol gruplardaki gevşemelerin yaklaşık %50 inin ortadan kaybolması DPN gevşemelerinin aortik preparatlarda NO aracılı olarak gerçekleştiği gösterilmiştir.

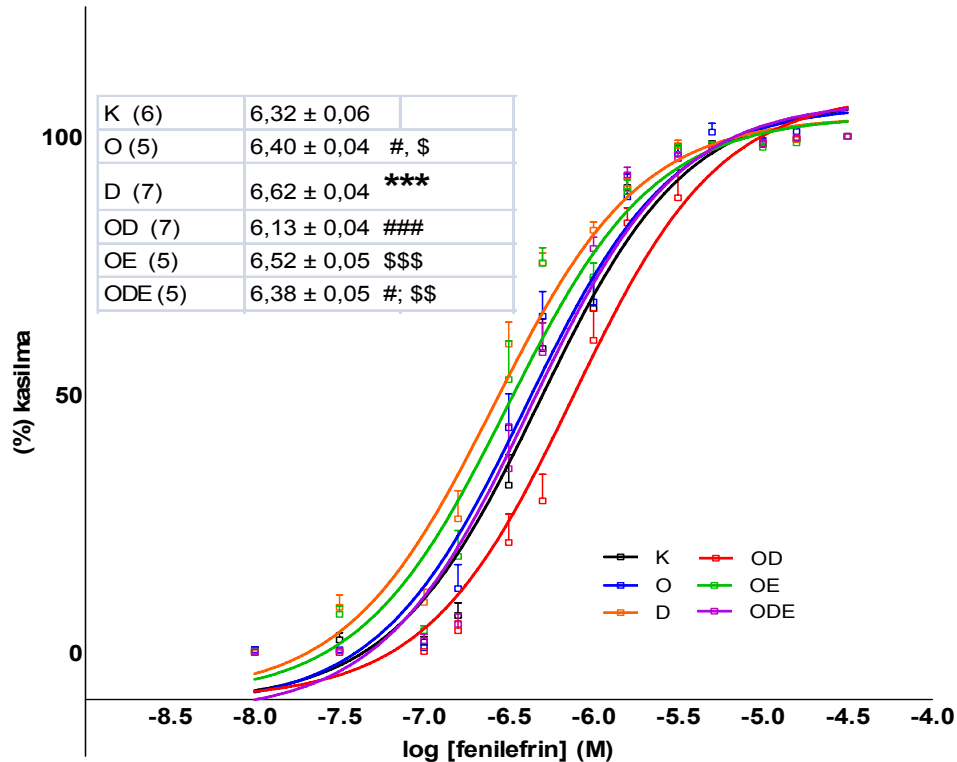


**Şekil 3.20** Kontrol aortik preparatlarda DPN L-NAME inkübasyonu öncesi ve sonrasında elde edilen % gevşemeler. Gruplar arasındaki istatistiksel farklılıklar \*\*\* $p < 0.001$  düzeyinde gösterilmiştir.

### 3.4. İzole Sıçan Mezenterik Arter Preparatındaki Doz-Yanıtverirlilik Deneyleri

#### 3.4.1. Mezenterik arterde fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri

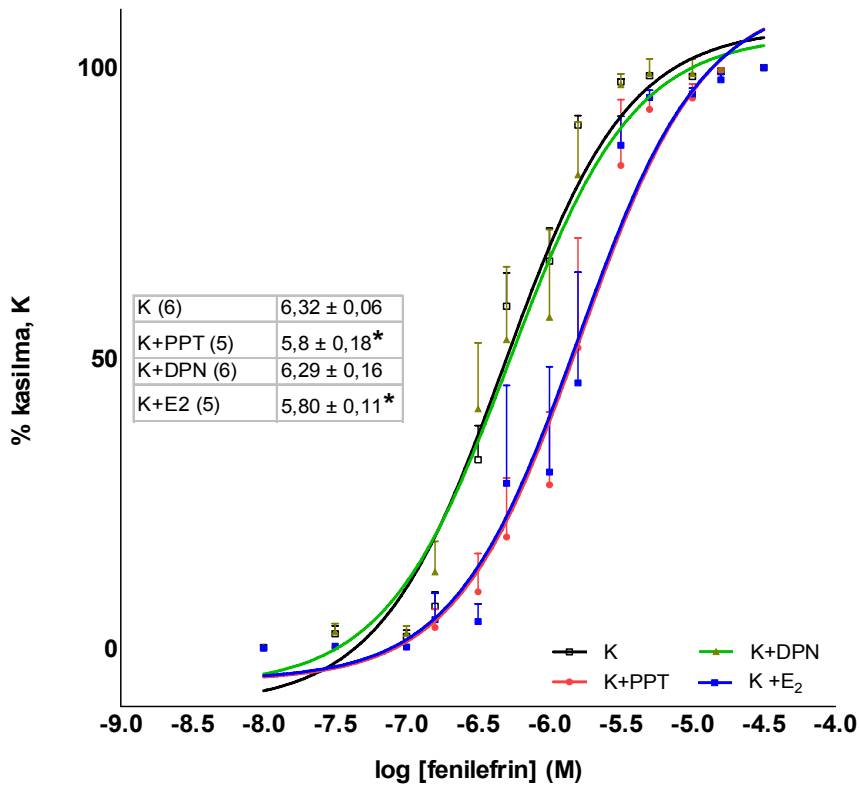
Bütün grupların mezenter arter preparatlarındaki  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle kümülatif doz-yanıt verirlilikleri incelenmiştir Şekil 3.21 Diabetik grubun doz-yanıt eğrisinin sola doğru ( $pD_2$ :Diabet, 6.62; Kontrol, 6, 32) belirgin olarak kaydığı bulunmuştur. Diabetik ovariectomize grubun doz-yanıt eğrisinin ise belirgin olarak sağa doğru kaydığı (6.13) ve  $17\beta$  estradiol tedavisi sonrasında ise bu kaymanın düzeldiği saptanmıştır (6.38). Ovariectomize grubun doz-yanıt eğrisi sola doğru belirgin bir kayma göstermese de (6.40)  $17\beta$  estradiol tedavisi sonrasında bu kaymanın belirginleştiği belirlenmiştir (6.52).



**Şekil 3.21** Mezenter arter preparatında  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri. Fenilefrine ilişkin  $pD_2$  değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrol (\*), diabet (#) ve diabetik-ovariectomize gruba (\$) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri \* $p < 0.5$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.00$ , 1 şeklinde belirtilmiştir.

### 3.4.1.1. Kontrol grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri

Kontrol grubun mezenter arter preparatları 0.1 $\mu$ M' ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN'le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlilikleri incelenmiştir **Şekil 3.22**. İnkübasyon sonrasında 17 $\beta$  estradiol ve PPT doz-yanıt eğrileri belirgin olarak sağa kayarken maksimal yanıtverirlilikler arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. 17 $\beta$  estradiol ve PPT inkübasyonu ile elde edilen fenilefrin doz-yanıt eğrilerinin pD<sub>2</sub> değerlerinin kontrollere göre istatistiksel olarak farklı olduğu bulunmuştur.

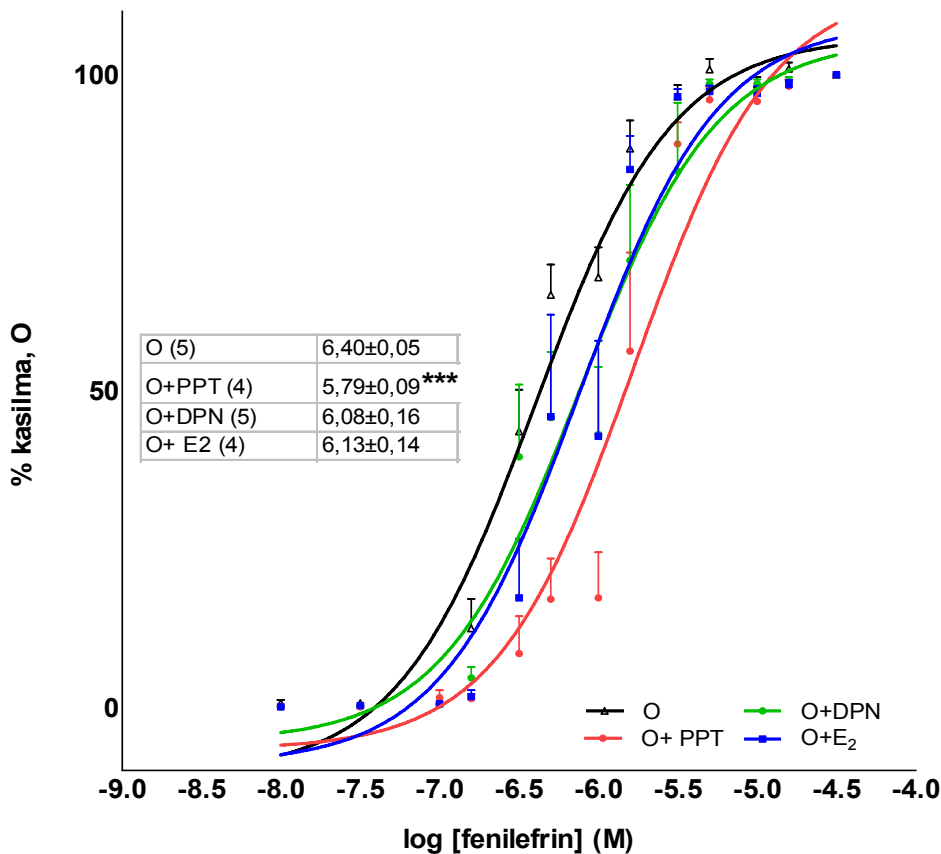


**Şekil 3.22** Kontrol mezenter arter preparatında 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin pD<sub>2</sub> değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistiyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri \*p<0.5, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.00, 1 şeklinde belirtilmiştir.



### 3.4.1.2. Ovariectomize grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz yanıt verirlilikleri

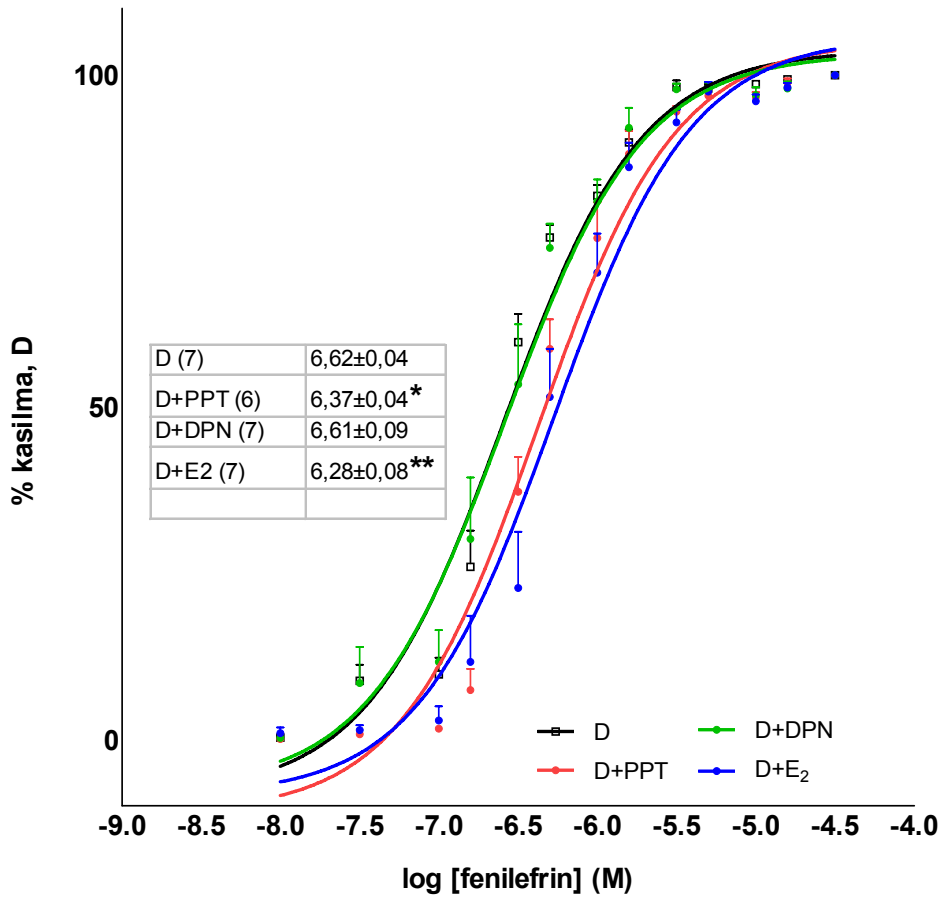
Ovariectomize grubun mezenter arter preparatları 0.1 $\mu$ M'ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN' le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlilikleri incelenmiştir **Şekil 3.23**. İnkübasyon sonrasında PPT doz-yanıt eğrisi belirgin olarak sağa kayarken maksimal yanıtverirlilikler arasında herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. PPT varlığında fenilefrin doz-yanıt eğrilerinin pD<sub>2</sub> değeri kontrollere göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. 17 $\beta$  estradiol ve DPN varlığında elde edilen pD<sub>2</sub> değerleri arasında ise kontrollere göre farklılık saptanmamıştır.



**Şekil 3.23** Ovariectomize mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ M' ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin pD<sub>2</sub> değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistiyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri \*p<0.5, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.00, 1 şeklinde belirtilmiştir.

### 3.4.1.3. Diabetik grupta $17\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıt verirlilikleri

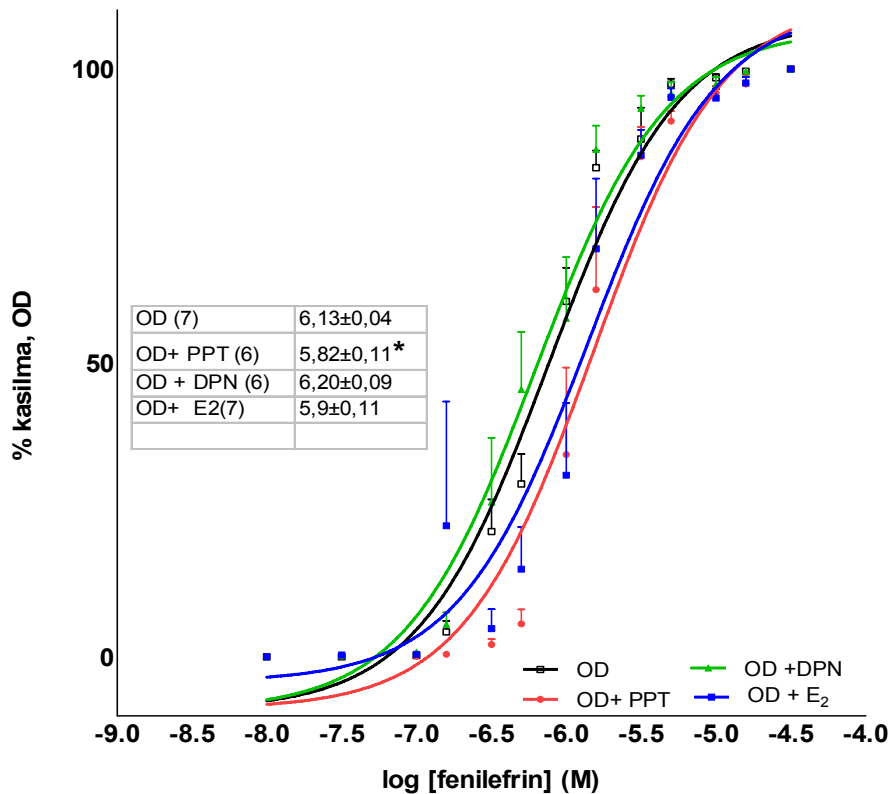
Diabetik grubun mezenter arter preparatları  $0.1\mu\text{M}$ ' ar  $17\beta$  estradiol, PPT ve DPN' le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlilikleri incelenmiştir **Şekil 3.24**. İnkübasyon sonrasında  $17\beta$  estradiol ve PPT doz-yanıt eğrisi belirgin olarak sağa kayarken maksimal yanıtverirlilikler arasında bir farklılık gözlenmemiştir.  $17\beta$  estradiol ve PPT varlığında fenilefrin doz-yanıt eğrilerinin  $\text{pD}_2$  değerleri kontrollere göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. DPN varlığında elde edilen  $\text{pD}_2$  değerleri ise kontrolere göre farklılık göstermemiştir.



**Şekil 3.24** Diabetik mezenter arter preparatında  $0.1\mu\text{M}$ ' ar  $17\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin  $\text{pD}_2$  değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri  $*p < 0.5$ ,  $**p < 0.01$ , şeklinde belirtilmiştir.

### 3.4.1.4. Ovariectomize diabetik grupta $17\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz yanıt verirlilikleri

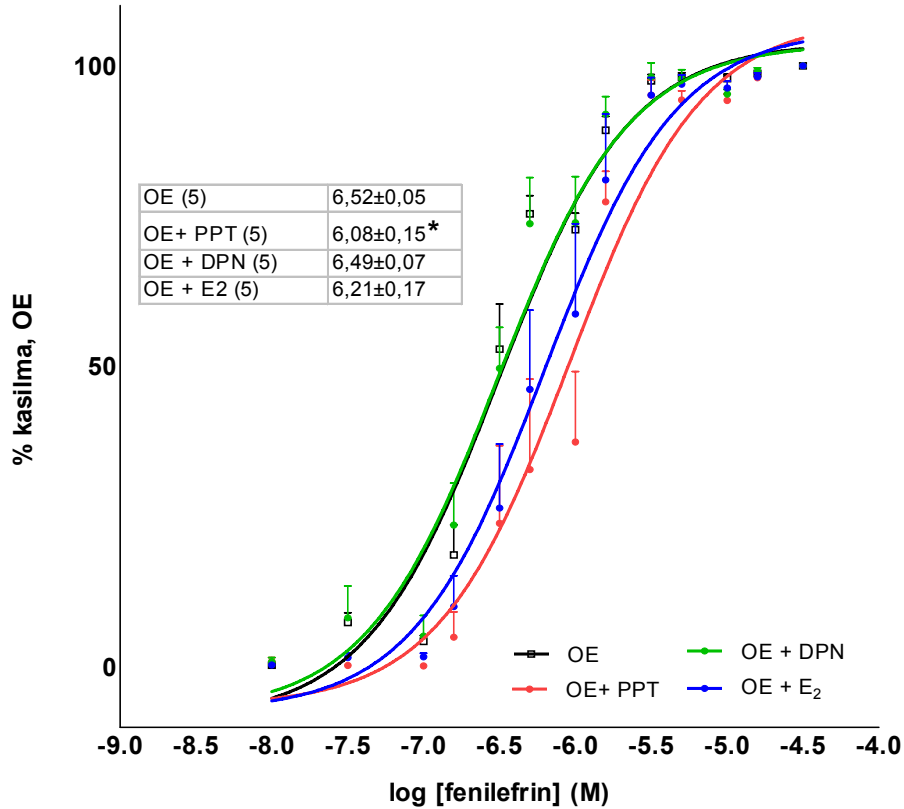
Diabetik-ovariectomize grubun mezenter arter preparatları  $0.1\mu\text{M}$ ' ar  $17\beta$  estradiol, PPT ve DPN' le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlilikleri incelenmiştir **Şekil 3.25**. İnkübasyon sonrasında  $17\beta$  estradiol ve PPT doz-yanıt eğrisi belirgin olarak sağa kayarken maksimal yanıtverirlilikler arasında bir farklılık gözlenmemiştir. PPT varlığında fenilefrin doz-yanıt eğrisesinin  $\text{pD}_2$  değeri kontrollere göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ne var ki,  $17\beta$  estradiol varlığında elde edilen  $\text{pD}_2$  değerleri istatistiksel olarak kontrollere göre farklılık göstermemiştir.



**Şekil 3.25** Diabetik-ovariectomize mezenter arter preparatında  $0.1\mu\text{M}$ ' ar  $17\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin  $\text{pD}_2$  değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistiyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri  $*p < 0.5$ ,  $**p < 0.01$ ,  $***p < 0.001$  şeklinde belirtilmiştir

### 3.4.1.5. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıtverirlikleri

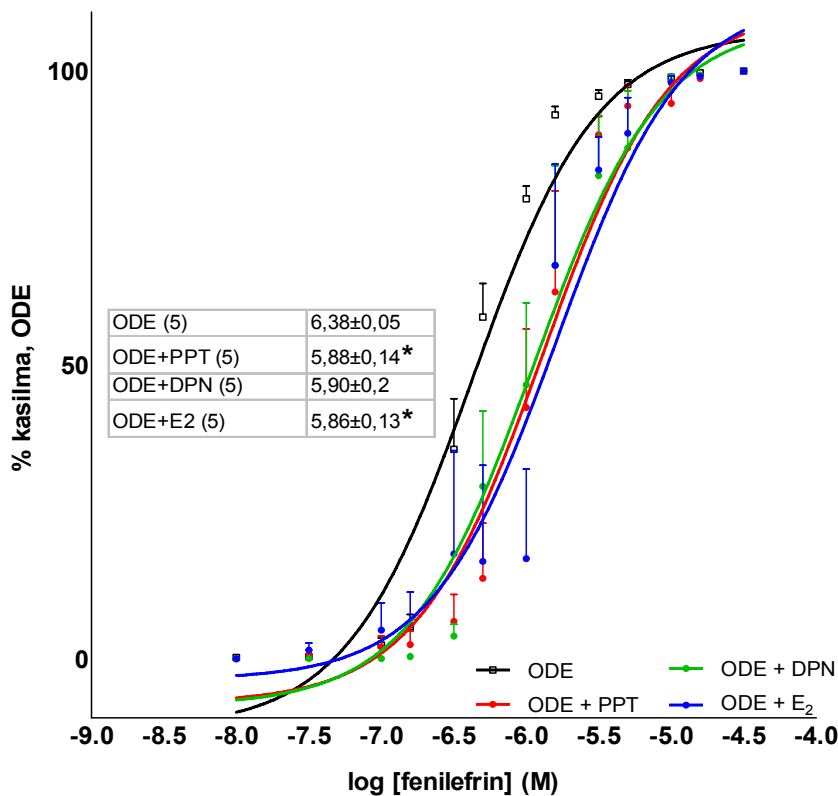
17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize grubun mezenter arter preparatları 0.1 $\mu$ M' ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN' le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlikleri incelenmiştir **Şekil 3.26**. İnkübasyon sonrasında PPT ve 17 $\beta$  estradiol doz-yanıt eğrileri sağa kayarken maksimal yanıtverirlikler arasında bir farklılık gözlenmemiştir. PPT varlığında fenilefrin doz-yanıt eğrilerinin pD<sub>2</sub> değeri kontrollere göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ne var ki, 17 $\beta$  estradiolle varlığında elde edilen pD<sub>2</sub> değeri istatistiksel olarak kontrollere göre farklılık göstermemiştir.



**Şekil 3.26** 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ M' ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin pD<sub>2</sub> değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistiyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri \*p< 0.5, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 şeklinde belirtilmiştir

### 3.4.1.6. 17 $\beta$ estradiol tedavili ovariektomize diabetik grupta 17 $\beta$ estradiol, PPT ve DPN varlığında fenilefrin doz-yanıtverirlikleri.

17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize diabetik grubun mezenter arter preparatları 0.1 $\mu$ M'ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN' le 15 dakika inkübe edilerek  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle doz-yanıt verirlikleri incelenmiştir **Şekil 3.27**. İnkübasyon sonrasında 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN varlığında elde edilen doz-yanıt eğrileri sağa kayarken maksimal yanıtverirlikler arasında bir farklılık gözlenmemiştir. 17 $\beta$  estradiolle ve PPT varlığında fenilefrin doz-yanıt eğrilerinin pD<sub>2</sub> değerleri kontrollere göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ne var ki, DPN varlığında elde edilen pD<sub>2</sub> değeri istatistiksel olarak kontrollere göre farklılık göstermemiştir.



**Şekil 3.27** 17 $\beta$  estradiol tedavili ovariektomize diabetik mezenter arter preparatında 0.1 $\mu$ M' ar 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN inkübasyonu ardından  $\alpha_1$ -reseptör agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrilerine ilişkin pD<sub>2</sub> değerleri ve istatistiksel farklılıklar grafik içine gömülmüştür. Deney sayıları (n) grup kısaltmalarının yanında parantez içinde gösterilmiştir. İstatistiksel farklılıklar kontrollere (Östrojen reseptör agonistiyle inkübe edilmeyen) göre tanımlanarak anlamlılık dereceleri \*p < 0.5, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 şeklinde belirtilmiştir.

#### 4. TARTIŞMA

Çalışmamızda tek doz fenilefrinle kastırılıp 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN ile gevşetilen aort preparatlarında gruplar arasında değişen agonist yanıtlarını ve bu agonistlerin birbirlerine göre üstünlüklerini inceledik. Aort preparatında ER reseptör agonist maksimal gevşemelerinin %5-30 arasında değişen değerlerde olması sağlıklı bir pD<sub>2</sub> değerinin hesaplanabilmesini güçleştirmiştir. Bu nedenle aort yanıtlarının değerlendirilmesinde pD<sub>2</sub> değerleri yerine maksimal yanıtverirlikler üzerinden değerlendirme yapılmıştır.

Kontrol grupta selektif olmayan ER agonisti 17 $\beta$  estradiol yaklaşık %24' lük bir gevşeme yanıtı, selektif ER $\alpha$  agonisti PPT %30, selektif ER $\beta$  agonisti DPN ise %17' lik bir gevşeme yanıtı oluşturmuştur. PPT' nin her iki alttipi de etkileyen doğal liganda göre yaklaşık %25 daha fazla gevşeme oluşturması fizyolojik durumlarda ER $\alpha$ ' nın ER- $\beta$ ' ya göre gevşeme yanıtlarında daha etkin bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Öte yandan bizim bulgulara paralel şekilde Bolego ve arkadaşlarının aort preparatında yaptıkları çalışmalarda da PPT'nin diğer agonistlere göre daha fazla bir yanıt oluşturduğunu göstermişlerdir (Bolego ve ark., 2005)

Ovariectomizeli grupta (O) yanıtlar Kontrol grupta karşılaştırıldığında 17 $\beta$  estradiol yanıtlarının %25; PPT ve DPN' nin ise yaklaşık %50 oranında azaldığı (sırasıyla % 16, %18, % 7) bulunmuştur. Bu durum Ovariectomi sonrası dolaşımdaki 17 $\beta$  estradiol düzeylerinin azalmasıyla damar endotelindeki ER' lerin "down-regule" olmasından kaynaklandığını akla getirmektedir. Bu düşüncemizi destekler şekilde İhionokhan ve arkadaşları da E<sub>2</sub>'nin hormonal etkinliği ile damar endotelindeki ER'leri module ettiğini öne sürmüşlerdir. (İhionokhan 2002). Öte yandan, 8 hafta boyunca E2 tedavisi uygulanan ovariektomize (OE) grupta, 17 $\beta$  estradiol (%16) ve PPT (%18) yanıtlarının ovariektomili gruba göre farklılık göstermemesi uygulanan tedavinin gevşetici yanıt-verirlik açısından düzeltici bir etkinliğinin olmadığını ortaya koymaktadır.

Bolego ve ark. 4 haftalık ovariektomize sıçanlara uyguladıkları kısa süreli E<sub>2</sub> (5 gün) tedavisi sonrasında damarlarda azalan gevşetici etkilerinin geri döndüğünü göstermişlerdir. Benzer şekilde, 4 aylık ovariektomize sıçanlara uygulanan 5 günlük tedavinin azalan damar yanıtlarını düzelttiği buna karşın 8 aylık ovariektomizelerde düzeltmediği de gösterilmiştir (Pinna ve ark., 2007). Bizim çalışmamızda tedavi süresi önceki çalışmalardan daha uzundur (8 hafta- 4 kere E<sub>2</sub> injeksiyonu). Bu nedenle kısa süreli tedavi kronik tedaviye göre doğal E<sub>2</sub> düzeylerinin taklit edilebilmesi açısından daha etkin olabilir. Öte yandan, Hormon replasman tedavi etkinliğinin yaşa, menopozun süresine, tedavinin hangi dozda ve sürede yapıldığına ve önceden kardiyovasküler hastalıkların bulunup bulunmamasına göre de değişebileceğini öne süren farklı çalışmalar bulunmaktadır (Koledova ve Khalil, 2007). Bununla birlikte kronik E<sub>2</sub> tedavisinin metabolik ya da oksidatif stres üzerinde de önemli yararlı etkileri olduğu bilinmektedir (Duckles ve ark., 2006). E<sub>2</sub> tedavisinin ovariektomize sıçanlarda oksidatif stresi azalttığı ve bozulan asetilkolin yanıtlarını düzelttiği gösterilmiştir (Ceylan-Işık ve ark., 2010). Bu sonuçlar kronik E<sub>2</sub> tedavisinin metabolizma ve oksidatif stres üzerindeki etkilerinin damar yanıtları üzerindeki doğrudan etkilerinden daha baskın olduğunu akla getirmektedir.

Öte yandan çalışmamızda, gevşeme yanıtlarının belirgin olarak bozulduğu diabette, ovariektomize gruptaki gibi 17β estradiol, PPT ve DPN ile sırasıyla %16, %20 ve %12 oranlarında gevşemelerin olduğu bulunmuştur. Chakrabarti ve Davidge hücre kültürlerinde yaptıkları çalışmalarda normal glukoz düzeylerinde ER yanıtlarına ERα'nın aracılık ettiğini, buna karşın hiperglisemi yarattıkları ortamda bozulan yanıtlardan ER.β'nın sorumlu olduğunu göstermeleri bizim bulgularımızı destekler niteliktedir (2009). Çalışmamızda ERα aracılı yanıtların ERβ aracılı yanıtlardan daha fazla olduğunu bulmamız ve diabette de bu dağılımın ERβ yönüne kayması diabetteki yanıtların azalmasından sorumlu olabilir.

Hem ovariektomi hem de diabetik (OD) grupta her üç ER agonistinin de yanıtverirlikleri kontrollerdeki yanıtlarına göre yaklaşık %75 oranında azalmıştır (17β estradiol, PPT ve DPN sırasıyla % 8,5, %9, %7). Endokrin sistemin iki farklı bölümünde gelişen bu patolojilerin birlikte bulunması gevşeme yanıtlarının azalmasında sinerjistik bir etki oluşturmuştur. ODE grubunda ise 17β estradiol, PPT

ve DPN gevşeme yanıtları sırasıyla %20, %19 ve %10 olarak bulunmuştur. Diabet ve ovariektominin sinerjistik etkisi sonucu damar yanıtlarının daha fazla bozulması E<sub>2</sub> tedavisinin de etkinliğinin daha az olabileceğini düşündürmüştür. Ne var ki, sonuçlarımız, ODE grubuna uygulanan E2 tedavisinin OE grubuna uygulanan E2 tedavisi ile aynı oranda gevşeme oluşturması E2 tedavisinin ODE grubunda daha başarılı olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum daha önce de belirttiğimiz gibi kronik E<sub>2</sub> tedavisinin oksidatif stres ve metabolizma üzerindeki etkisinin damarlar üzerindeki etkinliğinden daha baskın olduğu düşüncesini desteklemiştir. Ne var ki, çalışmamızda E2 tedavili bir diabetik grubun olmaması bu düşüncemizi spekülasyondan öteye götürmemektedir. Bu yaklaşımımıza kesinlik kazandırmak için ileride yapacağımız çalışmalarda E2 tedavisi uygulanan diabetiklerin ER agonistleriyle olan gevşeme yanıtlarının incelenmesi planlanmıştır.

Çalışmamızda ER reseptörlerinin vasküler sistemde gevşeme olarak kendini gösteren hızlı etkisine (genomik olmayan) NO aracılı mekanizmaların eşlik ettiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (Bolego ve ark.,2005). Biz de hem doğal agonistin hem de alttıpe selektif diğer agonistlerin gevşetici etki mekanizmalarını araştırmak için selektif olmayan NOS inhibitörü varlığında 17 $\beta$  estradiol, PPT ve DPN yanıtlarını inceledik. Bolego ve ark., gibi biz de L-NAME inkübasyonu sonucunda her 3 agonistin gevşeme yanıtlarının ortadan kalktığını ve doğal ligandın yanı sıra diğer 2 ligandın da gevşemeye aracılık eden hızlı etkilerine NO' nun aracılık ettiğini bulduk.

8 hafta sonunda O ve OE gruplarının beden ağırlıkları diğer gruplara göre arttığı 16 haftalık sıçanlarda ise OE grubunun beden ağırlığının arttığı OD grubunda ise azaldığı bulunmuştur. Öte yandan, Ovariektomize sonrasında patolojinin ya da deneysel modelin oluştuğunu anlamak için uterus ağırlıklarına bakılmaktadır. Modelin gelişip gelişmediği uterus ağırlığı beden ağırlığına oran olarak değerlendirilmiştir. Beklediğimiz gibi ovariektomize gruplar olan O ve OD gruplarında UA/BA'nın kontrollere oranla belirgin olarak azalması ovariektomize modelinin oluştuğunu ortaya koymuştur. İlginç olarak diabetik grupta da UA/BA oranının azalması diabette de 17 $\beta$  estradiol düzeyinin azaldığını düşündürmüştür. Ne var ki, plazma östrojen düzeyleri diabetik grupta kontrollere göre farklılık göstermemektedir. Öte yandan E2 tedavisi UA/BA oranını OE grubunda kısmen



ODE grubunda ise tamamen kontroller düzeyine getirmiştir. Bu durum OE grubunda tedavinin efektif olmadığını düşündürse de plazma E<sub>2</sub> düzeylerinin kontroller düzeyinde olduğunun bulunması dışarıdan uygulanan kronik E<sub>2</sub> tedavisinin fizyolojik E<sub>2</sub>' yi tam olarak taklit edemediği düşüncesini desteklemektedir. Beklendiği gibi STZ-uygulanarak diabet yapılan D, OD ve ODE gruplarındaki sıçanların sakrifiye edilmeden önceki plazma glukoz değerleri kontrol gruptan 3-4 kat daha fazla bulunmuştur. Plazma YDL kolesterol düzeyleri D ve OD gruplarında düşmesine karşın uygulanan kronik E<sub>2</sub> tedavisi sonucu OE ve ODE gruplarında kontrol düzeyine yükselmesi E<sub>2</sub> tedavisinin doğrudan olmasa da YDL-kolesterolünü yükselterek yanı metabolik etkilerle kardiovasküler riski azaltabileceğini akla getirmektedir. Öte yandan, total kolesterol düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermemektedir. Hem oluşturulan patolojilerin hem de uygulanan tedavilerin kardiovasküler sistem ve metabolizma üzerindeki etkilerini genel anlamda değerlendirebilmek için kalp ve karaciğer ağırlıklarında alınmıştır ancak gruplar arasında farklılık saptanmamıştır.

Mezenterik arterlerde selektif olmayan  $\alpha_1$ - adrenoceptor agonisti fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri incelendiğinde Diabetik grubun doz-yanıt eğrisinin (pD<sub>2</sub>, 6.62, p< 0.001) kontrol gruba (pD<sub>2</sub>, 6.32) göre sola kayarak yanıtların potansiyalize olduğu saptanmıştır. Diabetik sıçan aortasında kastırıcı ajanlara verilen yanıtların arttığını gösteren çok sayıda çalışma yapılmıştır (fenilefrin yanıtlarına ilişkin bulgularımız diabetik sıçanlardan izole edilen torakik aorta preparatlarında alfa 1 adrenerjik reseptör agonistlerinin kontraktıl yanıtlarının arttığını gösteren çok sayıda çalışma ile benzerlik göstermektedir (Owen ve Carrier, 1979; Owen ve Carrier, 1980 Jackson ve Carrier, 1981); Scarborough ve Carrier, 1982 ).

Öte yandan, Overektomize grupta doz-yanıt eğrisinin (pD<sub>2</sub>, 6.40) kontrol gruba göre belirgin bir farklılık göstermediği ancak dışarıdan uygulanan kronik E<sub>2</sub> tedavisinin OE grubunun doz-yanıt eğrisini ( pD<sub>2</sub>, 6.52) diabetik gruptaki gibi sola kaydırarak yanıtları potansiyalize ettiği bulunmuştur. Bu durum kronik E<sub>2</sub> tedavisinin damarlarda ER aracılı olarak ortaya koyduğu hızlı etkileri baskıladığını akla getirmektedir. Ne var ki, hem diabetik hem de overektomize (OD) grubun yanıtları

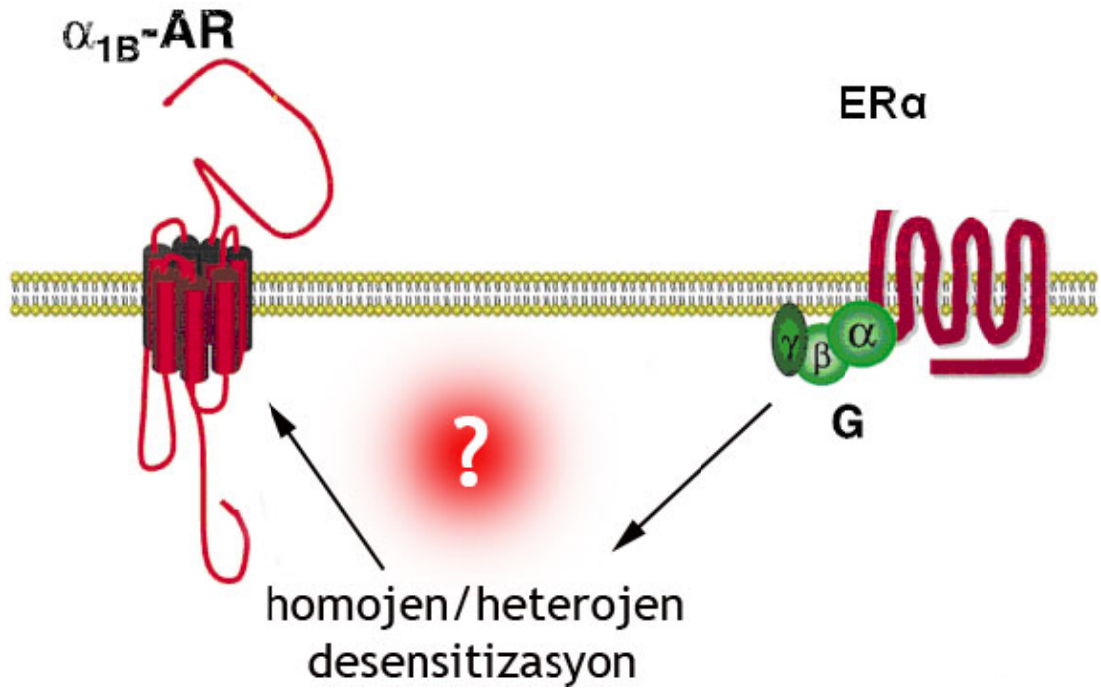
incelendiğinde fenilefrin doz-yanıt eğrisinin tek başına bu patolojilerin bulunduğu gruplardakinin tersine sağa kaydırması ( $pD_2$ , 6.13) ancak kontrol gruba göre istatistiksel bir farklılık göstermemiştir. Bu durum daha önce sinerjistik etki ile damar tonusunun düzenlenmesi üzerinde rol oynayan mekanizmaları tamamen bozduğunu görüşünü desteklemektedir. Öte yandan, OD grubuna dışarıdan uygulanan E2 tedavisi ile doz-yanıt eğrisinin OE grubundaki gibi sola kaydığı saptanması bize, kronik E2 tedavisinin ER aracılı "kronik (genomik) etkilerinin damar yanıt-verirlikleri üzerinde beklenen yararlı etkileri önleyebileceğini ya da maskeleyebileceğini düşündürmüştür. Öte yandan, hem aort preparatında hem de mezenterik arterde  $17\beta$  estradiol, selektif ER $\alpha$  agonisti PPT ve selektif ER $\beta$  agonisti DPN ile elde edilen gevşeme yanıtlarının az olması (yaklaşık %20-25 gevşeme) sağlıklı bir  $pD_2$  değerinin hesaplanabilmesi açısından güçlük oluşturmuştur. Bu nedenle doğal ve sentetik agonistlerin damar tonusu üzerinde oluşturabileceği yararlı ya da pozitif etkinlikleri daha iyi değerlendirebilmek amacıyla ER-agonistleri varlığında fenilefrin aracılı elde edilen yanıtlarındaki değişiklikler üzerinden indirekt bir biçimde değerlendirilmiştir. Ayrıca bu indirekt yöntem bize hem ER aracılı yararlı etkileri maskeleydiğini düşündüğümüz kronik etkileri (genomik) akut etkilerden (genomik olmayan) daha net ayırabilme hem de agonistlerin birbirlerine göre avantajlarını değerlendirebilme olanağı da vermiştir.

3 farklı ER agonisti ile 15 dakika inkübe edilen mezenterik arter preparatlarının fenilefrinle elde edilen kontraktıl yanıtlar incelendiğinde kontrol grupta ER $\alpha$  agonisti PPT ( $pD_2$ , 5.78) ve doğal ligand  $17\beta$  estradiol'ün ( $pD_2$ , 5.80) benzer şekilde doz-yanıt eğrilerini belirgin olarak sağa kaydığı ancak ER $\beta$  agonisti DPN' nin ( $pD_2$ , 6.29) ise herhangi bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır.

Öte yandan, fenilefrin yanıtlarının potansiyalize olduğu belirlenen diabetik grupta ( $pD_2$ , 6.59), PPT (6.37) ve  $17\beta$  estradiol' ün (6.27) eğrileri kontrol gruba göre daha az olmak üzere yine sağa kaydırması ve DPN' nin (6.58) yanıtlarda bir değişiklik yapmadığı belirlenmiştir. Ovariectomize grupta ise PPT (5.78) varlığında eğrinin  $17\beta$  estradiol (6.13) ve DPN'ye (6.12) göre daha belirgin olarak sağa kaydığı bulunmuştur. Kontrol ve Diabetik grupta selektif olmayan doğal ligand ve selektif ER $\alpha$  agonisti PPT'nin birbirlerine göre herhangi bir üstünlükleri olmamasına karşın

ovariektomize grupta PPT'nin belirgin bir üstünlüğünün olduğu buna karşın ER $\beta$  agonisti DPN nin yanıtları değiştirmediği saptanmıştır. bu sonuçlar yapılan diğer çalışmalaradaki gibi (Simoncini ve ark., 2002). ER reseptör aracılı oluşan akut ve yararlı etkilerden ER $\alpha$  alttipinin sorumlu olduğunu göstermektedir. E2 tedavisi sonucu yanıtların potansiyalize olduğu saptanan OE grubunda (6.53) da PPT' nin (6.08) diğer iki liganda göre eğriyi daha fazla sağa kaydırđıęı bulunmuştur (17 $\beta$  estradiol, 6.21; DPN, 6.49). Damar tonusunu düzenleyen mekanizmaları değiştirdiğini düşündüğümüz OD grubunda (6.13) ise eğrilerin PPT (5.82) ve 17 $\beta$  estradiol'le (5.90) benzer şekilde sağa kaydığı DPN'nin (6.20) ise belirgin bir değişiklik yapmadığı bulunmuştur. Bununla birlikte E2 tedavisinin PPT (5.89) ve 17 $\beta$  estradiol (5.79) yanıtlarını değiştirmediği ancak sadece DPN (5.95) yanıtlarını belirgin olarak sağa kaydırđıęı saptanmıştır. OE ve ODE gruplarında eğrilerin sola kayarak fenilefrine olan duyarlılığın artarken kontrollerde ise PPT ve 17 $\beta$  estradiol varlığında duyarlılığın azaldığının bulunması kronik E<sub>2</sub> tedavisi ile oluşan ER aracılı genomik etkilerin akut etkileri maskeleydiği goruşumuzu desteklemektedir.

Öte yandan, E<sub>2</sub>' nin hızlı ve kronik etkilerinden bağımsız olarak, ER $\alpha$ 'ların  $\alpha$ 1b-adrenoseptörleri "cross-talk" etkileşme ile desensitize ederek  $\alpha$ 1b-Adr'nin fonksiyonlarını azaltabileceği gosterilmiştir (Gonzales-Arenas ve ark., 2006). Bu çalışmada ER $\alpha$ 'nın sinyal iletiminden sorumlu olan PI3K ve PKC'nin  $\alpha$ 1b adrenoseptörleri fosforile ederek heterelog desensitizasyonuna neden olduğu ve reseptör fonksiyonunu gösteren hücre içi Ca transientlerini azalttığı bulunmuştur (0.0.şekil 4.1). Biz de çalışmamızda ER agonistleri varlığında non-selektif fenilefrinle yanıtların sağa kaydığını bulamamız bu sonucu desteklemektedir. Öte yandan, kronik E2 tedavisi ile bu sağa kaymanın ortadan kalkması, ER aracılı kronik etkilerin bu yeni "cross-talk" mekanizmayı da maskeleyebileceğini ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.1.** G proteine bağlı reseptörün  $\alpha_{1b}$ -AR fosforilasyon etkisi.  $\alpha_{1b}$ -AR,  $\alpha_{1b}$ -adrenoreseptör; ER $\alpha$ , Estrojen reseptör  $\alpha$ ; PI3K, fosfatidil inositol 3-kinaz; PDK1, fosfoinositid bağımlı protein kinaz 1; PKC, protein kinaz C. (Garcia Sainz ve ark., 2000, Gonzalez-Arenas ve ark 2006).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar torakik aortada fonksiyonel ER'lerinin uyarılması doz bağımlı gevşemelere yol açtığını göstermektedir. Bu gevşemelerin oluşumunda ER $\alpha$  alttipi ER $\beta$  alttipine göre üstünlük göstermekle birlikte ovariektomi ve diabetle azalmaktadır. Fonksiyonel uyarılmasının yol açtığı gevşemeler dışarıdan E<sub>2</sub> tedavisi uygulandığı zaman, kronik östrojen tedavisini gören sıçanlarda aortik gevşemelerin azalması ile akut yararlı etkilerini maskelemektedir. Ovariektomizeli sıçanlarda damarların (mezenterik arter) fenilefrin gibi kastırıcı ajanlara duyarlılığı artmaktadır. Çalışmamızda mezenterik arterde gösterdiğimiz gibi ER agonistlerin fenilefrin gibi kastırıcı ajanlarla oluşan kontraktıl yanıtları azalma yönünde değiştirebilmesidir. ER $\alpha$  agonisti PPT diğer ER $\beta$  agonisti DPN ve 17 $\beta$  estradiole göre, fenilefrin gibi kastırıcı ajanların kontraktıl yanıtlarını daha iyi baskılamaktadır. 17 $\beta$  estradiol kronik tedavisi uygulanması hem gevşeme hem kastırıcı ajanların kontraktıl yanıtlarını yararlı yönde değiştirebilme gibi ER agonistlerin akut etkilerini maskelemektedir. Ne var ki selektif ER $\alpha$  agonisti dışarıdan kronik uygulanmasındaki ovariektomize ve diabet üzerindeki rölü anlaşılmamıştır. Bu amaca yönelik olarak selektif ER $\alpha$  agonisti PPT kronik olarak uygulandığı zaman yararlı akut etkilerinin aydınlatılması ve menopoz ile diabet gibi hastalıklarda yeni tedavi yöntemlerinin ileride geliştirilmesi önerilmektedir.

## ÖZET

### Diabetik Ovariectomize Sıçanlarda Oluşan Vasküler Disfonksiyonda Östrojen Reseptörlerinin Rolü ve Östrojen Tedavisinin Etkisi

Östrojen, premenopozal kadınlarda kardiyovasküler hastalıkların gelişimine karşı koruyucu etki oluştursa da bu etki diabet ve menapoz ile azalmaktadır. Östrojen damar üzerindeki etkilerini ER $\alpha$  ve ER $\beta$  olmak üzere iki farklı reseptör aracılığı ile yapmaktadır, ancak bu reseptörlerin aracılık ettiği akut etkiler net olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, kontrol (K), diabetik (D), ovariectomize (O) ve ovariectomize-diabetik (OD) sıçanların torasik aortalarında östrojen reseptörlerinin gevşeme yanıtlarındaki rolü araştırılmıştır. Deney süresi 8 ve 16 hafta olarak ayrılmıştır. 8 haftalık deney hayvanlarından elde edilen endotelî intakt aorta halkaları organ banyosuna yerleştirilerek fenilefrin ile önkastırıldıktan sonra, selektif ER $\alpha$  agonist PPT, ER $\beta$  agonist DPN ve selektif olmayan ER agonist 17 $\beta$  estradiolün (E2) gevşeme yanıtları incelenmiştir. O, D ve OD gruplarında azalan, kontrol grupta PPT her iki alttıpi de etkileyen doğal liganda ve ER $\beta$  agonisti DPN'ye göre daha fazla gevşeme oluşturmuştur. ODE OE grubunda aynı oranda gevşeme oluşturmuştur. 16 haftalık deney gruplarında mezenterik arterlerde fenilefrinle elde edilen doz-yanıt eğrileri incelenmiştir. D, OE ve ODE grubun doz-yanıt eğrisinin kontrol gruba göre sola kaymıştır. Ovariectomize grupta doz-yanıt eğrisinin kontrol gruba göre belirgin bir farklılık göstermemiştir. OD grubun yanıtları incelendiğinde fenilefrin doz-yanıt eğrisinin sağa kaydırılmıştır ancak kontrol gruba göre istatistiksel bir farklılık göstermemiştir. Mezenterik arter preparatları 3 farklı ER agonisti ile 15 dakika inkübe edilerek mezenterik arter preparatlarının fenilefrinle elde edilen kontraktıl yanıtlar incelenmiştir. Kontrol ve O OE gruplarda ER $\alpha$  agonisti PPT ve doğal ligand 17 $\beta$  estradiol'ün benzer şekilde doz-yanıt eğrilerini belirgin olarak sağa kaydığı ancak ER $\beta$  agonisti DPN' nin ise herhangi bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır. D, OD gruplarda, PPT ve 17 $\beta$  estradiol' ün eğrileri kontrol gruba göre daha az olmak üzere yine sağa kaydırıldığı ve DPN' nin yanıtlarda bir değişiklik yapmadığı belirlenmiştir. OE ve ODE gruplarında PPT ve 17 $\beta$  estradiol yanıtlarını değiştirmediği ancak sadece DPN yanıtlarını belirgin olarak sağa kaydırđięi saptanmıştır. Çalışmamızın sonucu olarak, östrojen reseptör agonistleri fenilefrin gibi kastirici ajanların damar üzerindeki etkisini azaltmaktadır. ER $\alpha$  agonisti PPT diğer 17 $\beta$  estradiol ve DPN'ye göre üstünlük göstermektedir. Hem menopozda hem diabette dışarıdan uygulanan kronik östrojen tedavisi, ER agonistlerinin özellikle ER $\alpha$  agonisti PPT'nin damar tonusu üzerindeki akut yararlı etkilerini maskelemektedir

**Anahtar Kelimeler:** Aort, Diabet, Mezenterik arter, Östrojen reseptör  $\alpha$   $\beta$  (ER $\alpha$ ) (ER- $\beta$ ), Ovariectomi,

## SUMMARY

### The Role Of Estrogen Receptors On Diabetic Ovariectomized Rats Induced Vascular Dysfunction and the Effects Of Estrogen Therapy

Estrogen has protective effects against cardiovascular disease in pre-menopausal women, are decreased in diabetes and menopause. ER $\alpha$  and ER $\beta$  mediate estrogen effects, but acute effects on vasculature are not completely understood. In this study, we investigated the contribution of estrogen receptors (ERs)  $\alpha$  and  $\beta$  to vasorelaxation in thoracic aorta rings from control (C), diabetic (D), ovariectomized (O) and ovariectomized-diabetic (OD) rats. The experimental duration was in 8-16 weeks. On the aortic rings with intact endothelium 8 weeks experimental groups after precontraction with phenylephrine (Phe) were obtained direct relaxant effects of the selective ER agonists PPT, DPN and the nonselective ER agonist 17 $\beta$ -estradiol (E2). In Control group PPT made more relaxation than natural ligand that effect both of subtypes and selective ER $\beta$  agonist DPN that results were diminished in O, D, and OD groups. All agonists of ER made in same ratio relaxation in OE and ODE groups. On mesenteric artery 16 weeks of experimental groups obtained Phe dose responsiveness. Dose responses of Phe in D, OE and ODE groups were shifted to the left side in comparison to Control group. Dose responsiveness of Phe in Ovariectomized group wasn't different significantly than in Control group. Shifted to the right side the dose responsiveness of Phe in OD group to comparison in Control group but differences didn't significant. Mesenteric arteries were incubated with 3 different ER agonists for 15 minutes and then investigated the contractile dose responsiveness of Phe in existence of ER agonists. In C, O, and OE groups ER $\alpha$  agonist PPT and natural ligand 17 $\beta$  estradiol with similarity shifted dose responses of Phe slope to the right side however ER $\beta$  agonist DPN didn't made any changes. In groups D and OD, slopes of Phe in existence of PPT and 17 $\beta$  estradiol are shifted less than in Control group but DPN didn't made any differences. Results of Phe in existence PPT and 17 $\beta$  estradiol didn't change in OE and ODE groups but DPN shifted dose response slope to the right side. In our study ER's agonists decrease effects of Phe that a contraction agency of vessel. ER $\alpha$  agonist PPT has a superior role to comparison with 17 $\beta$  estradiol and DPN on the aorta and mesenteric artery. Chronical treatment of menopause and diabetes with estrogen masked ER's especially ER $\alpha$ 's acute positive effects on vessel tonus.

**Key words:** Aorta, Diabetes, Estrogen receptor  $\alpha$   $\beta$  (ER $\alpha$ ) (ER- $\beta$ ), Mesenteric artery Ovariectomi,

## KAYNAKLAR

- ABRAHAM, I.M., HAN S-K, TODMAN, M.G., KORACH, K.S., HERBISON, A.E. (2003). Estrogen receptor  $\beta$  mediates rapid estrogen actions on gonadotropin-releasing hormone neurons in vivo. *J. Neurosci.* **23**:5771–77.
- ADAMS, M.R., REGISTER, T.C., GOLDEN, D.L., WAGNER, J.D., WILLIAMS, J.K. (1997). Medroxyprogesterone acetate antagonizes inhibitory effects of conjugated equine estrogens on coronary artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; **17**: 217–221.
- AHN, K.H, PARK, H.T, KIM, T., HUR, J.Y., KIM, Y.T., LEE, K.W., KIM, SH. (2010). Relationship between the serum CA-125 level and bone mineral density in healthy pre- and post-menopausal women. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.*50(4):371-7.
- AJABAR, L., YEN, S.S.C., TAAI, C.C., NAFTOLIN, F., VANDORBERG, G. (1972). Pulsatile pattern of gonadotropin release in subjects with and without ovarian function. *J CU Endocrinol Metab* **34**:671
- ALBERTI, K.G., ZIMMET, P.Z. (1998); Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* **15**:539-53. (PMID 9686693).
- ALEXANDERSEN, P., TANKO, L.B., BAGGER, Y.Z, QIN, G., CHRISTIANSEN, C. (2006). The long term impact of 2–3 years of hormone replacement therapy on cardiovascular mortality and atherosclerosis in healthy women. *Climacteric*; **9**: 108–118.
- American Diabetes Association. All about diabetes.(2005) Available at: <http://diabetes.org/about-diabetes>. Jsp. Accessed September 14.
- ANDERSEN, K., LAUNER, L.J., DEWEY, M.E., LETENNEUR, L., OTT. A., COPELAND, R., DARTIGUES, J.F., KRAGH-SORENSEN, P., BALDERESCHI, M., BRAYNE, C., LOBO, A., MARTINEZ-LAGE, J.M. (1999). Gender differences in the incidence of AD and vascular dementia: The EURODEM Studies. EURODEM Incidence Research Group. *Neurology*. Dec 10 ;**53**(9):1992-7.
- ANDERSON, G.L., LIMACHER, M., ASSAF, A.R., BASSFORD, T., BERESFORD, S.A., BLACK, H., BONDS, D., BRUNNER, R., BRZYSKI, R., CAAN, B., CHLEBOWSKI, R., CURB, D., GASS, M., (2004). Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.***291**(14):1701-12.
- ARENAS, I.A., ARMSTRONG, S.J., XU, Y., DAVIDGE, S.T. (2006). Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Vascular Angiotensin II in Estrogen-Deficient Rats *Hypertension*;**48**:497



- ARNAL JF, FONTAINE C, BILLON-GALES A, FAVRE J, LAURELL H, LENFANT F, GOURDY P. (2010). Estrogen receptors and endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* ;30(8):1506-12.
- BARBAGALLO, M., DOMINGUEZ, L.J., LICATA, G., SHAN, J., BING, L., KARPINSKI, E., PANG, P.K., RESNICK, L.M. (2001). Vascular effects of progesterone: role of cellular calcium regulation. *Hypertension* **37**:142– 47
- BARCHIESI, F, JACKSON, E.K., IMTHURN, B., FINGERLE, J., GILLESPIE, D.G., DUBEY, R.K. (2004). Differential Regulation of Estrogen Receptor Subtypes  $\alpha$  and  $\beta$  in Human Aortic Smooth Muscle Cells by Oligonucleotides and Estradiol *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* **89**, No. 5 2373-2381
- BARRET-CONNOR, E., GIARDINA, E.G., GITT, A.K., GUDAT, U., STEINBERG, H.O., TSCHOEPE, D., (2004) Women and heart disease: The role of diabetes and hyperglycemia. *Arch Intern Med.* **164**:934-942.
- BEATO, M., KLUG, J.(2000). Steroid hormone receptor: an update. *Hum. Reprod. Update* **6**:225–36
- BEATO, M., KLUG, J.(2000). Steroid hormone receptors: an update. *Hum Reprod Update.*;6(3):225-36.
- BEER, S., REINCKE, M., KRAL, M., CALLIES, F., STRÖMER, H., DIENESCH, C., STEINHAUER, S., ERTL, G., ALLOLIO, B., NEUBAUER, S. (2007). High-dose 17 $\beta$ -estradiol treatment prevents development of heart failure post-myocardial infarction in the rat *Basic Res Cardiol* 102:9–18 DOI 10.1007/s00395-006-0608-1
- BELCHETZ, P.E.(1994). Hormonal treatment of postmenopausal women. *N.Engl. J. Med.* **330**, 1062–1071.
- BOLEGO, C., VEGETO, E., PINNA, C., MAGGI, A., CIGNARELLA, A. (2006). Selective agonists of estrogen receptor isoforms: new perspectives for cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **26**: 2192-2199.
- BORISSOVA, A. M., TANKOVA, T., KAMENOVA P. (2002). Effect of hormone replacement therapy on insulin secretion and insulin sensitivity in postmenopausal diabetic women, *Gynecol Endocrinol* **16**, pp. 67–74.
- BROSNIHAN, K.B., HODGIN, J.B., SMITHIES, O., MAEDA, N., GALLAGHER, P.(2008). Tissue-specific regulation of ACE/ACE2 and AT1/AT2 receptor gene expression by oestrogen in apolipoprotein E/oestrogen receptor-alpha knock-out mice. *Exp Physiol* ;93(5):658-64.
- BROWNLEE, M., DU, X.L., EDELSTEIN, D., ROSSETTI, L., FANTUS, I.G., GOLDBERG, H., ZIYADEH, F., WU, J.,(2000); Oxidative Stress-Activated Signaling Pathways: Hyperglycemia and Stress-Activated Pathways 77) :S13 -S18,
- CANONICO, M., PLU-BUREAU, G., LOWE, G.D., SCARABIN, P.Y. (2008). Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis, *BMJ* **336**, pp. 1227–1231.

- CHAKRABARTI, S., DAVIDGE, S.T. (2009). "High glucose-induced oxidative stress alters estrogen effects on ERalpha and ERbeta in human endothelial cells: reversal by AMPK activator". *J Steroid Biochem Mol Biol*; **117**(4-5):99-106.
- CHAMBLISS, K.L., YUHANNA, I.S., ANDERSON, R.G.W., MENDELSON, M.E., SHAUL, P.W. (2002). ER $\beta$  has nongenomic action in caveolae. *Mol. Endocrinol.* **16**:938–46
- CHEN, Z., YUHANNA, I.S., GALCHEVA-GARGOVA, Z., KARAS, R.H., MENDELSON, M.E., SHAUL, P.W. (1999). Estrogen receptor  $\alpha$  mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J. Clin. Invest.* **103**:401–6
- CLARKE, S.C., KELLEHER, J., LLOYD-JONES, H. SLACK, M., SCHOFIELD, P.M. ( 2002). A study of hormone replacement therapy in postmenopausal women with ischaemic heart disease: the Papworth HRT atherosclerosis study. *Br J Obstet Gynaecol*; **109**: 1056–1062.
- CLARKSON, T.B., ANTHONY, M.S., JEROME, C.P. (1998).Lack of effect of raloxifene on coronary artery atherosclerosis of postmenopausal monkeys. *J Clin Endocrinol Metab*; **83**: 721–726.
- COLLINS, P., FLATHER, M., LEES, B., MISTER, R., PROUDLER, A.J., STEVENSON, J.C.; WHISP (Women's Hormone Intervention Secondary Prevention Study) Pilot Study Investigators. (2006). Randomized trial of effects of continuous combined HRT on markers of lipids and coagulation in women with acute coronary syndromes: WHISP Pilot Study. *Eur Heart J*; **27**: 2046–2053.
- COWLEY, S.M., PARKER, M.G. (1999). Acomparision of transcriptional activation by ER $\alpha$  and ER $\beta$ . *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **69**:165–75
- CREWS, J.K., KHALIL, R.A. (1999). Gender-specific inhibition of Ca<sup>2+</sup> entry mechanisms of arterial vasoconstriction by sex hormones. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **26** 707–715.
- DANSUK, R., UNAL, O., KARSIDAG, K.Y., TURAN, C. (2005). Valuation of the effects of various gestagens on insulin sensitivity, using homeostatic model assessment, in postmenopausal women on hormone replacement therapy, *Gynecol Endocrinol* **20**, pp. 1–5.
- DARBLADE, B., PENDARIES, C., KRUST, A., DUPONT, S., FOUQUE, M.-J., RAMI, J., CHAMBON, P., BAYARD, F., ARNAL, J.-F. (2002). Estradiol Alters Nitric Oxide Production in the Mouse Aorta Through the {alpha}-, but not {beta}-, Estrogen Receptor. *Circ. Res.* **90**: 413-419
- DAVID, F.L., CARVALHO, M.H.C., NIGRO, D., SCIVOLETTO, R., FORTES, Z.B., DUBEY, R.K., JACKSON, E.K., KELLER, P.J., ROSSELI, I.B. (2001). Ovarian Hormones Modulate Endothelin-1 Vascular Reactivity and mRNA Expression in DOCA-Salt Hypertensive Rats.*Hypertension*.; **38**:692
- DELAFORGE, M., PRUVOST, A., PERRIN, L., ANDRÉ, F.(2005). Cytochrome P450-mediated oxidation of glucuronide derivatives: example of estradiol-17beta-glucuronide oxidation to 2-hydroxy-estradiol-17beta-glucuronide by CYP 2C8. *Drug Metab Dispos*.; **33**(3):466-73.

- DIANA, C., MD, FACOG, Clinical Assistant Professor, Associate Program Director, Department of Obstetrics and Gynecology, University of Michigan Health Systems
- DOUGLAS, G., CRUZ, M.N., POSTON, L., GUSTAFSSON, J.A., KUBLICKIENE, K. (2008). Functional characterization and sex differences in small mesenteric arteries of the estrogen receptor- $\beta$  knockout mouse. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R112-R120.
- DUBEY, R.K., JACKSON, E.K., KELLER, P.J., IMTHURN B, ROSSELI, M. (2001). Estradiol Metabolites Inhibit Endothelin Synthesis by an Estrogen Receptor-Independent Mechanism  
*Hypertension*; **37**: 640 - 644
- DUCKLES, S.P., MILLER, V.M. (2010). Hormonal modulation of endothelial NO production. *Pflugers Arch.*;459(6):841-51.
- EDWARDS, D.P. (1999). Coregulatory proteins in nuclear hormone receptor action. *Vitam. Horm.* 55:165–218
- EGAN, K. M., LAWSON, J. A., FRIES, S., KOLLER, B., RADER, D. J., SMYTH, E. M., FITZGERALD, G. A. (2004). COX-2-derived prostacyclin confers atheroprotection on female mice. *Science*.; **306**:1954–7.
- ELLIS, J.A., INFANTINO, T., HARRAP, S.B., (2004). Sex-dependent association of blood pressure with oestrogen receptor genes ER $\alpha$  and ER $\beta$ , *J. Hypertens.* **22**, pp. 1127–1131.
- FENG, W., RIBEIRO, R.C., WAGNER, R.L., NGUYEN, H., APRILETTI, J.W., FLETTERICK, R.J., BAXTER, J.D., KUSHNER, P.J., WEST, B.L. (1998). Hormonedependent coactivator binding to a hydrophobic cleft on nuclear receptors. *Science* **280**:1747–49
- FREEDMAN, L.P. (1992). Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocr. Rev.* **13**:129–45
- GAMBACCIANI, M., MONTELEONE, P., SACCO, A., GENAZZANI, A.R. (2003). Hormone replacement therapy and endometrial, ovarian and colorectal cancer. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 17(1):139-47. Review.
- GANONG, W.F.( 2002). *Tıbbi Fizyoloji*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, (Çev: TFBĐ)
- GAO, H., BRYZGALOVA, G., HEDMAN, E., KHAN, A., EFENDIC, S., GUSTAFSSON, J.A., DAHLMAN-WRIGHT, K. (2006). Long-term administration of estradiol decreases expression of hepatic lipogenic genes and improves insulin sensitivity in ob/ob mice: a possible mechanism is through direct regulation of signal transducer and activator of transcription 3. *Mol Endocrinol.*; **20**(6):1287-99.
- GARCIA-SAINZ, A.J., VAZQUEZ-PRADO, J., MEDINA, L.C. (2000).  $\alpha$ -Adrenoceptors: function and phosphorylation. *European Journal of Pharmacology* .389\_2000.1–12

- GERALDES P., GAGNON S., HADJADJ S., MERHI Y., SIROIS M.G., CLOUTIER I., TANGUAY J-F. (2006). Reduction of CD40 and CD40L Receptor Expression on Endothelial Cells by Estrogen: Role of Estrogen Receptor Alpha. *Cardiovasc Res*; **71**:566-573.
- GLASS, C., ROSENFELD, M., (2000). The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev.* **14**:121– 41
- GLASS, C.K. (1994). Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers, and heterodimers. *Endocr. Rev.* **15**:391–407
- GODSLAND, I.F. (2005). Oestrogens and insulin secretion. *Diabetologia* **48**:2213-2220.
- GODSLAND, I.F., GANGAR, K., WALTON, C., CUST, M.P., WHITEHEAD, M.I., WYNN, V., STEVENSON, J.C. (1993). Insulin resistance, secretion and elimination in postmenopausal women receiving oral or transdermal hormone replacement therapy, *Metabolism* **42**, pp. 846–853.
- GODSLAND, I.F., MANASSIEV, N.A., FELTON, C.V., PROUDLER, A.J., CROOK, D., WHITEHEAD, M.I., STEVENSON, J.C. (2004). Effects of low and high dose oestradiol and dydrogesterone therapy on insulin and lipoprotein metabolism in healthy postmenopausal women, *Clin Endocrinol* **60**, pp. 541–549.
- GODSLAND, I.F., STEVENSON, J.C. (1995). Insulin resistance: syndrome or tendency?, *Lancet* **346**, pp. 100–103
- GOETZ, R.M., THATTE, H.S., PRABHAKAR, P., CHO, M.R., MICHEL, T., GOLAN, D.E. (1999). Estradiol induces the calcium-dependent translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:2788– 93
- GOLUB, M.S., HOGREFE, C.E., GERMANN, S.L., LASLEY, B.L., NATARAJAN, K., TARANTAL, A.F.(2003). Effects of exogenous estrogenic agents on pubertal growth and reproductive system maturation in female rhesus monkeys. *Toxicol Sci.* **74**(1):103-13.
- GONZALEZ-ARENAS, A., AGUILAR-MALDONADO, B., AVENDANO-VAZQUEZ, S.E., GARCIA-SAINZ, A.J. 2006. Estrogens Cross-Talk to  $\alpha_1$ -b-Adrenergic Receptors. *Mol Pharmacol* **70**:154–162,
- GRADY, D., GEBRETSADIK, T., KERLIKOWSKE, K., ERNSTER, V., PETITTI, D. (1995). Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis, *Obstet Gynecol* **85**, pp. 304–313. Abstract |
- GROHE, C., KAHLERT, S., LOBBERT, K., STIMPEL, M., KARAS, R.H., VETTER, H., NEYSES, L. (1997). Cardiac myocytes and fibroblasts contain functional estrogen receptors, *FEBS Lett.* **416**, pp. 107–112
- GRONEMEYER, H., MORAS, D. (1995). How to finger DNA. *Nature* **375**:190–92
- GUSTAFSSON, J.A. (2003). What pharmacologists can learn from recent advances in estrogen signalling. *Trends. Pharmacol. Sci.* **24**:479-485.

- HAAS, E., MEYER, M.R., SCHURR, U., BHATTACHARYA, I., MINOTTI, R., NGUYEN, H.H., HEIGL, A., LACHAT, M., GENONI, M., BARTON, M. (2007). Differential effects of 17 $\beta$ -estradiol on function and expression of estrogen receptor  $\alpha$ , estrogen receptor  $\beta$ , and GPR30 in arteries and veins of patients with atherosclerosis. *Hypertension* **49**: 1358-1363.
- HALL, J.M., MCDONNELL, D.P. (2005). Coregulators in nuclear estrogen receptor action: from concept to therapeutic targeting. *Mol Interv* **5**: 343-357.
- HALL, J.M., MCDONNELL, D.P.(1999). The estrogen receptor  $\beta$ -isoform (ER $\beta$ ) of the human estrogen receptor modulates ER $\alpha$  transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology* **140**: 5566-5578
- HARRINGTON, W.R., SHENG, S., BARNETT, D.H., PETZ, L.N., KATZENELLENBOGEN, J.A., KATZENELLENBOGEN, B.S. (2003). Activities of estrogen receptor alpha- and beta-selective ligands at diverse estrogen responsive gene sites mediating transactivation or transrepression *Molecular and Cellular Endocrinology* **:206**, Issues 1-2, 29 Pages 13-22
- HAYNES, M.P., SINHA, D., RUSSELL, K.S., COLLINGE, M., FULTON, D., RUIZ, M.M., SESSA, W.C., BENDER, J.R. (2000). Membrane estrogen receptor engagement activates endothelial nitric oxide synthase via the PI3-kinase–Akt pathway in human endothelial cells. *Circ. Res.* **87**, pp. 677–682.
- HEERY, D.M., KALKHOVEN, E., HOARE, S., PARKER, M.G. (1997). A signature motif in transcriptional coactivators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* **387**:733–36
- HEJMEJ, A., GORAZD, M., KOSIŃIAK-KAMYSZ, K., WISZŃIEWSKA, B., SADOWSKA, J., BILIŃSKA, B.(2005). Expression of aromatase and oestrogen receptors in reproductive tissues of the stallion and a single cryptorchid visualised by means of immunohistochemistry. *Domest Anim Endocrinol.*;29(3):534-47.
- HERRINGTON, D.M., HOWARD, T.D., HAWKINS, G.A., REBOUSSIN, D.M., XU, J., ZHENG, S.L., BROSNIHAN, K.B., MEYERS, D.A., BLEECKER, E.R. (2002). Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease, *N. Engl. J. Med.* **346**, pp. 967–974.
- HIROI, H., INOUE, S., WATANABE, T., GOTO, W., ORIMO, A., MOMOEDA, M., TSUTSUMI, O., TAKETANI, Y., MURAMATSU, M. (1999). Differential immunolocalization of estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  in rat ovary and uterus, *J. Mol. Endocrinol.* **22**, pp. 37–44.
- HODIS, H.N., MACK, W.J., LOBO, R.A.(2001). Estrogen in the prevention of atherosclerosis. A randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Ann Intern Med*; **135**: 939–953.
- HOLCOMB, S.S. (2009). Hormone therapy for menopausal women. *Nurse Pract.*; **34**(12):9-11

- HOLLOWAY, C.C., CLAYTON, D.F. (2001). Estrogen synthesis in the male brain triggers development of the zebra finch song control circuit in vitro. *Nature Neuroscience*, **4**:170–5.
- HSIA, J., LANGER, R.D., MANSON, M.E., KULLER, L., JOHNSON, K.C., HENDRIX, S.L., PETTINGER, M., HECKBERT, S.R., GREEP, G., EATON, C.B., KOSTIS, C.B., CARALIS, P., PRENTICE, R., for the Women's Health Initiative Investigators. (2006). Conjugated equine estrogens and coronary heart disease. *Arch Intern Med*; **166**:357–365.
- IHINOKHAN, C.E., CHAMBLISS, K.L., GIBSON, L.L., HAHNER, L.D., MENDELSON, M.E., SHAUL, P.W. (2002) Estrogen causes dynamic alterations in endothelial estrogen receptor expression. *Circ Res* **91**: 814-820.
- INDHAVIVADHANA, S., LEERASIRI, P., RATTANACHAIYANONT, M., LAIWEJPITHAYA, S., TANMAHASAMUT, P., TECHATRAISAK, K., ANGSUWATHANA S. (2010) Vaginal atrophy and sexual dysfunction in current users of systemic postmenopausal hormone therapy.. *J Med Assoc Thai*;93(6):667-75.
- ISHII, H., JIROUSEK, M.R., KOYA, D., TAKAGI, C., XIA, P., CLERMONT, A., BURSELL, S-E., KERN, T.S., BALLAS, L.M., HEATH, W.F., STRAMM, L.E., FEENER, E.P., KING G.L. (1996).Amelioration of Vascular Dysfunctions in Diabetic Rats by an Oral PKC beta Inhibitor. *Science* 3 May:Vol. 272. no. 5262, pp. 728 - 731DOI: 10.1126/science.272.5262.728
- ITAAHO K, MACKENZIE PI, IKUSHIRO S, MINERS JO, FINEL M. (2008). *Drug Metab Dispos.* 36(11):2307-15.
- JACKSON, C.V. CARRIER, G.O. (1981). Supersensitivity of isolated mesenteric arteries to NA in the long-term experimental diabetic rats. *J. Auton. Pharmacol.* 1: 339-405.
- JANKOWSKI, M., RACHELSKA, G., DONGHAO, W., MCCANN, S.M., GUTKOWSKA, J. (2001). Estrogen receptors activate atrial natriuretic peptide in the rat heart, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, pp. 11765–11770.
- JUENGEL JL, HEATH DA, QUIRKE LD, MCNATTY KP.(2006). Oestrogen receptor alpha and beta, androgen receptor and progesterone receptor mRNA and protein localisation within the developing ovary and in small growing follicles of sheep. *Reproduction*.;131(1):81-92.
- Julia. M., KHALIL, R.A. VE O.A.(2004) Gender, sex hormones, and vascular tone *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R233-R249, (2004); doi:10.1152/ajpregu.00338.2003 0363-6119/04
- KANAYA, A.M., HERRINGTON, D., VITTINGHOFF, E., LIN, F., GRADY, D., BITTNER, V., CAULEY, J.A., BARRETT-CONNOR, E. (2003) Glycemic effects of postmenopausal hormone therapy: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med.* 7;138(1):1-9.
- KASETA, J.R., SKOFAR, D.F., RAM,J.L., SOWERS, J.R. (1999). Cardiovascular disease in the diabetic women . *J. Clin Endocrinol metab.* 84:1835-1838.

- KÅSS, A.S., LEA, T.E., TORJESEN, P.A., GULSETH, H.C., FØRRE, Ø.T. (2010). The association of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone with cytokines and markers of disease activity in rheumatoid arthritis: a case-control study. *Scand J Rheumatol* ;39(2):109-17.
- KAWAS, C., RESNICK, S., MORRISON, A., BROOKMEYER, R., CORRADA, M., ZONDERMAN, A., BACAL, C., LINGLE, D.D., METTER, E. A. (1997). Prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology*. Jun;48(6):1517-21.
- KAYAYALP, S.O. 2009. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. *Hacettepe-Taş'9*.Baskı'
- KERNOHAN, A.F., SATTAR, N., HILDITCH, T, CLELAND, S.J., SMALL, M., LUMSDEN, M.A. (2007). Effects of low-dose continuous combined hormone replacement therapy on glucose homeostasis and markers of cardiovascular risk in women with type 2 diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)*;66:27-34
- KHORASANIZADEH, S., RASTINEJAD, F. (2001). Nuclear-receptor interactions on DNA response elements. *Trends Biyochem. Sci.*26:384–90
- KIM, H.P., LEE, J.Y., JEONG, J.K., BAE, SW., LEE, H.K., JO, I. (1999). Nongenomic stimulation of nitric oxide release by estrogen is mediated by estrogen receptor  $\alpha$  localized in caveolae. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 263, pp. 257–262 interactions. *Mol. Endocrinol.* 17:1–10
- KIM, J.K., LEVIN, E.R., Estrogen signaling in the cardiovascular system. *Nuclear Receptor Singnaling*.4:1-5, 2006
- KOLEDOVA, V.V., KHALIL, R.A. (2007). From the Division of Vascular Surgery, Brigham and Woman's hospital. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*; 27(6): 1305 - 1311.
- KUIPER, G.G., KUIPER, B., CARLSSON, K., GRANDIEN, E., ENMARK, J., HAGGBLAD, S., NILSSON ve GUSTAFSSON, J.-Å. (1997). Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology* 138, pp. 863–870.
- KUIPER, G.G.,J.M., ENMARK, E., PELTO-HUIKKO, M., NILSSON, S., GUSTAFSSON, J-A. (1996). Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:5925–30
- KUMAR, R., THOMPSON, E. (2003). Transactivation functions of the N-terminal domains of nuclear hormone receptors:protein folding and coactivator
- LANGE, C.A., SHEN, T., HORWITZ, K.B. (2000). Phosphorylation of human progesterone receptors at serine-294 by mitogenactivated protein kinase signals their degradation by the 26S proteasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:1032–37
- LIU, W.L., GUO, X., GUO, Z.G.(2002). Estrogen prevents bovine aortic endothelial cells from TNF-alpha-induced apoptosis via opposing effects on p38 and p44/42 CCDPK. *Acta Pharmacol Sin.* ;23(3):213-8.

- LOBO, R. A.; PICKAR, J. H.; WILD, R. A.; WALSH, B.; HIRVONEN, E. (2004). The Menopause Study Group. Metabolic Impact of Adding Medroxyprogesterone Acetate to Conjugated Estrogen Therapy in Postmenopausal Women. *Obstetrics & Gynecology*. Volume 84 - Issue 6
- LOSORDO, D.W., KEARNEY, M., KIM, E.A., JEKANOWSKI, J., ISNER, J.M. (1994). Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women, *Circulation* 89, pp. 1501–1510.
- LOVE, R.R., MAZESS, R.B., BARDEN, H.S., EPSTEIN, S., NEWCOMB, P.A., JORDAN, V.C., CARBONE, P.P., DEMETS, D.L. (1992) Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer. *N Engl J Med* 326: 852-856.
- LUKSHA, L., POSTON, L., GUSTAFSSON, J.A., AGHAJANOVA, L., KUBLICKIENE, K. (2005). Gender-specific alteration of adrenergic responses in small femoral arteries from estrogen receptor-beta knockout mice. *Hypertension*.;46(5):1163-8.
- LYRITIS, G.P., GEORGOULAS, T., ZAFEIRIS, C.P.(2010). Bone anabolic versus bone anticatabolic treatment of postmenopausal osteoporosis. *Ann N Y Acad Sci*.;1205(1):277-83.
- MA Y, QIAO X, FALONE AE, RESLAN OM, SHEPPARD SJ, KHALIL RA. (2010). Gender-specific reduction in contraction is associated with increased estrogen receptor expression in single vascular smooth muscle cells of female rat. *Cell Physiol Biochem*;26(3):457-70.
- MANGELSDORF, D.J., THUMMEL, C., BEATO, M., HERRLICH, P., SCHÜTZ, G., UMESONO, K., BLUMBERG, B., KASTNER, P., MARK, M., CHAMBON, P., EVANS, R.M. (1995). The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 83:835–39
- MARTIN, K. A., MANSON, J. E. (2008). Approach to the Patient with Menopausal Symptoms. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol. 93, No. 12 4567-4575
- MARY. E., LOTT, J., HOGEMAN, C., HERR,M., BHAGAT,M., SINOWAY L.I.(2008). Sex differences in limb vasoconstriction responses to increases in transmural pressures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. (2009) January; 296(1): H186–H194 doi: 10.1152/ajpheart.00248
- MAZESS, R.B., BARDEN, H.S., ETTINGER, M., JOHNSTON, C., DAWSON-HUGHES, B., BARAN, D., POWELL, M., NOTELOVITZ, M. (1987) Spine and femur density using dual-photon absorptiometry in US white women. *Bone Min* 2: 211-219.
- MCINERNEY, E.M., WEIS, K.E., SUN, J., MOSSELMAN MCKENNA, N.J., O'MALLEY, B. (2002). Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell*. **22**;108(4):465-74.
- MCKENNA NJ, O'MALLEY BW .(2002). Minireview: Nuclear Receptor Coactivators—An Update *Endocrinology* Vol. **143**, No. 7 2461-2465



- MCNEILL, A.M., KIM, N., DUCKLES, S.P., KRAUSE, D.N., KONTOS, H.A. (1999). Chronic Estrogen Treatment Increases Levels of Endothelial Nitric Oxide Synthase Protein in Rat Cerebral Microvessels *Stroke*;30:2186-2190.) © 1999 American Heart Association, Inc
- MELIS, G.B., PAOLETTI, A.M., CAGNACCI, A., BUFALINO, L., SPINETTI, A., GAMBACCIANI, M., FIORETTI, P. (1992) Lack of any estrogenic effect of ipriflavone in postmenopausal women. *J Endocrinol Invest* 15:755–761
- MEYERS, M.J., SUN, J., CARLSON, K.E., MARRINER, G.A., KATZENELLENBOGEN, B.S., KATZENELLENBOGEN, J.A. (2001). Estrogen receptor- $\beta$  potency-selective ligands: structure-activity relationship studies of diarylpropionitriles and their acetylene and polar analogues. *J Med Chem* 44: 4230-4251.
- MICHALOWSKI, J., NELSON, N. (2002). Summary of the evidence of the risks and benefits of postmenopausal use of hormones. *Benchmark*, 2(8), 2. Retrieved January 31, 2007, from <http://www.cancer.gov/newscenter/benchmarks-vol2-issue8/> page2
- MINSHALL, R.D., PAVCNIK, D., BROWNE, D.L., HERMSMEYER, K. (2002). Nongenomic vasodilator action of progesterone on primate coronary arteries. *J. Appl. Physiol.* 92:701–8
- MONTGOMERY, S., SHAW, L., PANTELIDES, N., TAGGART, M., AUSTIN, C. (2003). Acute effects of oestrogen receptor subtype-specific agonists on vascular contractility. *Br. J. Pharmacol.* 139.1249-1253.
- MOSSA, B., TORCIA, F., AVENOSO, F., TUCCI, S., MARZIANI, R.. (2010). Occurrence of malignancy in endometrial polyps during postmenopause. *Eur J Gynaecol Oncol*;31(2):165-8.
- MÜNZEL, T., SINNING, C., POST, F., WARNHOLTZ, A., SCHULZ, E. (2008). Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med*;40(3):180-96.II
- NAKAMURA, S., NAKAMURA, M BHANDARI, R.K., HIGA, M., (2004). The role estrogens play in sex differentiation and sex changes of fish. *Fish Physiology and Biochemistry* 28: 113–117, 2003.
- NAKAMURA, Y., MIKI, Y., SUZUKI, T., NAKATA, T., DARNEL, AD., MORIYA, T., TAZAWA, C., SAITO, H., ISHIBASHI, T., TAKAHASHI, S. YAMADA,S., SASANO, H. (2003). Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in the atherosclerotic human aorta. *Am J Pathol* 163: 1329-1339.
- NATHAN, D.M., HU, F.B., STAMPFER, M.J., SOLOMON, C.G., LIU, S., WILLETT, W.C., SPEIZER, F.E., MANSON, J.E. (2001). The impact of diabetes mellitus on mortality from all causes and coronary heart disease in women: 20 years of follow-up. *Arch Intern Med* 161:1717–1723.
- NERLICH, A. G., SAUER, U., KOLM-LITTY, V., WAGNER, E., KOCH, M., SCHLEICHER, E. D.(1998). Expression of glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase in human tissues: evidence for high variability and distinct regulation in diabetes. 10.2337/diabetes.47.2.170 *Diabetes* February 1998 vol. 47 no. 2 170-178

- OKABE, K., INOUE, Y., SOEDA, H.(1999). Estradiol inhibits Ca<sup>2+</sup> and K<sup>+</sup> channels in smooth muscle cells from pregnant rat myometrium. *Eur J Pharmacol.* 2;376(1-2):101-8.
- OKANO, H., JAYACHANDRAN, M., YOSHIKAWA, A., MILLER, V.M. (2006) Differential effects of chronic treatment with estrogen receptor ligands on regulation of nitric oxide synthase in porcine aortic endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 47: 621-628.
- ORSHAL JM., KHALIL R.A. (2004) Gender, sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R233-R249, 2004; doi:10.1152
- OWEN, M.P., CARRIER, G.O.(1979). Alteration in vascular smooth muscle sensitivity to vasoconstrictor agents by streptozotocin induced diabetes. *Proct. West. Pharmacol. Soc.* 22:363-366.
- OWEN, M.P., CARRIER, G.O.(1980). Calcium dependence of norepinephrine-induced vascularcontraction in experimental diabetes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*212: 253-258.
- PARE, G., KRUST, A., KARAS, R.H., DUPONT, S., ARONOVITZ, M., CHAMBON, P., MENDELSON, M.E.(2002) Estrogen receptor-  $\alpha$  mediates the protective effects of estrogen against vascular injury . *Circ Res* . ; **90** : 1087 – 92 .
- PARK, S.W., ZHOU, Y., LEE, J., LU, A., SUN, C., CHUNG, J., UEKI, K., OZCAN, U. (2010). The regulatory subunits of PI3K, p85 $\alpha$  and p85 $\beta$ , interact with XBP-1 and increase its nuclear translocation. *Nat Med.*;16(4):429-37.
- PELZER, T., JAZBUTYTE, V., HU, K., SEGERER, S., NAHRENDORF, M., NORDBECK, P., BONZAW, MUCK, J., FRITZEMEIER, K.H., HEGELE-HARTUNG, C, ERTL, G., NEYSES, L. (2005). The estrogen receptor- $\alpha$  agonist 16 $\alpha$ -LE2 inhibits cardiac hypertrophy and improves hemodynamic function in estrogen-deficient spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res.* 1;67(4):604-12.
- PENDARIES, C., DARBLADE, B., ROCHAIX, P., KRUST, A., CHAMBON, P.,KORACH, K.S., BAYARD, F., ARNAL, J.F., (2002). The AF-1 activation-function of ER $\alpha$  may be dispensable to mediate the effect of estradiol on endothelial NO production in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:2205– 10
- PERERA, M., SATTAR, N., PETRIE, J.R., HILLIER, C., SMALL, M., CONNELL, J.M., LOWE, G.D., LUMSDEN, M.A. (2001). The effects of transdermal oestradiol in combination with oral norethisterone on lipoproteins, coagulation and endothelial markers in postmenopausal women with type 2 diabetes: a randomized placebo controlled study, *J Clin Endocrinol Metab* 86, pp. 1140–1143.
- PETITTI DB.(1998) Hormone replacement therapy and heart disease prevention:experimentation trumps observation. *JAMA*;280:605-13
- PINNA, C., CINGARELLA, A., SANVITO, P., PELOSI, V., BOLEGO, C.(2008). Prolonged ovarian Hormone deprivation impairs the protective vascular actions of estrogen reseptor  $\alpha$  agonists. *Hypertension*, 51:1-8.

- PROROCK, A.J., HAFEZĪ-MOGHADAM, A., LAUBACH, V.E., LIAO, J.K., LEY, K. (2003). Vascular protection by estrogen in ischemiareperfusion injury requires endothelial nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 284:H133–40
- PROSSNITZ, E. R., (2009). GPER G protein-coupled estrogen receptor 1. *Atlas Genet Cytogenet. Oncol. Haematol.* URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Genes/GPERID44344ch7p22.html>
- PROUDLER, A.J., FELTON, C.V., STEVENSON, J.C. (1992). Ageing and the response of plasma insulin, glucose and C-peptide concentrations to intravenous glucose in postmenopausal women, *Clin Sci* 83, pp. 489–494.
- QIAO, X., MCCONNELL, K.R., KHALIL, R.A. (2008). Sex steroids and vascular responses in hypertension and aging. *Gen Med*;5 Suppl A:S46-64. Review.
- RAZANDI, M., PEDRAM, A., LEVIN, E.R. (2000). Estrogen signals to the preservation of endothelial cell form and function. *J. Biol. Chem.* 275:38540–46
- RESNICK, S.M., METTER, E.J., ZONDERMAN, A.B. (1997). Estrogen replacement therapy and longitudinal decline in visual memory. A possible protective effect?. *Neurology.* Dec;49(6):1491-7.
- ROCHETTE-EGLY C. (2003). Nuclear receptors: integration of multiple signaling pathways through phosphorylation. *Cell. Signal.* 15:355–66
- ROPPONEN, A., AITTOMÄKI, K., VIHMA, V., TIKKANEN, M.J., YLIKORKALA, O. (2005). Effects of oral and transdermal estradiol administration on levels of sex hormone-binding globulin in postmenopausal women with and without a history of intrahepatic cholestasis of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* ;90(6):3431-4.
- ROSSOUW, J.E., ANDERSON, G.L., PRENTICE, R.L., LACROIX, A.Z., KOOPERBERG, C., STEFANICK, M.L., JACKSON, R.D., BERESFORD, S.A., HOWARD, B.V., JOHNSON, K.C., KOTCHEN, J.M., OCKENE, J. (2002). Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA.* 17;288(3):321-33
- ROSSOUW, J.E., PRENTICE, R.L., MANSON, J.E., WU, L., BADAR, D.I., BARNABEI .V.M., KO. M., LACROIX A.Z., MARGOLIS. K.L., STEFANICK M.L. (2007). Postmenopausal Hormone Therapy and Risk of Cardiovascular Disease by Age and Years Since Menopause *JAMA*, Vol 297, No. 13.1465-1477
- RUSSELL, K.S., HAYNES, M.P., SINHA. D., CLERISME. E., BENDER, J.R. (2000a). Human vascular endothelial cells contain membrane binding sites for estradiol, which mediate rapid intracellular signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:5930–35
- SANTOS RL, MARIN EB, GONÇALVES WL, BISSOLI NS, ABREU GR, MOYSÉS MR. (2010). Sex differences in the coronary vasodilation induced by 17 beta-oestradiol in the isolated perfused heart from spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol (Oxf)*.23. [Epub ahead of print]

- SARUHAN B, SAĞSOZ H, AKBALIK M, KETANI M.(2010). Distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor B in the bovine oviduct during the follicular and luteal phases of the sexual cycle: an immunohistochemical and semi-quantitative study. *Biotech Histochem.* 14. [Epub ahead of print].
- SAVOLAINEN H, FRÖSEN J, PETROV L, AAVIK E, HÄYRY P. (2001). Dec;20(12):1252-64. Expression of estrogen receptor sub-types alpha and beta in acute and chronic cardiac allograft vasculopathy.
- scn Life Science Inc.Wuhan. (2009) 17β-estradiol  
(<http://www.uscnk.com/pic/20091218204616.jpg>)
- SEGNER, H., BLAIR, J.B., WIRTZ, G., MILLER, M.R.(1994) Cultured trout liver cells: utilization of substrates and response to hormones. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 30A(5):306-11.
- SHAO W, BROWN M. (2004). Advances in estrogen receptor biology: prospects for improvements in targeted breast cancer therapy. *Breast Cancer Res.*;6(1):39-52. Epub 2003
- SHAO, W., BROWN, M. (2004). Advances in estrogen receptor biology: prospects for improvements in targeted breast cancer therapy. *Breast Cancer Res* 2004 6:39 doi:10.1186/bcr742. Review.
- SHAW ND, HISTED SN, SROUJI SS, YANG J, LEE H, HALL JE.(2010) Estrogen negative feedback on gonadotropin secretion: evidence for a direct pituitary effect in women. *J Clin Endocrinol Metab.*;95(4):1955-61.
- SHAW, L., TAGGARDT, M., AUSTIN, C. (2001). Effects of oestrous cycle and gender on acute vasodilatory responses of isolated pressurized rat mesenteric arteries to 17-β-oestradiol. *Br. J.Pharmacol* 132: 1055-1062.
- SHERWIN, B.B. (1997). Estrogen effects on cognition in menopausal women. *Neurology.* May;48(5 Suppl 7):S21-6.
- SHERWOOD, A., BOWER, J.K., MCFETRIDGE-DURDLE, J., BLUMENTHAL, J.A, NEWBY, L.K., (2007). Age Moderates the Short-Term Effects of Transdermal 17β-Estradiol on Endothelium-Dependent Vascular Function in Postmenopausal WomenHinderliter A.L. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.*;27:1782.
- SIMONCINI, T., FORNARI, L., MANNELLA, P., VARONE, G., CARUSO, A. (2002). Novel non-transcriptional mechanisms for estrogen receptor signaling in the cardiovascular system. Interaction of estrogen receptor α with phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Steroids* 67:935–39
- SIMONCINI, T., HAFEZI-MOGHADAM, A., BRAZIL, D.P., LEY, K., CHIN, W.W., LIAO, J.K. (2000). Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol- 3-OH kinase. *Nature* 407: 538–41
- SIMONCINI, T., RABKIN, E., LIAO, J.K. (2003). Molecular basis of cell membrane estrogen receptor interaction with phosphatidylinositol 3-kinase in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23:198–203

- SOVERSHAIEV, M.A., EGORINA, E.M., ANDREASEN, T.V., JONASSEN, A.K., YTREHUS, K. (2006). Preconditioning by 17beta-estradiol in isolated rat heart depends on PI3-K/PKB pathway, PKC, and ROS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.291(4):H1554-62.
- SOWERS, M.R., MCCONNELL, D., YOSEF, M., JANNAUSCH, M.L, HARLOW, S.D, RANDOLPH, J.F. JR.(2010). Relating smoking, obesity, insulin resistance, and ovarian biomarker changes to the final menstrual period. *Ann N Y Acad Sci*;1204:95-103.
- SOYLEMEZ S, GURDAL H, SEPICI A, AKAR F.(2008). The effect of long-term resveratrol treatment on relaxation to estrogen in aortae from male and female rats: role of nitric oxide and superoxide *Vascul Pharmacol*;49(2-3):97-105.
- SPENCER, C.P., GODSLAND, I.F., STEVENSON, J.C. (1997) Is there a menopausal metabolic syndrome?, *Gynaecol Endocrinol* 11, pp. 341–355
- STAUFFER, S.R., COLETTA, C.J., TEDESCO, R., NISHIGUCHI, G., CARLSON, K., SUN, J., KATZENELLENBOGEN, B.S., Katzenellenbogen, J.A. (2000) Pyrazole ligands: structure-affinity/activity relationships and estrogen receptor- $\alpha$ -selective agonists. *J Med Chem* 43: 4934-4947.
- STEARNS, V., ULLMER, L., LOPEZ, J.F., SMITH, Y., ISAACS, C., HAYES, D.F. (2002). Hot flushes *The Lancet*.Volume 360, Issue 9348, 7 Pages 1851-1861
- STEHOUWER VE DORRET, I. BOOMSMA ,R., JZERMAN, G.I., COEN, D. A..(2000); Evidence for Genetic Factors Explaining the Birth Weight–Blood Pressure *Hypertension* 36;1008-1012
- STEINMETZ, A., RENAUD, J-P., MORAS, D. (2001). Binding of ligands and activation of transcription by nuclear receptors. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 30:329–59
- STEVENSON, J.C. (2009). HRT and cardiovascular disease. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* Feb;23(1):109-20. Epub 2008 Dec 17.
- STIRONE, C, BOROJERDI, A., DUCKLES, S.P., KRAUSE, D.N. (2005) Estrogen Increases Mitochondrial Efficiency and Reduces Oxidative Stress in Cerebral Blood Vessels. *Molecular Pharmacology* vol. **68** no. 4 959-965.
- STIRONE, C., CHU, Y., SUNDAY, L., DUCKLES, S.P., KRAUSE, D.N. (2003a) 17 $\beta$ -Estradiol increases endothelial nitric oxide synthase mRNA copy number in cerebral blood vessels: quantification by real-time polymerase chain reaction. *Eur J Pharmacol* 478: 35-38
- TAN, E., GURJAR, M.V., SHARMA, R.V., BHALLA, R.C. (1999). Estrogen receptor-alpha gene transfer into bovine aortic endothelial cells induces eNOS gene expression and inhibits cell migration. *Cardiovasc Res.* 15;43(3):788-97.
- TANG, M.X., JACOBS, D., STERN, Y., MARDER, K., SCHOFIELD, P., GURLAND, B., ANDREWS, H., MAYEUX, R. (1996). Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet.* Aug 17 1996;348(9025):429-32.

- TENG, J., WANG, Z.Y., PROSSNITZ, E.R., BJORLING, D.E. (2008). The G protein-coupled receptor GPR30 inhibits human urothelial cell proliferation. *Endocrinology*;149(8):4024-34.
- The Women's Health Initiative Steering Committee.(2004) Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy. *JAMA*.;291:1701-1712.
- The Writing Group for the PEPI Trial. (1995) Effects of estrogen or estrogen/progestin regimens on heart disease risk factors in postmenopausal women. The Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *JAMA*.;273:199-208. Abstract
- TSAI, A.W., CUSHMAN, M., ROSAMOND, W.D., HECKBERT, S.R., POLAK, J.F., FOLSOM, A.R. (2002). Cardiovascular risk factors and venous thromboembolism incidence: the longitudinal investigation of thromboembolism aetiology, *Arch Intern Med* 162 (2002), pp. 1182–1189.
- TSAI, M-J., O'MALLEY, B. (1994). Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annu. Rev. Biochem.* 63:451–86
- TUOMIKOSKI, P., HAAPALAHTI, P., YLIKORKALA, O., MIKKOLA, T.S. (2010). Vasomotor hot flushes and 24-hour ambulatory blood pressure in recently post-menopausal women. *Ann Med.* 2010 Apr;42(3):216-22.
- USUKI, S., KOBAYASHI, S., SUGIMOTO, M., KOTANI, E., OTANI, S., KUBO, T., ISHII, T., MURAKAMI, K., MIYAZAKI, H.. (1998). Effects of follicle- stimulating hormone on endothelin receptors in cultured rat ovarian granulosa cells. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1:S225-9.
- UTIAN, W.H., BOGGS. P.P. (1999). The North American Menopause Society 1998 Menopause Survey. Part I: Postmenopausal Women's Perceptions About Menopause and Midlife- *Menopause*, - journals.lww.com. Volume 6 - Issue 2
- VITALE, C., MERCURO, G., CERQUETANI, E., MARAZZI, G., PATRIZI, R., PELLICCIA, F., VOLTERRANI, M., FINI, M., COLLINS, P., ROSANO, G.M.C. (2008). Time Since Menopause Influences the Acute and Chronic Effect of Estrogens on Endothelial Function *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*.;28:348
- WALTON, C., GODSLAND, I.F., PROUDLER, A.J., WYNN, V., STEVENSON, J.C. (1993). The effects of the menopause on insulin sensitivity, secretion and elimination in non-obese, healthy women, *Eur J Clin Invest* 23 (1993), pp. 466–473.
- WEIGEL, N.L. (1996). Steroid hormone receptors and their regulation by phosphorylation. *Biochem. J.* 319:657–67
- WEIHUA, Z., SAJI, S., MAKINEN, S., CHENG, G., JENSEN, E. V., WARNER, M. & GUSTAFSSON, J.-Å. (2000). Estrogen receptor (ER)  $\beta$ , a modulator of ER $\alpha$  in the uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 23; **97**(11): 5936–5941.

- WIDDER, J., PELZER, T., VON POSER-KLEIN, C., HU, K., JAZBUTYTE, V., FRITZEMEIER, K.H., HEGELE-HARTUNG, C., NEYSES, L., BAUERSACHS, J. (2003). Improvement of endothelial dysfunction by selective estrogen receptor- $\alpha$  stimulation in ovariectomized SHR. *Hypertension*;42(5):991-6.
- WINKLER, U.H.(1992). Menopause, hormone replacement therapy and cardiovascular disease: a review of haemostaseological findings, *Fibrinolysis* 6 (Suppl. 3), pp. 5–10.
- WITTER, D.J., MILLER, T.A., BELVEDERE, S. (2003). Histone deacetylase inhibitors. *J Med Chem* 46:5097–5116
- WomenSexDrive.net (2008) - Women Sex Drive.
- WYCKOFF, M.H., CHAMBLISS, K.L., MINEO, C., YUHANNA, I.S., MENDELSON, M.E. (2001). Plasma membrane estrogen receptors are coupled to endothelial nitric-oxide synthase through Gai. *J. Biol. Chem.* 276:27071–76
- XU, H.L., GALEA, E., SANTIZO, R.A., BAUGHMAN, V.L., PELLIGRINO, D.A. (2001). The key role of caveolin-1 in estrogen-mediated regulation of endothelial nitric oxide synthase function in cerebral arterioles in vivo. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, pp. 907–913.
- YAMAUCHI, T., OHUAKA, K., TAKAYANAGI, R., UMEDA, F., NAWATA, H. (1990). Enhanced secretion of endothelin 1 by elevated glucose levels from cultured bovine aortic endothelial cells. *FEBS Lett* 267:16-18, 1990.
- YANG SH, LIU R, PEREZ EJ, WEN Y, STEVENS S M, VALENCIA JR T, (2004). Mitochondrial localization of estrogen receptor  $\beta$ . *PNAS* March 23, vol. 101 no. 12 4130-4135
- ZHU, Y., BIAN, Z., LU, P., KARAS, R.H., BAO, L., COX, D., HODGIN, J., SHAUL, P.W., THOREN, P., SMITHIES, O., GUSTAFSSON, J.-Å., MENDELSON, M.E. (2002). Abnormal vascular function and hypertension in mice deficient in estrogen receptor  $\beta$ . *Science* 295, pp. 505–508.
- ZSCHOCKE, J., MANTHEY, D., BAYATTI, N., VAN DER BURG B., GOODENOUGH, S., BEHL, C. (2002) Estrogen receptor  $\alpha$ -mediated silencing of caveolin gene expression in neuronal cells. *J. Biol. Chem.* 277, pp. 38772–38780.

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı: Tamila

Soyadı: Akhayeva

Doğum yeri ve tarihi: Kazakistan, 19.07.1978

Uyruğu: Kazak

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: Bigeldinova 5/35

Astana, Kazakistan

tel: 007 717 2 23 91 00

tamilabod@mail.ru

tamila7807@gmail.com

### II- Eğitimi

2005-2010: Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı (Doktora Programı).



1996-2001: Asphendiarov Kazak Memleket Tıp Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans).

1992-1995 Shymkent Tıp eğitim odası (Eczacılık fakültesi)

1992-1990 :12 Lisesi, Shymkent, Kazgurt.

1990-1984: 12 internat okulu, Shymkent.

Yabancı dili: Rusça. Türkçe

### **III- Ünvanları**

1996: Eczacı

2001: Uzman Eczacı

### **IV- Mesleki Deneyimi**

2005-2009 : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Ana Bilim Dalı (Doktora öğrencisi).

2001-2003: Astana Tıp Üniversitesi Farmakoloji ve Klinik Farmakoterapy Ana Bilim Dalı (assistan)

**V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar.**

**VI- Bilimsel ilgi Alanları**

Yayınlar:

Tamila **AKHAYEVA**, Nuray ARI, Gülgün OZANSOY, "THE ACUTE RELAXANT EFFECTS OF ESTROGEN RECEPTOR AGONISTS IN DIABETIC–OVARIECTOMIZED RAT AORTA", *TURKISH JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES*, Kabul yazisi 9.08.2010.

Bildiriler:

POSTERLER

- Arıcıoğlu A, Ozansoy G, Ceylan-Isık A, Cumaoglu A, Yuksel E, **Akhayeva T**, Karasu Ç, Aktan F, Ari N, Low-dose Atorvastatin Therapy Alleviates Diabetic Ventricular Myocyte Dysfunction in Mouse. 5<sup>th</sup> International Congress on Cardiovascular Disease ( *ICCD*) *Kosice*, Slovak Republic, 2009, June 5-7.
- Irat AM, Cumaoglu A, Yuksel E, **Akhayeva T**, Karasu C, Arıcıoğlu A, Ozansoy G, Ari N., Effects of low-dose, long-term fluvastatin treatment on oxidative/antioxidative parameters in the pancreas and heart from streptozotocin-induced diabetic rats. 45<sup>th</sup> Annual Meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD), Vienna, Austria, 2009, Sept. 29 - Oct 02, *Diabetologia*, 52 (suppl 1): p1254, 2009.
- Ozansoy G., **Akhayeva T**, Ari N., Acute effects of estrogen receptor agonists on vascular reactivity of diabetic ovariectomized rats. 46<sup>th</sup> Annual Meeting of The European Association for the Study of Diabetes (EASD), Stockholm, Sweeden, 2010, Sept. 20 – Sept 24. (Kabul edildi ).

**VII- Bilimsel Etkinlikleri**

## BURSLAR

TÜBİTAK Bilim Adamı Yetiştirme Bursu 2215 (Doktora, 2006-2009 ),

## ÖDÜLLER:

## PROJELER

a). Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen (20070803004HP)

b). Ankara Üniversitesi BAP tarafından desteklenen (201.08.03.031)  
“DİYABETİK OVARİKTOMİZE SIÇANLARDA OLUŞAN VASKÜLER  
DİSFONKSİYONDA ESTROJEN RESEPTÖRLERİNİN ROLÜ VE  
ESTROJEN TEDAVİSİNİN ETKİSİ”- araştırmacı (2006-2008).

## SEMİNERLER:

Kaveola, Östrojen VE Nitrik Oksit (2006-07/Bahar)

Sinyal İleti Yolaklarının Östrojen ve Progesteron Tarafından  
Regülasyonu (2006-07/Bahar)

VIII- Diğer Bilgiler